

Wiltmeter® para a medida da firmeza das folhas

Introdução

O Wiltmeter® é um instrumento portátil, patenteado pela Embrapa (EMBRAPA, 2007), para medir firmeza de folhas, como a pressão necessária para aplanar uma área amostral do órgão contra uma placa de aplanação.

O Wiltmeter® é um instrumento fundamentado na técnica de aplanação ou técnica da força externa de medição de firmeza que é a seguir brevemente apresentada. A técnica aplanação foi desenvolvida para bagas de uva (BERNSTEIN e LUSTIG, 1981) e adaptada para medir firmeza em diferentes frutas e hortaliças (CALBO e CALBO, 1989; CALBO e NERY, 1995). A pressão de aplanação depende da turgescência celular, é calculada como a razão entre força aplicada (F) e área amassada (A), em ensaios em que uma placa transparente é pressionada contra órgãos macios. Sendo as folhas, em geral, finas (< 1 mm) no Wiltmeter® usa-se uma placa de aplanação especial com superfície porosa que funciona como sensor de pressão de aplanação (Fig. 1), durante ensaios em que a folha é progressivamente comprimida contra esta placa por um sistema hidrostático com membrana flexível. Nestes ensaios a firmeza é medida de acordo com a estimativa da menor pressão que bloqueia um fluxo de ar que entra na placa de aplanação escoa sobre a superfície superior da folha.

Comparativamente com outros instrumentos para medir a firmeza das folhas, descritos anteriormente, o Wiltmeter® é inovador. Por exemplo, difere do instrumento portátil desenvolvido por Heathcote et al. (1979) porque naquele instrumento a estimativa da firmeza da folha era obtida de acordo com medidas de flexão da lâmina foliar sob ação de uma força de prova. Quando o método Heathcote et al. (1979) foi estudado por Turner e Sobrado (1983) estes autores observaram que as leituras eram proporcionais à turgescência celular, porém com o inconveniente de que a resposta era modulada pela espessura da folha, o que não ocorre com as leituras obtidas no Wiltmeter®.

Relativamente a instrumentos anteriores utilizados para medir a firmeza das folhas o Wiltmeter®, guarda maior similaridade com o sistema denominado turgômetro (CALBO, 1991). Do turgômetro, segundo (EMBRAPA, 2007), o Wiltmeter difere, dentre outros aspectos, por não gerar leituras subestimadas da firmeza causada por uma deformação maior da folha ao redor a borda de uma ponteira cilíndrica, que sob a ação de um embolo apertava a folha contra uma placa naquele instrumento.

Neste trabalho a constituição física básica do Wiltmeter® é apresentada juntamente com procedimentos técnico-científicos completos e simplificados de medição da firmeza de folhas e de produtos fatiados.

O instrumento

O Wiltmeter® (Fig. 1) é um aparelho para medir a firmeza de folhas e fatias de órgãos mediante uma nova extensão do método da pressão de aplanação (CALBO e NERY, 1995). No sistema uma placa de aplanação (1) contendo um elemento poroso (2) permeado por um fluxo de ar é comprimida contra a folha. O esquema e as equações de ajuste de pressão e fluxo de ar no Wiltmeter® são detalhadas na Figura 2. A leitura da pressão de aplanação, obtida em ensaios de compressão, é a menor pressão da folha contra a placa que bloqueia o fluxo de ar mediante o fechamento dos poros obtusos (ângulo maior que 90°) da placa de aplanação pelo tecido foliar aplinado pela pressão exercida por uma membrana de borracha (4). Neste instrumento a compressão da folha (3) contra a placa de aplanação (1) é feita por uma membrana flexível (4) que é pressionada com uma seringa (15) com de água. Esta leitura de pressão na membrana de borracha é feita com auxílio de um manômetro de 600 kPa (5).

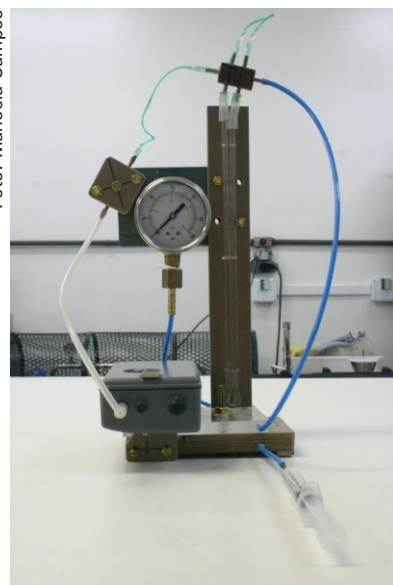


Foto: Manoela Campos

Enquanto a folha é progressivamente comprimida, observa-se a redução da passagem do ar que permeia o elemento poroso (2) da placa de aplanação sobre a folha (3) em um fluxímetro (6).

Autores

Adonai Gimenez Calbo
Engenheiro Agrônomo, Dr.,
Pesquisador
Embrapa Instrumentação
Agropecuária, C.P. 741,
CEP 13560-970, São Carlos, SP,
adonai@cnpdia.embrapa.br

Marcos David Ferreira
Engenheiro Agrônomo, Dr.,
Pesquisador
Embrapa Instrumentação
Agropecuária, C.P. 741,
CEP 13560-970, São Carlos, SP,
marcosferreira@cnpdia.embrapa.br

José Dalton Cruz Pessoa
Físico, Dr., Pesquisador
Embrapa Instrumentação
Agropecuária, C.P. 741,
CEP 13560-970, São Carlos, SP,
dalton@cnpdia.embrapa.br

Método simplificado - só firmeza

1- Desapertar a válvula de controle de pressão de ar (11); 2- Ajustar o nível de etanol do manômetro (6); 3- Ligar o compressor de ar (10); 4- Ajustar a pressão na válvula de controle pressão de ar (11) até que a leitura no manômetro do fluxímetro (6) seja 200 mm; 5- Prender a folha com o parafuso (7) sob a placa de aplanção (1), sem apertar; 6- Aumentar a pressão aplicada pela membrana (4) sobre a folha (3) comprimindo a seringa (15) até que a leitura no manômetro (6) reduza-se a 4 mm; 7- Anotar a pressão (p_x) lida no manômetro (5), esta é uma estimativa prática da pressão ou firmeza da folha.

Método completo

1- Abrir a válvula de controle de pressão (11); 2- Ajustar o nível de etanol do manômetro (6); 3- Ligar o compressor de ar (10); 4- Aumentar a pressão na válvula de controle de pressão de ar (11) até que a leitura no manômetro do fluxímetro (6) seja 200 mm; 5- Prender a folha com o parafuso (7) sob a placa de aplanção (1), sem apertar; 6- Comprimir a folha pressionando progressivamente a seringa até que a leitura no manômetro do fluxímetro (6) seja 16 mm, anotar a compressão (p) da folha lida no manômetro (5); 7- repetir o procedimento e anotar a compressão da folha também com as leituras de 12, 8 e 4 mm, no fluxímetro. [Os valores de altura sugeridos podem ser substituídos por outros, preferencialmente menores do que 50 mm no manômetro em U (6)] 8- Ajustar uma regressão linear ($1/p = A \cdot x + B$) entre o inverso dos valores de compressão anotados ($1/p_i$) nos respectivos fluxos de ar (x_i), tomados como a altura de coluna de etanol no fluxímetro (4, 8, 12 e 16 mm); 9- Calcular a firmeza (p_0) com a expressão $p_0 = 1/B$, onde B é o intercepto da regressão linear.

Fator de Wiltmeter® (f_w)

O fator de Wiltmeter® é um número menor que um, necessário para o cálculo da firmeza (p_0) pelo método rápido, para um dado instrumento e condição de uso este fator é dado pela equação $f_w = B / (x_1 \cdot B + A)$. O valor de x_1 , utilizado tipicamente é 4 mm (fluxo de ar = 1,8 ml/min), valores de x_1 menores tornam a leitura mais lenta e insegura, no entanto, outros valores de x_1 4 mm podem ser utilizados. A restrição de entrada (13), melhora a sensibilidade do instrumento, mediante o ajuste da pressão de ar p_A (Fig. 2), no regulador de pressão (11) (Fig. 1), em valor mais elevado 10 kPa. Com o uso da restrição de entrada (13) o valor de f_w se aproxima mais de um.

Método rápido - estimativa da pressão de aplanção utilizando f_w

1- Desapertar a válvula de controle de pressão de ar (11); 2- Ajustar o nível de etanol do manômetro (6); 3- Ligar o compressor de ar (10); 4- Ajustar a pressão na válvula de controle pressão de ar (11), até que a leitura no manômetro do fluxímetro (6) seja 200 mm; 5- Prender a folha com o parafuso (7) sob a placa de aplanção (1), sem apertar; 6- Aumentar a pressão aplicada pela membrana (4) sobre a folha (3) comprimindo a seringa (15) até que a leitura no manômetro (6) reduza-se a 4 mm; 7- Anotar a pressão (p_{x1}) lida no manômetro (5); 8- Estimar a firmeza (p_0) da folha com a expressão $P_0 = p_{x1} / f_w$, onde f_w é o fator de Wiltmeter® da espécie.

Manutenção básica do Wiltmeter®

1- Após seguir os passos 1 e 2 do item anterior, tampar os orifícios de saída (2) na placa de aplanção e verificar que o fluxo de ar se reduz a zero. Caso o fluxo de ar não zere neste teste, então procure localizar e sanar o vazamento entre o regulador de pressão e a entrada da placa de aplanção.

2- Mantenha a parte inferior da placa de aplanção sempre limpa e desobstruída. Para a limpeza nunca use esponjas abrasivas, visto que estes materiais de limpeza agressivos desgastam as ranhuras micrométricas, sobre a placa de aplanção. Sem estas ranhuras o funcionamento da placa de aplanção do Wiltmeter®, em folhas com a superfície superior extremamente plana, pode gerar resultados inconsistentes.

Medições com o Wiltmeter®

O denominado método simplificado é adequado para medições puramente comparativas dentro de uma espécie, ou quando há pouca preocupação com balizamento teórico. Assim, para avaliações rápidas da hidratação das folhas com fins de manejo de irrigação ou para aplicações a plantas ornamentais este método é conveniente e possibilita medidas valiosas em menos de um minuto e sem a necessidade de ajustes com modelos matemáticos ou fatores.

Para aplicações científicas como em fisiologia vegetal e outras aplicações torna-se relevante uma medida da firmeza que estime a pressão de aplanção, como se obteria com o método da força externa. Visto que esta pressão de aplanção é uma estimativa aproximada da pressão de turgescência celular. Para se entender como esta estimativa pode ser obtida verifica-se na figura 3A que a compressão da folha (p) necessária para reduzir cada unidade de fluxo de ar é tanto maior quanto mais o fluxo de ar (x) se aproxima de zero. Conceitualmente a pressão de aplanção, nesta figura, seria a menor pressão que faz com que o fluxo de ar seja reduzido a zero. Assim, dado o comportamento gráfico observado na Figura 3A, para a facilitação do cálculo da pressão de aplanção, optou-se pelo método da linearização, mediante a transformação do tipo $1/p$. Deste modo, plotando-se $1/p$ versus x (Fig. 3B) estima-se a pressão de aplanção ou firmeza da folha (p_0) aplicando-se uma simples regressão linear. Consequentemente, p_0 é estimado, então, de acordo com o valor do intercepto da regressão linear, cujo valor numérico é uma estimativa de $1/p_0$, ou em outras palavras é o valor de $1/p$ sob fluxo de ar (x) igual a zero. Este é o procedimento do denominado método completo de uso do Wiltmeter®.

Mesmo para fisiologia vegetal o uso do método completo em instrumento sem análise automática de dados pode ser considerado muito trabalhoso por alguns. Nestes casos o uso do método rápido com estimativa de p_0 mediante o uso do fator de Wiltmeter® f_w é uma forma efetiva e rápida de uso do instrumento, principalmente se dispuser de valores do fator f_w obtido em trabalhos anteriores para a mesma espécie (FERREIRA e CALBO, 2008).

Restrições de ar relevantes no Wiltmeter®

Pode-se também fazer medição de (p_0) sem extrapolação ou correção, porém aumentar a compressão da folha p até que o fluxo de ar x se aproxime suficientemente de zero, é difícil, pois a medida que x diminui a resposta se torna mais lenta. Neste sentido, o uso da restrição de entrada (R_1), é valiosa, pois aumenta a vazão de ar aplicada entre a folha e a placa de aplanção (p_{A1}), (Fig. 2). Veja-se que é através das restrições R_1 e R_2 da Figura 2, que correspondem aos itens 13 e 14 da Figura 1, que a pressão do ar é ajustada no regulador de pressão, em no máximo 10 kPa, antes do início da medição. Conforme a medição tem início, este gradiente de pressão de ar é gradativamente passada para a resistência R_L que é formada pela interação da folha progressivamente aplanada pela compressão crescente da membrana versus aberturas de passagem de ar remanescentes sobre a placa de aplanção. Para evitar-se erros na estimativa da firmeza p_0 causados por uso de pressão excessiva do ar, a pressão total de ar p_A ajustada com o regulador de pressão, deve sempre ser menor que 10 kPa.

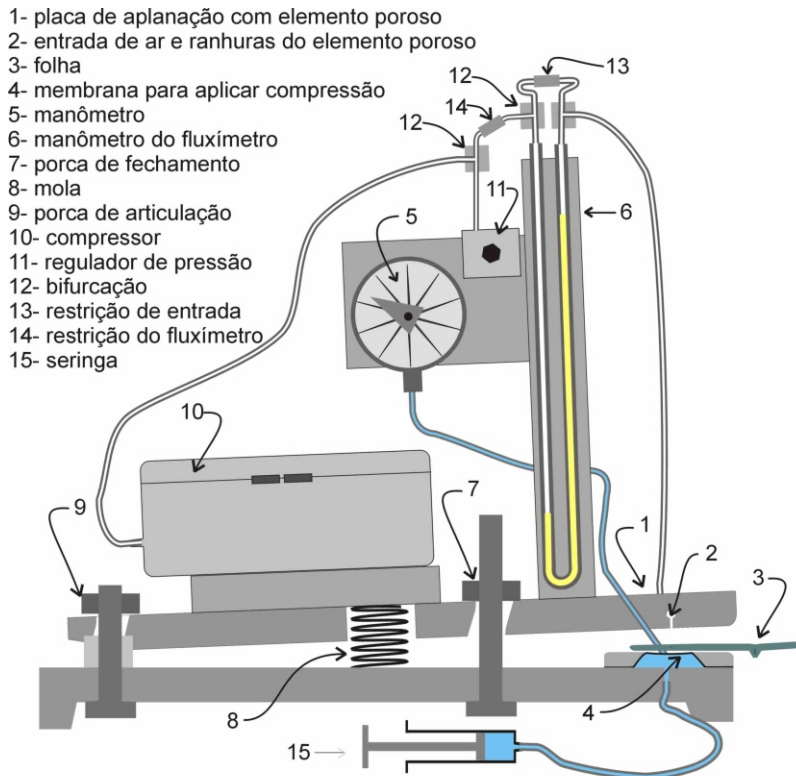


Fig. 1- Esquema de um Wiltmeter, a placa inferior com membrana de borracha aperta a folha contra o elemento poroso da placa de aplanção. Compressor, sistema de ajuste de fluxo de ar com regulador de pressão e restrições ajustam a passagem de ar entre a folha e a placa de aplanção, seringa para aplicar compressão e monômetro complementam o instrumento.

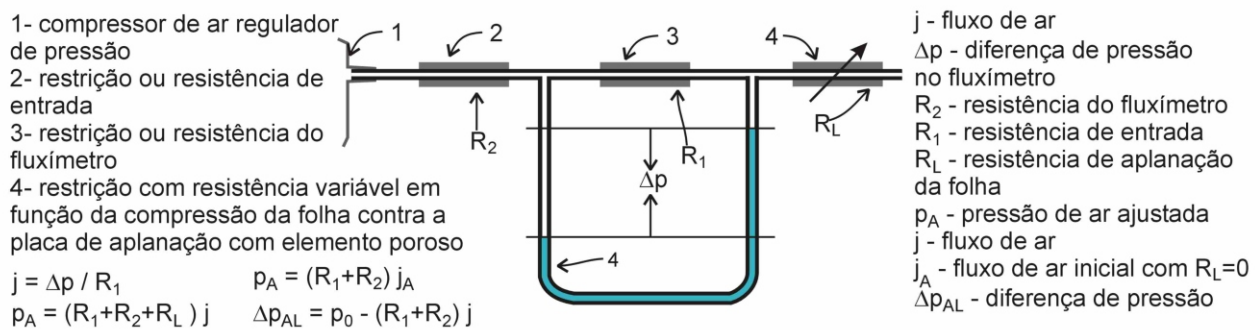


Fig. 2- Restrições à passagem de ar do Wiltmeter®. Em alguns sistemas a resistência R_L não é instalada.

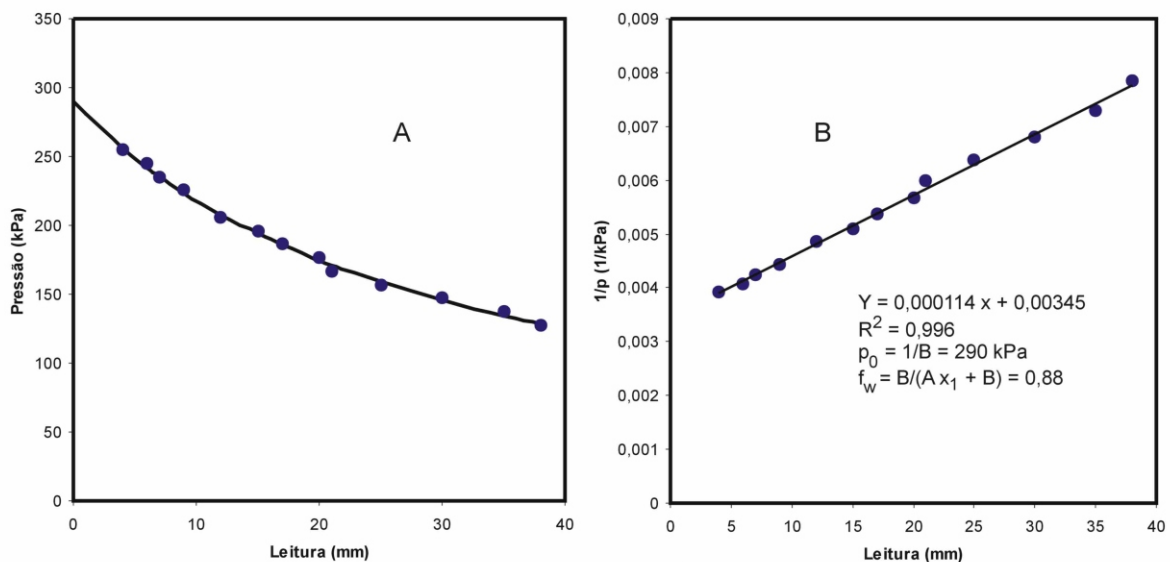


Fig. 3- Curvas de pressão versus leitura no fluxímetro do Wiltmeter® para couve. A- Dados de pressão (p) versus a leitura no fluxímetro. B- Dados da pressão invertida ($1/p$) versus leitura no fluxímetro. No ajuste linear a inclinação (A) e o intercepto (B) são usados para calcular o fator de correção f_w e a firmeza da da folha p_w .

Ainda sob a questão de restrições ao fluxo de ar, para maior sensibilidade no fluxímetro (Fig. 1), substituiu-se a água no manômetro em U por etanol. Desta forma, no manômetro, a sensibilidade foi 0,40 mm de etanol e a resposta foi mais rápida devido às propriedades de densidade menor (790 g/l), viscosidade dez vezes menor e tensão superficial cerca de três vezes menor do que a de água a 20 °C.

Considerações finais

Para medidas rotineiras o método completo, que envolve a coleta de pares de valores de compressão (p_x) e de fluxo de ar (x_t) (Fig. 3) é um processo trabalhoso que toma cerca de 10 min em medição e outra quantidade similar para a digitação e o ajuste da reta com que se estima a firmeza da folha ($p_0 = 1/B$). Por outro lado, com a expressão $p_0 = p_{x1} / f_w$ a firmeza é estimada a partir de um único valor p_{x1} que é obtido comprimindo-se a folha (Fig. 1) até que a leitura de fluxo de ar no manômetro em U reduza-se a 4 mm. O fator de Wiltmeter® (f_w) a 4 mm, no entanto, deve ser obtido em um pré-experimento com a expressão $f_w = B / (x_1 B + A)$ com o mesmo instrumento, pressão de ar ajustada e restrição na mesma espécie de folha, pétala ou material fatiado. Tendo-se valores de f_w , as medidas de firmeza em folhas são feitas em cerca de um minuto. As estimativas do fator de Wiltmeter® (f_w) para alface Americana, chicória e couve foram próximas de um e respectivamente iguais a: 0,94; 0,97 e 0,94 (CALBO et al., 2008). Caso os fatores f_w fossem ainda mais próximos de um, então neste caso, esta correção do método rápido poderia ser omitida.

Com um Wiltmeter® microprocessado possivelmente o método completo de leitura possa ser para se medir a firmeza pelo método de aplanção e com muita rapidez. Por enquanto, no entanto, o denominado método rápido, que envolve correção de ajuste com o fator de Wiltmeter® pode ser um compromisso valioso entre estimativa comparável da pressão de aplanção e medidas puramente práticas obtidas com o método simplificado. Finalmente, para a maioria das aplicações o método denominado simplificado que não envolve correção alguma pode ser utilizado para medições comparativas em avaliações de pós-colheita (STEFANINI et al., 2008), em avaliações de estresse para fins de balizamento de manejo de irrigação e para outras aplicações a plantas ornamentais, fruteiras e órgãos segmentados, nos quais um erro de estimativa sistemático da ordem de 5 a 10% pode ser aceito sem maiores preocupações.

Nestas considerações finais cabe também lembrar que o Wiltmeter® é o primeiro instrumento portátil e que pode ser utilizado com facilidade no campo para medir a firmeza dependente da pressão de turgescência com muita rapidez. De fato, a leitura de Wiltmeter® conforme evidenciaram Ferreira e Calbo, (2008), ao comparar este método com o método da sonda de pressão (HUSKEN et al., 1978), é uma estimativa próxima da pressão de turgescência celular, uma variável que raramente tem sido medida no campo, com alguma confiabilidade, face à falta de métodos específicos.

Referências

- BERNSTEIN, Z.; LUSTIG, I. A new method of firmness measurement of grape berries and other juicy fruits. *Vitis*, Siebeldingen, v. 20, p. 15-21, 1981.
- CALBO, A. G. Desenvolvimento de um equipamento para medir turgor em folhas e outros órgãos (turgômetro). In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FISILOGIA VEGETAL, 3., 1991, Vicososa, MG. *Resumos...* Vicososa: SBFV, 1991. p. 13.
- CALBO, A. G.; CALBO, M. E. R. Medição e importância do potencial de parede. *Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal*, Londrina, v. 1, n. 1, p. 41-45, 1989.
- CALBO, A. G.; FERREIRA, M. D.; PESSOA, J. D. C. Medida da firmeza de folhas com Wiltmeter® - fundamento e método. *Horticultura brasileira*, Brasília, DF, v. 26, n. 2, p. S4154-S4159, 2008. Edição dos Anais do 48 Congresso Brasileiro de Olericultura, Maringá, PR, 2008. suplemento CD ROM. Disponível em: <<http://www.abhorticultura.com.br/eventosx/Info.aspx?idevento=2&idmenu=42>>. Acesso em: 01 dez. 2008.
- CALBO, A. G.; NERY, A. A. Medida de firmeza em hortaliças pela técnica de aplanção. *Horticultura Brasileira*, Brasília, DF, v. 13, n. 1, p. 14-18, 1995.
- EMBRAPA - Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (BR/DF). Adonai Gimenez Calbo, José Dalton Cruz Pessoa. **Sistema de aplanção para avaliar a firmeza dependente da pressão celular em folhas e segmentos de face plana de órgãos macios**. Protocolo (n. provisório) 012070000752 - DEDF. 16 jul. 2007.
- FERREIRA, M.D.; CALBO, A.G. Leitura de firmeza de folhas em Wiltmeter® é rápida e substitui medida de turgescência celular em sonda de pressão alface e couve. *Horticultura brasileira*, Brasília, DF, v. 26, n. 2, p. S4160-S4166, 2008. Edição dos Anais do 48 Congresso Brasileiro de Olericultura, Maringá, PR, 2008. suplemento CD ROM. Disponível em: <<http://www.abhorticultura.com.br/eventosx/Info.aspx?idevento=2&idmenu=42>>. Acesso em: 01 dez. 2008.
- HEATHCOTE, D. G.; ETHERINGTON, J. R.; WOODWARD, F. I. An instrument for non-destructive measurements of the pressure potential (Turgor) of leaf cells. *Journal of Experimental Botany*, Oxford, v. 30, p. 811-816, 1979.
- HUSKEN, D.; STEUDLE, E.; ZIMMERMANN, V. Pressure probe technique for measuring water relations in higher plants. *Plant Physiology*, [Minneapolis], v. 61, p. 158-163, 1978.
- STEFANINI, T. F.; REIS, A. R.; PESSOA, J. D. C.; CALBO, A. G. Avaliação da vida útil da couve-manteiga em hidroconservador de aspersão. *Horticultura brasileira*, Brasília, DF, v. 26, n. 2, p. S5331-S5336, 2008. Edição dos Anais do 48 Congresso Brasileiro de Olericultura, Maringá, PR, 2008. suplemento CD ROM. Disponível em: <<http://www.abhorticultura.com.br/eventosx/Info.aspx?idevento=2&idmenu=42>>. Acesso em: 01 dez. 2008.
- TURNER, N. C.; SOBRADO, M. A. Evaluation of a non-destructive method for measuring turgor pressure in *Helianthus*. *Journal of Experimental Botany*, Oxford, v. 34, p. 1562-1568, 1983.

Circular Técnica, 43

Exemplares desta edição podem ser adquiridos na:
Embrapa Instrumentação Agropecuária
Rua XV de Novembro, 1542 - Caixa Postal 741
CEP 13560-970 - São Carlos-SP
Fone: 16 2107 2800 - **Fax:** 16 2107 2902
e-mail: sac@cnpdia.embrapa.br
<http://www.cnpdia.embrapa.br>
1a. edição
1a. impressão 2008: tiragem 300

Ministério da
Agricultura, Pecuária
e Abastecimento



Comitê de Publicações

Presidente: Dr. Luiz Henrique Capparelli Mattoso
Membros: Dra. Débora Marcondes B. P. Milori,
Dr. João de Mendonça Naime,
Dr. Washington Luiz de Barros Melo
Valéria de Fátima Cardoso

Membro Suplente: Dr. Paulo S. P. Herrmann Junior

Expediente

Supervisor editorial: Dr. Victor Bertucci Neto
Normalização bibliográfica: Valéria de Fátima Cardoso
Tratamento das ilustrações: Valentim Monzane
Editoração eletrônica: Manoela Campos