

CRISTALOGÊNESE DO CLORETO DE COBRE: EMPREGO
DA CRISTALIZAÇÃO SENSITIVA NA DIS-
TINÇÃO DE TIPOS DE LEITE*

Dione Zangelmi Abrahão**
Ibrahim Octávio Abrahão***

RESUMO

O método da cristalização sensitiva é utilizado na distinção de tipos de leite. Foram estudadas três concentrações de cloreto de cobre (0,1; 0,25 e 0,5 g/placa) combinadas a três de leite (0,01; 0,025 e 0,05 g/placa) de três tipos (cru, B e C), com três repetições. Para as 27 combinações possíveis, observou-se nítida influência do leite como modificador do modelo de cristalização do cloreto de cobre. O método mostrou sensibilidade suficiente para distinção

* Trabalho apresentado no III Congresso Brasileiro de Iniciação Científica em Ciências Agrárias. Entregue para publicação em 28/11/83.

** Aluna do Curso de Engenharia Agrônômica, ESALQ/USP, 8º semestre.

*** Professor Titular do Departamento de Solos, Geologia e Fertilizantes, ESALQ/USP.

de tipos de leite, principalmente nas concentrações 0,05 : 0,5 e 0,025 : 0,5.

INTRODUÇÃO

Os cristais de cloreto de cobre $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ que se obtêm por evaporação assumem uma disposição que é função de substâncias presentes na solução. A configuração dos cristais, obtidos em placas especiais e sob condições controladas, é chamada modelo de cristalização. A base do método é que, dada a extrema sensibilidade e versatilidade do sal na sua maneira de cristalizar, cada substância imprime um modelo de cristalização específico.

Desde a descoberta dessa propriedade do cloreto de cobre, o método, desenvolvido por Pfeiffer, passou a ser utilizado na distinção, por via cristalogenética, de soluções as mais variadas. Numerosos trabalhos foram publicados envolvendo substâncias quimicamente bem definidas como ácidos e bases, aminoácidos, vitaminas e medicamentos. A aplicação do método se estendeu a extratos de órgãos de plantas e animais e acabou por se constituir em um método de diagnose de moléstias com a utilização de sangue. Estabelecido o método de diagnose por cristalização, muitos trabalhos foram desenvolvidos, visando a estabelecer os modelos de cristalização para várias moléstias.

O presente trabalho trata do emprego do método a tipos de leite. A hipótese básica do trabalho é que o leite é capaz de modificar a cristalização do cloreto de cobre de maneira específica e que a sensibilidade do método é suficiente para distinguir os tipos através de seus modelos de cristalização.

2. REVISÃO DA LITERATURA

O fenômeno de modificação do hábito de cristalização de sais por substâncias presentes na solução é conhecido desde 1783, quando Romé de Lisle obteve octaedros de NaCl pela adição de uréia a soluções que, quando puras, davam origem a cristais cúbicos. A partir de então, numerosos trabalhos foram desenvolvidos nessa área de pesquisa.

A primeira referência à grande tendência à ramificação e encurvamento de cristais aciculares de cloreto de cobre deve-se a Lehman, citado por GROTH (1906), relacionada a cristais obtidos de soluções ácidas. É a PFEIFFER (1930), entretanto, que se deve o primeiro trabalho no sentido de utilizar a variabilidade do hábito de cristalização do cloreto de cobre no sentido de caracterizar soluções e detectar propriedades utilizáveis na diagnose de moléstias.

Os surpreendentes resultados obtidos por Pfeiffer deram origem a uma série de trabalhos posteriores que utilizaram as mais variadas substâncias como modificadores do modelo de cristalização. Muitos êxitos na diagnose de moléstias pela cristalização sensitiva têm sido relatados. Assim, TRUMPP & RASCHER (1936) trabalharam com hormônios e na detecção de gravidez através de urina, bem como na diagnose de câncer (1938). BÉGOUIN (1938), em comunicação à Academia de Medicina de Paris, relata a aplicação do método na diagnose de moléstias, com excelentes resultados na detecção de tumores malignos e benignos e de tuberculose, mencionando "êxitos terapêuticos impressionantes" na determinação, pelo método, do medicamento mais indicado no tratamento de moléstias diagnosticadas pela mesma via. O próprio PFEIFFER (1938), PFEIFFER & MILEY (1939), GRUNER (1940) e KREBS (1945) apresentaram resultados do método na diagnose de câncer, obtendo de 80 a 97% de precisão. PHILIPSBORN (1954, 1955) propõe Biocristalografia e Biomineralogia como disciplinas científicas.

Muitos autores procuraram aplicar o método a plantas. MORRIS & MORRIS (1938) usaram a cristalização sensitiva em cereais. PFEIFFER (1940) utilizou o método em diferentes órgãos de plantas sãs e atacadas por fungos, observando significativas diferenças nos modelos de cristalização. KRÜGER (1949, 1950) trabalhou com plantas e órgãos animais, detectando que a hora de coleta do material afeta o modelo de cristalização.

SELAWRY & SELAWRY (1957) publicaram excelente livro sobre a cristalização do cloreto de cobre e suas aplicações, relatando experiências anteriores e seus próprios resultados de pesquisa, baseados em 21.000 séries de cristalização. Os autores discutem exaustivamente o método e a técnica de cristalização, estabelecendo a metodologia atual. Embora trabalhando com substâncias bem definidas, com extratos de plantas e órgãos animais, a maior parte da obra é consagrada ao método da diagnose por cristalização, utilizando sangue.

ABRAHÃO (1965) introduziu o método em nosso meio, aplicando-o a extratos aquosos de diferentes órgãos (raízes, caules, folhas, flores, frutos e sementes) de três variedades de feijoeiro, em diferentes estágios de desenvolvimento. Mostrou que os modelos de cristalização variam especificamente em função de variedade, órgão e idade da planta. Posteriormente (1971, 1975, 1976) o mesmo autor estudou a morfologia dos modelos de cristalização na presença de extratos de feijoeiro e a possibilidade de distinção de cultivares da espécie. ABRAHÃO et alii (1976) estudaram o método da cristalização sensitiva aplicada à lisina, à qualidade de bebida de café e na distinção de cultivares de mandioca.

Com relação à aplicação do método a leite, apenas duas menções ocorrem na literatura. PFEIFFER (1940) encontrou modelos de apenas um centro de cristalização para leite fresco e multicentrado para leite fervido por 20 minutos, procurando relacionar os resultados ao teor vitamínico e sua perda parcial ou total, em função do tempo de fervura. SELAWRY & SELAWRY (1957) descrevem al

guns pormenores do modelo de cristalização, sob diversas concentrações, utilizando leite cru. Nenhum dos trabalhos faz menção a tipos de leite.

3. MATERIAIS E MÉTODOS

MATERIAIS

Leite

Foram utilizados três tipos de leite: cru, produzido pelo Departamento de Zootecnia, ESALQ/USP, leite tipo B e leite tipo C (pasteurizado), comerciais.

Placas de cristalização

São placas especialmente montadas, constituídas de um vidro circular plano, tipo cristal temperado, sobre o qual é colado anel de vidro de 9 cm de diâmetro e 1 cm de altura.

Câmara de cristalização

Trata-se de câmara especial, construída segundo especificações de SELAWRY & SELAWRY (1957). Tem 1,60 m x 1,60 m x 2,00 m, paredes duplas, adiabáticas, laváveis do lado interno. O aquecimento se obtém por irradiação de resistências de 36, 72 e 145 ohm, localizadas na base da câmara. Dispõe de uma mesa de vidro, suspensa do teto, de 0,70 m x 1,50 m x 0,01 m, regulável em altura e perfeitamente nivelada. Para o nivelamento, empregou-se

nível com precisão de 0,01 mm/m. Acima da mesa e sobre seu centro está o bulbo de um termorregulador, que permite controle de temperaturas até 50°C, com precisão de 0,1°C.

Cloreto de cobre e material fotográfico

Usou-se cloreto de cobre p.a. Malinkrodt e filmes de 35 mm Panatomic-X.

MÉTODOS

Preparo das soluções

Cada placa de cristalização recebe, já sobre a mesa de vidro, 6 ml de uma solução conjunta de cloreto de cobre e leite, contendo as quantidades especificadas no delineamento. As soluções de cloreto e de leite são preparadas separadamente, de tal forma que cada 3 ml contenham a quantidade desejada do sal e de leite. De cada uma dessas soluções são pipetados 3 ml em um tubo de ensaio, obtendo-se a solução conjunta.

Concentrações

Adotaram-se três concentrações para cloreto de cobre (0,1; 0,25; 0,5) e três para leite (0,01; 0,025; 0,05), sempre expressas em g/placa. Obtiveram-se, assim, 27 concentrações diferentes, que foram estudadas com três repetições.

Tipo de leite	x	Concentração de cloreto de cobre	x	Concentração de leite	x	Repetições
Cru		0,1		0,01		3
B		0,25		0,025		
C		0,5		0,05		

Foram obtidos, também, os modelos de testemunhas, isto é, cloreto de cobre puro, nas concentrações de 0,1, 0,25 e 0,5 g/placa. Introduziram-se, posteriormente, alguns testes com a concentração de 0,75 g de cloreto de cobre, com os três tipos de leite na concentração de 0,025 g/placa.

As concentrações foram adotadas de maneira a cobrir uma faixa já testada em trabalhos anteriores (SELAWRY & SELAWRY, 1957).

Limpeza das placas

Em face da sensibilidade do cloreto de cobre, procedeu-se à rigorosa lavagem das placas, segundo especificações de SELAWRY & SELAWRY (1957). Foram lavadas inicialmente com água quente e, em seguida, com soda morna a 5%. Lavadas novamente em água corrente, as placas receberam, sucessivamente, e por 10 minutos, soluções de HCl 3%, NaF 10% e H₂SO₄ 3%. Em seguida, são lavadas sucessivas vezes com água destilada e bidestilada, secas ao ar, numeradas e levadas à câmara de cristalização.

Decurso da cristalização

A solução conjunta de cloreto de cobre e leite é transferida para as placas já sob a temperatura desejada. Adotou-se o nível de 30°C, fornecido por aquecimento pela resistência de 72 ohm. As placas são dispostas em posição casualizada, de maneira que repetições não fiquem em posições contíguas. Para assegurar a duração de 10-12 horas para a cristalização se completar, usaram-se bandejas contendo silicagel, na proporção de 50 g/placa (Figura 1).

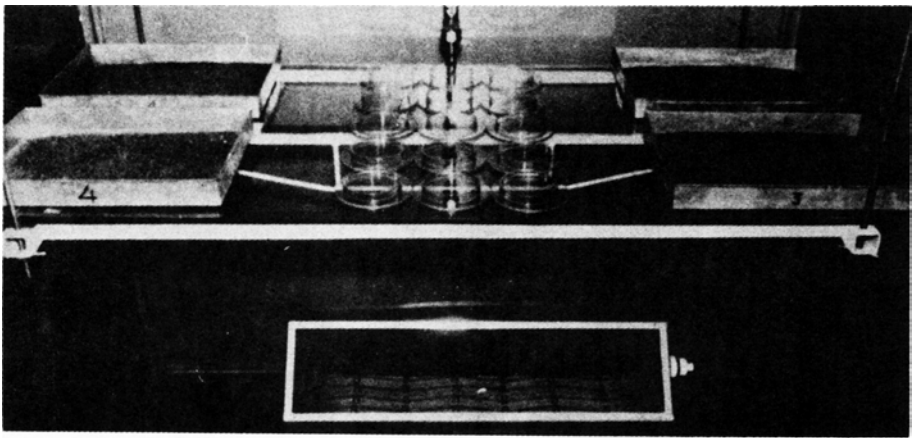


Figura 1.

Exame, descrição e protocolo das séries

O exame dos modelos de cristalização foi feito para cada uma das 27 séries através da comparação simultânea das três repetições de cada série. Anotadas as características morfológicas mais características, descartaram-se eventuais repetições discrepantes, escolhendo-se uma placa como representante da série. Cada placa representante de série foi fotografada inteira e na região mais característica do modelo de cristalização.

RESULTADOS, DISCUSSÃO E CONCLUSÕES

A conclusão geral do trabalho é a confirmação das duas hipóteses inicialmente formuladas: o leite é um modificador específico do modelo de cristalização e o método é sensível para distinção de tipos de leite.

A primeira observação que se destaca da comparação das séries de cristalização é a nítida influência do leite como modificador do modelo de cristalização. Para as 27 concentrações estudadas, as soluções de leite imprimiram fortes modificações em relação aos modelos obtidos das três concentrações de cloreto de cobre puro. Isto significa que mesmo a menor concentração de leite, 0,01 g/placa tem influência característica, sugerindo que testes futuros sejam efetuados com concentrações menores, como 0,005 ou 0,001 g/placa.

Os modelos de cristalização obtidos para cloreto de cobre puro são precisamente os já relatados na literatura (Figuras 2, 3 e 4), mostrando que a técnica geral de cristalização foi satisfatória, nenhum desvio ocorreu em relação ao modelo previsto. Trata-se de cristalização fina, com muitos centros de cristalização, de pequena cobertura na cristalização central, borda não diferenciada e total ausência de anéis concêntricos e formas vazias (vacúolos).

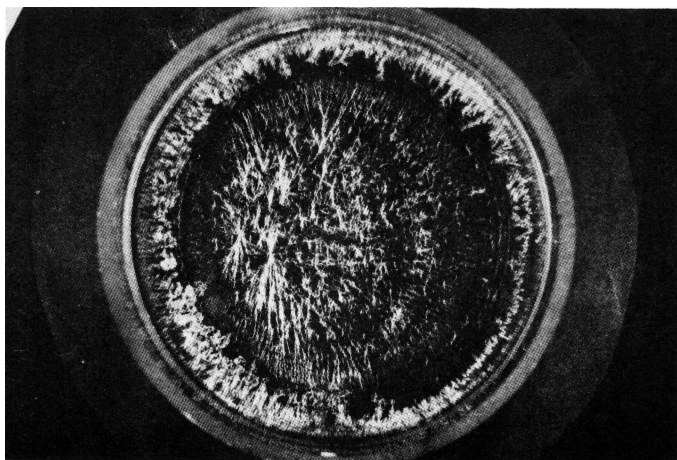


Figura 2. Cloreto de cobre, 0,1 g/placa.

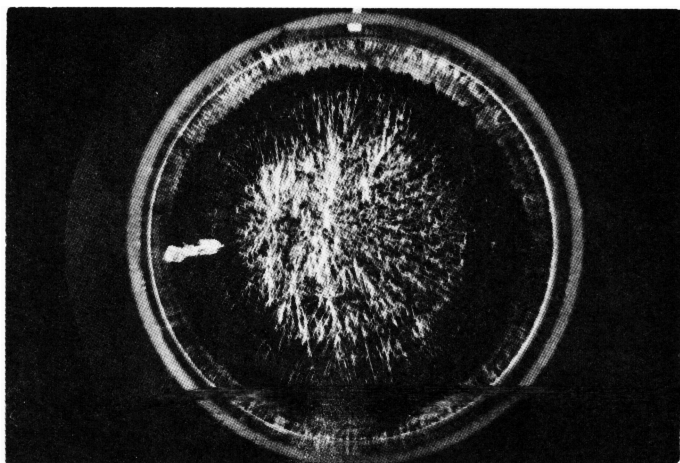


Figura 3. Cloreto de cobre, 0,25 g/placa.

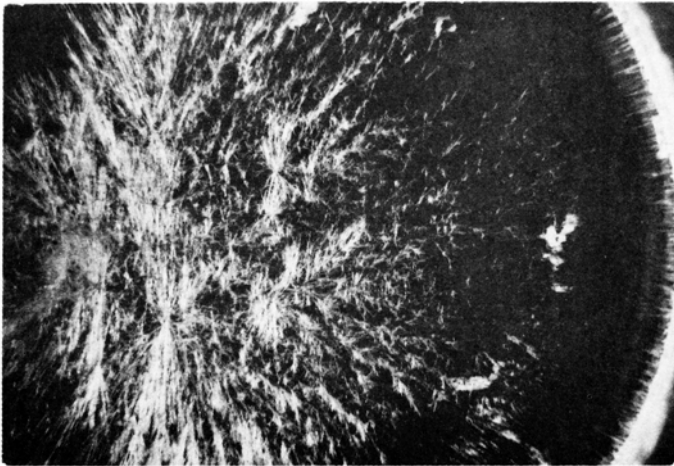


Figura 4. Cloreto de cobre, 0,5 g/placa (x2).

Os modelos de cristalização obtidos na presença de leite são específicos. De um modo geral, para as concentrações mais baixas de cloreto de cobre, a tendência é para ramificação intensa, cristalização mais fina, menor cobertura na cristalização central, tendência para diferenciação da borda e presença de anéis concêntricos. À medida que aumenta a concentração de cloreto e para os três tipos de leite, em todas as concentrações, aumenta a cobertura, diminui a diferenciação da borda, desaparecem os anéis concêntricos, os centros de cristalização tornam-se muito nítidos, com irradiação retilínea em direção à borda e configura-se a presença de vacúolos. Essas formas vazias são muito bem delimitadas, variáveis em número e disposição em função do tipo de leite, com caráter frequentemente poligonal e apresentando deposições em quantidade proporcional à concentração do leite.

Para efeito de distinção de tipos de leite, as concentrações 0,025 : 0,5 e 0,05 : 0,5 mostraram-se mais adequadas. Os modelos de cristalização obtidos para essas

concentrações mostram características morfológicas que permitem a distinção. Para a concentração 0,25 : 0,5, por exemplo, como ilustram as figuras 5 a 10 mostram que a presença de vacúolos é constante. Para leite tipo B, apenas um centro de cristalização ocorre, ao qual associam-se dois vacúolos grandes (Figuras 7 e 8). Para leite cru e tipo C, ocorrem vários vacúolos. Os centros de cristalização a que esses vacúolos estão associados são em maior número, de menor área e mais bem delimitados para leite C (Figuras 9 e 10) do que para leite cru (Figuras 5 e 6). Observe-se, ainda, que, embora os modelos sejam bem centrados nos três casos, apenas para leite tipo C ocorrem anéis concêntricos bem diferenciados e a borda exibe diferenciação.

As observações efetuadas sobre concentrações levou à inclusão de séries adicionais, em que a concentração 0,025 g/placa de leite, foi empregada com 0,75 g/placa de cloreto. Essa concentração mostrou-se excessiva para cloreto, não havendo diferenciação de modelos para tipos de leite e mostrando o acerto das concentrações escolhidas.

SUMMARY

The method known as sensitive crystallization was utilized to distinguish between types of milk. Three concentration of copper chloride were studied (0,1; 0,25 and 0,5 g/plate) in combination with three types of milk (raw, B and C) each in three concentrations (0,01; 0,025 and 0,05 g/plate). All combinations for each milk type were prepared in triplicate.

It was observed in these 27 possible combinations that milk had a definite modifying effect in the mode of formation of copper chloride crystals.

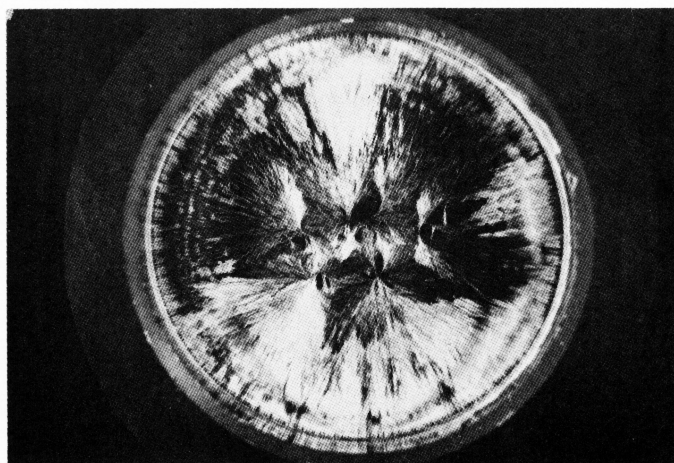


Figura 5. Leite cru, 0,025 : 0,5.

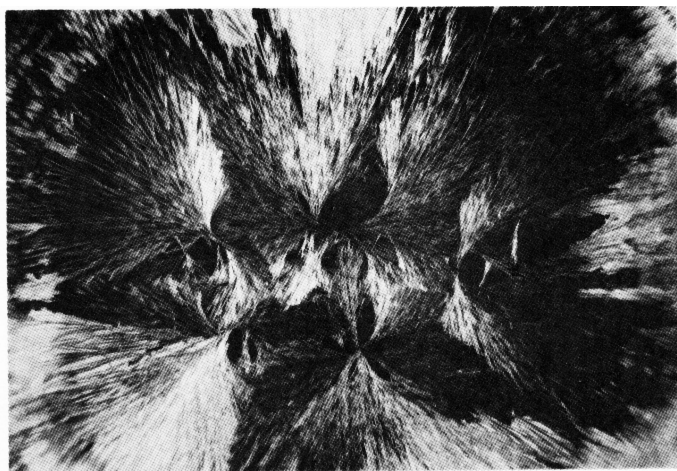


Figura 6. Leite cru, 0,025 : 0,5 (x2).

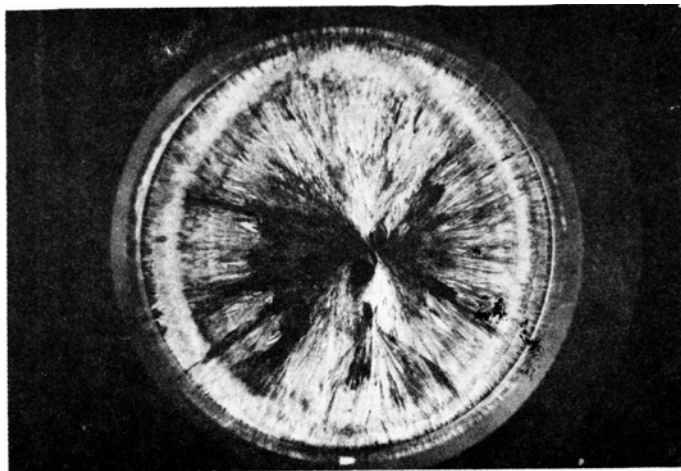


Figura 7. Leite B, 0,025 : 0,5.

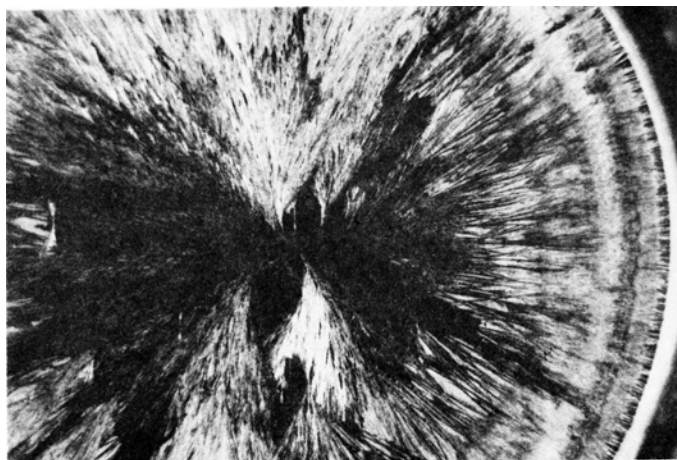


Figura 8. Leite B, 0,025 : 0,5 (x2).

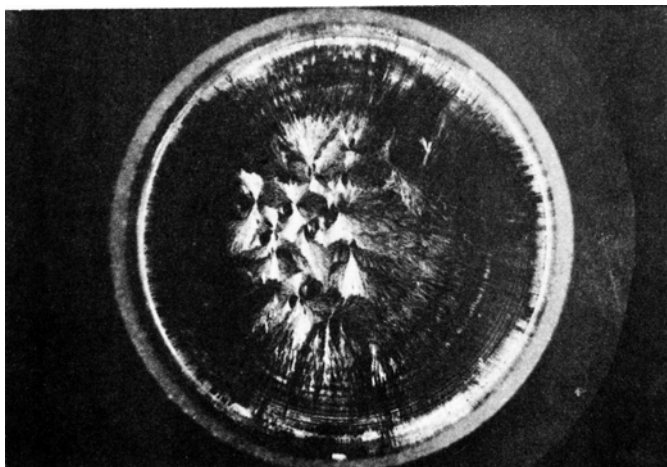


Figura 9. Leite C, 0,025 : 0,5.

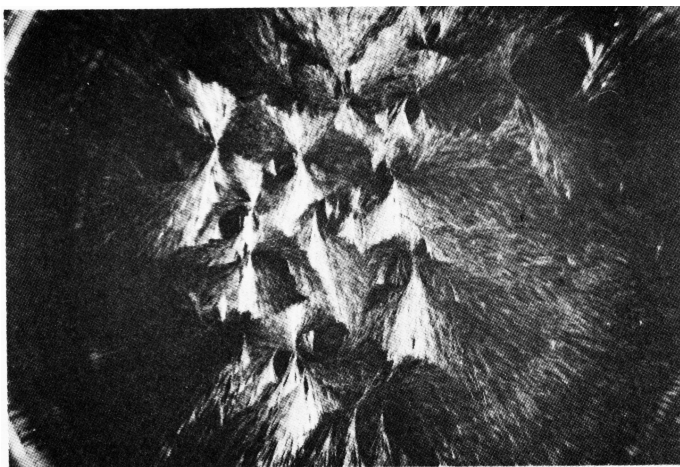


Figura 10. Leite C, 0,025 : 0,5 (x2).

The method was found to be sufficiently sensitive to distinguish between the types of milk studied particularly at the concentrations 0,05 : 0,5 and 0,025 : 0,5.

BIBLIOGRAFIA

- ABRAHÃO, I.O., 1965. Cristalogênese do cloreto de cobre. Aplicação do método de Pfeiffer ao feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.). Tese de Doutorado, ESALQ/USP, 134 p.
- ABRAHÃO, I.O., 1971. Morfologia do cloreto de cobre na presença de extratos aquosos de feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.). *Anais da ESALQ* 28: 199-216.
- ABRAHÃO, I.O., 1975. Cristalogênese do cloreto de cobre: efeito de extratos de sementes de feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.). *Anais da ESALQ* 32: 695-703.
- ABRAHÃO, I.O., 1976. Distinguição de cultivares de feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.) pelo método da cristalização sensitiva. *Anais da ESALQ* 33: 239-335.
- ABRAHÃO, I.O.; ABRAHÃO, J.T.M., 1976. Cristalogênese do cloreto de cobre aplicada à mandioca (*Manihot esculenta* Crantz). *Anais da ESALQ* 33: 555-565.
- ABRAHÃO, I.O.; MIRANDA, L.F.R. de; ABRAHÃO, J.T.M., 1976. Aplicação da cristalização sensitiva na determinação da qualidade de bebida de café. *Anais da ESALQ* 33: 567-575.
- ABRAHÃO, I.O.; MIRANDA, L.F.R. de, 1976. Efeito de lisi na no hábito de cristalização do cloreto de cobre. *Anais da ESALQ* 33: 587-595.

- BÉGOUIN, M.P., 1938. Quelques résultats de la méthode des cristallisations de Pfeiffer dans le diagnostic du cancer et de la tuberculose. **Bulletin de l'Académie de Médecine**, Paris, **119**(25): 746-749.
- GROTH, P., 1906. Chemische krystallographie. Leipzig, Alemanha, Verlag von Wilhelm Engelmann, vol 1, 626 p.
- GRUNER, O.C., 1940. Experience with the Pfeiffer crystallization method for the diagnostic of cancer. **The Canadian Medical Association Journal**. Toronto, Canada, **43**(2): 99-106.
- KREBS, W., 1947. Ein beitrage zur kristallographischen karzinom - diagnostik nach E. Pfeiffer. **Helvet. Chir. acta**. **114**(2): 232-239.
- KRÜGER, H., 1949. Tagezeiten-rhythmen bei Pflanzen Weleda. **Nachrichten** **22**: 8-11.
- KRÜGER, H., 1950. Kupferchlorid - kristallisationen, ein reagens auf gestaltungskräfte des lebendigen. Weleda. Schriftenreihe. **Heft 1**: 5-30.
- MORRIS, D.L.; MORRIS, C.T., 1938. Specific effects of certain tissue extrats on the crystallization pattern of cupric chloride. **Journal of Physical Chemistry** **43**: 623-629.
- PFEIFFER, E., 1930. Kristalle. Orient-Occident Verlag Stuttgart, Alemanha. 81 p.
- PFEIFFER, E., 1938. Über die beeinflussung des kristallisationsbilde des kupferchlorides durch tuberkuloses material. **Munchener Medizinische Wochenschrift** **3**:92-94.
- PFEIFFER, E., 1940. Sensitive crystallization. **Chemical Products and the Chemical News**. Londres, **3**: 21-25.

- PFEIFFER, E.; MILEY, G.P., 1939. The influence of blood of malignant and non-malignant origin upon the crystallization of copper chloride. 3º Congresso Internacional de Cancer, Atlantic City, p. 198.
- PHILIPSBORN, H. von, 1954. Biomineralogie. Fortschritte der Mineralogie 32: 11-25
- PHILIPSBORN, H. von, 1955. Biocristallographie. Bulletin de la Societé Française de Mineralogie et de Cristallographie LXXXVIII: 267-274.
- SELAWRY, A.; SELAWRY, O., 1957. Die kupferchloridkristallisation in Naturwissenschaft und Medizin. Gustav Fischer. Verlag, Stuttgart, Alemanha. 232 p.
- TRUMP, J.; RASCHER, S., 1936. Nachprüfung der E. Pfeiferschen Angaben über die Möglichkeit einer Kristallographischen Diagnostik: Versuch einer Hormonoskopie und Schwangerschafts Diagnose. Münchener Medizinische Wochenschrift 83: 1048-1051.