

APLICAÇÃO DO MÉTODO DE PFEIFFER A SEMENTES  
DE CAFÉ (*Coffea arabica*, L.)<sup>1</sup>

Ibrahim Octavio Abrahão<sup>2</sup>

RESUMO

O presente trabalho trata do estudo dos modelos de cristalização do cloreto de cobre ( $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ) na presença de extratos de sementes de café (*Coffea arabica* L.), variedade Mundo Novo. Pesquisaram-se 16 concentrações diferentes do sistema água-cloreto de cobre-extrato, com 3 repetições, descrevendo-se individualmente cada uma das séries. Os melhores modelos foram obtidos usando-se a técnica de mistura filtrada. Os resultados obtidos permitem recomendar, para cloreto de cobre, concentrações entre 0,5 e 1,0 g/placa e, para extrato, concentrações entre 0,05 e 0,075 g/placa.

INTRODUÇÃO

Quando se estuda um problema qualquer pelo método de Pfeiffer, quer seja ligado a animais ou a plantas, o primeiro trabalho é determinar quais as concentrações que devem ser usadas para a solução de cloreto de cobre e para o extrato. O objetivo deste trabalho é estudar os modelos de cristalização de extratos de sementes de café, variedade Mundo Novo, obtidos com diferentes concentrações. Uma vez estabelecida a melhor faixa de concentrações para os dois componentes e a melhor relação entre ambos, esses dados podem ser empregados no estudo de problemas como qualidade de bebida, caracterização de variedades, perda de poder germinativo e outros.

REVISÃO DA LITERATURA

Desde que Pfeiffer, em 1930, introduziu a cristalização do cloreto de cobre como um método de diagnose de moléstias, aplicável também a plantas, a maior parte dos traba -

---

<sup>1</sup> Entregue para publicação em 11/5/70.

<sup>2</sup> Departamento de Solos e Geologia, da ESALQ.

lhos realizados nesse campo dizem respeito a problemas médicos. Alguns autores, como o próprio Pfeiffer, em 1940, Morris e Morris, em 1938, 1939 e 1941, Krüger, em 1949 e 1950, Selawry, em 1957 e Abrahão, em 1965, trabalharam com diferentes espécies de plantas. Em nenhum caso, todavia, encontra-se qualquer referência à aplicação do método de Pfeiffer a café, o que não apenas justifica o presente trabalho como reforça o critério de que o estudo deve ser iniciado com testes de concentração.

## MATERIAIS E MÉTODOS

### Material

Usaram-se sementes de café despulpado, variedade Mundo Novo, das quais o extrato foi obtido segundo técnica descrita em (1). Todo o material empregado na obtenção dos modelos (placas de cristalização, câmara de cristalização, filtros, material fotográfico, etc.) é o descrito em (1).

### Método

O planejamento inicial visou à combinação das seguintes concentrações de extrato e cloreto de cobre, em g por placa:

<u>Extrato</u>	<u>Cloreto de cobre</u>
0,001	0,10
0,005	0,25
0,010	0,50
0,025	0,75
0,050	1,00

Essas 25 combinações são suficientes para orientar a pesquisa e, eventualmente, sugeridas pelas próprias observações, novas concentrações podem ser introduzidas e outras descartadas. Efetivamente, seguindo esse critério, 16 séries foram suficientes para estabelecer as características principais dos modelos de cristalização e os melhores níveis de concentração.

As séries foram obtidas em 3 conjuntos (5,5 e 6), cada uma com 3 repetições, segundo a técnica geral descrita em (1). Após a obtenção de cada conjunto, as séries foram examinadas e descritas individualmente através de sua repetição mais representativa, o que permitiu orientar os conjuntos seguintes. Todas as placas foram fotografadas individualmente, tomando-se sempre uma fotografia da placa inteira e outras, em número va-

riável, de seus aspectos principais em maior detalhe. Apresenta-se, neste trabalho, uma fotografia representativa da cada série.

Na apresentação dos resultados, procede-se à descrição de cada série, através de caracteres morfológicos descritos em (1) e à comparação das séries de cada conjunto. Essas observações permitem orientar com mais segurança os conjuntos subsequentes.

#### RESULTADOS

##### Série 1 - 0,001 : 0,1 = 1 : 100 (fig. 1)

Identidade perfeita entre 2 repetições, a terceira sendo descartada por apresentar tendência fibrosa. Cristalização muito fina, prejudicando a diferenciação geral. Dois centros de cristalização principais e muito nítidos. Centragem regular. Coordenação e irradiação má. Borda exibindo cristalização extremamente fina, sem diferenciação. Tendência para formação de anéis concêntricos antes da borda, opostos aos centros, de feixes muito finos. Cor de cristalização clara, sem deposições. Formas vazias ausentes.

##### Série 2 - 0,005 : 0,1 = 1 : 20 (fig. 2)

Identidade perfeita com relação a todos os caracteres, menos centragem, pois uma repetição tem menor número de centros que as outras. Diferenciação geral boa, com agulhas de maior calibre que na série 1. Coordenação prejudicada pelo grande número de centros. Borda com nítida tendência a se diferenciar, exibindo já alguns anéis concêntricos muito finos. Anéis concêntricos anteriores à borda nítidos. Clara tendência para ocorrência de formas vazias, que não chegam, todavia, a se caracterizar. Pequena quantidade de deposições, conferindo ao modelo um aspecto embaçado.

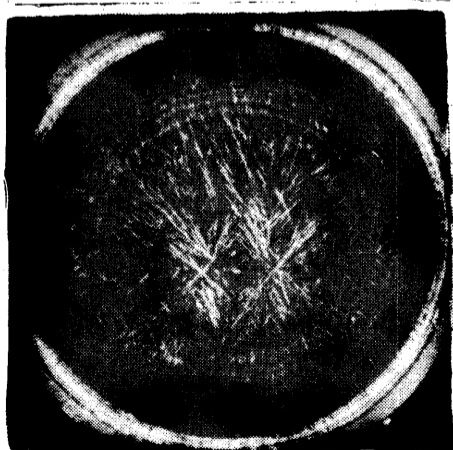


fig. 1: série 1,  
0,001 : 0,1



fig. 2: série 2,  
0,005 : 0,1

Série 3 - 0,01 : 0,1 = 1 : 10 (fig. 3)

Observações gerais semelhantes às da série 2. Cristalização central mais ampla, com os centros de cristalização dando origem a maior área. Deposições aumentam, acentuando aspecto embaçado. Formas vazias tendem a se caracterizar melhor.

Série 4 - 0,025 : 0,1 = 1 : 4 (fig. 4)

Observações gerais semelhantes às das séries 2 e 3, com aumento de deposições e conseqüente embaçamento. Piora a definição de anéis concêntricos. Formas vazias delimitam-se melhor.

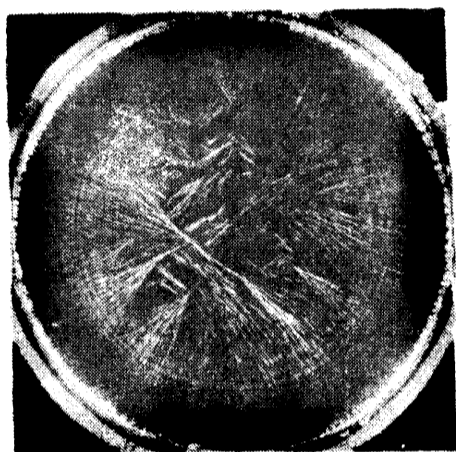


fig. 3: série 3,  
0,01 : 0,1

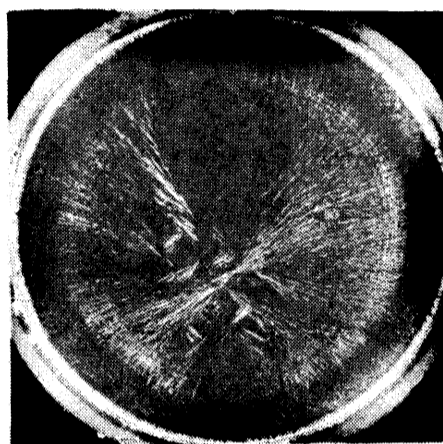


fig. 4: série 4,  
0,025 : 0,1

Série 5 - 0,05 : 0,1 = 1 : 2 (fig. 5)

Mesmos caracteres gerais das séries 2, 3 e 4. Praticamente desaparecem os anéis concêntricos. A borda alarga-se e perde transição com a cristalização central. Deposições aumentam muito, comprometendo seriamente a clareza do modelo. Formas vazias melhoram sua configuração.

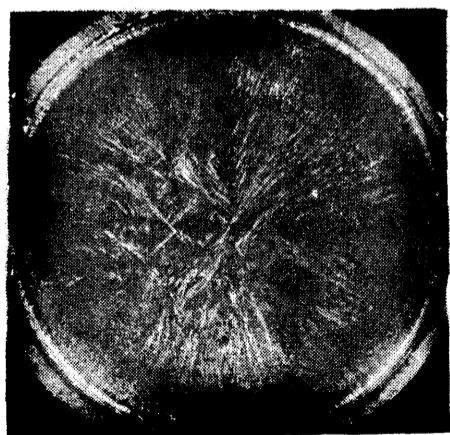


fig. 5: série 5,  
0,05 : 0,1

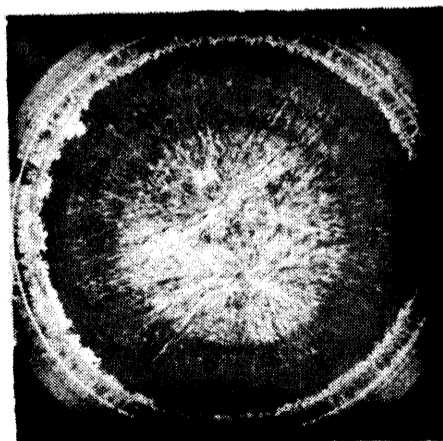


fig. 6: série 6,  
0,001 : 0,25

Estas cinco primeiras séries permitem as seguintes observações gerais:

1. A identidade é sempre satisfatória.
2. A série 1 difere muito das demais.
3. A cor de cristalização acentua-se para verde escuro da série 1 para a série 5.
4. Deposições aumentam no mesmo sentido.
5. Cristalização muito fina em 1, melhorando em 2, 3, 4 e 5.
6. A série 1 não tem borda diferenciada, cuja delimitação piora da série 2 para a série 5.
7. Formas vazias perfeitas não ocorrem em nenhuma série, mas apenas a série 1 não exibe sequer tendência.
8. Anéis concêntricos diminuem em nitidez da série 2 para a série 5.
9. Cristalizações transversais não caracterizam nenhuma série, mas ocorrem nas séries 2 e 4.
10. Calibre das agulhas é equivalente em 2, 3, 4 e 5 e muito mais fino em 1.
11. Diferenciação geral equivalente em 2, 3, 4 e 5, melhor que em 1.
12. Centragem variável e equivalente em 2, 3, 4 e 5, pior que em 1.

Essas observações permitem concluir que a concentração 0,001 : 0,1 deve ser excluída, não havendo influência característica, por insuficiência de extrato e de cloreto. O modelo não chega a se caracterizar, especialmente para formas vazias e borda. A quantidade de deposição é excessiva em 0,05 : 0,1, indicando que essa concentração de extrato deve ser excluída, pelo menos para 0,1 g de cloreto. Para extrato, 0,005, 0,01 e 0,025 são as melhores concentrações.

Série 6 - 0,001 : 0,25 = 1 : 250 (fig. 6)

Identidade perfeita. Cristalização clara, com grande cobertura central. Muitos centros, alguns pontuais, outros mal definidos. Diferenciação geral, coordenação e irradiação más. Ausente qualquer tendência para formas vazias. Borda dupla: a parte interna mostra tendência para anéis concêntricos, a externa é constituída de feixes típicos.

Série 7 - 0,005 : 0,25 = 1 : 50 (fig. 7)

Identidade perfeita. Diferenciação geral boa, modelo característico. Centragem, coordenação e irradiação más. Centros mal definidos. Tendência para formas vazias rudimentares, contendo deposições. Borda externa semelhante à anterior, mais

estreita. Borda interna de cristalização muito fina e nítida, com tendência para anéis concêntricos junto à cristalização central.

Série 8 - 0,01 : 0,25 = 1 : 25 (fig 8)

Identidade regular, numa repetição tendendo para o modelo da série anterior. Centragem regular. Diferenciação geral, coordenação e irradiação muito melhores que em 6 e 7. Modelo definido, prejudicado por deposições. Tendência para vacúolos mal definidos, com deposições diferenciadas. Borda com parte externa estreita e nítida, sem feixes. Parte interna de cristalização muito fina, com tendência para anéis concêntricos.

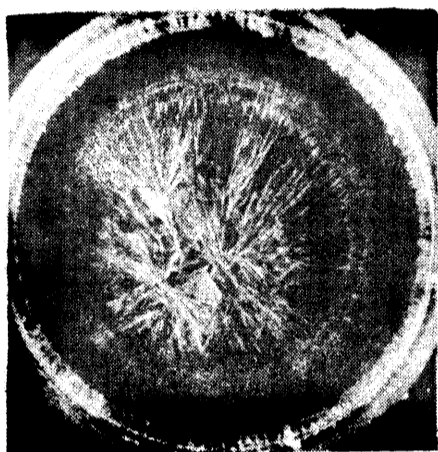


fig. 7: série 7,  
0,005 : 0,25

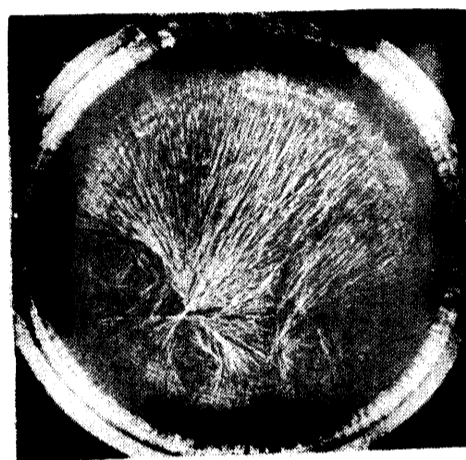


fig. 8: série 8,  
0,01 : 0,25

Série 9 - 0,025 : 0,25 = 1 : 10 (fig. 9)

Identidade perfeita. Caracteres semelhantes aos da série anterior, melhorando nitidamente irradiação e coordenação. Centros mais nítidos e mais próximos. Formas vazias caracterizam-se melhor. Deposições aumentam, especialmente na borda, prejudicando o modelo. A borda é semelhante a da série anterior.

Série 10 - 0,05 : 0,25 = 1 : 5 (fig. 10)

Identidade satisfatória. Modelo bem definido. Centragem má, diferenciação geral, coordenação e irradiação muito boas. Os centros ocupam o centro da placa, mas não há delimitação de cristalização central. As agulhas partem do centro e atingem a borda, sem solução de continuidade. Modelo típico, prejudicando por deposições que afetam também as formas vazias.

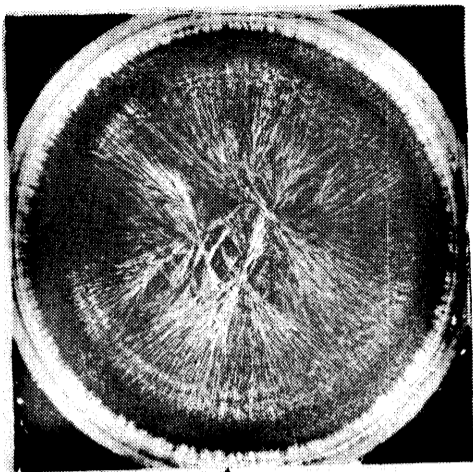


fig. 9: série 9,  
0,025 : 0,25

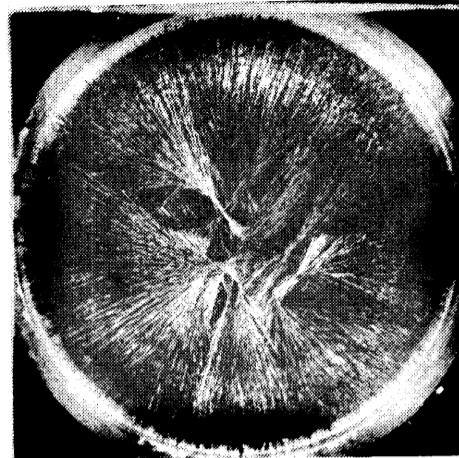


fig. 10: série 10,  
0,05 : 0,25

As séries 6 a 10 permitem as observações:

1. A cristalização escurece com o aumento de extrato.
2. A quantidade de deposições é proporcional à concentração de extrato.
3. A caracterização das formas vazias melhora com o aumento de extrato: ausentes em 6, rudimentares em 7, melhorando em 8, 9 e 10.
4. Parte interna da borda, nítida em 6, diminui progressivamente e desaparece em 10.
5. Parte externa diminui em largura de 6 para 10.
6. Calibre das agulhas aumenta de 6 para 10.
7. O melhor modelo é da série 10 e, excluídas as deposições, parece típico.

A comparação das séries 1 a 5 com 6 a 10, revela os efeitos do aumento da concentração de cloreto de cobre. Essa comparação mostra que os modelos são essencialmente os mesmos, mas o aumento de cloreto de cobre de 0,1 para 0,25 exerce efeito aumentando a caracterização dos quadros gerais.

Nas séries 1 a 10, o extrato primitivo, não diluído, apesar de muito escuro não deixa resíduo, filtrando bem. Com o aumento de cloreto de cobre de 0,1 para 0,25, passou a ser observada uma floculação que ocorre no momento da adição de cloreto sobre o extrato. Essa floculação é proporcional à concentração do extrato e é responsável pelas deposições assinaladas na cristalização. A floculação é retida no filtro, sugerindo que a filtração seja feita depois da mistura.

Em face dessas observações e das descrições anteriores, decidiram-se as seguintes modificações:

1. a concentração 0,001 não deve ser usada;
2. usar a técnica de mistura filtrada;

3. aumentar as quantidades de cloreto;
4. substituir 0,001 : 0,5 por 0,05 : 0,25, que foi a melhor concentração das séries anteriores.

Série 11 - 0,05 : 0,25 = 1 : 5 (fig. 11)

Identidade satisfatória. Diferenciação geral, coordenação e irradiação boas. Centragem perfeita em 2 repetições, com apenas um centro, de onde nasce toda a cristalização central. Agulhas longas, de bom calibre, bem espaçadas. Clara tendência para formas vazias. Deposições ausentes. Borda diferenciada, com anéis concêntricos mal caracterizados.

Série 12 - 0,005 : 0,5 = 1 : 100 (fig. 12)

Identidade perfeita quanto ao tipo de cristalização, que é fibrosa, clara, deixando espaços praticamente vazios entre a borda e a cristalização central, esta muito espessa. Centros não definidos. Diferenciação geral, coordenação e irradiação más. Formas vazias ausentes. Borda mal diferenciada, formada por uma faixa quase sem cristalização e outra de cristalização fina nítida, com tendência para anéis concêntricos.

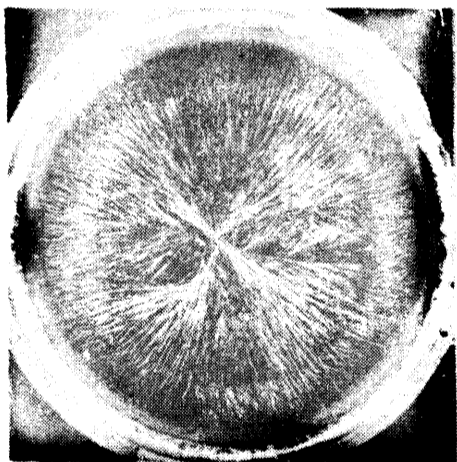


fig. 11: série 11,  
0,05 : 0,25

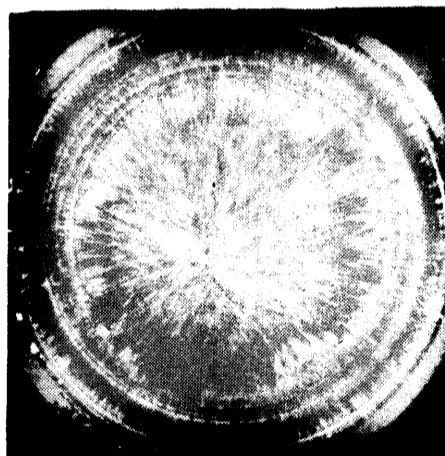


fig. 12: série 12,  
0,005 : 0,5

Série 13 - 0,01 : 0,5 = 1 : 50 (fig. 13)

Caracteres semelhantes aos de 12, mas mais definidos. Diminui a cobertura da região central e aumenta a quantidade de cristalização da borda. A faixa sem cristalização é mais homogênea. Formas vazias rudimentares ou ausentes. Borda espessa, sem anéis concêntricos.

Série 14 - 0,025 : 0,5 = 1 : 20 (fig. 14).

Identidade satisfatória entre 2 repetições, prejudica-



da na terceira pelo número de centros. Centragem boa, com um centro principal que dá origem a toda a cristalização central. Diferenciação geral, coordenação e irradiação muito boas. Formas vazias presentes, com muito pequena quantidade de deposições. Borda estreita, espessa e mal diferenciada, constituída de agulhas paralelas e perpendiculares à borda.

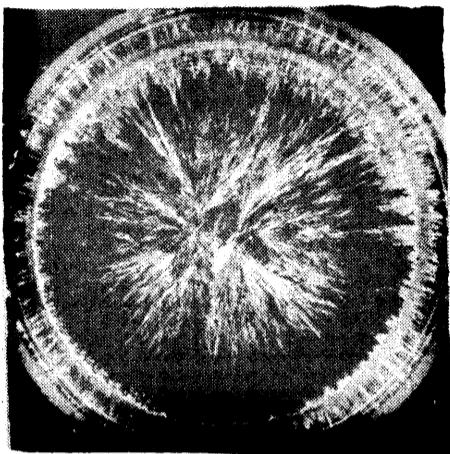


fig. 13: série 13,  
0,01 : 0,5

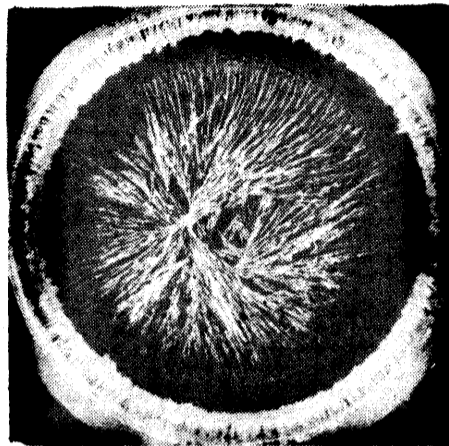


fig. 14: série 14,  
0,025 : 0,5

Série 15 - 0,05 : 0,5 = 1 : 10 (fig. 15)

Caracteres semelhantes aos da série anterior, melhorando centragem, coordenação e irradiação. Aumentam as deposições e permanece a tendência para formas vazias. Borda também semelhante, menos espessa.

Série 16 - 0,1 : 0,5 = 1 : 5 (fig. 16)

Identidade prejudicada pela centragem de uma das repetições. Nas outras duas é perfeita. Diferenciação geral, coordenação e irradiação boas. Agulhas de bom calibre, bem espaçadas. O modelo é típico na cristalização central, enquanto a borda é menos diferenciada. Deposições presentes em pequena quantidade, formas vazias tendendo a se definir em tamanho grande, mas mal delimitadas.

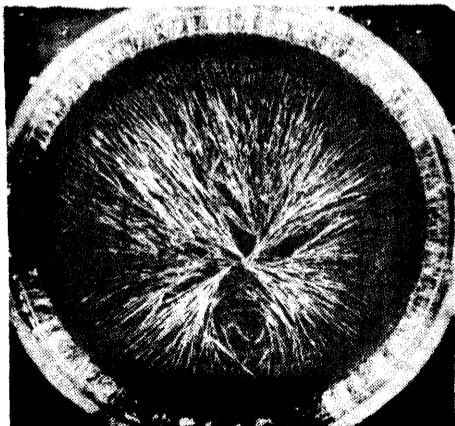


fig. 15: série 15,  
0,05 : 0,5

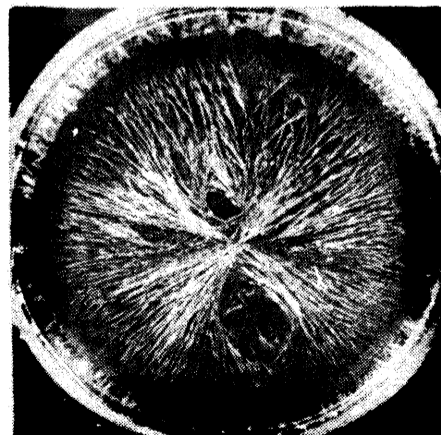


fig. 16: série 16,  
0,1 : 0,5

## CONCLUSÕES

As observações efetuadas nas 16 séries de cristalização autorizam as seguintes conclusões:

1. A concentração 0,1 g de cloreto de cobre não deve ser empregada para extratos de sementes de café, uma vez que conduz a modelos que não se definem como para 0,25 g e 0,5 g. Por outro lado, a concentração 0,001 g de extrato não afeta de maneira característica a cristalização.
2. Floculação é sempre observada na mistura das soluções de cloreto de cobre e de extrato, em quantidades proporcionais à concentração do extrato. Essa floculação reflete-se nos modelos de cristalização em deposições que prejudicam a clareza do quadro geral.
3. Em face de 2., recomenda-se o uso, para sementes de café, da técnica de mistura filtrada, o que autoriza o aumento das concentrações de extrato e de cloreto de cobre. As 6 séries obtidas com essa técnica mostram-se com deposições em muito menor quantidade.
4. Os melhores resultados foram obtidos com a concentração de 0,05 g de extrato e 0,5 g de cloreto de cobre. A concentração ideal está, pois, ao nível de 0,05 : 0,5, com a relação 1 : 10, o que está em pleno acôrdo com resultados já alcançados para plantas por Selawry (1957) e Abrahão (1965). Usando a técnica de mistura filtrada, pode-se recomendar, para sementes de café, concentrações na faixa de 0,05 a 0,075 g por placa, para extrato, e entre 0,5 e 1,0 g por placa para cloreto de cobre.

## SUMMARY

The object of this work is to study the crystallization patterns of copper chlorids ( $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ) as influenced by extract of coffee seeds (*Coffea arabica* L.), variety Mundo Novo. Investigation and description are made for 16 different concentrations of the water-copper chloride-extract system, with 3 replications. The best crystallization patterns were obtained by using the filtered-mixture technique. The results indicate that concentrations between 0,5 and 1,0 g per plate of copper chloride and between 0,05 and 0,075 g per plate of extract can be recommended.

## LITERATURA CITADA

- ABRAHÃO, Ibrahim O., 1965 - Cristalogênese do Cloreto de Cobre. Aplicação do Método de Pfeiffer ao Feijoeiro. Tese de Doutorado apresentada à ESALQ, 134 pp.
- KRÜGER, H., 1949 - Tagezeiten-Rhythmen bei Pflanzen. Weleda-Nachrichten 22, 8-11.
- \_\_\_\_\_, 1950 - Kupferchlorid - Kristallisationen, ein Reagens auf Gestaltungskräfte des Lebendigen. Weleda-Schriftenreihe. Heft 1, 5-30.
- MORRIS, Daniel Luzon & MORRIS, Carol Tilden, 1938 - Specific effects of certain tissue extracts on the crystallization pattern of cupric chloride. Journal of Physical Chemistry 43, 623-629.
- \_\_\_\_\_, 1939 - Glycogen in the seed of *Zea mays* (variety golden bantam). The Journal of Biological Chemistry. Baltimore, U.S.A., vol. 130, 535-544.
- \_\_\_\_\_, 1941 - The modification of cupric chloride crystallization patterns by traces of proteins. The Journal of Biological Chemistry, Baltimore, U.S.A., vol. 141, 515-521.
- PFEIFFER, EHRENFRIED. 1930. Kristalle. Orient-Occident-Verlag. Stuttgart, Alemanha, 81 pp.
- \_\_\_\_\_, 1940 - Sensitive Crystallization. Chemical Products and the chemical news. Londres, nº 3, 21-25.
- SELAWRY, A. & SELAWRY, O. 1957. Die Kupferchloridkristallization in Naturwissenschaft und Medizin. Gustav Fischer-Verlag, Stuttgart, Alemanha, 232 pp.

