

DETERMINACIÓN DE LOS FACTORES DE FORMA DE ÁREA (α) Y VOLUMEN (β), DE CRISTALES DE α -LACTOSA UTILIZANDO MICROSCOPIA ÓPTICA

DETERMINATION OF AREA (α) FORM AND VOLUME (β) FACTORS OF α -LACTOSE CRISTAL USING OPTIC MICROSCOPY

Everaldo J. Montes¹, Ramiro Torres¹ y Ricardo D. Andrade¹

Recibido para evaluación: Julio 17 de 2008 - Aceptado para publicación: Diciembre 8 de 2008

RESUMEN

Cristales de α -lactosa fueron obtenidos a partir de una solución saturada, de concentración inicial (60% p/p) y una temperatura de 90 °C. Posteriormente, la solución fue sometida a un enfriamiento natural (sin adición de semillas) hasta alcanzar 30 °C, dentro de un cristizador de laboratorio con capacidad de 600 mL de la solución. A partir de muestras de cristales separados, lavados e inmersos en etanol grado analítico, fueron efectuadas las mediciones de cuatro dimensiones lineales de diez imágenes de cristales fotografiados y capturadas con un microscopio óptico (Olympus, DXC-107A, Alemania), acoplado a un sistema de análisis de imágenes, Imagen-Pro-Plus (Media, Cibernetics). Con los datos registrados fueron calculados el área superficial (A_c) y el volumen del cristal (V_c), referidos a la longitud característica (L_c) y la esfericidad (f). Los factores de forma superficial (α) y volumétrico (β) de cristales de α -lactosa se calcularon empleando un modelo general no-lineal, ajustando los datos por el procedimiento de regresión con función específica en el software Statistica 6.0. Los valores de los factores de forma superficial y volumétrico obtenidos por microscopía óptica, concuerdan con los reportados por Hodges (1993), lo cual indica que la técnica de microscopía óptica es adecuada para la determinación de los factores de forma superficial y volumétrica de los cristales de α -lactosa.

Palabras clave: cristalización, esfericidad, longitud característica.

¹Departamento de Ingeniería de Alimentos, Universidad de Córdoba, Km 12 vía Cereté – Ciénaga de Oro, Tel (4) 8940508, Fax (4) 7860255, Email: operez@sinu.unicordoba.edu.co, emontes@sinu.unicordoba.edu.co, rtorres@sinu.unicordoba.edu.co, randrade@sinu.unicordoba.edu.co

ABSTRACT

α -lactose crystall were obtained from a 60% (p/p) saturated solution at 90 °C. The solution was air cooled (no seeds) up to 30 °C in a 600 ml solution capacity lab crystallizer. Measures were taken from separated - washed crystall immersed in analytic grade ethanol. Four lineal dimension measures of ten crystall images were photographed using an electronic microscope attached to an image analysis system. Data were used to calculate superficial area (Sa) and crystall volume (Cv) referred to characteristic longitude (Cl) and esphericity (f). α -lactose crystall area form (α) and volume (β) factors were calculated using a non-lineal general model. A regression procedure with Statistic 6.0 specific function was performed. Area form and volume factor values obtained through optic microscopy are in agreement with previous reports, indicating accuracy to determine α -lactose area form and volume factors.

Key words: crystallization, spherity, characteristic longitude.

INTRODUCCIÓN

La cristalización y precipitación de las soluciones son responsables del 70% de todos los materiales sólidos producidos por la industria química (Giulietti *et al.*, 2001). Su amplia utilización se debe a que un cristal formado a partir de una disolución impura es esencialmente puro (excepto que se formen cristales mixtos) y que la cristalización proporciona un método práctico para la obtención de sustancias químicas puras en una condición adecuada para su envasado y su almacenamiento (Mc Cabe *et al.*, 1999). Un elevado rendimiento y alta pureza, son dos objetivos importantes de la cristalización; aunque también la forma y el tamaño del producto cristalino, ya que si los cristales intervienen en un proceso posterior para filtración, lavado, reacción con otros productos químicos, transporte y almacenamiento, es deseable que su tamaño sea adecuado y uniforme. Si los cristales se comercializan como un producto acabado, la aceptación por los consumidores exige cristales individuales resistentes de tamaño uniforme, que no formen agregados y que no se aglomeren en el envase. El tamaño de los cristales tiene gran incidencia en la alta pureza de la miel final en la industria

azucarera, elevando la solubilidad de la sacarosa y el alto °Brix de las mieles (Lodos, 1999).

Existen en la literatura, una amplia gama de conceptos acerca de como definir el tamaño característico del cristal, los factores de forma correspondientes; así como también la distribución de tamaños para materiales polidispersos. Esas diferentes posibilidades normalmente corresponden a los métodos individuales de medida del tamaño de las partículas o de la distribución de tamaño de las partículas, así como al uso final del producto. Por ejemplo, el tamaño de la partícula en el análisis granulométrico realizado con tamices es caracterizado por el tamaño de la malla por el que la partícula puede pasar (Geankoplis, 1998). El diámetro de Stokes, resultado del análisis sedimentométrico, es el diámetro equivalente a una esfera de igual densidad que posee la misma masa y velocidad de sedimentación que la partícula en solución. El análisis instrumental de difracción de láser, en el cual el tamaño de la partícula corresponde al diámetro de la esfera equivalente que tiene el mismo volumen que la partícula

(Brito y Giulietti, 2007). Las partículas que no son equidimensionales, es decir, que son más largas en una dirección que en otras, con frecuencia se caracterizan por la segunda dimensión de mayor longitud. Por ejemplo, en el caso de partículas aciculares, el diámetro equivalente (D_e), deberá referirse al espesor de la partícula y no a su longitud (McCabe *et al.*, 1999).

Se puede utilizar una sola dimensión para medir el tamaño de un cristal invariante de una forma definida. La longitud característica de un cristal (L_c), a partir de la relación entre el área de la superficie total de un cristal (A_c) y el volumen del cristal (V_c) es

$$L_c = \phi_s D_p = \frac{6V_c}{A_c} \quad (1)$$

donde f_s y D_p son la esfericidad y diámetro nominal de la partícula, respectivamente. El diámetro nominal se define a su vez como el diámetro de una esfera de igual volumen (McCabe *et al.*, 1999). Para cubos y esferas $f_s = 1$ y $L_c = D_p$, para sólidos geométricos en general, L_c es próximo al tamaño determinado por tamizado (Randolph y Larson, 1971).

Un cristal, siendo una entidad tridimensional, presenta varias caras, las cuales unidas por aristas y vértices bajo los ángulos interfaciales definidos, resultan en la conformación externa visible de la partícula. Al crecer, cada uno de las caras se mueve en una dirección perpendicular a ella y dirigiéndose a fuera del cristal, de modo que las disposiciones sucesivas de cada cara sean paralelas unas a otras, de esta forma el cristal mantiene inalterado sus ángulos interfaciales. La existencia de potenciales no homogéneos provoca el crecimiento más rápido en ciertas direcciones que en otras, causando elongaciones y distorsiones (Mullin, 2001; Nývlt *et al.*, 2001).

La relación superficie-volumen es una importante propiedad del cristal ya que gobierna la velocidad con que un cristal interactúa con su ambiente. El área superficial puede determinarse de datos de distribución del tamaño o puede medirse directamente a través de la adsorción de moléculas de gas en la superficie de las partículas (Perry y Green, 2001). Los métodos más comunes de medidas de tamaños de partículas y sus respectivos rangos de tamaños son: microscopía óptica (0,2-100 μ m), microscopía electrónica (0,01-5 μ m), tamizado (44-800 μ m), sedimentación por gravedad (1-250 μ m), sedimentación centrifuga, ASTM B214 (0,05-60 μ m), conductibilidad eléctrica, ASTM C690 (0,5-800 μ m), Rayos-X (0,05-0,2 μ m) (Rawle, 2005).

Los cristales de α -lactosa se observan en una amplia variedad de formas, dependiendo de las condiciones de cristalización. Los principales factores que influyen en la formación del cristal de α -lactosa son la presión de precipitación y la concentración de sobresaturación. Cuando la presión es alta y la cristalización es forzada rápidamente, sólo se forman prismas, cuando la presión de precipitación disminuye, la forma de los cristales cambia a lamina en forma de diamantes y pirámides, finalmente en la cristalización lenta el cristal se desarrolla completamente (Nickerson y Patel, 1974).

La disolución de lactosa es de importancia industrial para muchas empresas. La mayoría de los consumidores de lactosa exigen que se disuelva rápida y fácilmente en agua antes de utilizarla (Stryer, 1988). Hay varias variables que pueden afectar la velocidad de disolución de la lactosa: la temperatura de la disolución, turbulencia, distribución de tamaño de la partícula (área de superficie total, longitudes de cristales), concentración de lactosa ya

disuelta, presencia de impurezas, velocidad de adición de calor al proceso y la velocidad de la reacción entre las formas α -lactosa y β -lactosa del cristal (Hodges., *et al.*, 1993). En este trabajo se determinaron los factores de forma de área (α) y volumétrico (β), de la α -lactosa utilizando la técnica de microscopía óptica.

MATERIALES Y MÉTODOS

Los cristales de α -lactosa fueron obtenidos a partir de una solución saturada de α -lactosa (60% p/p) a 90 °C, que se sometió a enfriamiento natural hasta alcanzar 30 °C, en un cristalizador de laboratorio con agitación constante y una capacidad de 600 ml de solución.

Para preparar la solución saturada de α -lactosa se utilizó α -lactosa monohidratada (grado analítico), adquiridas en el mercado en paquetes de 20 Kg y agua destilada. Las muestras de magma (cristales y solución-madre) se depositaron en tubos de centrifuga, para ser pesados y luego centrifugados a 4500 rpm (centrífuga FANEM, modelo 215) durante 10 minutos y así separar la fase sólida (cristales) de la líquida (solución-madre). Los cristales separados del sobrenadante se lavaron con alcohol etílico anhidro y se filtraron al vacío con un filtro de diámetro de poro 0.45 μ m (Marca Pall). Los cristales se secaron en una estufa Modelo 29 Termoprecisión de vacío a 55 °C durante 24 horas.

La determinación de los factores de forma, superficial (α) y volumétrico (β), de los cristales de α -lactosa se realizó a partir de la medición de las dimensiones de diez cristales que fueron fotografiados utilizando un microscopio óptico (Olympus, DXC-107A) acoplado a un sistema de análisis de imágenes (Image-Pro-Plus Media, Cybernetics).

Las muestras de cristales fueron suspendidas en alcohol absoluto, grado analítico, y colocadas en porta objetos de vidrio, para ser analizadas en el microscopio. De la muestra se seleccionaron y se fotografiaron diez campos visuales, utilizando un aumento de 10X en una escala de 50 mm. En cada uno de los campos fotografiados se seleccionaron 10 cristales para determinar sus dimensiones. Fueron realizadas dos lecturas para la longitud de cada cristal, totalizando 200 lecturas para cada longitud del cristal.

La medición de las dimensiones lineales de los cristales α -lactosa se realizó utilizando el software Imagen Pro-Plus (Windows, 4.5, Media Cybernetics), y con estos valores se calculó el área superficial y el volumen de los cristales, al igual que la longitud característica y esfericidad.

Para el análisis e interpretación de los resultados se utilizó el software Statistica 6.0. (StatSoft Inc., 2001) utilizando modelo general no-lineal, los datos experimentales se ajustaron a una ecuación no-lineal y sus parámetros se obtuvieron por el procedimiento de regresión con función específica. La conveniencia de los modelos fue evaluada usando el coeficiente de determinación (R^2), el grado de significancia (P_r) y la probabilidad normal de residuos.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Para facilitar los cálculos de los factores de forma superficial (α) y volumétrico (β) de los cristales de lactosa mostrados en la figura 1a, se aproximó la geometría con la forma presentada en la figura 1b. Los valores medios de las dimensiones (L_1 , L_2 , L_3 y L_4), área superficial (A_s), volumen (V_c), longitud característica (L_c) y esfericidad (f) de los cristales se presentan en la tabla 1.

Tabla 1. Dimensiones promedio, área superficial (A_s), volumen (V_c), longitud característica (L_c) y esfericidad (ϕ) de diez cristales de α -lactosa.

Cristal número	L_1	L_2	L_3	L_4	A_s	V_c	L_c	ϕ
1	78.835	58.315	81.103	26.759	10498.184	61509.081	35.154	0.718
2	151.228	98.791	163.800	42.969	33261.560	320977.686	57.901	0.682
3	67.611	47.748	71.479	18.498	6755.970	29858.454	26.517	0.689
4	102.511	72.310	111.360	31.934	16834.058	118356.512	42.185	0.693
5	76.351	57.934	80.776	18.601	8505.978	41139.077	29.019	0.678
6	161.047	99.981	166.910	43.514	3497.057	350323.384	60.093	0.687
7	104.282	73.953	108.510	32.956	17301.273	127077.788	44.070	0.707
8	56.191	42.035	60.160	18.236	5322.694	21536.613	24.277	0.703
9	105.955	87.689	114.820	38.348	21460.020	178147.321	49.808	0.713
10	70.459	54.374	82.538	14.574	7029.402	27917.500	23.829	0.633
Promedio	97.447	69.313	104.145	28.638	16194.719	127684.341	39.285	0.690

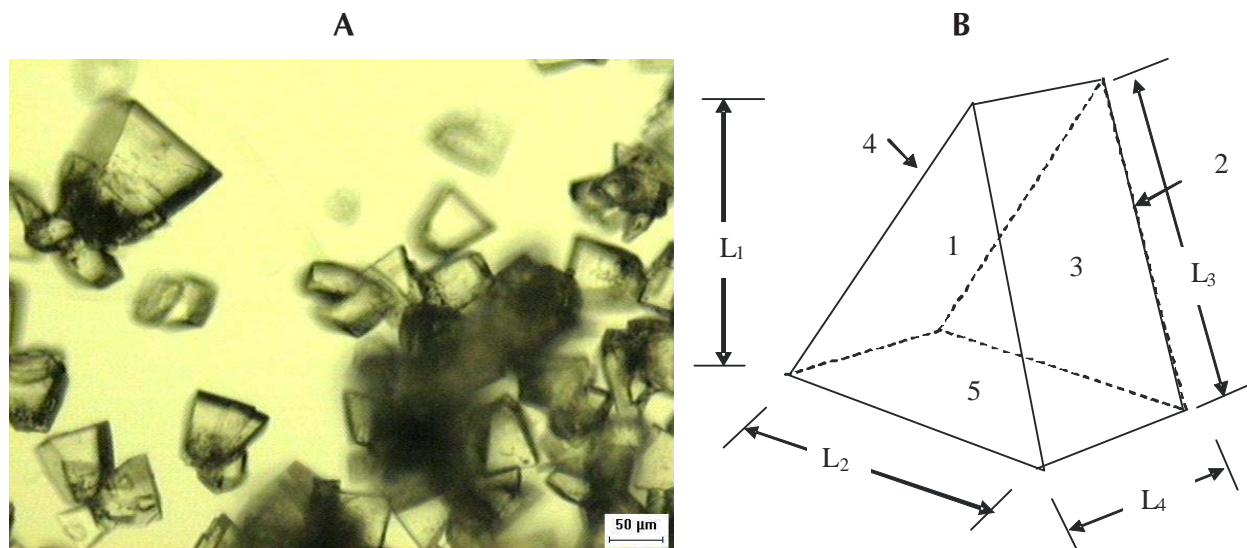


Figura 1. Microfotografía en tres dimensiones para la determinación de los factores de forma α y β obtenida por microscopía óptica (A), y modelo asumido para la forma del cristal de α -lactosa (B).

El área superficial de los cristales (A_s) se calculó utilizando las dimensiones que se presentan en la tabla 1, aproximando la forma de éstos a la del cristal modelo (Figura 1b) así:

$$A_s = 2 \times \left[\frac{L_1 \times L_2}{2} \right] + 2 \times \left[\frac{L_3 \times L_4}{2} \right] + L_2 \times L_4 \quad (2)$$

El volumen de los cristales (V_c) se calculó, aproximando la forma de estos a la del cristal modelo (Figura 1b), como el producto del área del triángulo por el espesor, así:

$$V_c = \left\{ \frac{L_1 \times L_2}{2} \right\} \times L_4 \quad (3)$$

Los valores de los factores de forma superficial y volumétrica fueron correlacionados usando los modelos representado por las ecuaciones (4) y (5).

$$A_s = \alpha \times \{L_c\}^2 \quad (4)$$

$$V_c = \beta \times \{L_c\}^3 \quad (5)$$

Donde α y β son los factores de forma superficial y volumétrico respectivamente y L_c es la longitud característica del cristal. La esfericidad y diámetro nominal de la partícula se calcularon por la ecuación (1).

Los valores ajustados de las constantes α y β determinados por regresión no-lineal,

se muestran en la tabla 2. Todas las correlaciones ajustadas presentaron un valor de R^2 0.9464 y Pr 0.0001. La concordancia entre los valores del área superficial y el volumen calculados a partir de los datos experimentales y los obtenidos a partir de los modelos ajustados, se observan en las figuras 3a y 3b respectivamente ($R^2 > 0.98$).

Hodges *et al.* (1993) determinaron los factores de forma superficial y volumétrico para la α -lactosa monohidratada, considerando como dimensión lineal de referencia la anchura del cristal (es decir, la segunda dimensión lineal del cristal, L_2). Sin embargo, los valores de R^2 son

Tabla 2. Factores de forma α y β obtenidos por regresión

Parámetros	Fuente	Valor del Parámetro	R ²	Nivel-p
α	Autores	9.4824	0.9879	2.2071E-12
β	Autores	1.5919	0.9947	4.0533E-13
α^1	Autores	3.2203	0.9675	1.8993E-10
β^1	Autores	0.3221	0.9464	5.8149E-10
α^1	Hodges <i>et al.</i> (1993)	2.8280		
β^1	Hodges <i>et al.</i> (1993)	0.2667		

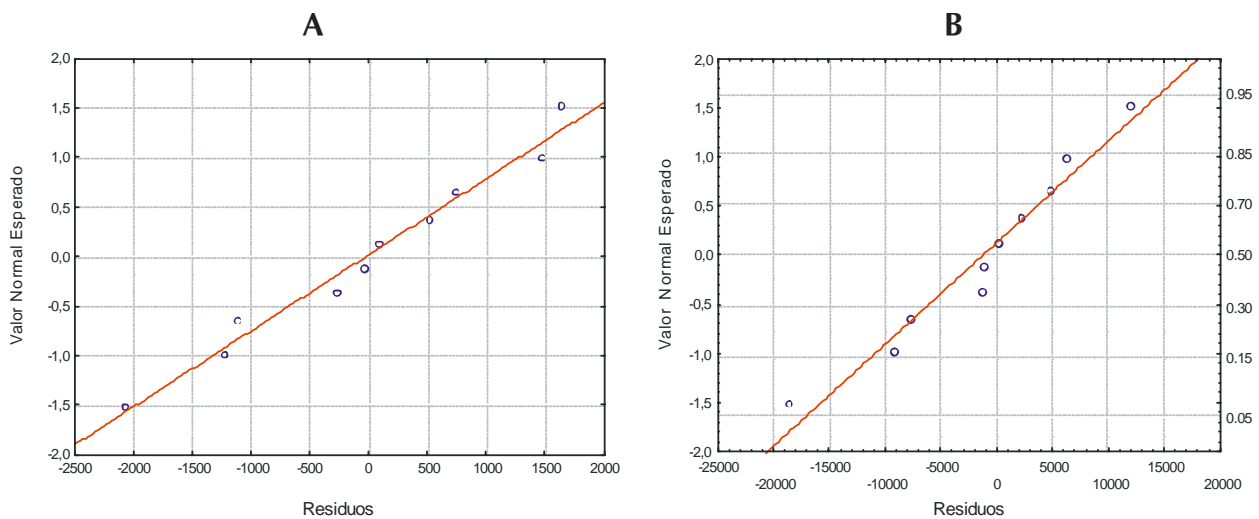


Figura 3. Probabilidad normal de residuos para valores calculados con la Ec. (4) vs valores experimentales de área superficial del cristal de α -lactosa (A), y probabilidad normal de residuos para valores calculados con Ec. (5) vs valores experimentales de volúmenes del cristal de α -lactosa (B).

menores que los ajustados utilizando los modelos con la longitud característica (L_c).

Con el objetivo de comparar los resultados experimentales obtenidos con los datos reportados por Hodges *et al.* (1993), las ecuaciones (4) y (5) se transformaron de la siguiente manera:

$$A_s = \alpha^1 \times (L_2)^2 \quad (6)$$

$$V_c = \beta^1 \times (L_2)^3 \quad (7)$$

Los resultados presentados en la tabla 2, indican una elevada concordancia entre los valores estimados experimentalmente y los reportados por Hodges *et al.* (1993) el cual usó un modelo piramidal para la geometría de los cristales. Sin embargo, la probabilidad normal de residual para el cálculo de los factores de forma determinados con longitud característica son mejores que los determinados con la anchura del cristal.

CONCLUSIONES

- La forma de los cristales de α -lactosa obtenidos en una operación de cristalización a partir de una solución saturada de concentración inicial 60% p/p de α -lactosa y temperatura inicial de 90 °C, sometida a enfriamiento natural hasta alcanzar 30 °C, en un cristizador de laboratorio con agitación constante, tiene forma similar a un cilindro recto de base triangular.
- El área superficial y el volumen de los cristales se pueden determinar en función de su longitud característica.
- Los valores de los factores de forma superficial y volumétrico obtenidos por microscopía óptica, concuerdan con los valores calculados para un modelo piramidal para la geometría de los cristales.
- La microscopía óptica es una técnica adecuada en la determinación de los factores de forma superficial y volumétrica de los cristales de α -lactosa.

BIBLIOGRAFÍA

- Brito, A. y Giulietti, M. 2007. Study of lactose crystallization in water-acetone solutions. *Crystal Research and Technology* 42(6):583-588
- Geankoplis, C. 1998. *Procesos de transporte y operaciones unitarias*. CECSA, Ciudad de México, p884
- Giulietti, M.; Seckler, M.; Derenzo, D.; Ré, M. y Cekinski, E. 2001. Industrial crystallization and precipitation from solutions: state of the technique. *Brazilian Journal of Chemical Engineering* 18(4):423-440
- Hodges, G.; Lowe, E. y Paterson, A. 1993. A Mathematical model for lactose dissolution. *The Chemical Engineering Journal* 53:25-33
- Lodos, J. 1999. Sobre de la reducción de las pérdidas de azúcar en mieles finales. Área de Investigación y Desarrollo del CAI, CAI, Habana, p52
- Mc Cabe, W.; Smith, J. y Harriott, P. 1999. *Operaciones Unitarias en Ingeniería Química*, Mc Graw Hill, Madrid, p925

Mullin, J. 2001. Crystallization. Butterworth-Heinemann, London, p48

Nickerson, T. y Patel, N. 1974. Crystallization in solutions supersaturated with sucrose and lactose. *Journal of Food Science* 37(5):693

Nývlt, J.; Hostomsky, J. y Giuliatti, M. 2001. *Cristalização*. EdUFSCar, São Carlos, p70

Perry, R. y Green, D. 2001. *Manual del Ingeniero Químico*. Mc Graw Hill, Madrid, p18-47

Randolph, A. y Larson, M. 1971. *Theory of Particulate Processes*. Academic, New York, p25

Rawle, A. 2005. *Principios Básicos del Análisis del Tamaño de Partículas*, Malvern Instruments Ltd., London, p5

StatSoft. 2001. *STATISTICA (Data Analysis Software System)*. version 6. URL: <http://www.statsoft.com>. [Accedido: 15-08-2007]

Stryer, L. 1988. *Biochemistry*. W.H. Freeman, New York, p339, 959