

# Sinteza i karakterizacija kristalnog sjemena kalcijeva oksalata monohidrata

---

**Milardović, Anna-Marija**

**Master's thesis / Diplomski rad**

**2022**

*Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj:* **Josip Juraj Strossmayer University of Osijek, Department of Chemistry / Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Odjel za kemiju**

*Permanent link / Trajna poveznica:* <https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:182:725351>

*Rights / Prava:* [In copyright](#)/[Zaštićeno autorskim pravom.](#)

*Download date / Datum preuzimanja:* **2024-12-19**

*Repository / Repozitorij:*

[Repository of the Department of Chemistry, Osijek](#)



Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku  
Odjel za kemiju  
Diplomski sveučilišni studij kemije; istraživački smjer

Anna-Marija Milardović

# Sinteza i karakterizacija kristalnog sjemena kalcijeva oksalata monohidrata

Diplomski rad

Osijek, 2022

Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku  
Odjel za kemiju  
Diplomski sveučilišni studij kemije; istraživački smjer

Anna-Marija Milardović

# Sinteza i karakterizacija kristalnog sjemena kalcijeva oksalata monohidrata

Diplomski rad

Mentor: Doc. dr. sc. Anamarija Stanković

Komentor: Prof. dr. sc. Stela Jokić

Neposredna voditeljica: Silvija Šafranko, mag.chem.

Osijek, 2022

Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku

Odjel za kemiju

Diplomski studij kemije

Znanstveno područje: Prirodne znanosti

Znanstveno polje: Kemija

**SINTEZA I KARAKTERIZACIJA KRISTALNOG SJEMENA KALCIJEVA OKSALATA  
MONOHIDRATA**

**Anna-Marija Milardović**

**Rad je izrađen na: Odjelu za kemiju**

**Mentor: doc. dr. sc. Anamarija Stanković**

**Komentor: prof. dr. sc. Stela Jokić**

**Neposredna voditeljica: Silvija Šafranko, mag.chem.**

**Sažetak**

Kalcijevi oksalati sastavni su dio bubrežnih kamenaca, a najčešće se pronalazi kalcijev oksalat monohidrat i kalcijev oksalat dihidrat dok se trihidrat jako rijetko pronalazi. U ovom diplomskom radu provedena su istraživanja spontanog taloženja kalcijeva oksalata monohidrata pri različitim uvjetima; različite temperature u rasponu od 25-80 °C, različiti načini miješanja otopina (bez miješanja i ultrazvučno miješanje). Dobiveni kristali okarakterizirani su optičkom mikroskopijom, infracrvenom spektroskopijom, termogravimetrijskom analizom i rendgenskom difrakcijom na prahu. Cilj istraživanja ovog diplomskog rada je procesom spontanog taloženja i u različitim uvjetima sintetizirati što veće i pravilnije kristale kalcijeva oksalata monohidrata te na temelju dobivenih rezultata procijeniti koji su uvjeti najbolji za sintezu što pravilnijih kristala.

**Diplomski rad obuhvaća: 50 stranica, 26 slika, 9 tablica i 36 literaturnih navoda.**

**Jezik izvornika: Hrvatski**

**Ključne riječi: bubrežni kamenci/kalcijev oksalat monohidrat (COM)/spontano taloženje**

**Rad prihvaćen: 15.09.2022.**

**Stručno povjerenstvo za ocjenu:**

1. izv.prof.dr.sc. Martina Medvidović- Kosanović, predsjednica
2. prof.dr.sc. Stela Jokić, komentor i član
3. doc.dr.sc. Olivera Galović, član
4. doc.dr.sc. Anamarija Stanković, mentor i zamjena člana

**Rad je pohranjen: Knjižnica Odjela za kemiju, Kuhačeva 20, Osijek**

Josip Juraj Strossmayer University of Osijek  
Department of Chemistry  
Graduate Study of Chemistry  
Scientific Area: Natural Sciences  
Scientific Field: Chemistry

**SYNTHESIS AND CHARACTERIZATION OF CRYSTAL SEEDS OF CALCIUM OXALATE  
MONOHYDRATE**

**Anna-Marija Milardović**

**Thesis completed at:** Department of Chemistry

**Supervisor:** Anamarija Stanković, Ph.D., assistant prof.

**Co-mentor:** Stela Jokić, Ph.D., full prof.

**Immediate supervisor:** Silvija Šafranko, mag.chem.

**Abstract**

Calcium oxalates are an integral part of kidney stones, and calcium oxalate monohydrate and calcium oxalate dihydrate are most often found, while trihydrate is very rarely found. In this thesis, investigations were carried out on the spontaneous precipitation of calcium oxalate monohydrate under different conditions; different temperatures in the range 25-80 °C, different methods of mixing solutions (no mixing and ultrasonic mixing). The obtained crystals were characterized by optical microscopy, infrared spectroscopy, thermogravimetric analysis and X-ray powder diffraction. The aim of the research of this thesis is to synthesize the largest and most regular crystals of calcium oxalate monohydrate by the process of spontaneous precipitation and under different conditions, and based on the obtained results, to assess which conditions are best for the synthesis of the most regular crystals.

**Thesis includes:** 50 pages, 26 figures, 9 tables and 36 references

**Original in:** Croatian

**Keywords:** kidney stones/calcium oxalate monohydrate (COM)/spontaneous precipitation

**Thesis accepted:** 15.09.2022.

**Reviewers:**

1. Assoc. Prof. Martina Medvidović- Kosanović, president
2. Prof. Stela Jokić, comentor and member
3. Assist. prof. Olivera Galović, member
4. Assist. prof. Anamarija Stanković, mentor and alternate member

**Thesis deposited in:** Library of the Department of Chemistry, Ulica Franje Kuhača 20, Osijek

# *Zahvale*

U prvom redu jedno veliko hvala mojoj mentorici doc. dr. sc. Anamariji Stanković na pruženoj prilici za izradu ovog diplomskog rada. Hvala Vam na motivaciji, strpljenju, savjetima i prilici da naučim nove stvari koji će mi zasigurno koristiti u daljnjem radu.

Također, hvala svim mojim dragim kolegicama i kolegama na motivaciji i što su mi uljepšali ove studentske dane.

Najveće hvala mojim dragim roditeljima Marku i Ankici i bratu Kristianu. Hvala vam na podršci, bezuvjetnoj ljubavi i konstantnoj motivaciji. Hvala Vam što ste uvijek tu za mene.

I za kraj, jedno veliko HVALA mojim dragim prijateljicama Maši Smiljanić, Jeleni i Tamari Maslarić. Hvala što ste uvijek tu za mene, na podršci i razumijevanju, što ste me digle kad sam pala. Hvala vam što ste me trpile i ponekad imale osjećaj kao i da vi studirate sa mnom.

Hvala vam što nikada niste odustale od mene 

# SADRŽAJ

1. UVOD.....	1
2. LITERATURNI DIO.....	2
2.1. BIOMINERALIZACIJA .....	2
2.1.1. PATOLOŠKA BIOMINERALIZACIJA .....	3
2.2. BUBREŽNI KAMENCI.....	3
2.3. UROLITIJAZA .....	6
2.4. KALCIJEVI OKSALATI .....	6
2.4.1. KALCIJEV OKSALATA MONOHIDRAT (COM).....	7
2.4.2. KALCIJEV OKSALAT DIHIDRAT (COD).....	10
2.4.3. KALCIJEV OKSALAT TRIHIDRAT (COT) .....	11
2.5. PROCES TALOŽENJA .....	14
2.6. METODE ANALIZE I IDENTIFIKACIJE KALCIJEVIH OKSALATA.....	17
2.6.1. OPTIČKA MIKROSKOPIJA (OM).....	17
2.6.2. INFRACRVENA SPEKTROSKOPIJA (FTIR).....	17
2.6.3. TERMOGRAVIMETRIJSKA ANALIZA (TGA) .....	19
2.6.4. RENDGENSKA DIFRAKCIJA NA PRAHU (PXR).....	21
3. EKSPERIMENTALNI DIO .....	22
3.1. PRIBOR I APARATURA .....	22
3.2. POPIS KEMIKALIJA .....	22
3.3. PRIPREMA OTOPINA.....	23
3.4. SINTEZA KRISTALNOG SJEMENA COM.....	28
3.5. KARAKTERIZACIJA KRISTALNOG SJEMENA .....	32
3.5.1. OPTIČKA MIKROSKOPIJA (OM).....	32
3.5.2. INFRACRVENA SPEKTROSKOPIJA (FTIR).....	32
3.5.3. TERMOGRAVIMETRIJSKA ANALIZA (TGA) .....	33
3.5.4. RENDGENSKA DIFRAKCIJA NA PRAHU (PXR).....	34
4. REZULTATI I DISKUSIJA .....	36
4.1. SINTEZA 1. – 8. UZORKA .....	36
4.2. SINTEZA 9. – 14. UZORKA.....	37
4.3. SINTEZA 15. – 18. UZORKA.....	39
4.4. SINTEZA 19. I 20. UZORKA .....	41
4.5. SINTEZA 21. I 22. UZORKA .....	42
5. ZAKLJUČAK .....	47
6. LITERATURA.....	48

# 1. UVOD

Današnjim modernim i užurbanim načinom života kao i lošim prehrambenim navikama sve češće dolazi do pojave bubrežnih kamenaca u ljudskoj populaciji neovisno o životnoj dobi i spolu. Prema statističkim podacima do 70-te godine života 5 % žena i 12 % muškaraca imaju problema uzrokovanih bubrežnim kamencima. Upravo zbog toga zadnjih nekoliko desetljeća sve učestalije provode se istraživanja s ciljem objašnjavanja uvjeta nastanka bubrežnih kamenaca, njihovih mehanizama i kao najvažnije sprečavanje nastanka istih. No, još uvijek u potpunosti nisu otkriveni čimbenici koji inhibiraju taloženje bubrežnih kamenca kod pojedinaca [1].

Pojava taloženja čvrste kristalne tvari na unutarnjim stjenkama bubrega koja izaziva infekciju urinarnog sustava i oštru bol naziva se nefrolitijaza ili urolitijaza koja je specifičan oblik patološke biomineralizacije. Kemijski sastav bubrežnih kamenaca teoretski je vrlo raznolik te ovisi o kemijskim svojstvima i sastavu urina. Analizama je utvrđeno kako su bubrežni kamenci smjese različitih anorganskih soli, a u najvećem postotku nalaze se kalcijeve soli u obliku oksalata. Kalcijevi oksalati dolaze u tri oblika: kalcijev oksalat monohidrat (*calcium oxalate monohydrate*, COM) i kalcijev oksalat dihidrat (*calcium oxalate dihydrate*, COD) koje pronalazimo u sastavu bubrežnih kamenaca te kalcijev oksalat trihidrat (*calcium oxalate trihydrate*, COT) koji se jako rijetko pronalazi u sastavu istih [2].

Prema nedavnim istraživanjima dokazano je kako je čak 80 % bubrežnih kamenaca u obliku kalcijevih oksalata koji se mogu pojaviti u čistom obliku, ali u većini slučajeva pojavljuju se u smjesi sa fosfatnim solima. Upravo ta činjenica privukla je veliku pažnju znanstvenika za istraživanje kalcijevih oksalata u laboratorijskim uvjetima kako bi došli do zaključka pri kojim uvjetima dolazi do nastanka bubrežnih kamenaca kao i sam mehanizam nastanka [1].

Cilj ovog rada je sintetizirati što veće, uniformnije i pravilnije kristale kalcijeva oksalata monohidrata (COM) procesom spontanog taloženja pri različitim uvjetima i karakterizirati ih. Za karakterizaciju kristala korištene su slijedeće metode: optička mikroskopija (OM), infracrvena spektroskopija (FTIR), termogravimetrijska analiza (TGA) i rendgenska difrakcija na prahu (PXRD).



## 2. LITERATURNI DIO

### 2.1. BIOMINERALIZACIJA

Proces gdje živi organizam stvara minerale naziva se biomineralizacija. Odnosno, proces biomineralizacije jest skup fizioloških i biokemijskih procesa pri čemu dolazi do nastanka čvrstih anorgansko-organskih komponenti koji po kristalnoj strukturi i kemijskom sastavu odgovaraju mineralima. Sama biomineralizacija važna je za područja znanosti koja se bave istraživanjima minerala poput biokemije, kemije, biologije, itd. Složeni spojevi koji nastaju u kontroliranim uvjetima te imaju određena svojstva poput oblika, funkcije i veličine te nastaju u živim organizmima nazivamo biomineralima. Tako, na primjer, biominerali izgrađuju oklope i zube živih organizama, dok biominerali fosfatnog sastava izgrađuju životinjske i ljudske kosti. Na samom početku istraživanja biominerala područje znanosti nazivalo se „kalcifikacija“ zbog toga što je većina otkrivenih biominerala sadržavala kalcij. Daljnjim istraživanjima otkriveno je kako biološki minerali sadržavaju i ostale katione kao što su željezo, stroncij i barij te je zbog toga naziv znanstvenog područja preimenovan u biomineralizaciju. Najvažniji biomineral u živom organizmu koji je potreban za procese u staničnom metabolizmu jest biomineral koji u svom sastavu sadrži kalcij. Čak 50 % biominerala u svom sastavu sadržavaju kalcij, a u tragovima se pronalaze biominerali koji sadržavaju mangan, željezo, olovo, cink, stroncij pa čak i arsen [1].

Sam mehanizam nastanka biominerala dijeli se na dva procesa, a to su biološki kontrolirana mineralizacija (BCM) i biološka inducirana mineralizacija (BIM). Organizmi mijenjanjem svog mikrookruženja pomoću biološko inducirane mineralizacije stvaraju idealne fizikalno-kemijske uvjete za nastanak minerala. Biološki kontrolirana mineralizacija kontrolirani je proces pri čemu nastaju anorgansko-organski kompozitni materijali te ovisi o staničnim procesima koji utječu na morfologiju, nukleaciju i rast nastalih bioloških minerala [2].

Proces biomineralizacije moguć je na točno određenom mjestu te razlikujemo:

- a) Epicelularni proces – na stjenkama stanice
- b) Intercelularni proces – u prostoru između gusto složenih stanica

- c) Intracelularni proces – u ograđenom prostoru unutar stanice
- d) Ekstracelularni proces – izvan stanice, na površini ili unutar netopljive makromolekularne matrice

Na ekstracelularnim i intracelularnim mjestima dolazi do biološki kontrolirane mineralizacije kojom se opisuje fiziološka mineralizacija u zubima i kostima [2].

Iako su biominerali, nastali procesom biomineralizacije, izuzetno važni za pravilan rast i razvoj živog organizma istim mehanizmima može doći i do nastanka neželjenih biominerala procesom patološke biomineralizacije.

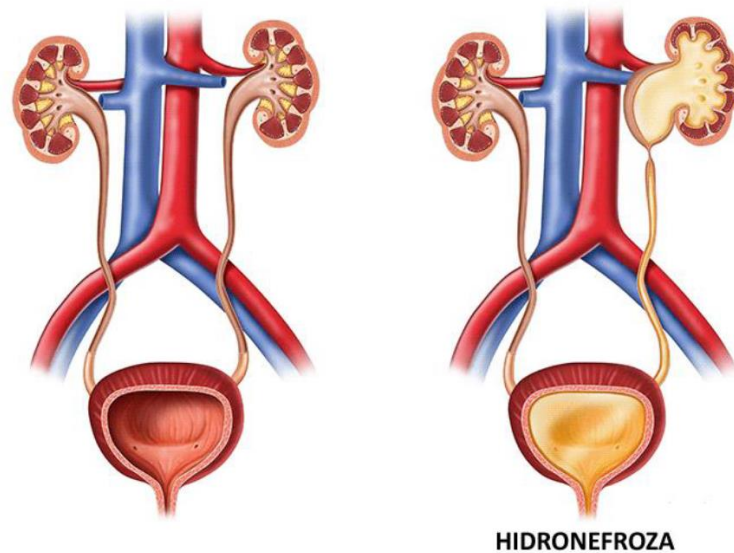
### 2.1.1. PATOLOŠKA BIOMINERALIZACIJA

Proces patološke biomineralizacije definira se kao nastanak neželjenih bioloških minerala u živim organizmima. Aterosklerotični plakovi, karijes na zubima i bubrežni kamenci su neki primjeri patološki mineraliziranih materijala. Mehanizam patološke biomineralizacije isti je kao i mehanizam za biomineralizaciju. U prvom koraku mehanizma dolazi do nukleacije s određenim stupnjem prezasićenosti. Nukleacija može biti potpomognuta organskim matriksom poput glikoproteina i kolesterola ili može biti inhibirana različitim aditivima kao što su citratni ili magnezijevi ioni [3].

## 2.2. BUBREŽNI KAMENCI

Jedna od najbolnijih i najčešćih bolesti bubrega i urinarnog trakta su upravo bubrežni kamenci. Veliki dio populacije ovisno o geografskom položaju obolijeva od njih. Bubrežni kamenci nastaju unutar bubrega te se odvajaju od vezne površine i prolaze duž mokraćnog sustava gdje dolazi do oštećenja stjenke mokraćovoda te mogu uzrokovati djelomični ili potpuni zastoj na nekom dijelu sustava. No, i dalje u potpunosti nije jasan uzrok pokretanja bubrežnog kamenca s vezne površine. Oni nastaju u interakciji bubrežnog tkiva i kristala kalcijeva oksalata, a oštećenje bubrežnog tkiva, koje služi kao vezno mjesto za agregaciju kristala, pogoduje nastanku kamenaca. Medicinski izraz za opisivanje kamenaca u urinarnom traktu

naziva se urolitijaza. Neki od čimbenika koji utječu na stvaranje nastanku istih su pH urina, uvjeti hiperkalciurije i hiperoksalurije, anatomija mokraćnog sustava, kemijski sastav urina, prehrana i životna okolina. Mjesto zadržavanja kamenca ovisi o dužini i širini mokraćovoda te uzrokuje blokiranje protoka urina što dovodi do hidronefroze. Na **Slici 1.** prikazana je pojava hidronefroze tijekom pokretanja kamenca. Hidronefroza je proširenje kanalnog sustava bubrega pri čemu dolazi do nakupljanja mokraće kao uzrok povratnog pritiska na bubrež [4-6].



**Slika 1.** Prikaz pojave hidronefroze [6].

Sastav bubrežnih kamenaca utvrđen je analizom te se sastoji od smjese oksalata, fosfata i mokraćne kiseline. Daljnjim istraživanjima utvrđeno je kako se 80 % kamenaca sastoji od kalcijeva oksalata i kalcijeva fosfata koji su neophodni za rast i razvoj mišića i kosti u živim organizmima, a sastavni su dio ljudske prehrane. Dok se cisteinski kamenci i kamenci mokraćne kiseline pojavljuju u rjeđim oblicima. U **Tablici 1.** mogu se vidjeti glavne komponentne bubrežnih kamenaca [7].

**Tablica 1.** Kemijski sastav bubrežnih kamenaca [7].

KEMIJSKI SPOJ	NAZIV MINERALA	KEMIJSKA FORMULA	SKRAĆENICA SPOJA
<b>Oksalati</b>			
Kalcije oksalat monohidrat	Vevelit	$\text{CaC}_2\text{O}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$	COM
Kalcijev oksalat dihidrat	Vedelit	$\text{CaC}_2\text{O}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	COD
<b>Fosfati</b>			
Kalcijev fosfat	Hidroksiapatit	$\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3(\text{OH})$	HA
Kalcijev hidrogenfosfat	Brušit	$\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	BR
Magnezijev amonijev fosfat heksahidrat	Struvit	$(\text{NH}_4)\text{Mg}(\text{PO}_4) \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	STR
<b>Purini</b>			
Mokraćna kiselina		$\text{C}_5\text{H}_4\text{N}_4\text{O}_3$	UA
Mononatrijev urat monohidrat		$\text{NaC}_5\text{H}_3\text{N}_4\text{O}_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$	MSU
<b>Ostali</b>			
L-cistein		$\text{C}_6\text{H}_{12}\text{N}_2\text{O}_4\text{S}_2$	CY

Kalcijevi oksalati su gotovo sastavni dio svih bubrežnih kamenaca te se njihovi kristali razlikuju po morfološkim svojstvima. Kalcijev oksalat monohidrat i kalcijev oksalat dihidrat pronalaze se u bubrežnim kamencima, a kalcijev oksalat trihidrat gotovo se ne pronalazi. Kalcijevi fosfati uočavaju se u jednoj trećini kamenaca u obliku brušita ili apatita, a dolaze u smjesi s kalcijevim oksalatima [8].

Iako oko 90 % bubrežnih kamenaca, čiji je promjer kristala manji od 5 mm, iz organizma izađe kroz urinarni trakt djelovanjem inhibitora za sprečavanje nastanka i taloženja kristala, kod nekih osoba se liječenje prvenstveno provodi uz pomoć raznih metoda s lijekovima, metodom razbijanja kamenaca ili perkutanom nefrolitomijom, uretroskopijom te litropsijom odnosno razbijanjem kamenaca pomoću valova [4].

Patogeneza bubrežnih kamenaca nije dovoljno objašnjena te zbog toga još uvijek ne postoji metoda kojom bi jasno zaključili jesu li osobe sklone stvaranju bubrežnih kamenaca ili

nemaju tu tendenciju [9]. Najčešće se istražuju kamenci oksalatnog sustava i uvjeti nastanka kristala što je i tema ovog rada.

### 2.3. UROLITIJAZA

Urolitijaza je nastajanje čvrste, kristalne tvari u mokraćnom sustavu, a rezultat je nastanak bubrežnih kamenaca. Nastanak kristalnih tvari odvija se procesom patološke biomineralizacije. Sam mehanizam odvija se kao i proces kalcifikacije. Klasificira se s obzirom na mjestu nastanka te razlikujemo nefrolitijazu (bubrežni kamenci), cistolitijazu (kamenci u mokraćnom mjehuru) i ureterolitijazu (kamenci u mokraćovodu). Urolitijaza je dva do tri puta češća kod muškaraca nego kod žena. Istraživanjima je dokazano kako do 70. godine života od nje oboli 5 % žena i 12 % muškaraca. Nažalost, urolitijaza je recidivirajuća bolest što bi značilo kako se kamenac ponovno stvara u prosjeku svake 4 godine. Nutritivni, ekološki i genetički čimbenici neki su od uzroka ponovnog nastanka kamenaca [10].

Interakcijom bubrežnog tkiva i kristala kalcijevih oksalata dolazi do nastanka bubrežnih kamenaca. Oštećenje površinskog sloja unutrašnjosti bubrega pogodno je za stvaranje kamenaca te služi za agregaciju do određenog oblika i veličine. Kako se uslijed „putovanja“ kroz mokraćni sustav oštećuje tkivo koje služi kao podloga za recidiviranje što je i utvrđeno jer se kamenci uvijek stvaraju u istom bubregu [10].

Proces taloženja kristala potaknut je nedostatkom inhibitora poput citratnog, magnezijevog ili pirofosfanog iona ili u prisutnosti organskog matriksa koji je pogodan za stvaranje predloška za rast kristala. No sam mehanizam nastanka kristala opisan je kroz procese nukleacije od sastavnih jedinica zatim rasta i agregacije [11].

### 2.4. KALCIJEVI OKSALATI

Spojevi koji su široko rasprostranjeni u prirodi su upravo oksalati te ih se može pronaći na primjer u biljkama u obliku kalcijeve, magnezijeve ili natrijeve soli. Također, čvrstu vezu oksalna kiselina stvara s mineralima kao što su kalcij, kalij, natrij i magnezij te su ti spojevi soli

oksalata. Oksalati se pronalaze i u ljudskom organizmu u određenim količinama koje organizam dobiva iz namirnica biljnog i životinjskog podrijetla. Kalcijevi oksalati su soli oksalne kiseline i upravo oni čine oko 80% svih bubrežnih kamenaca [8].

U prirodi se kalcijevi oksalati pronalaze u tri hidratna oblika, a to su termodinamički stabilan kalcijev oksalat monohidrat (COM,  $\text{CaC}_2\text{O}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ , vevelit), metastabilni kalcijev oksalat dihidrat (COD,  $\text{CaC}_2\text{O}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ , vedelit) i metastabilni trihidrat (COT,  $\text{CaC}_2\text{O}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ , kaoksit) [12]. Analizama su utvrđeni morfološki oblici kalcijevog oksalata te je COM prepoznatljiv po smeđoj boji, sivim prevlakama i tvrdim konzistencijama. Kamenci COD-a su sferičnog oblika, mali, žute do žutosmeđe nakupine pločica dok kod smjesa COM-a i COD-a obično prevladavaju karakteristike dihidrata zbog njegovog pojavljivanja na samoj površini kamenaca. U bubrežnim kamencima pronalaze se kristali COM-a i COD-a, dok COT nije pronađen u kamencima nego je on sastavni dio urina [12].

Procesom taloženja, prema Ostwaldovoj teoriji, iz prezasićene otopine prvo dolazi do nastanka najnestabilnije hidratne faze koja se u određenom vremenu transformira u najstabilniju, termodinamičku fazu. Topljivost kalcijevih oksalata može se opisati odnosom  $\text{COM} < \text{COD} < \text{COT}$  te se može zaključiti kako je kalcijev oksalat trihidrat prekursor za nastanak hidratne faze dihidrata i na kraju termodinamički najstabilnijeg monohidrata. Na temperaturi od 116,5 °C, eksperimentalno je dokazano, dehidratacijom sintetičkog kalcijevog oksalata trihidrata dobiva se monohidrat bez stvaranja dihidrata kao intermedijera [13,14].

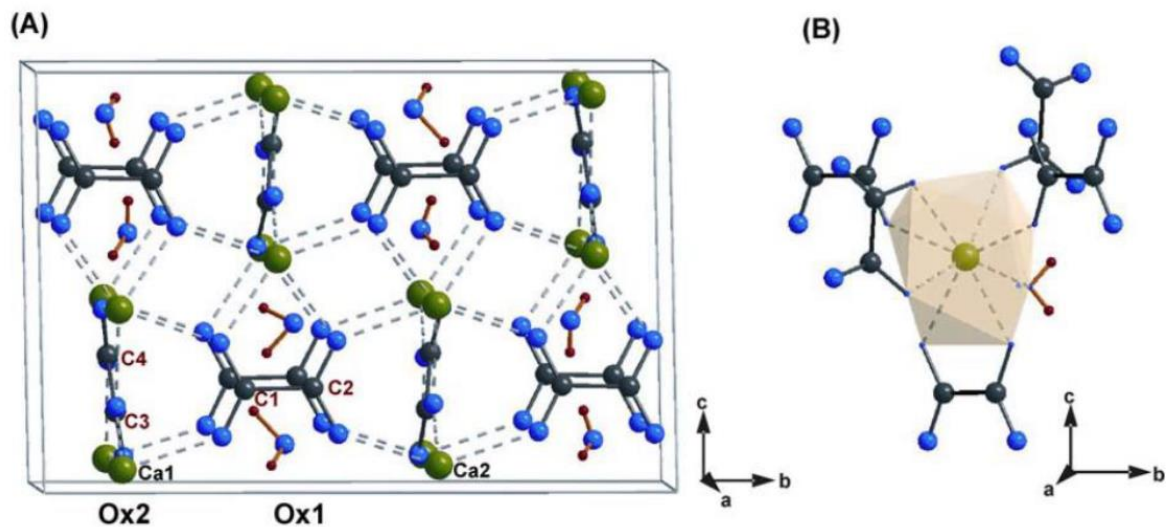
#### 2.4.1. KALCIJEV OKSALAT MONOHIDRAT (COM)

Kalcijev oksalat monohidrat kristalizira u dvije monoklinske strukture, odnosno njegova strukturna analiza dolazi od Tazzoli i Domeneghetti [15] koji su monohidrat klasificirali prema monoklinskom sustavu prizmatske klase, a to su:

- 1.) Osnovna, ona je stabilna iznad 45 °C ( $a = 9,978 \text{ \AA}$ ,  $b = 7,295 \text{ \AA}$ ,  $c = 6,292 \text{ \AA}$ ,  $\beta = 107,07^\circ$ ,  $Z = 8$ ,  $V = 876,228 \text{ \AA}^3$ , prostorna grupa  $I2/m$ ) i sastoji se od naslaganih planarnih slojeva iona kalcija i oksalata u omjeru 2:1 koji se izmjenjuju sa slojevima oksalatnog aniona i molekula vode u položaju paralelnom s ravninom [16, 18].

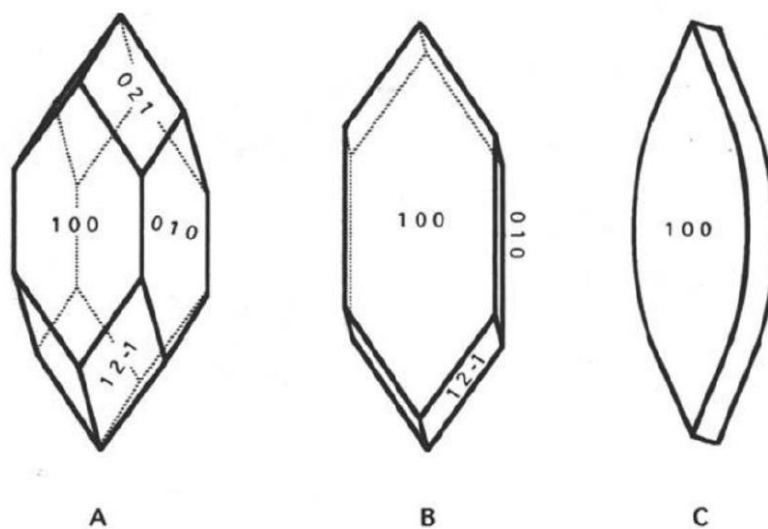
2.) Stabilna ispod 45 °C ( $a = 9,9763 \text{ \AA}$ ,  $b = 14,5884 \text{ \AA}$ ,  $c = 6,29134 \text{ \AA}$ ,  $\beta = 107,05^\circ$ , prostorna grupa  $P2_1/c$ ), oksalati u ravnini su pretrpjeli malu distorziju pa se duljina  $b$  udvostručila, a simetrija smanjila [16,17].

Također, postoji i treća ortoromska struktura koja je nastala dehidracijom dihidrata u temperaturnom rasponu 118 – 130 °C. Ona ima ortoromsku simetriju s parametrima  $a = 12,088 \text{ \AA}$ ,  $b = 10,112 \text{ \AA}$ ,  $c = 14,634 \text{ \AA}$ ,  $\alpha=\beta=\lambda= 90^\circ$  [18].



**Slika 2.** Strukturne karakteristike hidratne faze COM - Struktura COM (A) i poliedar  $\text{Ca}^{2+}$  (B) [16].

Na **Slici 2.** prikazana je kristalna struktura kalcijevog oksalata monohidrata te je prikazano kako je oksalat koordiniran s kalcijem u poliedar (B) i samim time ekvivalentan je jediničnoj ćeliji COM-a (A). Atom Ca koordiniran je, u takvoj strukturi, s 8 atoma kisika gdje 7 atoma kisika potječe od 5 oksalatnih iona i 1 od molekule vode. Paralelni slojevi stvaraju se zbog tri kraja poliedra oko kalcija koja su vezana za tri atoma kalcija. Na dijelu (A) još je prikazano kako  $\text{C}_2\text{O}_4^{2-}$  ioni ( Ox1 i Ox2 ) nisu kristalografski ekvivalentni. Sa 6  $\text{Ca}^{2+}$  iona koordiniran je Ox1, dok s 4  $\text{Ca}^{2+}$  iona i 2 molekule vode preko vodikovih veza s kisikom  $\text{C}_2\text{O}_4^{2-}$  iona koordiniran je Ox2 [16].



**Slika 3.** Morfologija kalcijeva oksalata monohidrata [17].

Na slici 3. prikazana je morfologija kalcijevog oksalata monohidrata s Millerovim indeksima. Po morfologiji razlikujemo tri oblika COM-a: prizmatički (A), pločasti (B) i oblik suze (C). Također, COM koji je nastao pri povišenim koncentracijama kalcija i oksalata se može pojaviti u obliku dendrita (oblik slova X) [17,19].

Pri uvjetima spontanog taloženja kada dolazi do rasta kalcijeva oksalata monohidrata na kristalnom sjemenu dokazano je kako dolazi do površinskih procesa drugog reda, odnosno brzina rasta utvrđena je omjerom ukupne površine kristala i količine kristalnog sjemena. Za proces nastanka bubrežnih kamenaca važno je kvantificirati parametre agregacije kao i odrediti termodinamički produkt topljivosti [20,21].

#### 2.4.1.1. SINTEZA U LABORATORIJU

Kalcijevi oksalati se u laboratoriju najčešće sintetiziraju u otopini. U reakciji je potrebno kontrolirati parametre poput koncentracije reaktanata, pH, temperature, ionske jakosti, načina miješanja otopina i tako dalje. Kod ovih sinteza, veličina nastalih kristala ovisi o temperaturi i brzini miješanja otopina, tj. veći kristali kalcijevih oksalata nastaju tijekom manje brzine miješanja [22].

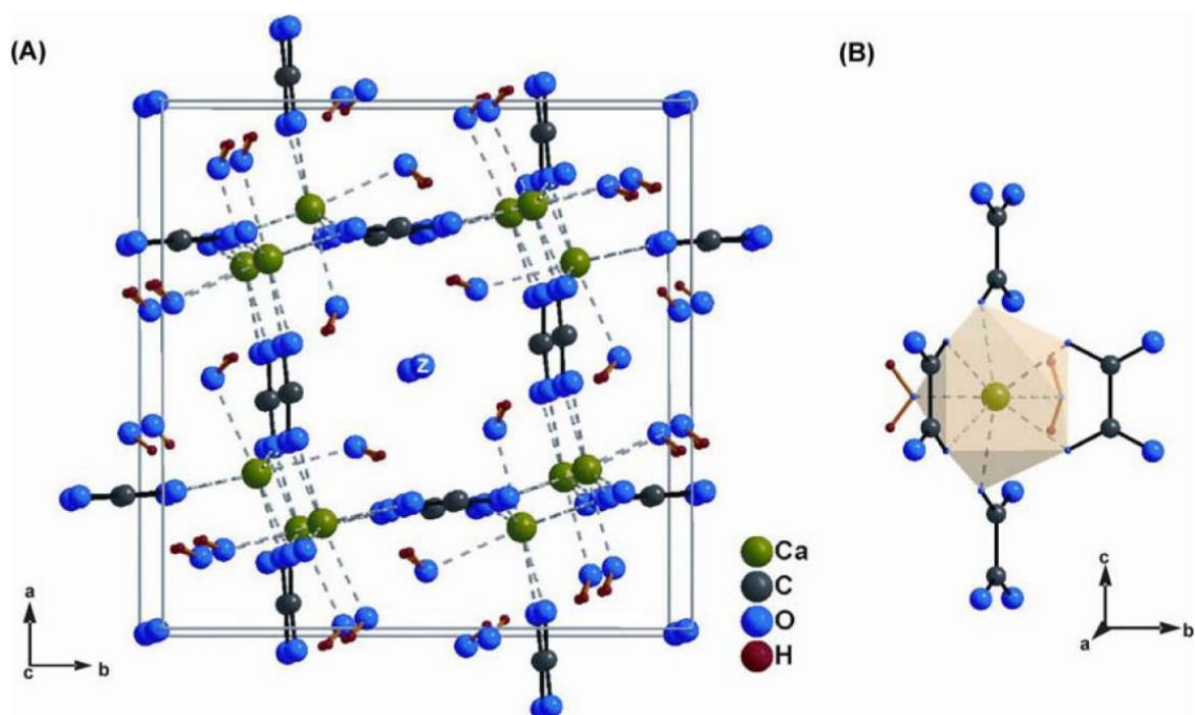
U laboratoriju, COM se može pripremiti miješanjem otopine kalcijeve soli i kalijeva oksalata ( $K_2C_2O_4$ ) u vodi ili otopini etanola i vode u temperaturnom rasponu od 25 – 75 °C. Ovisno o tome koja veličina kristala se želi dobiti, postavljaju se parametri poput temperature



te načina i brzine miješanja otopine. Nakon taloženja kristala, oni se filtriraju vakuumskom filtracijom, a zatim se suše i analiziraju odgovarajućim tehnikama [23].

#### 2.4.2. KALCIJEV OKSALAT DIHIDRAT (COD)

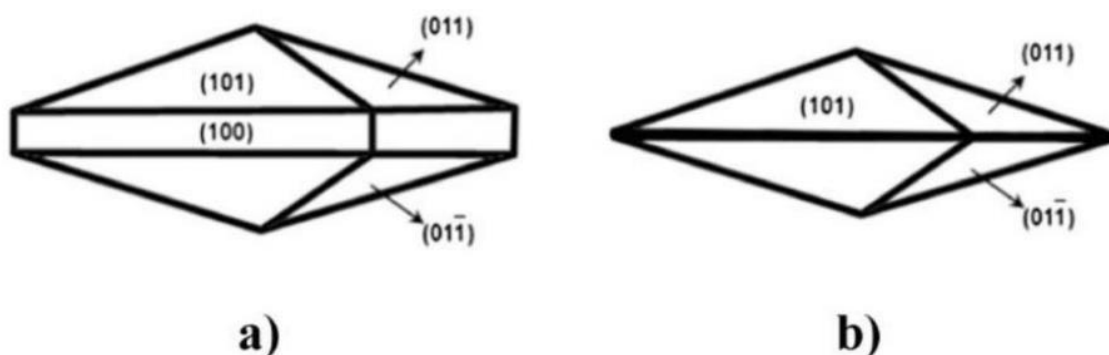
Kalcijev oksalat dihidrat (COD) kristalizira u tetragonskom sustavu ( $a = 12,371 \text{ \AA}$ ,  $b = 14,583 \text{ \AA}$ ,  $c = 10,116 \text{ \AA}$ ,  $Z = 8$ ,  $V = 1125,937 \text{ \AA}^3$ ,  $\alpha=\beta=\gamma= 90^\circ$ , prostorna grupa  $I4/m$ ). Kod njega je 8 molekula  $\text{H}_2\text{O}$  koordinirano s 4 atoma kalcija dihidratnog oblika. Kalcijev ion koordiniran je s 8 atoma kisika koji dolaze od 4 molekule vode i 4 oksalatna iona. Ako do nastanka COD-a dolazi u vodenoj otopini, stvara se tetragonska prizma ili tetragonska bipiramida. Uspoređujući monohidrat s dihidratom ion kalcija koordiniran je s jednom molekulom vode više i s jednim oksalatnim ionom manje. Također, brzina rasta kristala COD-a znatno je manja u odnosu na kristale COM-a [24, 15].



**Slika 4.** Prikaz strukturnih karakteristika hidratne faze COD [14].

Na **Slici 4.** vidljivo je kako je  $\text{Ca}^{2+}$  ion koordiniran s osam kisikovih atoma koji dolaze iz četiri oksalatna iona i četiri molekule vode. Kako je ion kalcija koordiniran s jednom molekulom vode više i jednim oksalatnim ionom manje, u odnosu na kalcijev oksalat

monohidrat, nastaje vodikova veza dvije molekule vode s kisikovim atomom oksalatne skupine. Kanali koji prolaze kroz kristal tvore oksalati te ti kanali sadrže zeolitnu vodu [17, 24].



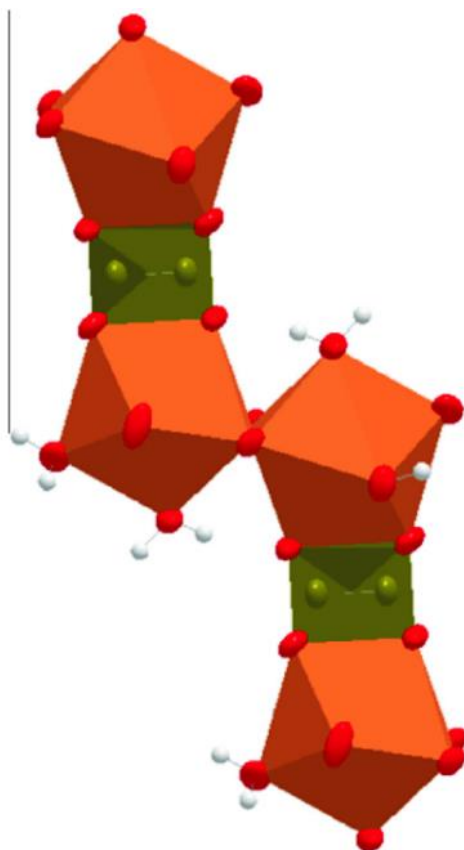
**Slika 5.** Prikaz morfologije COD – a) tetragonalna bipiramida s prizmom i b) tetragonalna bipiramida

Na **Slici 5.** prikazana je karakteristična morfologija kalcijeva oksalata dihidrata koji nastaje u vodenoj otopini. On tvori tetragonalnu bipiramidu s prizmom s izraženom (100) ravninom te tetragonalnu bipiramidu s dominantnom (101) ravninom [17, 24].

Kako bi se dobio COD u laboratorijskim uvjetima potrebna je prisutnost aditiva, a gotovo ga je nemoguće dobiti u čistom obliku. Metastabilni COD, nakon COM-a, najčešće se pojavljuje u bubrežnim kamencima [23].

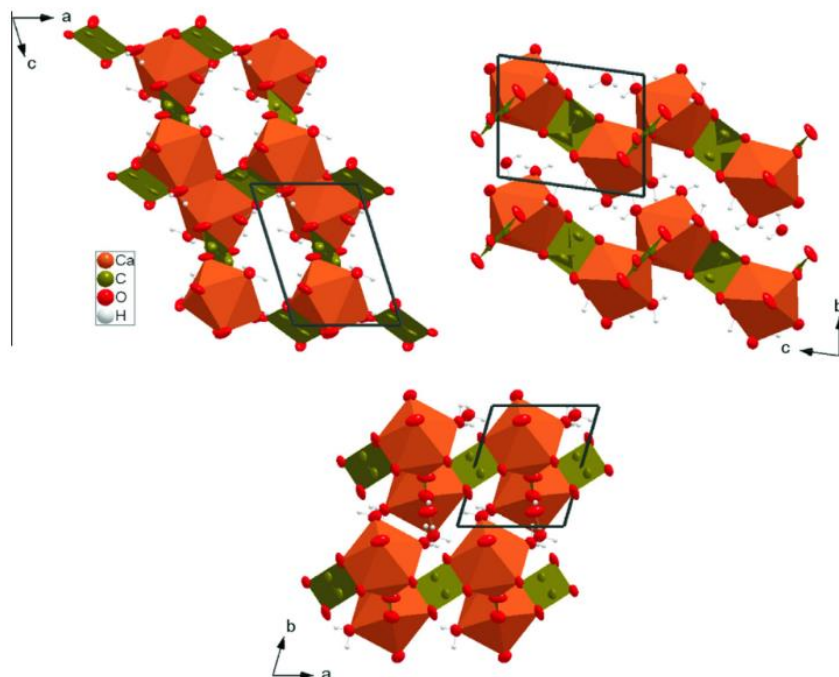
### 2.4.3. KALCIJEV OKSALAT TRIHIDRAT (COT)

Kalcijev oksalat trihidrat (COT) kristalizira u triklinskom sustavu ( $a = 12,371 \text{ \AA}$ ,  $b = 14,583 \text{ \AA}$ ,  $c = 10,116 \text{ \AA}$ ,  $Z = 8$ ,  $V = 329,9 \text{ \AA}^3$ ,  $\alpha = 76,5^\circ$   $\beta = 70,35^\circ$   $\gamma = 70,62^\circ$ , prostorna grupa P1). [25].



**Slika 6.** Prikaz gradivnih jedinica COT [26].

Struktura kalcijeva oksalata trihidrata sastoji se od dva Ca-poliedra koji imaju zajedničke rubove, a preko oksalatnih iona povezani su s drugim jedinicama kao što je vidljivo na **Slici 6.** [26].



**Slika 7.** Prikaz COT strukture [26].

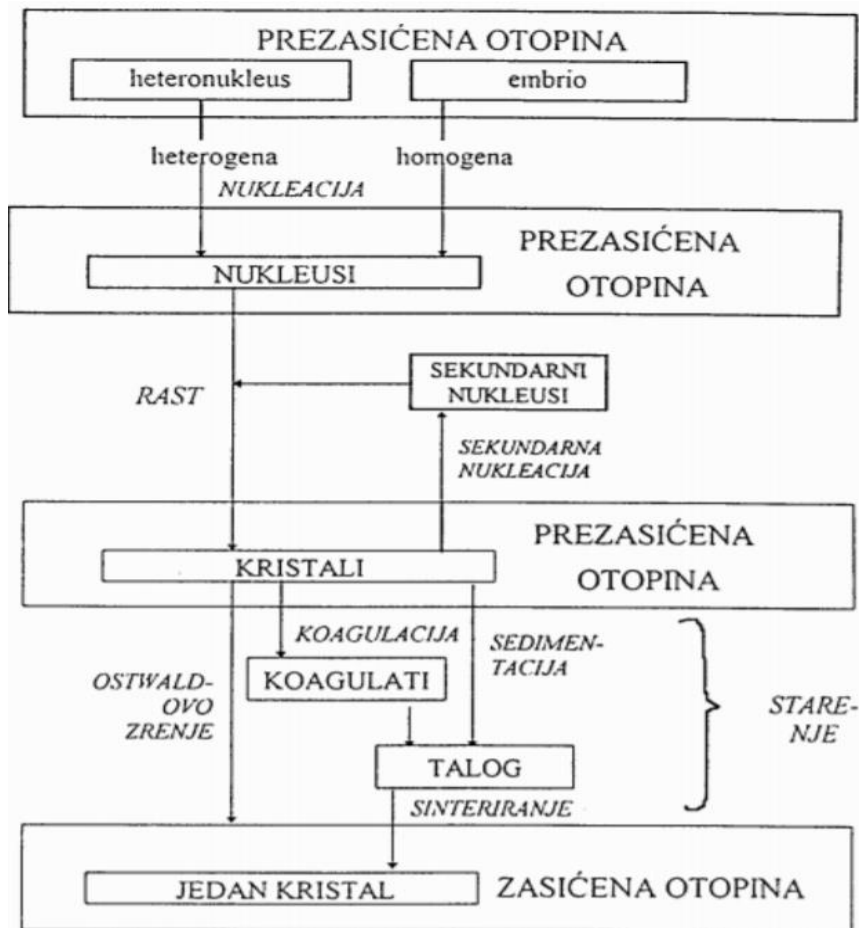
Iz **Slike 7.** vidljivo je kako se u strukturi COT nalaze nepravilne nanošupljine, a Ca-poliedar je iskrivljen. Također, u njegovoj strukturi nalaze se tri od osam kisikovih atoma koji potječu iz molekula vode, četiri atoma od dva oksalatna iona i jedan od trećeg oksalatnog iona koji su koordinirani oko atoma kalcija. Odnosno, tri iona oksalata i tri molekule vode pronalaze se u poliedarskoj strukturi [26].

Direktnim prijelazom, bez nastanka COD-a kao međuproducta, odvija se transformacija COT-a u COM, a povećanjem temperature povećava se i brzina reakcije. Sama pojava trihidrata u sastavu bubrežnih kamenca vrlo je rijetka [25].

## 2.5. PROCES TALOŽENJA

Proces taloženja je proces u kojemu dolazi do stvaranja čvrste, nove faze u homogenim sustavima. Sam proces se inicira kontrolom pH vrijednosti, kemijskim reakcijama, načinom miješanja otopine (mehaničko, ultrazvučno, magnetsko...), kontrolom temperature sustava, te kombinacijom navedenih parametara. Do taloženja niza kemijskih spojeva u čvrstom stanju iz kompleksnih homogenih smjesa dolazi ako se odaberu pogodni taložni uvjeti kao i reagensi. Na taloženje utječu faktori poput aditiva, veličine čestica, nečistoće, prezasićenost otopine, pH i masena koncentracija. Ako se taloži čvrsta faza s kristalnom strukturom taj proces se naziva kristalizacija, a preduvjet za proces kristalizacije jest prezasićenost otopine. Ti procesi vrlo su važni za široki raspon znanstvenih grana počevši od kemije, biologije, farmacije pa sve do proizvodnje polimernih materijala i boja. No, ni ti procesi nisu uvijek poželjni, a primjer takvog taloženja je stvaranje bubrežnih kamenaca u živim organizmima kao jedan od primjera patološke biomineralizacije [27, 28].

Mehanizam taloženja iz prezasićene otopine opisuje se kroz niz procesa ili međufaza kao što su nukleacija, rast kristala i niz drugih sekundarnih procesa, a shematski je opisan i priznat po prijedlogu A. E. Nielsena prema kojemu je dobila i naziv Nielsen-ova shema (**Slika 8.**) [27].



**Slika 8.** Nielsen-ova shema [27].

Iz Nielsen-ove sheme vidljivo je kako taloženje započinje iz prezasićene, nestabilne otopine izdvajanjem čvrste faze (embriji ili heteronukleusi). Taj proces naziva se nukleacija. Ona se može odvijati spontano ili može biti potaknuta trenjem, miješanjem ili primjenom visokih tlakova. Postoje dvije vrste nukleacija, a to su:

- 1.) Homogena nukleacija – stvaranje ionskih ili molekulskih nukleusa
- 2.) Heterogena nukleacija – odvija se na česticama nečistoća

Drugi korak u procesu taloženja jest rast stvorenih nukleusa i nastanak kristala kroz niz temeljnih procesa. No, rastu samo kritični nukleusi, odnosno to su nukleusi koji su dosegili određenu kritičnu veličinu. Ti procesi odvijaju se u samoj otopini ili na površini kristala, a najsporiji od svih kontrolira ukupnu brzinu rasta. Starenjem čvrste faze zapravo završava proces, a odvija se u uvjetima sličnim ravnotežnima. Starenje čvrste faze također se odvija kroz

nekoliko procesa poput Ostwaldovog zrenja, sinteriranja ili transformacija metastabilnih faza. Rezultat ovog procesa, teoretski, je nastanak jednog kristala [27, 28].

No, ako se proces taloženja prati u nekom određenom vremenu posljednja faza jest sedimentacija gdje dolazi do otapanja manjih, a rasta većih čestica. Taloženje je i teoretski završeno kada je sav suvišak otopljene tvari istaložen [27, 28].

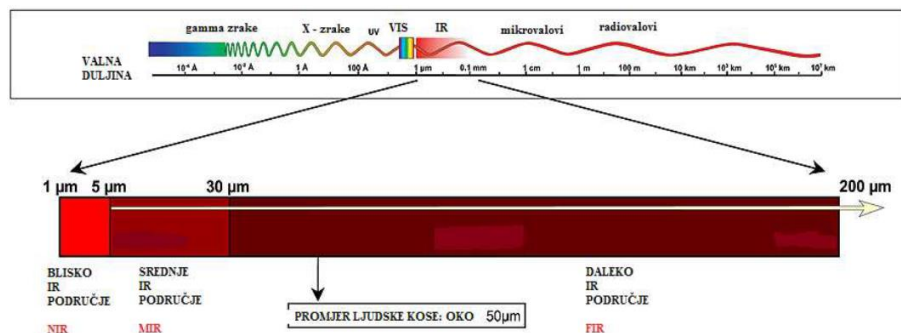
## 2.6. METODE ANALIZE I IDENTIFIKACIJE KALCIJEVIH OKSALATA

### 2.6.1. OPTIČKA MIKROSKOPIJA (OM)

Optička mikroskopija (OM) je tehnika koja vrlo male predmete čini vidljivima. Njome se provjeravaju podatci dobiveni drugim metodama kojima je uzorak okarakteriziran ili se koristi za karakterizaciju kristalnog sjemena. Maksimalno povećanje ove mikroskopije je i do 1000 puta ovisno o valnoj duljini svjetlosti koja se koristi kod osvjetljivanja uzoraka, kvaliteti i broju leća. Svjetlosnim mikroskopom bez polariziranog svjetla određuje se boja, veličina i oblik kristala [29].

### 2.6.2. INFRACRVENA SPEKTROSKOPIJA (FTIR)

U rasponu valnih duljina od  $0,7 \mu\text{m}$  do  $500 \mu\text{m}$ , između vidljivog i mikrovalnog područja, nalazi se infracrveno područje. Energija infracrvenog zračenja veća je od mikrovalnog, a manja od vidljivog zračenja. Zračenje se dijeli u tri područja, a to su blisko, srednje i daleko (**Slika 9**). Promjene u vibracijskim energijskim razinama uzrokuje apsorpcija infracrvenog zračenja. Kod bliskog područja infracrvenog zračenja odvijaju se prijelazi kod kojih je potrebna niža energija kao i promjene u vibracijskim razinama molekula, a promjena vibracijskih razina većine molekula odvija se u bliskom području. Promjene u rotacijskim



**Slika 9.** Infracrvena područja u elektromagnetskom spektru [30].



razinama molekula zbog promjena u vibracijskim razinama se odvija u dalekom infracrvenom području. Ako frekvencija elektromagnetskog zračenja postigne frekvenciju vibracije molekule dolazi do promjene u vibracijskim razinama molekula. No, kako bi došlo do apsorpiranja infracrvenog zračenja u molekuli mora se dogoditi i promjena dipolnog momenta. Zatim ako one reagiraju sa električnom komponentom infracrvenog zračenja za njih će se reći da su aktivne u infracrvenom području [30].

U molekulama postoje dvije vrste vibracija, a to su vibracije deformacije i vibracije istezanja. Vibracije istezanja mogu biti asimetrične i simetrične. U asimetričnom istezanju jedna se jezgra udaljava dok se druga približava, dok se kod simetričnog istezanja dvije jezgre istovremeno udaljavaju ili približavaju centru mase. Promjenu kuta između dvije veze uzrokuju vibracije deformacije, a dijele se na uvijanje, deformaciju u ravnini, mahanje i njihanje [30].

Snimanjem poliatomnih molekula dobije se infracrveni spektar. Zbog toga što je vrlo složen ne može se u potpunosti objasniti. U uskom području frekvencija apsorpiraju se određene grupe, a takva frekvencija naziva se frekvencija funkcionalnih grupa. Taj dio spektra je područje otiska prsta (eng. *fingerprint region*). U tom području svaka molekula ima karakterističan spektar, ali enantiomeri imaju identičan [30].

Spektrofotometar je uređaj kojim se mjeri infracrveni spektar koji molekula apsorpira. Postoje dvije vrste IR spektrofotometara, a to su disperzivni IR spektrofotometri i FT-IR spektrofotometri (eng. *Fourier transform infrared*). FT-IR spektrofotometri mjere apsorpciju polikromatskog izvora u velikom rasponu valnih duljina kao i u vrlo kratkom vremenu, dok disperzni imaju monokromatski izvor IR zračenja te mjere apsorpciju dajući samo jedan spektar. Neke prednosti FT-IR spektrofotometra su mogućnost višestrukog ponavljanja snimanja, velika osjetljivost, brzo snimanje i širi spektralni opseg [30].

Ovisno u kojem agregatnom stanju se nalazi uzorak postoje različite metode pripreme uzorka za snimanje. Najčešće se koriste kruti uzorci te se koristi DRIFT (eng. *Diffuse Reflectance Infrared Fourier Transform*) tehnika. Kod nje se uzorak usitni u homogenu smjesu zajedno s KBr-om u omjeru 3:100 mg. Prije mjerenja potrebno je snimiti spektar samo usitnjenog KBr-a, pri čemu se dobije pozadinska slika (eng. *background*) kako bi se eliminirali spektri vlage i plinova iz zraka [30].

U svojoj strukturi COM ima nekoliko vrsta vibracija koje su karakteristične samo za njega, a prikazane su u **Tablici 2**.

**Tablica 2.** Literaturni podatci vibracijskih istezanja za COM [31].

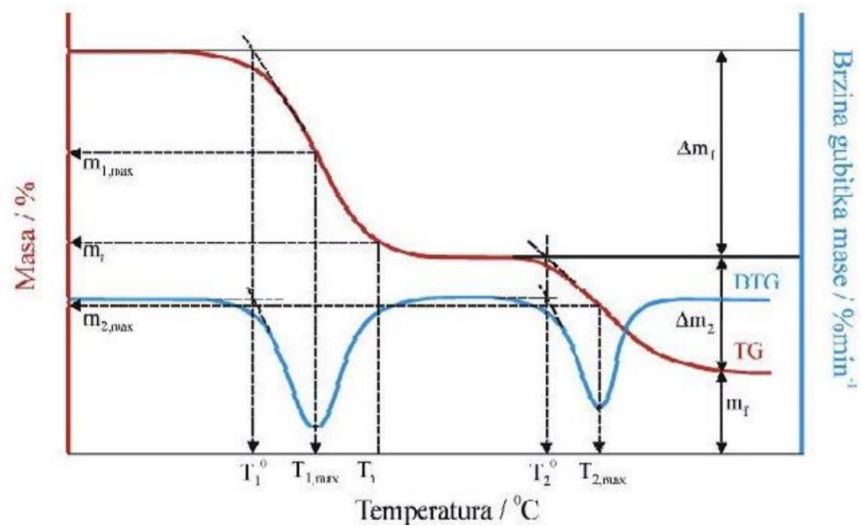
Valni broj/cm <sup>-1</sup>	Vrsta vibracija
517	O-C-O antisimetrično njihanje
782	O-C-O antisimetrično savijanje
947	H-O-H uvijanje
1316	C-O simetrično istezanje
1622	C-O antisimetrično istezanje
3490	O-H istezanje

### 2.6.3. TERMOGRAVIMETRIJSKA ANALIZA (TGA)

Termogravimetrijska analiza (TGA) jedna je od termičkih metoda analize pomoću koje se analiziraju uzorci prateći masenu promjenu kao funkciju temperature ili vremena. Podatci koji su potrebni za opis termičkog ponašanja određenog uzorka očitavaju se s termograma. Sama analiza može biti dinamička ili izotermna. Dinamička promjena se prati tijekom promjena temperature pri čemu je brzina zagrijavanja konstantna, dok se izotermna promjena prati u određenom vremenu pri konstantnoj temperaturi. Ovisno o brzini zagrijavanja, masi uzorka i atmosferi u kojoj se odvija proces dobiva se oblik krivulje na termogramu, a sama metoda koristi se pri određivanju mehanizma toplinske stabilnosti ili raspada uzorka [32].

Termovaga je uređaj koji se koristi kod termogravimetrijske analize. Ona sadrži osjetljivu, preciznu vagu koja važe uzorke i peći kontrolirane temperaturnim programerom. Termovaga spojena je na računalo koje bilježi promjene ovisne o zadanim parametrima koje se odvijaju tijekom zagrijavanja te izrađuje termogram [33].

Na **Slici 10**. prikazan je termogram koji je specifičan za svaki kemijski spoj, a sadrži karakteristične točke pomoću kojih se očitavaju potrebni podatci kako bi se okarakterizirao kemijski spoj. Neke od najvažnijih točki termograma su  $\Delta m$  (gubitak mase uzorka/g),  $T_{max}$  (temperatura maksimalne brzine razgradnje),  $T^{\circ}$  (početna temperatura razgradnje),  $R_{max}$  (brzina gubitka mase/%) i  $mf$  (konačna masa uzorka/g)



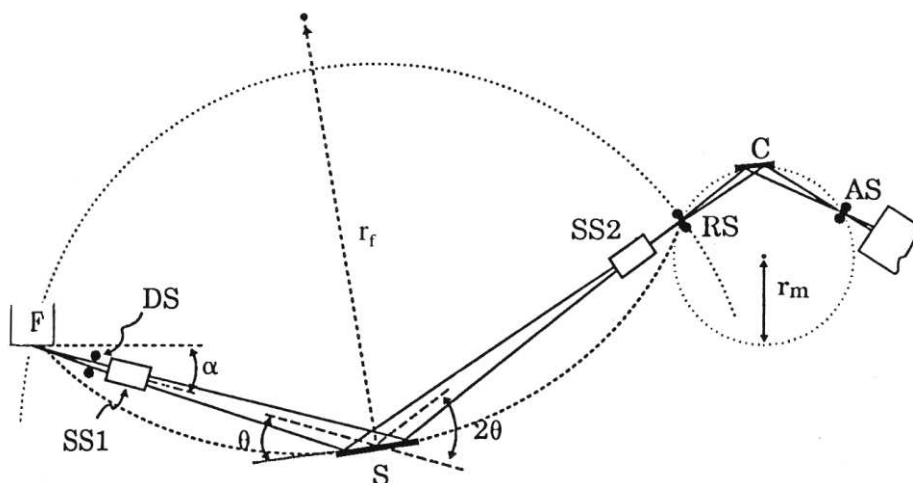
**Slika 10.** Prikaz termograma [34].

Termogravimetrijskom analizom omogućena je kvantitativna analiza kalcijeva oksalata monohidrata. Teoretski gubitak mase za kristalnu vodu u čistom COM-u iznosi 12,33 %, a gubitak mase odvija se tijekom samo jednog koraka [34].

## 2.6.4. RENDGENSKA DIFRAKCIJA NA PRAHU (PXRD)

Rendgenska difrakcija na prahu (*eng. powder X-ray diffraction - PXRD*) kvantitativna je metoda koja se koristi za strukturno određivanje polikristalnih uzoraka gdje je snop rendgenskih zraka usmjeren na praškasti uzorak. Kako bi došlo do difrakcije potrebno je da kristali zatvaraju Braggov kut sa upadnim zračenjem. Do difrakcije dolazi ukoliko neki od svih kristala zadovoljavaju ovaj uvjet. Uz pomoć difraktometra ili kada fotografski film okruži uzorak detektiraju se difraktirane zrake [35].

Debye-Scherrer metoda jedna je od najstarijih metoda praha. Na njoj su se razvile sve ostale metode, a prvotno je koristila fotografski film. U ovom diplomskom radu za kvantitativnu analizu kristala koristila se jedna od najrasprostranjenijih i najpoznatijih metoda, a to je Bragg-Brentano metoda. Ovdje se koristi jedan od najpoznatijih difraktometara praha odnosno Bragg-Brentano difraktometar. Na **Slici 11.** prikazan je Bragg-Brentano difraktometar koji se sastoji od izvora rentgenskih zraka (F), divergentne pukotine (DS), primarnog kolimatora (SS1), nosača uzorka (S), sekundarnog kolimatora (SS2), prijamne pukotine (RS), monokromatora (C) i detektora (AS). Rendgenske zrake prolaze kroz divergentnu pukotinu i primarni kolimator pod kutem  $\theta$ , a zatim se difraktirane zrake reflektiraju od površinu uzorka pod kutem  $2\theta$  te prolaze kroz sekundarni kolimator, prijemnu pukotinu te upadaju na monokromator. Na kraju na detektor pada monokromatski snop te on očitava rezultate [36].



**Slika 11.** Bragg-Brentano difraktometar [36].

### 3. EKSPERIMENTALNI DIO

#### 3.1. PRIBOR I APARATURA

Sinteza kristalnog sjemena kalcijeva oksalata monohidrata izvodila se u staklenoj reakcijskoj posudi laganim dodavanjem natrijeva oksalata ( $\text{Na}_2\text{C}_2\text{O}_4$ ) i limunske kiseline u otopinu kalcijeva klorida ( $\text{CaCl}_2$ ) bez miješanja te pomoću ultrazvučne kupelji. Za termostatiranje otopina korišten je sušionik. Sastav dobivenih kristala kalcijevog oksalata monohidrata određen je termogravimetrijskom analizom, infracrvenom spektroskopijom i rendgenskom difrakcijom na prahu, a morfologija je određena optičkom mikroskopijom.

#### 3.2. POPIS KEMIČALIJA

Za sintezu kalcijeva oksalata monohidrata korištene su kemikalije navedene u **Tablici 3**.

**Tablica 3.** Popis potrebnih kemikalija korištenih prilikom sinteza

NAZIV KEMIČALIJE	KEMIJSKA FORMULA	MOLARNA MASA/ $\text{g mol}^{-1}$	PROIZVOĐAČ
Natrijev oksalat	$\text{Na}_2\text{C}_2\text{O}_4$	134,00	BDH Prolabo
Limunska kiselina	$\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_7$	210,14	Gram mol
Kalcijev klorid	$\text{CaCl}_2$	110,98	BDH Prolabo

Također, korištena je i deionizirana voda električne provodnosti  $\leq 0,055 \mu\text{S/cm}$ .

### 3.3. PRIPREMA OTOPINA

Za sintezu COM-a koristile su se različite koncentracije otopina  $\text{CaCl}_2$ ,  $\text{Na}_2\text{C}_2\text{O}_4$  i  $\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_7$ . Otopina kalcijeva klorida približne koncentracije  $1 \text{ mol dm}^{-3}$  prvo je standardizirana kako bi bila poznata točna koncentracija otopine koja se koristi za sintezu COM-a.

#### - Standardizacija otopine $\text{CaCl}_2$

Već pripremljena otopina kalcijeva klorida približne koncentracije  $1 \text{ mol dm}^{-3}$  otpipetira se 10 mL u odmjernu tikvicu od 100 mL te se do oznake nadopuni deioniziranom vodom provodnosti  $\leq 0,055 \mu\text{S/cm}$ .

U četiri Erlenmayerove tikvice dodalo se 10 mL otopine  $\text{CaCl}_2$ , 10 mL amonijačnog pufera  $\text{pH} = 10$  i na vrhu špatule indikator eriokrom crno T. Otopina kalcijeva klorida titrirana je s  $0,1 \text{ mol dm}^{-3}$  otopinom EDTA. Završna točka titracije vidljiva je promjenom iz ljubičaste u plavu boju.

$$V_1 (\text{EDTA}) = 10,133 \text{ mL}$$

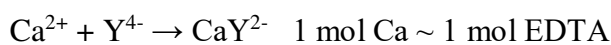
$$V_2 (\text{EDTA}) = 10,122 \text{ mL}$$

$$V_3 (\text{EDTA}) = 10,133 \text{ mL}$$

$$V_4 (\text{EDTA}) = 10,144 \text{ mL}$$

$$\bar{V} (\text{EDTA}) = 10,133 \text{ mL}$$

Jednadžba reakcije:



$$c_1 (\text{EDTA}) \cdot V_1 (\text{EDTA}) = c_2 (\text{CaCl}_2) \cdot V_2 (\text{CaCl}_2)$$

$$c_2 (\text{CaCl}_2) = 0,1 \text{ mol dm}^{-3} \cdot 10,133 \text{ mL} / 10 \text{ mL} = 0,10133 \text{ mol dm}^{-3}$$

$$V_a (\text{CaCl}_2) = 10 \text{ mL} \quad V (\text{ukupno}) = 100 \text{ mL}$$

$$c (\text{CaCl}_2) = 100 \text{ mL} \cdot 0,10133 \text{ mol dm}^{-3} = 10,133 \text{ mol dm}^{-3}$$

- **Priprema otopine CaCl<sub>2</sub>**

Otopine kalcijeva klorida koncentracija  $1 \cdot 10^{-2} \text{ mol dm}^{-3}$  i  $1 \cdot 10^{-1} \text{ mol dm}^{-3}$  pripremljene su iz standardizirane otopine CaCl<sub>2</sub> koncentracije  $1,0133 \text{ mol dm}^{-3}$  u odmjernoj tikvici.

Za prvi set sinteza potrebno je pripremiti 1L otopine.

$$c_1(\text{CaCl}_2) = 1,0133 \text{ mol dm}^{-3}$$

$$c_2(\text{CaCl}_2) = 1 \cdot 10^{-2} \text{ mol dm}^{-3}$$

$$V_2(\text{CaCl}_2) = 1\text{L}$$

$$V_1(\text{CaCl}_2) = ?$$

$$c_1(\text{CaCl}_2) \cdot V_1(\text{CaCl}_2) = c_2(\text{CaCl}_2) \cdot V_2(\text{CaCl}_2)$$

$$\begin{aligned} V_1(\text{CaCl}_2) &= c_2(\text{CaCl}_2) \cdot V_2(\text{CaCl}_2) / c_1(\text{CaCl}_2) \\ &= 1 \cdot 10^{-2} \text{ mol dm}^{-3} \cdot 1\text{L} / 1,0133 \text{ mol dm}^{-3} \\ &= 9,8687 \cdot 10^{-3} \text{ L} \\ &= 9,8687 \text{ mL} \end{aligned}$$

$$c_1(\text{CaCl}_2) = 1,0133 \text{ mol dm}^{-3}$$

$$c_2(\text{CaCl}_2) = 1 \cdot 10^{-1} \text{ mol dm}^{-3}$$

$$V_2(\text{CaCl}_2) = 1\text{L}$$

$$V_1(\text{CaCl}_2) = ?$$

$$c_1(\text{CaCl}_2) \cdot V_1(\text{CaCl}_2) = c_2(\text{CaCl}_2) \cdot V_2(\text{CaCl}_2)$$

$$\begin{aligned} V_1(\text{CaCl}_2) &= c_2(\text{CaCl}_2) \cdot V_2(\text{CaCl}_2) / c_1(\text{CaCl}_2) \\ &= 1 \cdot 10^{-1} \text{ mol dm}^{-3} \cdot 1\text{L} / 1,0133 \text{ mol dm}^{-3} \\ &= 0,098687 \text{ L} \\ &= 98,687 \text{ mL} \end{aligned}$$

Za ostale sinteze potrebno je pripremiti po 500 mL otopine.

$$c_1(\text{CaCl}_2) = 1,0133 \text{ mol dm}^{-3}$$

$$c_2(\text{CaCl}_2) = 1 \cdot 10^{-2} \text{ mol dm}^{-3}$$

$$V_2(\text{CaCl}_2) = 500 \text{ mL}$$

$$V_1(\text{CaCl}_2) = ?$$

$$c_1(\text{CaCl}_2) \cdot V_1(\text{CaCl}_2) = c_2(\text{CaCl}_2) \cdot V_2(\text{CaCl}_2)$$

$$\begin{aligned} V_1(\text{CaCl}_2) &= c_2(\text{CaCl}_2) \cdot V_2(\text{CaCl}_2) / c_1(\text{CaCl}_2) \\ &= 1 \cdot 10^{-2} \text{ mol dm}^{-3} \cdot 500 \text{ mL} / 1,0133 \text{ mol dm}^{-3} \\ &= 4,934 \text{ mL} \end{aligned}$$

- **Priprema otopina Na<sub>2</sub>C<sub>2</sub>O<sub>4</sub> s C<sub>6</sub>H<sub>8</sub>O<sub>7</sub>**

Koncentracija natrijeva oksalata bila je stalna,  $c(\text{Na}_2\text{C}_2\text{O}_4) = 1 \cdot 10^{-3} \text{ mol dm}^{-3}$ , dok se koncentracija limunske kiseline mijenjala;  $c(\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_7) = 1 \cdot 10^{-3} \text{ mol dm}^{-3}$ ,  $c(\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_7) = 1 \cdot 10^{-2} \text{ mol dm}^{-2}$ ,  $c(\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_7) = 1 \cdot 10^{-4} \text{ mol dm}^{-3}$ .

Za prvi set sinteza potrebno je pripremiti 1L otopine

$$c(\text{Na}_2\text{C}_2\text{O}_4) = 1 \cdot 10^{-3} \text{ mol dm}^{-3}$$

$$V(\text{Na}_2\text{C}_2\text{O}_4) = 1 \text{ L}$$

$$M(\text{Na}_2\text{C}_2\text{O}_4) = 134,00 \text{ g mol}^{-1}$$

$$m(\text{Na}_2\text{C}_2\text{O}_4) = ?$$

$$\begin{aligned} m(\text{Na}_2\text{C}_2\text{O}_4) &= c(\text{Na}_2\text{C}_2\text{O}_4) \cdot V(\text{Na}_2\text{C}_2\text{O}_4) \cdot M(\text{Na}_2\text{C}_2\text{O}_4) \\ &= 1 \cdot 10^{-3} \text{ mol dm}^{-3} \cdot 1 \text{ L} \cdot 134,00 \text{ g mol}^{-1} \\ &= 0,134 \text{ g} \end{aligned}$$

$$c(\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_7) = 1 \cdot 10^{-3} \text{ mol dm}^{-3}$$

$$V(\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_7) = 1 \text{ L}$$

$$M(\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_7) = 210,14 \text{ g mol}^{-1}$$

$$m(\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_7) = ?$$

$$\begin{aligned} m(\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_7) &= c(\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_7) \cdot V(\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_7) \cdot M(\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_7) \\ &= 1 \cdot 10^{-3} \text{ mol dm}^{-3} \cdot 1 \text{ L} \cdot 210,14 \text{ g mol}^{-1} \\ &= 0,210 \text{ g} \end{aligned}$$



$$c(\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_7) = 1 \cdot 10^{-2} \text{ mol dm}^{-3}$$

$$V(\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_7) = 1 \text{ L}$$

$$M(\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_7) = 210,14 \text{ g mol}^{-1}$$

$$m(\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_7) = ?$$

$$\begin{aligned} m(\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_7) &= c(\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_7) \cdot V(\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_7) \cdot M(\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_7) \\ &= 1 \cdot 10^{-2} \text{ mol dm}^{-3} \cdot 1 \text{ L} \cdot 210,14 \text{ g mol}^{-1} \\ &= 2,101 \text{ g} \end{aligned}$$

Izvagani natrijev oksalat i limunska kiselina stavljeni su u odmjernu tikvicu od 1L te je tikvica nadopunjena do oznake deioniziranom vodom električne provodnosti manje od 0,055  $\mu\text{S/cm}$ .

Za ostale sinteze potrebno je pripremiti 500 mL otopine

$$c(\text{Na}_2\text{C}_2\text{O}_4) = 1 \cdot 10^{-3} \text{ mol dm}^{-3}$$

$$V(\text{Na}_2\text{C}_2\text{O}_4) = 500 \text{ mL}$$

$$M(\text{Na}_2\text{C}_2\text{O}_4) = 134,00 \text{ g mol}^{-1}$$

$$m(\text{Na}_2\text{C}_2\text{O}_4) = ?$$

$$\begin{aligned} m(\text{Na}_2\text{C}_2\text{O}_4) &= c(\text{Na}_2\text{C}_2\text{O}_4) \cdot V(\text{Na}_2\text{C}_2\text{O}_4) \cdot M(\text{Na}_2\text{C}_2\text{O}_4) \\ &= 1 \cdot 10^{-3} \text{ mol dm}^{-3} \cdot 0,5 \text{ L} \cdot 134,00 \text{ g mol}^{-1} \\ &= 0,067 \text{ g} \end{aligned}$$

$$c(\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_7) = 1 \cdot 10^{-3} \text{ mol dm}^{-3}$$

$$V(\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_7) = 500 \text{ mL}$$

$$M(\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_7) = 210,14 \text{ g mol}^{-1}$$

$$m(\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_7) = ?$$

$$\begin{aligned}m(\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_7) &= c(\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_7) \cdot V(\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_7) \cdot M(\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_7) \\ &= 1 \cdot 10^{-3} \text{ mol dm}^{-3} \cdot 0,5 \text{ L} \cdot 210,14 \text{ g mol}^{-1} \\ &= 0,105 \text{ g}\end{aligned}$$

$$c(\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_7) = 1 \cdot 10^{-4} \text{ mol dm}^{-3}$$

$$V(\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_7) = 500 \text{ mL}$$

$$M(\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_7) = 210,14 \text{ g mol}^{-1}$$

$$m(\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_7) = ?$$

$$\begin{aligned}m(\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_7) &= c(\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_7) \cdot V(\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_7) \cdot M(\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_7) \\ &= 1 \cdot 10^{-4} \text{ mol dm}^{-3} \cdot 0,5 \text{ L} \cdot 210,14 \text{ g mol}^{-1} \\ &= 0,0105 \text{ g}\end{aligned}$$

Izvagani natrijev oksalat i limunska kiselina stavljeni su u odmjernu tikvicu od 500 mL te je tikvica nadopunjena do oznake deioniziranom vodom električne provodnosti manje od 0,055  $\mu\text{S/cm}$ .

### 3.4. SINTEZA KRISTALNOG SJEMENA COM

Za pripremu taložnog sustava korištene su otopine kalcijeva klorida različitih koncentracija i otopine natrijeva oksalata s limunskom kiselinom kao aditivom pri čemu je koncentracija natrijeva oksalata bila stalna, a koncentracija limunske kiseline se mijenjala (**Tablica 4., 5., 6., 7., i 8.**). U svim eksperimentima kao reakcijska posuda koristila se laboratorijska čaša od 600 mL u kojoj se nalazila otopina kalcijeva klorida te se u nju polagano dodavala otopina natrijeva oksalata s limunskom kiselinom kao aditivom. Ukupno je napravljeno 22 sinteze pri čemu su se mijenjali uvjeti eksperimenta (koncentracija reaktanata i aditiva, temperatura reakcije i način miješanja (bez miješanja i ultrazvučno miješanje)).

Prvih osam sinteza napravljene su bez miješanja otopina, tj. polaganim dodavanjem 250 mL  $\text{Na}_2\text{C}_2\text{O}_4$  s  $\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_7$  u 250 mL  $\text{CaCl}_2$ . Koncentracije  $\text{CaCl}_2$  u uzorcima 1., 2., 5. i 6. iznosila je  $1 \cdot 10^{-2} \text{ mol dm}^{-3}$ , dok je u uzorcima 3., 4., 7. i 8. iznosila  $1 \cdot 10^{-1} \text{ mol dm}^{-3}$ . Koncentracija  $\text{Na}_2\text{C}_2\text{O}_4$  u svim uzorcima bila je jednaka te je iznosila  $1 \cdot 10^{-3} \text{ mol dm}^{-3}$ , a koncentracija  $\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_7$  se mijenjala, u uzorcima 1., 3., 5. i 7. bila je  $1 \cdot 10^{-3} \text{ mol dm}^{-3}$ , a u uzorcima 2., 4., 6. i 8. bila je  $1 \cdot 10^{-2} \text{ mol dm}^{-3}$ . Nakon dodavanja natrijeva oksalata s limunskom kiselinom u kalcijev klorid prva 4 uzorka ostavljena su na sobnoj temperaturi od približno  $25 \text{ }^\circ\text{C}$ . Druga 4 uzorka stavljena su u sušionik prvo na temperaturu od  $30 \text{ }^\circ\text{C}$  te se nakon 20 sati temperatura povećala na  $50 \text{ }^\circ\text{C}$ . Svi uzorci ostavljeni su 10 dana na navedenim temperaturama. Uvjeti ovih eksperimenata prikazani u **Tablici 4.**

**Tablica 4.** Eksperimentalni uvjeti za sinteze 1.-8.

Uzorak	$c(\text{CaCl}_2)/$ $\text{mol dm}^{-3}$	$c(\text{Na}_2\text{C}_2\text{O}_4)/$ $\text{mol dm}^{-3}$	$c(\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_7)/$ $\text{mol dm}^{-3}$	Temperatura/ $^\circ\text{C}$
1.	$1 \cdot 10^{-2}$	$1 \cdot 10^{-3}$	$1 \cdot 10^{-3}$	25
2.	$1 \cdot 10^{-2}$	$1 \cdot 10^{-3}$	$1 \cdot 10^{-2}$	
3.	$1 \cdot 10^{-1}$	$1 \cdot 10^{-3}$	$1 \cdot 10^{-3}$	
4.	$1 \cdot 10^{-1}$	$1 \cdot 10^{-3}$	$1 \cdot 10^{-2}$	
5.	$1 \cdot 10^{-2}$	$1 \cdot 10^{-3}$	$1 \cdot 10^{-3}$	30 - 50
6.	$1 \cdot 10^{-2}$	$1 \cdot 10^{-3}$	$1 \cdot 10^{-2}$	
7.	$1 \cdot 10^{-1}$	$1 \cdot 10^{-3}$	$1 \cdot 10^{-3}$	
8.	$1 \cdot 10^{-1}$	$1 \cdot 10^{-3}$	$1 \cdot 10^{-2}$	

U **Tablici 5.** prikazani su eksperimentalni uvjeti za drugih šest sinteza. Također, i u ovom setu sinteza 250 mL otopine natrijeva oksalata s limunskom kiselinom dodavalo se u 250 mL kalcijeva klorida. Koncentracija  $\text{Na}_2\text{C}_2\text{O}_4$  bila je ista za sve uzorke i iznosila je  $1 \cdot 10^{-3} \text{ mol dm}^{-3}$ , a koncentracija  $\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_7$  u uzorcima 9., 10. i 13. iznosila je  $1 \cdot 10^{-3} \text{ mol dm}^{-3}$  te u uzorcima 11., 12. i 14. bila je  $1 \cdot 10^{-4} \text{ mol dm}^{-3}$ . U uzorcima 9. i 11. koncentracija  $\text{CaCl}_2$  iznosila je  $1 \cdot 10^{-2} \text{ mol dm}^{-3}$  dok je za ostale uzorke iznosila  $1 \cdot 10^{-1} \text{ mol dm}^{-3}$ . U prve 4 sinteze (uzorci 9. – 12.) otopina  $\text{Na}_2\text{C}_2\text{O}_4$  s  $\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_7$  polagano se dodala u otopinu  $\text{CaCl}_2$ . Nakon dodavanja, otopine su ostavljene u sušionik na temperaturi od 30 °C. Uzorci su ostavljeni 14 dana. U druge dvije sinteze (uzorci 13. i 14.) otopine su miješane na ultrazvučnoj kupelji te su zatim ostavljene u sušioniku. Temperatura u sušioniku prva tri dana bila je 30 °C pa se povećala na 50 °C. Uzorci su isto ostavljeni 14 dana u sušioniku.

**Tablica 5.** Eksperimentalni uvjeti za sinteze 9.-14.

Uzorak	$c(\text{CaCl}_2)/$ $\text{mol dm}^{-3}$	$c(\text{Na}_2\text{C}_2\text{O}_4)/$ $\text{mol dm}^{-3}$	$c(\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_7)/$ $\text{mol dm}^{-3}$	Temperatura/°C	Način miješanja
9.	$1 \cdot 10^{-2}$	$1 \cdot 10^{-3}$	$1 \cdot 10^{-3}$	30	Bez miješanja
10.	$1 \cdot 10^{-1}$	$1 \cdot 10^{-3}$	$1 \cdot 10^{-3}$		
11.	$1 \cdot 10^{-2}$	$1 \cdot 10^{-3}$	$1 \cdot 10^{-4}$		
12.	$1 \cdot 10^{-1}$	$1 \cdot 10^{-3}$	$1 \cdot 10^{-4}$		
13.	$1 \cdot 10^{-1}$	$1 \cdot 10^{-3}$	$1 \cdot 10^{-3}$	30 – 50	Ultrazvuk
14.	$1 \cdot 10^{-1}$	$1 \cdot 10^{-3}$	$1 \cdot 10^{-4}$		

Zatim četiri sinteze napravljene su tako da su otopine kalcijeva klorida i natrijeva oksalata s limunskom kiselinom prvo termostatirane na temperaturi od 50 °C oko 20 minuta. Koncentracije  $\text{CaCl}_2$  u svim uzorcima bila je  $1 \cdot 10^{-1} \text{ mol dm}^{-3}$  kao i koncentracija  $\text{Na}_2\text{C}_2\text{O}_4$  koja je iznosila  $1 \cdot 10^{-3} \text{ mol dm}^{-3}$ . Jedino se mijenjala koncentracija aditiva  $\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_7$  koja je za uzorke 15. i 17. iznosila  $1 \cdot 10^{-3} \text{ mol dm}^{-3}$ , a za uzorke 16. i 18. iznosila je  $1 \cdot 10^{-4} \text{ mol dm}^{-3}$ . Kod uzorka 15. i 16. 250 mL otopine  $\text{Na}_2\text{C}_2\text{O}_4$  s  $\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_7$  polagano se dodala u 250 mL otopine  $\text{CaCl}_2$ , a kod uzoraka 17. i 18. ove otopine su promiješane pomoću ultrazvučne kupelji. Pomoću ultrazvuka uzorci su se miješali 10 minuta. Nakon miješanja otopina svi uzorci su ostavljeni na temperaturi od 50 °C kako bi se istaložili kristali COM-a. Uvjeti eksperimenata prikazani su u **Tablici 6.**

**Tablica 6.** Eksperimentalni uvjeti za sinteze 15.-18.

Uzorak	$c(\text{CaCl}_2)/$ $\text{mol dm}^{-3}$	$c(\text{Na}_2\text{C}_2\text{O}_4)/$ $\text{mol dm}^{-3}$	$c(\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_7)/$ $\text{mol dm}^{-3}$	Temperatura/ $^{\circ}\text{C}$	Način miješanja
15.	$1 \cdot 10^{-1}$	$1 \cdot 10^{-3}$	$1 \cdot 10^{-3}$	50	Bez miješanja
16.	$1 \cdot 10^{-1}$	$1 \cdot 10^{-3}$	$1 \cdot 10^{-4}$		
17.	$1 \cdot 10^{-1}$	$1 \cdot 10^{-3}$	$1 \cdot 10^{-3}$		Ultrazvuk
18.	$1 \cdot 10^{-1}$	$1 \cdot 10^{-3}$	$1 \cdot 10^{-4}$		

Uzorci 19. i 20. dobiveni su tako što su otopine  $\text{Na}_2\text{C}_2\text{O}_4$  s  $\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_7$  koncentracija  $1 \cdot 10^{-3} \text{ mol dm}^{-3}$  i otopine  $\text{CaCl}_2$  koncentracije  $1 \cdot 10^{-1} \text{ mol dm}^{-3}$  prvo termostatirane na temperaturi od  $80 \text{ }^{\circ}\text{C}$  oko 20 minuta. Zatim se kod uzorka 19. 250 mL otopine  $\text{Na}_2\text{C}_2\text{O}_4$  s  $\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_7$  lagano dodalo u 250 mL otopine  $\text{CaCl}_2$ , dok su se za uzorak 20. koristile iste količine reaktanata samo su miješane 10 minuta pomoću ultrazvučne kupelji. Nakon miješanja otopina uzorci su ostavljeni 3 dana u sušionik na temperaturi od  $80 \text{ }^{\circ}\text{C}$  (**Tablica 7.**).

**Tablica 7.** Eksperimentalni uvjeti za 19. i 20. sintezu.

Uzorak	$c(\text{CaCl}_2)/$ $\text{mol dm}^{-3}$	$c(\text{Na}_2\text{C}_2\text{O}_4)/$ $\text{mol dm}^{-3}$	$c(\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_7)/$ $\text{mol dm}^{-3}$	Temperatura/ $^{\circ}\text{C}$	Način miješanja
19.	$1 \cdot 10^{-1}$	$1 \cdot 10^{-3}$	$1 \cdot 10^{-3}$	80	Bez miješanja
20.	$1 \cdot 10^{-1}$	$1 \cdot 10^{-3}$	$1 \cdot 10^{-3}$		Ultrazvuk

I za kraj, napravljene su dvije sinteze s eksperimentalnim uvjetima prikazanim u **Tablici 8.** čiji su se dobiveni produkti detaljnije analizirali. Koncentracije reaktanata za obje sinteze bile su  $c(\text{CaCl}_2) = 1 \cdot 10^{-1} \text{ mol dm}^{-3}$ ,  $c(\text{Na}_2\text{C}_2\text{O}_4) = 1 \cdot 10^{-3} \text{ mol dm}^{-3}$  i aditiva  $c(\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_7) = 1 \cdot 10^{-3} \text{ mol dm}^{-3}$ . Otopine su prvo termostatirane na temperaturi od  $70 \text{ }^{\circ}\text{C}$  oko 20 minuta. Zatim se za prvu sintezu 250 mL otopine  $\text{Na}_2\text{C}_2\text{O}_4$  s  $\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_7$  lagano dodalo u 250 mL otopine  $\text{CaCl}_2$ , a za drugu sintezu otopine su promiješane pomoću ultrazvučne kupelji. Nakon miješanja otopine su ostavljene u sušionik na temperaturi od  $70 \text{ }^{\circ}\text{C}$  koja se nakon 4 dana smanjila na najmanju temperaturu sušionika koja je bila između  $30 - 50 \text{ }^{\circ}\text{C}$ .

**Tablica 8.** Eksperimentalni uvjeti za 21. i 22. sintezu.

Uzorak.	$c(\text{CaCl}_2)/$ $\text{mol dm}^{-3}$	$c(\text{Na}_2\text{C}_2\text{O}_4)/$ $\text{mol dm}^{-3}$	$c(\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_7)/$ $\text{mol dm}^{-3}$	Temperatura/ $^{\circ}\text{C}$	Način miješanja
21.	$1 \cdot 10^{-1}$	$1 \cdot 10^{-3}$	$1 \cdot 10^{-3}$	70	Bez miješanja
22.	$1 \cdot 10^{-1}$	$1 \cdot 10^{-3}$	$1 \cdot 10^{-3}$		Ultrazvuk

Nakon završetka svih 22 sinteze, u daljnju obradu se išlo s ukupno 10 uzoraka (9., 10., 11., 12., 13., 14., 15., 17., 21. i 22.). Uzorci su profiltrirani pomoću Millipor filter papira veličine pora 0,22  $\mu\text{m}$ . Talog je ispran s velikom količinom deionizirane vode kako bi se uklonile zaostale nečistoće, a profiltrirani talog sušen je pri sobnoj temperaturi na zraku. Ovi uzorci profiltrirani su zbog toga što se na mikroskopskim snimkama vidjela pravilna morfologija COM-a dok su za ostale uzorke kristali bili jako sitni i/ili u obliku agregata pa se nisu dalje analizirali. Također, ovi navedeni profiltrirani uzorci su se dalje analizirali te su detaljnije objašnjene u Poglavlju 4. REZULTATI I DISKUSIJA.

### 3.5. KARAKTERIZACIJA KRISTALNOG SJEMENA

#### 3.5.1. OPTIČKA MIKROSKOPIJA (OM)

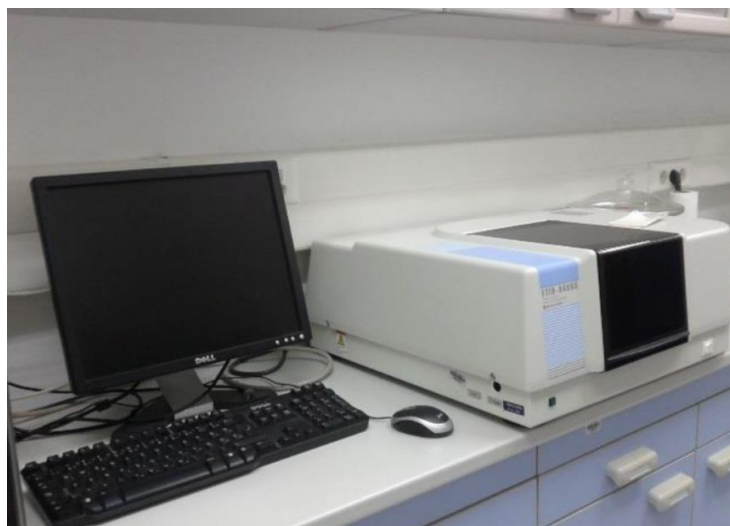
Svjetlosnim mikroskopom MotiC B1 s digitalnom kamerom MotiCam 2 (**Slika 12.**) promatrani su dobiveni kristali kalcijeva oksalata monohidrata. Ovaj uređaj korišten je za vizualnu karakterizaciju i utvrđivanje morfoloških svojstava.



**Slika 12.** Aparatura za optičku mikroskopiju.

#### 3.5.2. INFRACRVENA SPEKTROSKOPIJA (FTIR)

Spektrometrom Shimadzu FTIR 8400S (**Slika 13.**) snimljeni su FT-IR spektri u valnom području od  $400 - 4000 \text{ cm}^{-1}$ . Analizirane uzorke, koji su bili u čvrstom stanju, potrebno je pripremiti prije snimanja. Uzorak je potrebno usitniti te homogeno pomiješati s kalijevim bromidom, KBr (tvar koja ne apsorbira u IR zračenju). Zatim, homogena smjesa se prenosi u nosač te postavlja u mjerni uređaj. Dobiveni podatci su obrađeni pomoću programa IR Solution 1.30.



**Slika 13.** Aparatura za FT-IR.

### 3.5.3. TERMOGRAVIMETRIJSKA ANALIZA (TGA)

TG analiza provedena je instrumentom Mettler Toledo System 1 prikazanim na **Slici 14**. Dobiveni termogrami analizirani su pomoću računalnog programa STARe Software 10.0.

Sami uzorci ispitivani su u atmosferi zraka. Brzina protoka plina iznosila je  $200 \text{ cm}^3 \text{ min}^{-1}$ , a korak snimanja  $5 \text{ }^\circ\text{Cmin}^{-1}$ . Uzorci su se pripremali tako da se prvo izvažu aluminijske posudice te se zatim doda 10 - 20 mg uzorka i ponovno izvaže. Točna masa uzorka izračuna se iz razlike mase posudice s uzorkom i prazne aluminijske posudice. Zatim se uzorak s posudicom stavlja u instrument koji zagrijava uzorke, a temperatura raste zadanom brzinom. Promjena mase uzorka bilježi se na instrumentu. Iz dobivenih podataka određuje se postotni udio hidratnog oblika u uzorcima.





**Slika 14.** Prikaz uređaja za TG analizu.

#### 3.5.4. RENDGENSKA DIFRAKCIJA NA PRAHU (PXRD)

Fazni sastav analiziran je rentgenskom difrakcijom na prahu (PXRD) na PANanalytical X'PertPRO difraktometru (**Slika 15.**) s Bragg-Brentano geometrijom u kutnom području  $2\theta = 8 - 60^\circ$  sa stupnjem snimanja od  $0,02^\circ$ . Praškasti uzorci su jednostavno postavljeni na nosač uzoraka, te su postavljeni u difraktometar. Dobiveni difraktogrami su kvalitativno analizirani pomoću računalnog programa Highscore Plus, te su prikazani pomoću programa OriginPro 8.5.



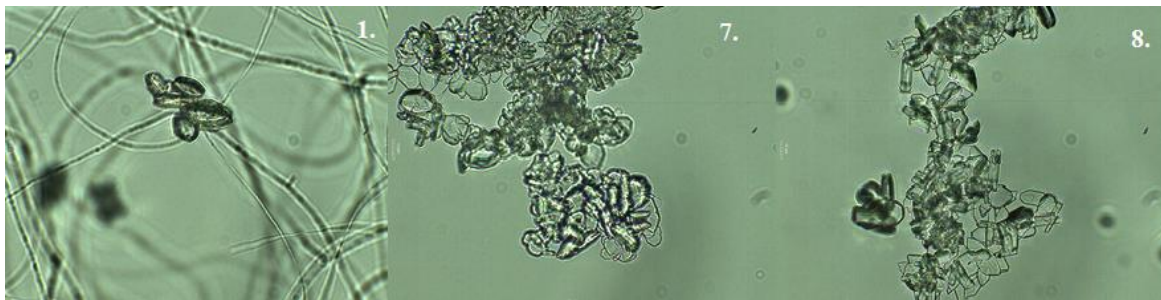
**Slika 15.** Slika aparature za rendgensku difrakciju na prahu.

## 4. REZULTATI I DISKUSIJA

Procesom taloženja sintetizirani su kristali kalcijeva oksalata monohidrata pri različitim eksperimentalnim uvjetima kako je već opisano u poglavlju 3.4.. Rezultati su interpretirani po setovima kako su odrađeni pokusi. Ukupno je odrađeno 5 setova sinteza, odnosno ukupno su napravljene 22 sinteze. U eksperimentima su se mijenjali uvjeti kako bi se procijenilo koji su uvjeti najpogodniji za sintezu što pravilnijih i što većih kristala kalcijeva oksalata monohidrata.

### 4.1. SINTEZA 1. – 8. UZORKA

Eksperimentalni uvjeti za prvih 8 sinteza prikazani su u **Tablici 4**. Nakon završetka sinteze, nastali kristali prvo su okarakterizirani optičkom mikroskopijom. U uzorcima 2., 3., 4., 5. i 6., kristali na mikroskopskim snimkama bili su vrlo sitni te se nije mogla odrediti morfologija kristala.



**Slika 16.** Mikroskopske snimke kristala u uzorcima 1. (lijevo), 7. (sredina) i 8. (desno).

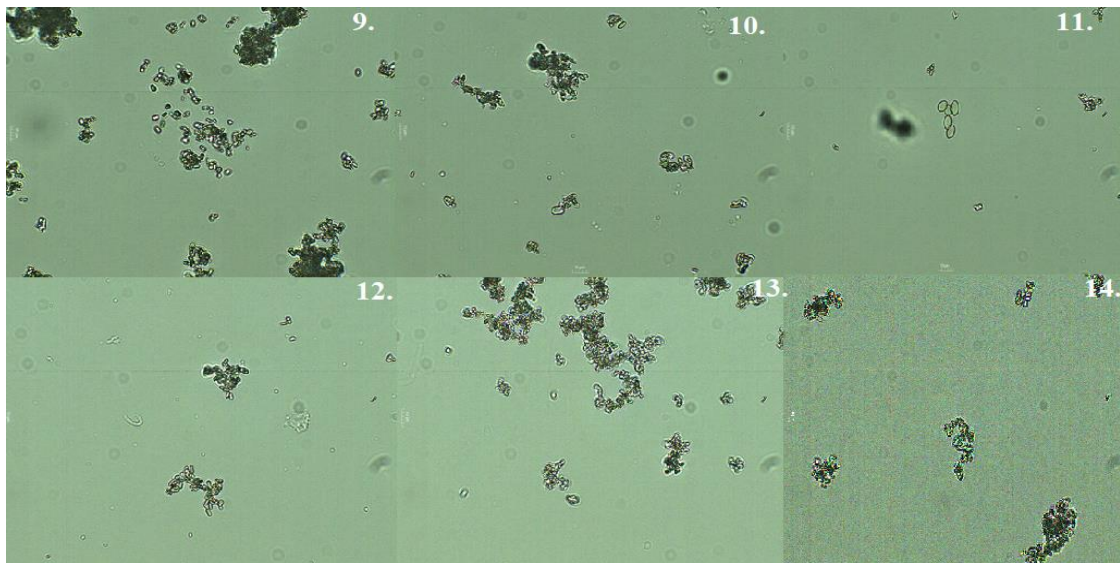
Pomoću mikroskopskih snimki prikazanih na **Slici 16**. uočena je morfologija kristala uzoraka 1., 7. i 8. koja odgovara COM-u. Iako je došlo do agregacije kristala vidljivo je kako su kristali veći od 10  $\mu\text{m}$ .

Eksperimentalni uvjeti prikazani u **Tablici 4**. nisu pogodni za sintezu kalcijeva oksalata monohidrata pravilne morfologije, već nastaju jako sitni kristali kojima se pomoću OM ne može odrediti morfologija. U uzorku 1 uočavaju se COM kristali oblika suza različitih veličina. U uzorku 7 teško je razaznati pravilan oblik COM kristala, dok se u uzorku 8 naziru vrlo pravilni šesterokutni kristali COM-a, međutim zbog agregacije i različitih veličina dobivenih kristala ovi uzorci nisu prikladni za buduća istraživanja. Zbog toga što nije uočena pravilna morfologija COM-a, te zbog agregacije i različitih veličina kristala uzorci nisu filtrirani jer nisu prikladni za buduća istraživanja.

## 4.2. SINTEZA 9. – 14. UZORKA

Za drugi set sinteza uzoraka 9. – 14. eksperimentalni uvjeti prikazani su u **Tablici 5**. Nakon završetka sinteze kristali su prvo okarakterizirani pomoću optičke mikroskopije. Zatim su kristali filtrirani te sušeni na zraku, a nakon sušenja okarakterizirani su i FT-IR spektroskopijom.

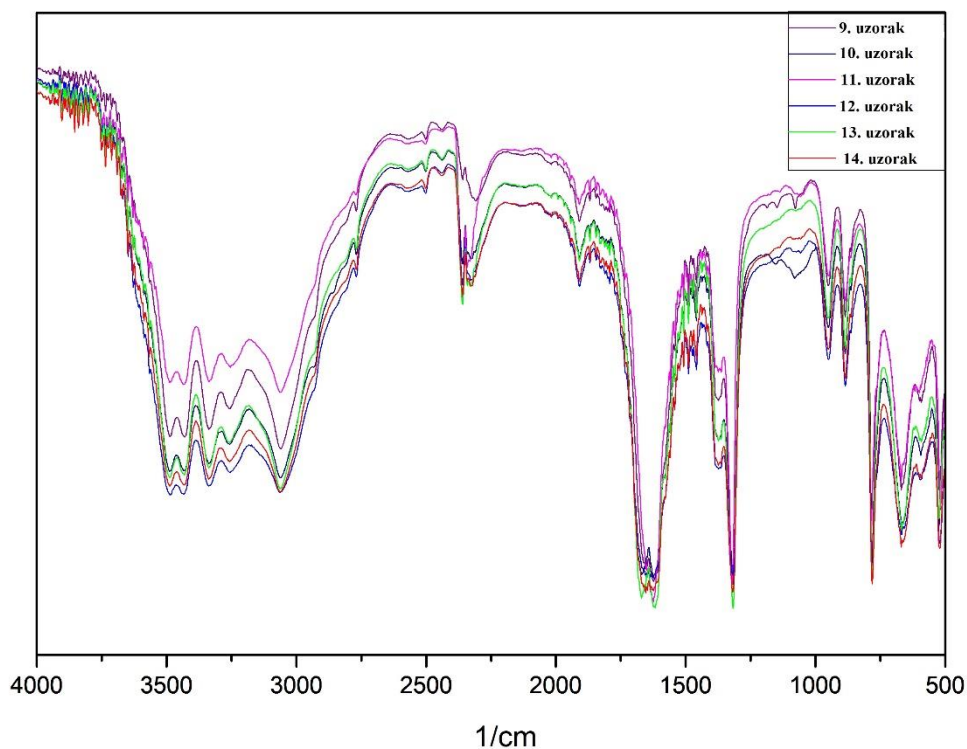
Optičkom mikroskopijom ispitana je veličina i morfologija uzoraka.



**Slika 17.** Mikroskopske snimke kristala za uzorke 9. – 14.

Iz dobivenih mikroskopskih snimki teško je uočljiva morfologija za sve uzorke zbog vrlo male veličine kristala koja je puno manja od  $10\ \mu\text{m}$  te zbog agregacije kristala. Iako su kristali sitni za uzorak 11 vidljiv je vrlo pravilan šesterokutni oblik COM-a koji je pokazatelj kako su nastali kristali kalcijeva oksalata monohidrata.

Daljnim analiziranjem uzoraka pomoću FT-IR spektroskopije potvrđeno je kako su svi dobiveni uzorci kalcijev oksalat monohidrat što je prikazano na **Slici 18**. FT-IR spektri su snimani u valnom području od  $400 - 4000\ \text{cm}^{-1}$ .



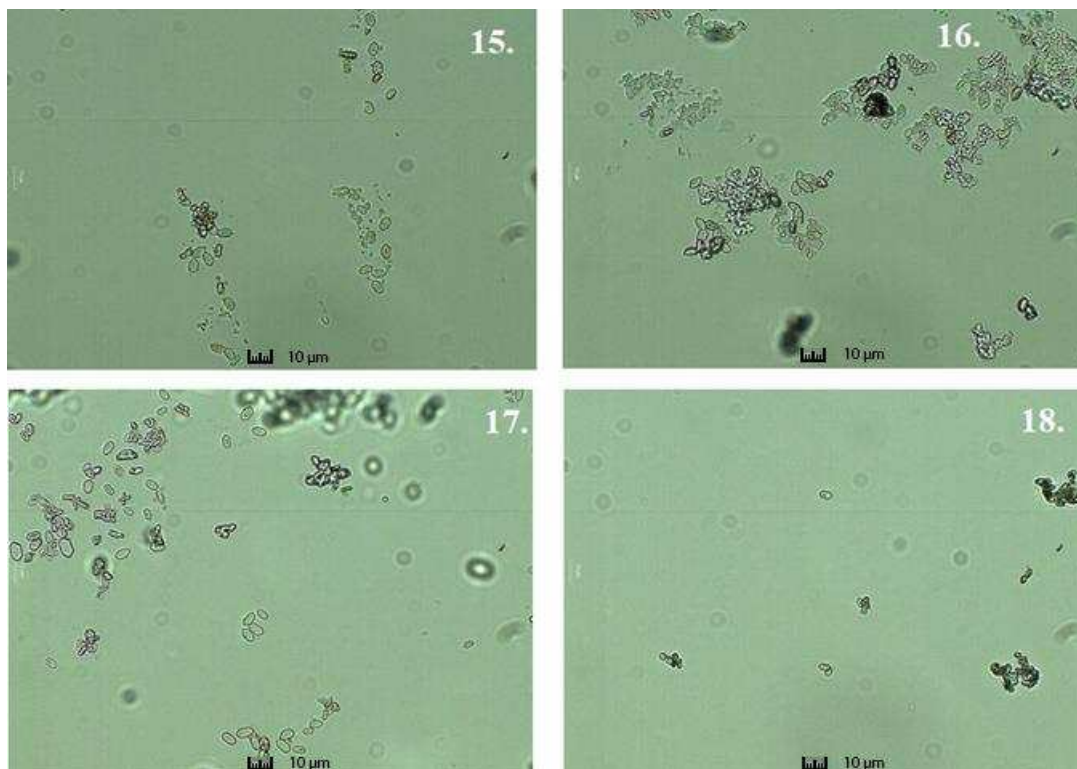
**Slika 18.** IR spektar za uzorke 9. – 14.

Za kvalitativnu analizu kalcijeva oksalata monohidrata dobiveni IR spektri uzoraka uspoređeni su s literaturnim podacima referentnog COM-a što je prikazano u Tablici 2. Prema dobivenim podacima iz grafa uočeno je kako spektri pokazuju specifične vrpce za COM. Prema tome može se zaključiti kako su svi dobiveni uzorci COM. Karakterističan oštar, asimetrični pik za COM nalazi se na oko  $1620\text{ cm}^{-1}$  što ukazuje na C=O istezanje. Pikovi na približno  $3500\text{ cm}^{-1}$  odgovaraju OH skupini, dok se O-C-O vibracije nalaze na oko  $780\text{ cm}^{-1}$  i  $520\text{ cm}^{-1}$ . Također, na prisutnost COM ukazuje i oštar pik na oko  $780\text{ cm}^{-1}$ , a pik na  $520\text{ cm}^{-1}$  prikazuje Ca-O istezanje.

### 4.3. SINTEZA 15. – 18. UZORKA

U **Tablici 6.** navedeni su eksperimentalni uvjeti za uzorke 15., 16., 17., i 18. Nakon završetka sinteze, kristali su analizirani pomoću optičke mikroskopije te zbog uočene morfologije na OM kristali uzoraka 15. i 17. su profiltrirani. Nakon filtracije i sušenja kristali uzoraka su dalje kvalitativno analizirani pomoću FT-IR spektroskopije.

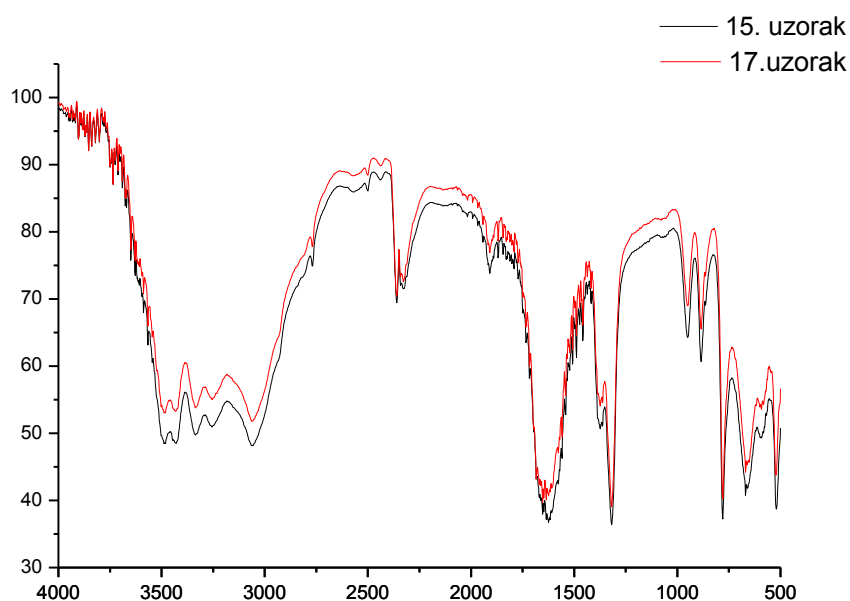
Morfologija i veličina sva četiri uzorka ispitana je optičkom mikroskopijom.



**Slika 19.** Mikroskopski prikaz kristala uzoraka 15. – 18.

Iz mikroskopskih snimki vidljiva je morfologija koja odgovara kalcijevom oksalatu monohidratu. Također, kristali uzoraka 15. i 17. su veći od 10 µm i pojedinačni te je vidljiv oblik šesterokuta, dok su kod uzoraka 16. i 18. kristali manji od 10 µm i prisutan je veći broj kristalnih agregata.

Kako bi se kvalitativno utvrdila prisutnost COM-a u uzorcima isti su analizirani pomoću FT-IR spektroskopije gdje su u valnom području od 400 do 4000  $\text{cm}^{-1}$  snimljeni spektri. Na **Slici 20.** vidljivi su pikovi koji potvrđuju prisutnost COM u uzorcima.



**Slika 20.** IR spektar za uzorke 15. i 17.

U **Tablici 2.** prikazane su karakteristične vrpce u IR spektru koji odgovaraju uzorcima 15 i 17. Iz dobivenih rezultata uočeno je kako su oba dobivena uzorka kalcijev oksalat monohidrat. Pikovi koji ukazuju na prisutnost OH skupine nalaze se na oko  $3500\text{ cm}^{-1}$ , a na oko  $1620\text{ cm}^{-1}$  nalazi se karakterističan pik za COM. Pik koji se nalazi na  $1317\text{ cm}^{-1}$  ukazuje na simetrično istezanje C=O, dok su pikovi na  $948\text{ cm}^{-1}$  i  $885\text{ cm}^{-1}$  pripisane C-C rastezanju. Pik na  $665\text{ cm}^{-1}$  pripisan je H<sub>2</sub>O i pik na  $520\text{ cm}^{-1}$  ukazuje na Ca-O istezanje.

#### 4.4. SINTEZA 19. I 20. UZORKA

U **Tablici 7.** prikazani su eksperimentalni uvjeti za sintezu 19. i 20. uzorka. Morfologija kristala, nakon završetka sinteze, određena je pomoću optičke mikroskopije. OM uočeno je kako dobiveni kristali nisu kalcijev oksalat monohidrat nego najvjerojatnije kalcijev oksalat trihidrat te zbog toga nisu urađene daljnje analize uzoraka 19. i 20. Za uzorak 19. snimljena je mikroskopska snimka koja ja prikazana na **Slici 21.**



**Slika 21.** Mikroskopski prikaz morfologije uzorka 19.

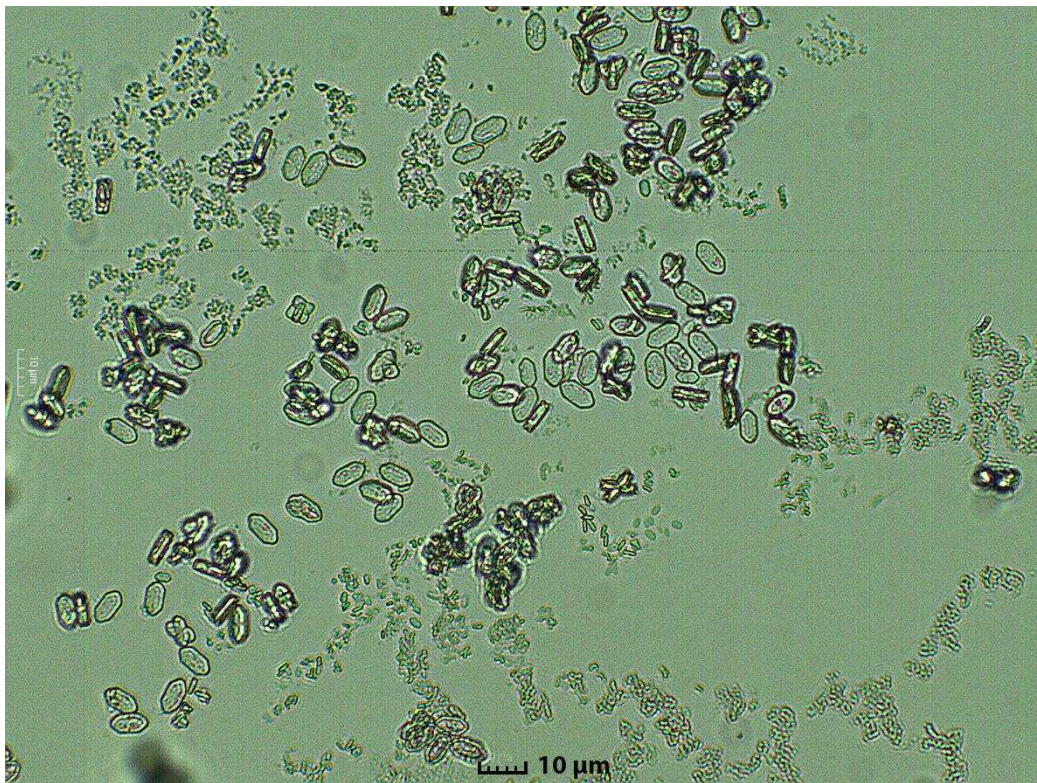
Iz mikroskopske snimke vidljivo je kako su dobiveni kristali puno veći od 10 μm, no štapičasti oblik kristala nije karakterističan za kalcijev oksalat monohidrat već za kalcijev oksalat trihidrat. Do nastanka COT-a došlo je zbog temperature koja je iznosila 80 °C te se iz toga zaključuje kako za sinteze kalcijeva oksalata monohidrata temperatura termostiranja i sušionika gdje su uzorci ostavljeni mora biti manja.



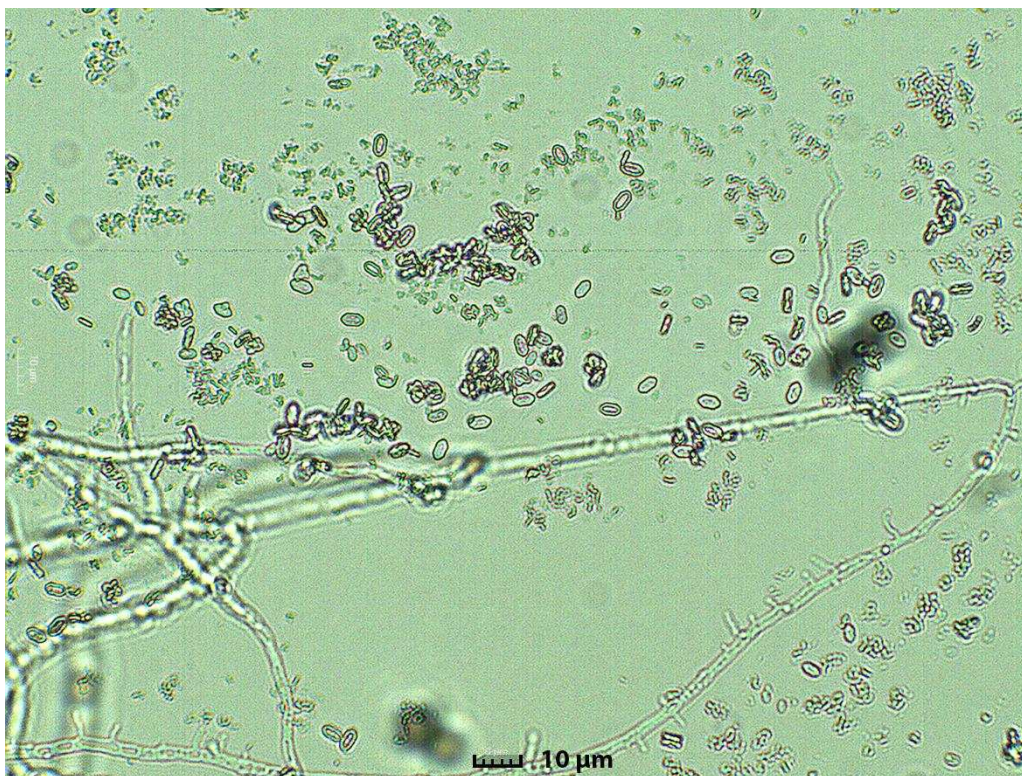
#### 4.5. SINTEZA 21. i 22. UZORKA

Uvjeti eksperimenata za zadnje sinteze uzoraka 21. i 22. prikazani su u **Tablici 8.** Također, nakon završetka sinteza uzorci su okarakterizirani optičkom mikroskopijom gdje su kristali COM-a bili pojedinačni, najveći i najpravilnije morfologije, te su zbog toga kristali profiltrirani, osušeni i dalje analizirani pomoću FT-IR spektroskopije, TG analize i PXRD analize.

Mikroskopska snimka uzorka 21. prikazana je na **Slici 22.**, a za uzorak 22. na **Slici 23.**



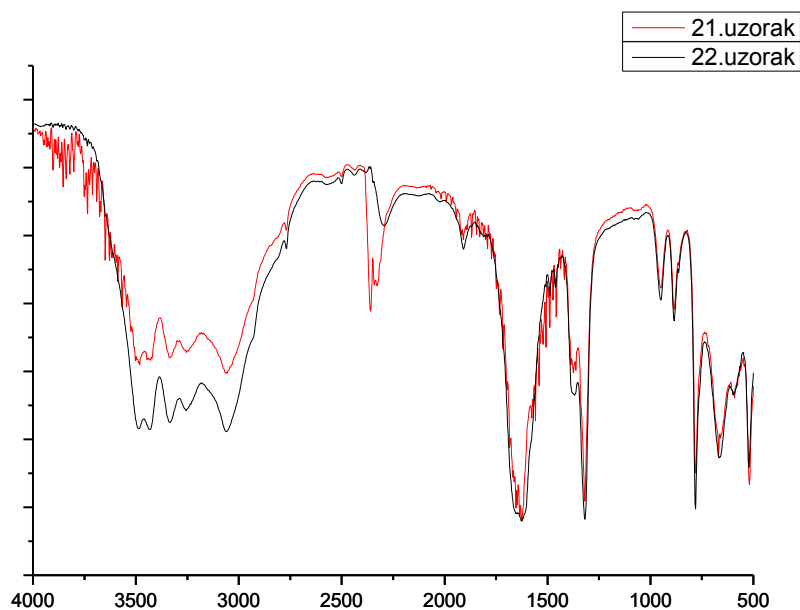
**Slika 22.** Mikroskopski snimak kristala uzorka 21.



**Slika 23.** Mikroskopski snimak kristala uzorka 22.

Iz mikroskopskih snimaka vidljiva je morfologija kristala koja odgovara kalcijevom oksalatu monohidratu. Na **Slikama 22. i 23.** vidljivo je kako su kristali veći od 10 μm. Kod uzorka 21. vidljivo je kako su nastali kristali pravilne morfologije, odnosno nastali su veliki (10 - 20 μm) i pravilni šesterokutni oblici kristala COM-a. Za uzorak 22. uočeno je kako dolazi do agregacije kristala iako je vidljiv pravilni šesterokutni oblik COM-a veličine do 10 μm. Prema tome može se zaključiti kako su za nastanak velikih i pravilnih kristala kalcijeva oksalata monohidrata potrebni eksperimentalni uvjeti koji su korišteni za sintezu uzorka 21. prikazanih u **Tablici 8.** Eksperimentalni uvjeti su bili slijedeći:  $c(\text{CaCl}_2) = 1 \cdot 10^{-1} \text{ mol dm}^{-3}$ ,  $c(\text{Na}_2\text{C}_2\text{O}_4) = 1 \cdot 10^{-3} \text{ mol dm}^{-3}$ ,  $c(\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_7) = 1 \cdot 10^{-3} \text{ mol dm}^{-3}$ , otopine su termostahirane pri temperaturi od 70 °C, a nakon ultrazvučnog miješanja otopina je stavljena u sušionik na temperaturu od 70 °C koja je nakon 4 dana smanjena na 30 – 50 °C, te bi se uz vrlo malu modifikaciju tih uvjeta zasigurno dobili još veći i pravilniji kristali COM-a.

Nakon sinteze uzoraka 21. i 22. snimljeni su FT-IR spektri kako bi se kvalitativno dokazala prisutnost COM-a. Pomoću dobivenih podataka uočeno je kako su dobiveni željeni uzorci kalcijeva oksalata monohidrata. Na **Slici 24.** prikazani su dobiveni FT-IR spektri uzoraka 21. i 22.



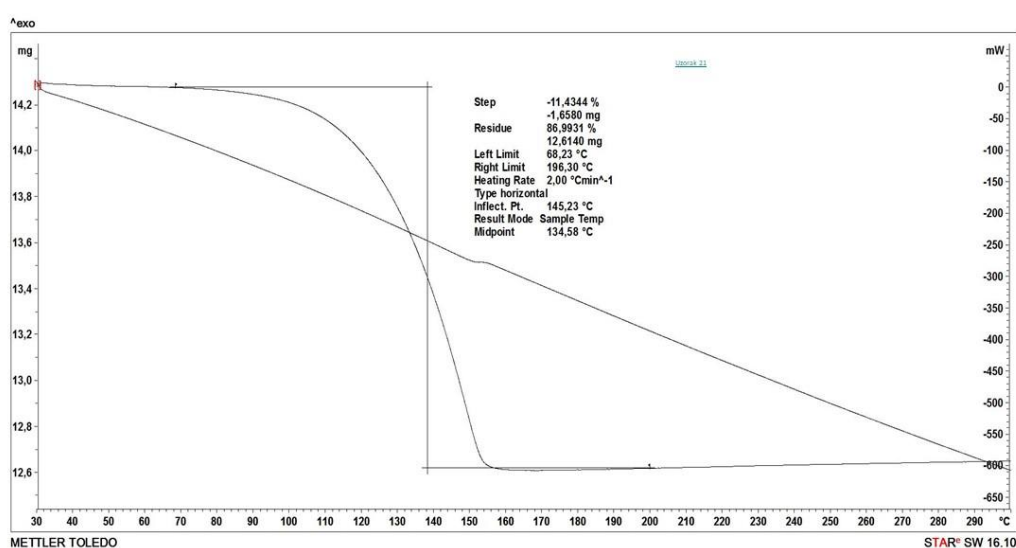
**Slika 24.** IR spektar za uzorke 21. i 22.

Iz **Tablice 2.** koja prikazuje karakteristične vrpce u IR spektru za uzorak COM-a vidljivo je kako pikovi uzoraka 21. i 22. odgovaraju pikovima za COM. Iz očitanih podataka s grafa uočeno je kako su oba uzorka COM. Za uzorke COM-a karakterističan je pik na oko 1620  $\text{cm}^{-1}$ , a prisutnost OH skupine pokazuju pik na oko 3500  $\text{cm}^{-1}$ . Pik koji se nalazi na 1317  $\text{cm}^{-1}$  ukazuje na simetrično istezanje C=O, dok su pikovi na 948  $\text{cm}^{-1}$  i 885  $\text{cm}^{-1}$  pripisane C-C rastezanju. Pik na 665  $\text{cm}^{-1}$  pripisan je H<sub>2</sub>O i pik na 520  $\text{cm}^{-1}$  ukazuje na Ca-O istezanje

Termogravimetrijska analiza pokazuje da taloži isključivo kalcijev oksalat monohidrat (COM) (**Tablica 9.**).

**Tablica 9.** Termogravimetrijska analiza ( $t_0$  – početna temperatura raspada,  $t_{max}$  – maksimalna temperatura raspada,  $t_e$  – završna temperatura raspada,  $\Delta m / \%$  – promjena mase izražena u postocima, udio hidratne faze izražen u postocima).

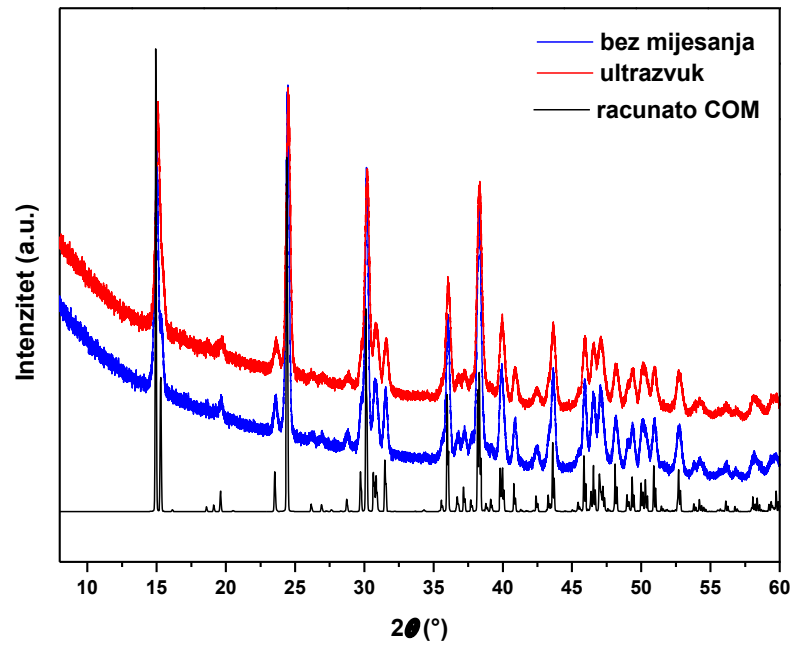
	<i>I. korak</i>				<i>Hidratna faza / %</i>		
	$t_0 / ^\circ\text{C}$	$t_{max} / ^\circ\text{C}$	$t_e / ^\circ\text{C}$	$\Delta m / \%$	COM	COD	COT
<b>21</b>	68,23	145,23	196,30	11,43	100	-	-
<b>22</b>	69,05	143,90	199,45	11,60	100	-	-



**Slika 25.** Termogram uzorka 21.

Iz **Tablice 9.** i **Slike 25.** uočava se da je gubitak mase bio u samo jednom koraku. Teoretski gubitak mase za kristalnu vodu u čistom COM iznosi 12,33% [32]. Gubitak mase uzorka 21 iznosi 11,43%, a uzorka 22 11,60% što je potvrda taloženja isključivo COM.

Rendgenskom difrakcijom na prahu provedena je kvantitativna analiza i identifikacija hidratne faze. Kao što je vidljivo iz **Slike 26.** rezultati PXR D analize potvrdili su taloženje kalcijeva oksalata monohidrata. Također, vidljivo je kako širina pika nije velika što nam daje podatak kako su dobiveni veći kristali.



Slika 26. Rendgenogram uzoraka 21. i 22.

## 5. ZAKLJUČAK

Cilj ovog diplomskog rada bio je sintetizirati, procesom taloženja i u različitim eksperimentalnim uvjetima, što veće, uniformnije i pravilnije kristale kalcijeva oksalata monohidrata. U eksperimentima su se koristile različite koncentracije kalcijeva klorida, natrijeva oksalata i limunske kiseline koja se koristila kao aditiv. Koristila su se dva načina miješanja otopine, odnosno prvi način je bio bez miješanja, a drugi ultrazvučno miješenje. Također, neke otopine su termostatirane prije miješanja, a i sama temperatura otopina se mijenjala kroz sinteze. Zabilježeno je kako se u gotovo svim eksperimentalnim uvjetima dobiva čisti COM, osim u uvjetima kada je temperatura termostatiranja i sinteze bila oko 80 °C, kada je istaložio COT.

Karakterizacijom kristalnog sjemena dobivenog COM-a vidljivo je kako su najveći i najpravilniji kristali dobiveni procesom taloženja kada su eksperimentalni uvjeti bili slijedeći:  $c(\text{CaCl}_2) = 1 \cdot 10^{-1} \text{ mol dm}^{-3}$ ,  $c(\text{Na}_2\text{C}_2\text{O}_4) = 1 \cdot 10^{-3} \text{ mol dm}^{-3}$ ,  $c(\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_7) = 1 \cdot 10^{-3} \text{ mol dm}^{-3}$ , otopine su termostatirane pri temperaturi od 70 °C, a nakon miješanja otopina ostavljene su u sušioniku na temperaturi od 70 °C koja se nakon 4 dana smanjila na 30 – 50 °C. Iz mikroskopskih snimki vidljivo je kako su najveći (10 – 20  $\mu\text{m}$ ), najuniformniji i najpravilniji kristali nastali u uzorku 21., dok su nešto manji kristali (do 10  $\mu\text{m}$ ) nastali u uzorku 22.

Iz rezultata prikazanih u ovom diplomskom radu može se vidjeti sama složenost procesa taloženja na primjeru nastanka kalcijeva oksalata monohidrata. Ova vrsta istraživanja korisna je za razumijevanje pri kojim uvjetima nastaje kalcijev oksalat monohidrat. Kako je COM sastavni dio bubrežnih kamenaca koji nastaje kao posljedica patološke biomineralizacije, te se sve veći broj ljudske populacije susreće s istim, svako novo istraživanje vrlo je važno za otkrivanje i sprječavanje nastanka bubrežnih kamenaca.

## 6. LITERATURA

- [1] C.Y.C P., *Kidney stones*, Lancet, **351** (1998.),1797-801.
- [2] S. Weiner, P.M. Dove, Rev Mineral Geochem. **54** (2003.)1–29.
- [3] E. Königsberger, L. Königsberger, *Biomineralization – Medical Aspects of Solubility*, 1st edition, John Wiley & Sons, Ltd, 2006.
- [4]<https://www.plivazdravlje.hr/bolest-clanak/bolest/246/Bubrejni-kamenci.html>  
(17.02.2022.)
- [5] <https://www.marinahospital.com/urology/shock-wave-lithotripsy> (17.02.2022)
- [6]<https://www.chop.edu/conditions-diseases/ureteropelvic-junction-upj-obstruction>  
(17.02.2022)
- [7] D.I. Harvie, Limeys: *The Conquest of Scurvy*, 2005
- [8] D. Škrtić, H. Füredi-Milhofer, M. Marković, *J. Cryst. Growth*, 80 (1987.) 113-120.
- [9] F. Vlašić, *Med Vjesn* **22** (1990) 73-77.
- [10] K. P. Aggarwal, S. Narula, M. Kakkar, C. Tandonm C, *BioMed Res Int* (2013).
- [11] M.L. Giannossi, V. Summa, *A review of pathological biomineral analysis techniques and classification schemes*, C. Aydinalp (Ed.) An introduction to the study of mineralogy, InTech Europe, Rijeka, Croatia, 2012.
- [12] A.Tucak, M. Radonić, H. Furedi – Milhofer, D. Dekanić, Lj. Čečuk, *Urolitijaza*, Revija, Izdavački centar Radničkog sveučilišta „Božidar Maslarić“, Osijek, 1989.
- [13] W. Heijnen, W. Jellinghaus, W. E. Klee, *Calcium Oxalate Tryhidrate in Urinary Calculi*, Urological Research, 1985.
- [14] A. Thomas, *Biomimetic Growth and Morphology Control of Calcium Oxalates*, Doktorski rad, TU Dresden, Njemačka, 2009.
- [15] V. Tazzoli, C. Domenegheti, *American Mineralogist*, **65** (1980) 327-334.
- [16] S. Deganello, *Zeitschrift für Kristallographie*, **152** (1980) 247-252

- [17] F. Grases, O. Söhnel, A. Millán, A. Costa-Bauzá, A. Conte, *Current Topics in Crystal Growth Res.* **1** (1994) 367-389.
- [18] G. Mandel, N. Mandel, *In: Kidney Stones: Medical and Surgical Management*, Ed.: F.L. Coe, M.J. Favus, C.Y.C. pak, J.H. Parks, G.M. Preminger, Lippincott-Raven Publishers, Philadelphia (1996).
- [19] X. Wei, J. Yang, Z. Li, Y. Su i D. Wang, *Coll. Surf. A: Physicochem. Eng. Aspects* **401** (2012) 107-115.
- [20] J.L. Meyer and L.H. Smith, *Invest. Urol.* **13** (1975) 31.
- [21] G.H. Nancollas and G.L. Gardner, *J. Crystal Growth* **21** (1974) 267.
- [22] A. Šter, S. Šafranko, K. Bilić, B. Marković, D. Kralj, *Urolithiasis*, **48** (2018), 243-256.
- [23] A. Stanković, J. Kontrec, B. Njegić Džakula, D. Kovačević, B. Marković, D. Kralj, *Journal of crystal growth*, **500** (2018), 91-97
- [24] C. Sterling, *Acta Cryst.*, **18** (1965) 917-921.
- [25] S. Deganello, A.R. Kampf, P.B. Moore, *American Mineralogist*, **66** (1981) 895-865.
- [26] C. Conti, M. Casati, C. Colombo, E. Possenti, M. Realini, G. Diego Gatta, M. Merlini, L. Brambilla, G. Zerbi, *Spectrochimica Acta Part A*, **150** (2015) 721 – 730.
- [27] A. E. Nielsen, *Croat. Chem. Acta*, **42** (1970) 319-333.
- [28] D. Kralj: Procesi taloženja, *Kem. Ind*, **45** (1996) 13-26.
- [29] <http://www.enciklopedija.hr/natuknica.aspx?ID=40775> (19.02.2022.)
- [30] Z. Popović, *Infracrvena spektroskopija, skripta*, Zavod za opću i anorgansku kemiju Prirodoslovno – matematičkog fakulteta, Zagreb, 1999.
- [31] C. Conti, M. Casati, C. Colombo, M. Realini, L. Brambilla, G. Zerbi, *Spectrochim. Acta A Mol Biomol. Spectrosc.*, **128** (2014) 413–419.
- [32] G. Schwedt, *The Essential Guide to Analytical Chemistry*, Wiley, Chichester, UK, 1997.
- [33] <http://www.enciklopedija.hr/natuknica.aspx?id=60947> (19.02.2022.)
- [34] T. Echigo, M. Kimata, A. Kyono, M. Shmizu, T. Hatta, , *Mineral. Mag.* **69** (2005) 77-88
- [35] A. R. West, *Solid State Chemistry*, Wiley & Sons, Chichester, UK, 2014.



[36] R. Jenkins, R. L. Snyder, *Introduction to X-ray powder diffractometry*, John Wiley & Sons, New York, SAD, 1996.