

Utjecaj kompleksnosti sustava i dodataka vitamina C na taloženje kalcijeva oksalata

Jurišić, Katarina

Undergraduate thesis / Završni rad

2019

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:182:953412>

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

Download date / Datum preuzimanja: **2025-01-31**

Repository / Repozitorij:

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



Sveučilište J. J. Strossmayera u Osijeku

Odjel za kemiju

Preddiplomski studij kemije

Katarina Jurišić

Utjecaj kompleksnosti sustava i dodatka vitamina C na
taloženje kalcijeva oksalata

Završni rad

Mentorica: doc. dr. sc. Martina Medvidović – Kosanović

Neposredne voditeljice: dr. sc. Anamarija Stanković

Jelena Bijelić, mag. educ. chem

Osijek 2019.

SAŽETAK

Kalcijevi oksalati su kalcijeve soli oksalne kiseline i čine sastavni dio bubrežnih kamenaca. Kalcijev oksalat kristalizira u tri hidratna oblika: kalcijev oksalat monohidrat (COM, velevit), kalcijev oksalat dihidrat (COD, vedelit) i kalcijev oksalat trihidrat (COT, kaoksit). Urolitijaza je medicinski naziv za nastanak bubrežnih kamenaca u urinarnom traktu, a od nje oboljevaju podjednako muškarci i žene. Bez obzira što se većina kamenaca može liječiti bez operativnog zahvata provode se mnoga istraživanja kako bi se objasnio mehanizam, uzrok i moguća prevencija nastanka bubrežnih kamenaca.

Ovim završnim radom ekperimentalno je pokazano da kompleksnost sustava i promjena mase dodanog vitamina C utječu na taloženje kalcijeva oksalata, posebno na morfologiju, veličinu i hidratnu fazu. Rezultati su obrađeni optičkom mikroskopijom, FTIR spektroskopijom i termogravimetrijskom analizom.

Ključne riječi: vitamin C, kalcijev oksalat monohidrat (COM), kalcijev oksalat trihidrat (COT), bubrežni kamenac

ABSTRACT

Calcium oxalates are calcium salts of oxalic acid and are the most common constituents of kidney stones. Calcium oxalate crystallize in three most common forms: calcium oxalate monohydrate (COM, whewellite), calcium oxalate dihydrate (COD, weddellite) and calcium oxalate trihydrate (COT, caoxite). Urolithiasis is a medical term for formation of kidney stones in urinary tract and engages men and women equally. Even though many stones can be treated without surgical procedure, many researches are conducted in order to explain mechanism, cause and possible prevention of kidney stone formation.

In this final thesis, it was proven experimentally that the change in vitamin C concentration affects morphology, size and hydrated phase of calcium oxalates. The results were processed by optical microscopy, infrared (FT-IR) spectroscopy and thermal analysis (TGA).

Keywords: vitamin C, calcium oxalate monohydrate (COM), calcium oxalate trihydrate (COT), kidney stones

Sadržaj

| | |
|---|----|
| ABSTRACT..... | 3 |
| 1. UVOD..... | 5 |
| 2. LITERATUNI DIO..... | 6 |
| 2.1. BUBREŽNI KAMENCI..... | 6 |
| 2.1.1. Kalcijevi oksalati..... | 8 |
| 2.1.2. Taloženje kalcijevih oksalata u ljudskom organizmu..... | 10 |
| 2.2. METODE IDENTIFIKACIJE I ANALIZE KALCIJEVIH OKSALATA..... | 12 |
| 2.2.1. Optička mikroskopija (OM)..... | 12 |
| 2.2.2. Infracrvena spektroskopija (FTIR)..... | 12 |
| 2.2.3. Termogravimetrijska analiza (TGA)..... | 14 |
| 2.3. VITAMIN C..... | 16 |
| 2.3.1. Posljedice prevelikog i premalog unosa vitamina C u organizam..... | 17 |
| 2.3.2. Apsorpcija, cirkulacija i izlučivanje vitamina C..... | 18 |
| 3. EKSPERIMENTALNI DIO..... | 20 |
| 3.1. Pribor i aparatura..... | 20 |
| 3.2. Popis kemikalija..... | 21 |
| 3.3. Priprema otopina..... | 21 |
| 3.4. Standardizacija otopina..... | 24 |
| 3.5. Sinteza kalcijeva oksalata..... | 26 |
| 3.6. Analiza taloga kalcijeva oksalata..... | 27 |
| 4. Rezultati i diskusija..... | 29 |
| 4.1. Jednostavni sustav..... | 29 |
| 4.1.1. Termogravimetrijska analiza (TGA)..... | 30 |
| 4.1.2. Optička mikroskopija (OM)..... | 31 |
| 4.1.3. Infracrvena spektrometrija (FT-IR)..... | 32 |
| 4.2. Sustav kalcijeva oksalata s natrijevim kloridom i vitaminom..... | 33 |
| 4.2.1. Termogravimetrijska analiza (TGA)..... | 34 |
| 4.2.2. Optička mikroskopija (OM)..... | 35 |
| 4.2.3. Infracrvena spektroskopija (FT-IR)..... | 36 |
| 5. Zaključak..... | 37 |
| 6. Prilozi..... | 38 |
| 6.1. Termogrami kalcijeva oksalata taloženi u jednostavnom i NaCl sustavu..... | 38 |
| 6.2. Mikroskopske slike kristala kalcijeva oksalata taloženi u jednostavnom i NaCl sustavu..... | 41 |
| 6.3. IR spektri kalcijeva oksalata taloženi u jednostavnom i NaCl sustavu..... | 43 |

1. UVOD

Tijekom zadnjih nekoliko desetljeća, provode se istraživanja kojima je cilj doći do mehanizma i uvjeta nastanka bubrežnih kamenaca, te do rješavanja prevencije njihova nastanka. U većini slučajeva kod pacijenata je uočena pojava hiperoksalurije ili hiperkalcilurije kao čimbenicima pri razvijanju urolitijaze.¹

Urolitijaza ili nefrolitijaza je široko rasprostranjena pojava taloženja čvrste kristalne tvari na unutarnjoj površini bubrega, koja zahvaća oko 5 – 10 % stanovništva, svih dobnih i spolnih skupina. Najčešće se radi o kalcijevim solima na čije taloženje utječu mnogi faktori kao što su: spol, genetika, klima, prehrana, tvrdoća vode, rasa, inhibitori , ... Kamenci se u osnovi sastoje od proteinskog matriksa te kristalizirajućeg materijala koji može biti sastavljen od kalcijevih soli (kalcijeva fosfata i oksalata 73 %), struvitnih (15 %), uratnih (8 %) i cistinskih kamenaca (3 %).²

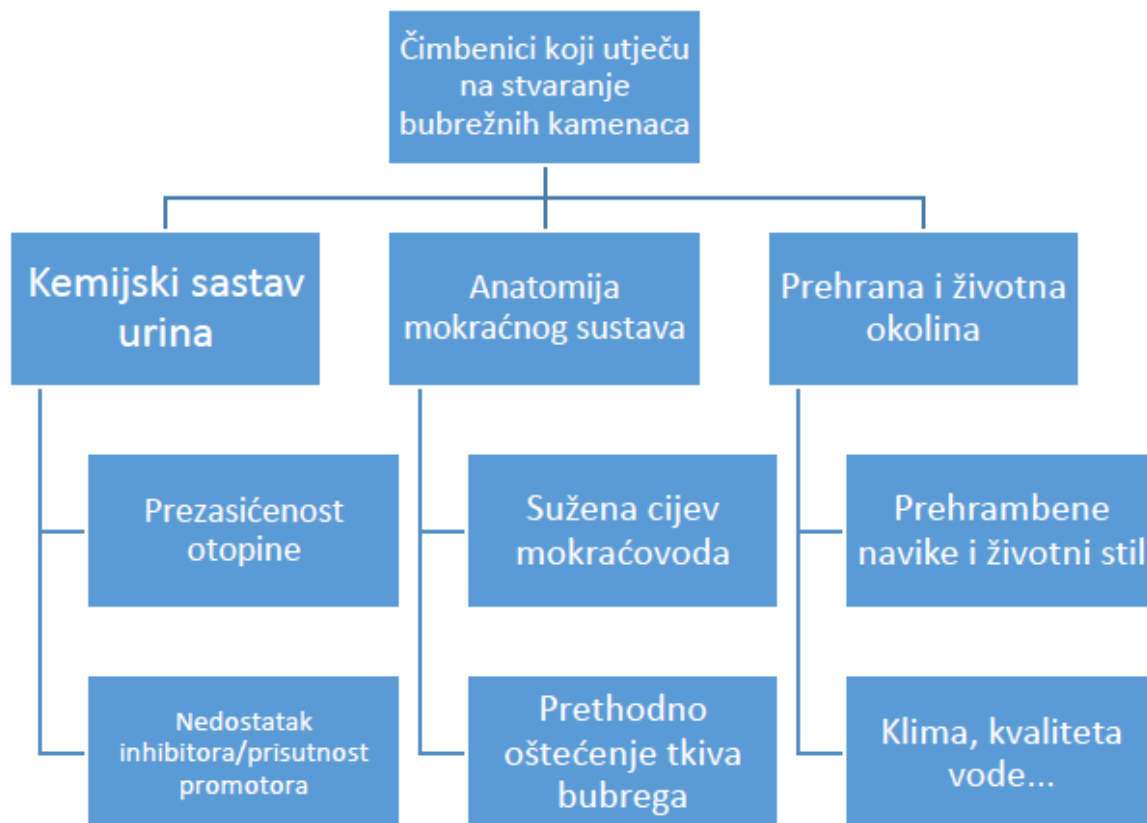
Svrha ovog rada je ispitati utjecaj vitamina C na taloženje kalcijeva oksalata pri konstantnom pH = 6,5 u jednostavnom sustavu i u kompleksnijem sustavu, te pri uvjetu hiperoksalurije kao jednom od metaboličkih čimbenika nastanka bubrežnih kamenaca.

2. LITERATUNI DIO

2.1. BUBREŽNI KAMENCI

Bubrežni kamenci jedan su od najčešćih i najbolnijih bolesti urinarnog trakta. Nastaju unutar bubrega, a kada se odvoje od vezne površine i putuju duž mokraćnog sustava i oštećuju stjenke mokraćovoda. Proces nakupljanja čvrstih, kristaliničnih tvari u mokraćnom sustavu, odnosno u bubrezima ili mokraćnom mjehuru, koji rezultira nastajanjem kamenca, naziva se urolitijaza. Urolitijaza je dva do tri puta češća kod muškaraca nego kod žena, a na nju utječu genetički, nutritivni i ekološki čimbenici.

Da bi došlo do nastanka bubrežnih kamenaca vrlo je važna interakcija kristala kalcijeva oksalata i bubrežnog tkiva. Tome pogoduje oštećenje bubrežnog tkiva koje služi kao vezno mjesto za agregaciju kristala. Drugi čimbenik koji ima veliku ulogu su uvjeti hiperoksalurije, hiperkalcijurije, pH urina te smanjenje prirodnih inhibitora nastali uslijed ionske neravnoteže unutar organizma (**Slika 1.**).



Slika 1. Čimbenici koji utječu na stvaranje bubrežnih kamenaca.

Sastav kamenaca može se vidjeti iz **Tablice 1.** u kojoj su navedene njegove glavne komponente. Analizom je pokazana da su bubrežni kamenci smjesa oksalata, fosfata i mokraćne kiseline, a oko 80 % bubrežnih kamenaca sastoji se od kalcijevog oksalata i kalcijevog fosfata, koji su dio ljudske prehrane, a esencijalne su za ljudske kosti i mišiće. Rjeđi oblici su kamenci mokraćne kiseline i cisteinski kamenci koje prikazuje **Slika 2.**

Tablica 1. Kemijski sastav bubrežnih kamenaca.

| KEMIJSKI SPOJ | NAZIV MINERALA | KEMIJSKA FORMULA | SKRAĆENICA SPOJA |
|--|----------------|---|------------------|
| Oksalati | | | |
| Kalcijev 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 |
| Fosfati | | | |
| 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 |
| Purini | | | |
| 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 |
| Ostali | | | |
| L-Cistein | | $\text{C}_6\text{H}_{12}\text{N}_2\text{O}_4\text{S}_2$ | CY |



Slika 2. Mikroskopske slike bubrežnih kamenaca različitog kemijskog sastava. [Referenca?](#)

2.1.1. Kalcijevi oksalati

Kalcijevi oksalati su soli oksalne kiseline i čine oko 80 % sastava bubrežnih kamenaca. Oksalati su široko rasprostranjeni spojevi, a u biljkama ih nalazimo u obliku oksalne kiseline ili soli natrija, kalcija ili magnezija.

U prirodi ga pronalazimo u tri hidratna oblika, termodinamički stabilan kalcijev oksalat monohidrat (COM, $\text{CaC}_2\text{O}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$, vevelit), te metastabilni dihidrat (COD, $\text{CaC}_2\text{O}_4 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$, vedelit) i trihidrat (COT, $\text{CaC}_2\text{O}_4 \cdot 3 \text{H}_2\text{O}$, kaoksit).⁴ Prema morfološkom izgledu za kamence kalcij oksalata monohidrata (COM) karakteristično je da su smeđe boje, sive prevlake i tvrde konzistencije. Kamenci kalcij oksalata dihidrata su obično mali, sferični, žute do žutosmeđe nakupine pločica. Smjesa monohidrata i dihidrata ima više katakaarakteristika dihidrata jer se on pojavljuje na površini kamenca.³

COM kristalizira u dvije monoklinske strukture:

- 1) Osnovnoj, koja je stabilna iznad 45 °C, a sastoji se od naslaganih planarnih slojeva iona kalcija i oksalata u omjeru 2:1, koji se izmjenjuju sa slojevima oksalata i vode u položaju paralelnom s ravninom.
- 2) Stabilnoj ispod 45 °C. Oksalati u ravnini su pretrpjeli malu distorziju pa se duljina *b* udvostručila, a simetrija smanjila.

Postoji i treća ortorompska struktura COM-a koja nastaje dehidracijom dihidrata u temperaturnom području od 118-130 °C.

Kalcijev oksalat dihidrat (COD) kristalizira u tetragonskom sustavu. Osam molekula vode koordinirano je s 4 atoma kalcija dihidratnog oblika. Ca²⁺ ion je koordiniran sa osam atoma kisika koji potječu od četiri molekule vode i četiri oksalatna iona. U usporedbi sa COM ion kalcija je koordiniran s jednim oksalatnim ionom manje i jednom molekulom vode više.

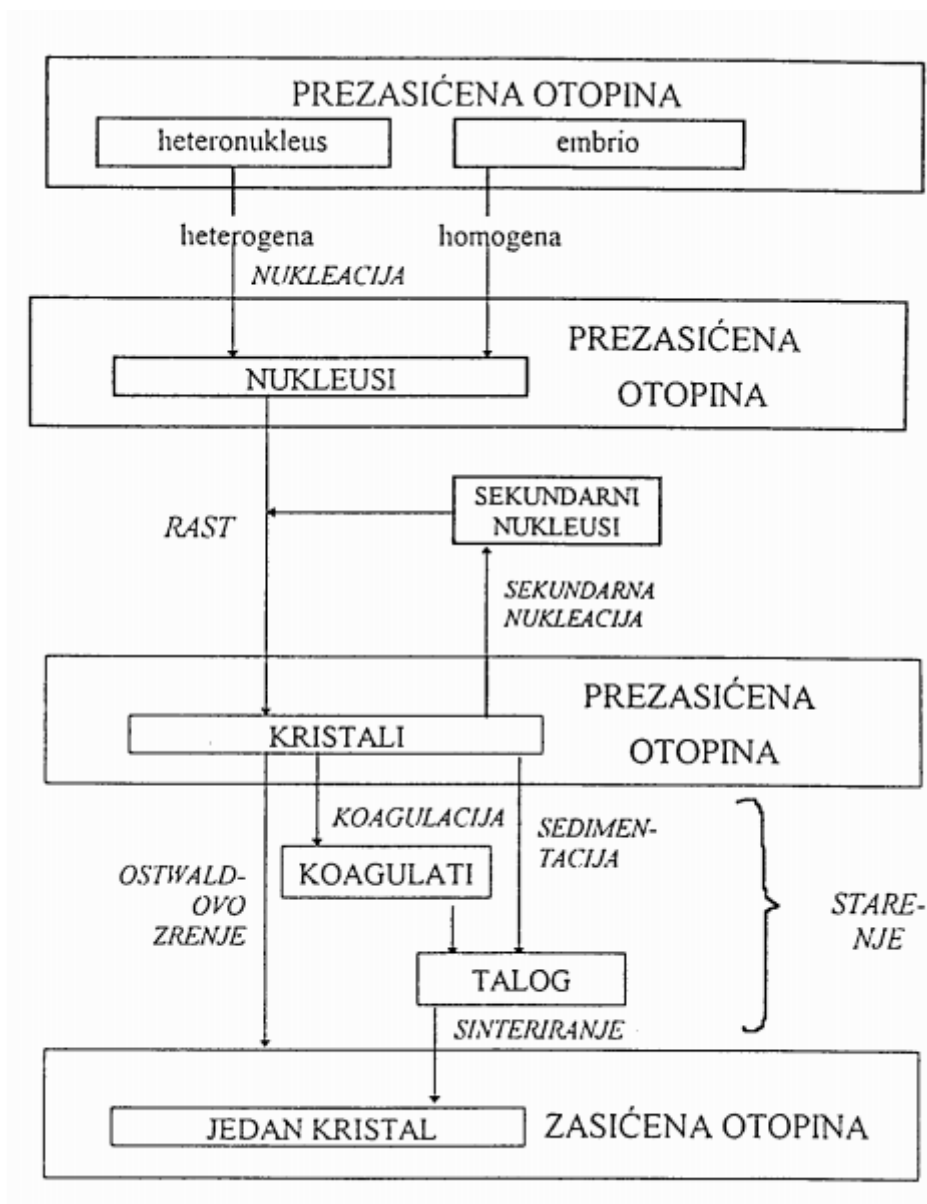
Kalcijev oksalat trihidrat (COT) kristalizira u triklinskom sustavu. Tri od osam kisikovih atoma koordiniranih oko atoma kalcija potječu iz molekula vode, četiri atoma od dva oksalatna iona, a jedan od trećeg oksalatnog iona. Što znači da u poliedarskoj strukturi imamo 3 molekule vode i 3 iona oksalata.

| Naziv spoja | Kristalni sustav | <i>a</i> /Å | <i>b</i> /Å | <i>c</i> /Å | Prostorna grupa |
|-------------|------------------|-------------|-------------|-------------|-------------------------|
| COM | Monoklinska | 9,978 | 7,295 | 6,292 | <i>I2/m</i> |
| | Monoklinska | 9,976 | 14,588 | 6,291 | <i>P2₁/c</i> |
| COD | Tetragonska | 12,371 | 14,583 | 10,116 | <i>I4/m</i> |
| COT | Triklinska | 12,371 | 14,583 | 10,116 | <i>P1</i> |

Tablica 2. Prikaz parametara kristalnih struktura COM, COD i COT.

2.1.2. Taloženje kalcijevih oksalata u ljudskom organizmu

Proces nastajanja mokraćnih kamenaca može se opisati kao taloženje mineralnih sastojaka mokraćnih kamenaca u kompleksnoj otopini. Taloženje kristalnih tvari u nekoj otopini nazivamo kristalizacija. To je jedan od važnih procesa u kemiji, farmaciji, biologiji i mnogim drugim prirodnim znanostima, međutim, nije uvijek poželjno. Taloženje bubrežnih kamenaca u mokraćnom sustavu, neželjena je pojava i kao takvu naziva se patološka mineralizacija. Taloženje je moguće inicirati miješanjem otopina reaktanata, mijenjanjem pH ili temperature otopine. Proces se odvija u nekoliko faza prikazanih Nielsenovom shemom taložnih procesa, (**Slika 3.**).



Slika 3. Nielsenova shema mogućih stanja i međufaza.⁵

Prema toj shemi, taloženje započinje iz prezasićene otopine, izdvajanjem čvrste faze. Prilikom izdvajanja čvrste faze iz otopine prvi stupanj je nukleacija. Nukleacija može započeti na česticama nečistoća koje se nalaze u otopini (heterogena nukleacija) ili, stvaranjem ionskih ili molekulskih asocijata, embrija ili nukleusa (homogena nukleacija). Proces se nastavlja rastom stvorenih nukleusa i nastajanjem kristala, pri čemu rastu samo oni nukleusi, koji su dosegli stanovitu kritičnu veličinu (kritični nukleus), a koja pak primarno ovisi o početnoj prezasićenosti otopine. Drugi proces u nizu jest rast kristala, koji je, zajednički naziv za niz temeljnih procesa koji se zbivaju na određenoj udaljenosti od same površine kristala, ali i na samoj površini, a kako je riječ o slijednim procesima najsporiji od

njih kontrolira ukupnu brzinu rasta. Taloženje završava starenjem čvrste faze, koje se zbiva u uvjetima bliskim ravnotežnima i njima se smanjuje ukupna energija sustava. Pojmom starenja obuhvaćen je niz procesa kao što su na primjer Ostwaldovo zrenje, sinteriranje ili transformacija metastabilnih faza. Teorijski, starenje taloga rezultira jednim jedinim kristalom u ravnoteži s otopinom, no ako se taloženje prati u nekom konačnom vremenu, sedimentacija je posljednja faza procesa.⁵

Važno je naglasiti da na procese taloženja utječu faktori kao što su nečistoće, aditivi, veličina čestica, temperatura, masena koncentracija, pH i prezasićenost otopine.

2.2. METODE IDENTIFIKACIJE I ANALIZE KALCIJEVIH OKSALATA

2.2.1. Optička mikroskopija (OM)

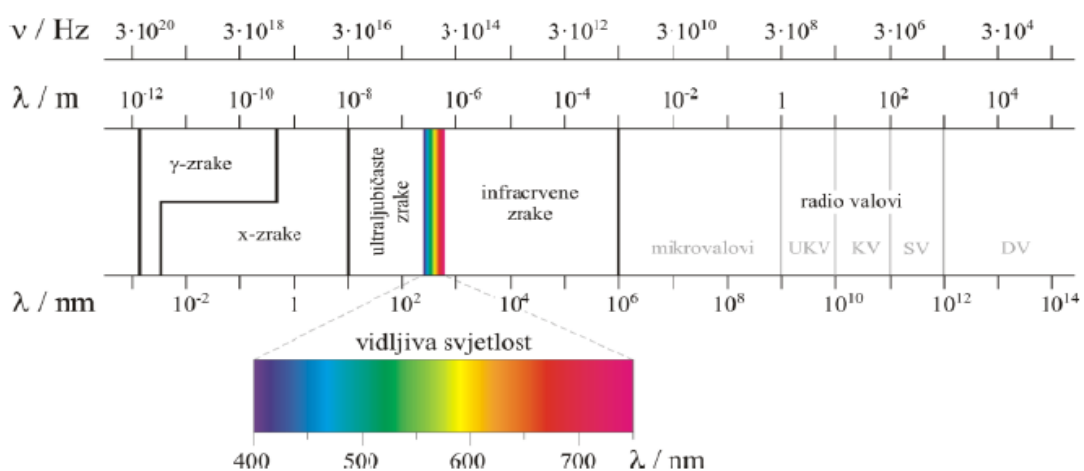
Optička mikroskopija je važna tehnika kojom se povezuju analitički podatci dobiveni pomoću drugih tehnika za fizikalno-kemijsku karakterizaciju spojeva ili za uočavanje promjene u morfološkom obliku kristala. Prijenosni svjetlosni mikroskopi bez mogućnosti polariziranja svjetlosti koriste se za određivanje boje i morfologije kristala. Kod optičke mikroskopije moć povećanja je i do 1000 puta. Moć razlučivanja mikroskopa nije određena samo brojem i kvalitetom leća već i valnom duljinom svjetlosti koja se koristi za osvjetljavanje.



Slika 4. Svjetlosni optički mikroskop.

2.2.2. Infracrvena spektroskopija (FTIR)

Infracrvena spektroskopija je metoda analize tvari pomoću infracrvenog zračenja je elektromagnetsko zračenje valnih duljina od $0,7 \mu\text{m}$ – $500 \mu\text{m}$ (Slika 5.)



Slika 5. Spektar elektromagnetskog zračenja.

Iz spektra vidimo da se IR zračenje nalazi između mikrovalova i vidljive svjetlosti, što znači da mu je energija veća od mikrovalova, a manja od energije valova vidljive svjetlosti.

Infracrveno zračenje možemo podijeliti na tri područja, koja su prikazana u **Tablici 3**.

Tablica 3. Područje infracrvenog zračenja, njegove valne duljine i valni brojevi.

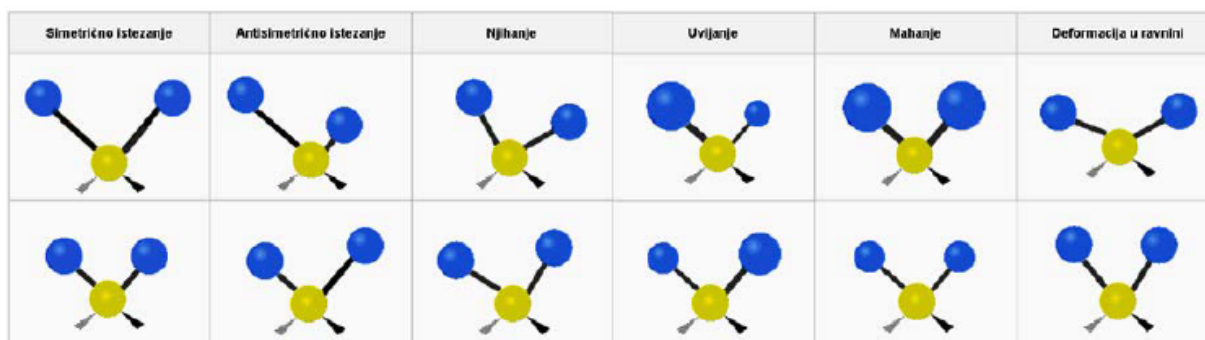
| PODRUČJE | VALNA DULJINA | VALNI BROJ |
|------------|---------------------------------------|---|
| 1. BLISKO | 0,7 μm – 2,8 μm | 1400 cm^{-1} – 3600 cm^{-1} |
| 2. SREDNJE | 2,8 μm – 50 μm | 3600 cm^{-1} – 200 cm^{-1} |
| 3. DALEKO | 50 μm – 500 μm | 200 cm^{-1} – 20 cm^{-1} |

Kad molekula apsorbira infracrveno zračenje dolazi do promjene u vibracijskim energijskim razinama. Svaku razinu odlikuju različite karakteristike, kod bliskog područja odvijaju se elektronski prijelazi za što je potreba niža energija. U srednjem području se odvija promjena vibracijskih razina većine molekula, dok u dalekom IR području opažaju promjene u rotacijskim razinama molekule.

Molekule kod koji dolazi do promjene dipolnog momenta uslijed apsorpcije infracrvenog zračenja smatraju se aktivnim molekulama u IR području. Pri apsorpciji infracrvenog zračenja amplitude oscilacija rastu kao i razmak između jezgara, pa je jače razdvajanje naboja što dovodi do veće promjene dipolnog momenta.

Molekulske vibracije možemo podijeliti na vibracije istezanja i vibracije deformacije (**Slika 6.**). Vibracije istezanja mogu biti simetrične i asimetrične te se odvijaju duž međunarodne osi. Simetrično istezanje se događa kada se dvije jezgre istovremeno približavaju ili udaljavaju od centra mase, a asimetrično ako se jedna jezgra približava centru mase dok se druga udaljava. Da bi došlo do vibracije deformacije potrebna su tri atoma, jer se u ovom slučaju radi o promjeni kuta između dvije veze koje vibriraju. Vibracije deformacije dijelimo na:

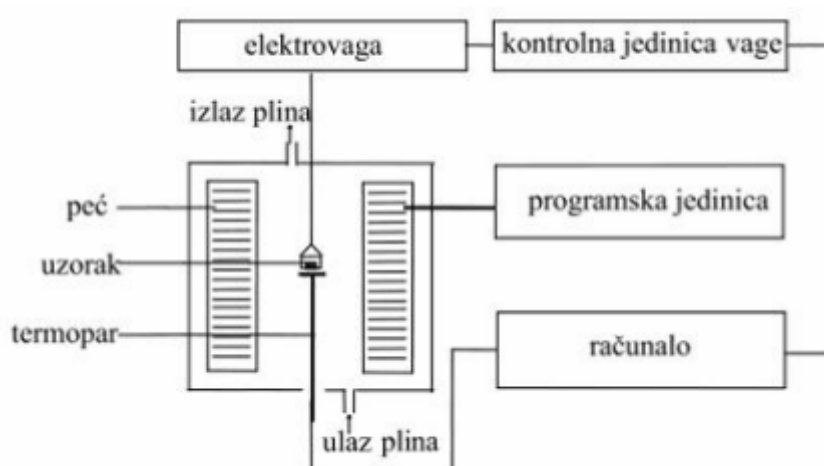
- a) Njihanje (eng. *rocking*)
- b) Uvijanje (eng. *twisting*)
- c) Mahanje (eng. *wagging*)
- d) Deformacija u ravnini (eng. *scissoring*)



Slika 6. Oblici molekulskih vibracija.

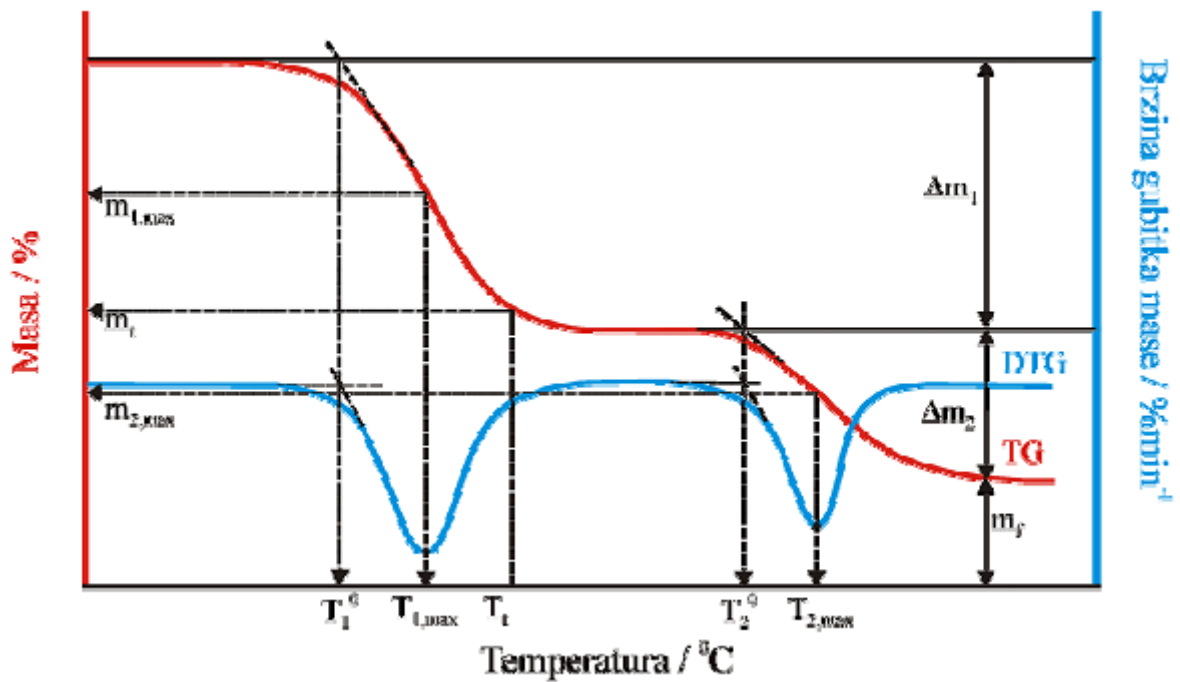
2.2.3. Termogravimetrijska analiza (TGA)

Termogravimetrijska analiza (TGA) je najčešće korištena metoda za procjenu toplinske stabilnosti polimera, koja podrazumijeva kontinuirano mjerenje promjene mase uzorka u funkciji vremena ili temperature. Ukoliko pratimo promjenu (gubitak) mase uzorka pri konstantnoj temperaturi u ovisnosti o vremenu govorimo o izotermnoj termogravimetriji, dok se promjena mase uzorka u funkciji temperature prati neizotermnom (dinamičkom) termogravimetrijom. Ova metoda se može koristiti i za identifikaciju razgradnih produkata ukoliko se termogravimetrijski instrument poveže s masenim, plinskim ili infracrvenim spektrofotometrom. Shema instrumenta za TGA prikazana je na **Slici 7**.



Slika 7. Shema termogravimetrijskog instrumenta.

Rezultati termogravimetrijske analize prikazuju se termogramima (**Slika 8.**), grafičkim prikazima koji su specifični za svaki kemijski spoj. Svaki termogram sadrži specifične točke koje daju potrebne informacije za karakterizaciju kemijskog spoja.



Slika 8. Opći oblik termograma s karakterističnim točkama.

Najvažnije točke termograma su:

T° - temperatura početka razgradnje (onset) - određuje se kao sjecište tangenti povučenih uz baznu liniju i uz silazni dio DTG krivulje u točki minimuma / °C

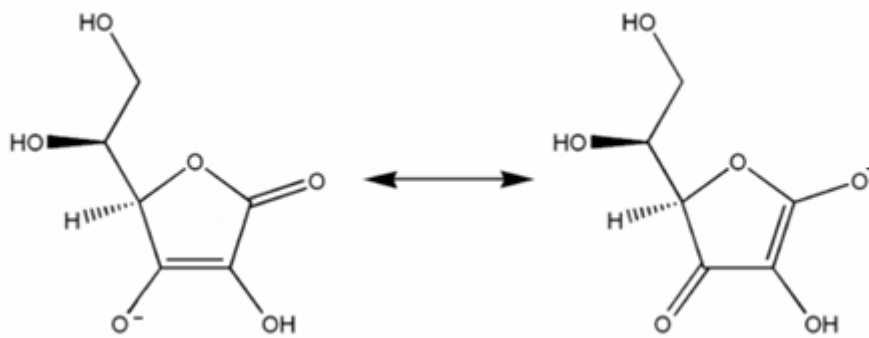
T_{max} - temperatura pri maksimalnoj brzini razgradnje - određuje se kao temperatura minimuma DTG krivulje / °C

m_f - konačna masa uzorka / g

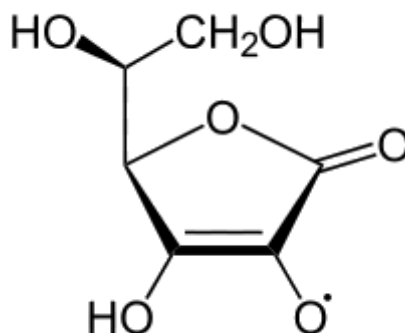
Δm - gubitak mase uzorka / g

2.3. VITAMIN C

Vitamin C je vitamin topljiv u vodi i potreban za normalan razvoj ljudskog organizma, te štiti od infekcija i pomaže u apsorpciji željeza. Pomaže u vezanju kolagena u mišićima, kostima krvnim žilama i hrskavicama. Voće i povrće su izvori ovog vitamina, a najčešće ga prolazimo u agrumima. U organizmu se ponaša kao elektron donor i to svojstvo obilježava sve njegove funkcije. Poznato je da je antioksidans i u organizmu služi za oksidaciju proteina i lipida pri čemu daje produkte mjerljive u laboratoriju.⁶ U normalnim pH biološkim uvjetima vitamin C, to jest askorbinska kiselina gubi proton i prelazi u askorbatni ion koji je stabiliziran rezonancijom (Slika 9.). Ono što ju čini posebnom je da se može oksidirati gubitkom samo jednog elektrona pri čemu nastaje semidehidroaskorbatni radikal (Slika 10.), također stabiliziran delokalizacijom elektrona. Transfer samo jednog elektrona ključni je razlog uništavanja radikala štetnih za organizam kao što su $\cdot\text{OH}$ i $\cdot\text{OR}$.



Slika 9. Ionizirani oblik askorbinske kiseline stabiliziran rezonancijom.



Slika 10. Semidehidroaskorbatni radikal.

2.3.1. Posljedice prevelikog i premalog unosa vitamina C u organizam

Upoznati smo sa činjenicom da je vitamin C važan za normalnu funkciju organizma, ali zanima nas što se događa kada u organizam unesemo premalu ili preveliku količinu. Još prije nekoliko stotina godina James Lind proveo je istraživanje s citrusnim voćem na jednom od pomorskih brodova. Radio je ispitivanje na dvije grupe pomoraca pri čemu je zaključio da oni koji nisu jeli dvije naranče i limun svaki dan su oboljeli od skorbuta, pri čemu je zaključio da citrusno voće sprječava razvitak te bolesti. Kasnije kada je znanstvenicima omogućeno istraživanje na životinjama, cijeli proces sprječavanja skorbuta postao je brži. Za izolaciju vitamina C zaslužan je Albert Szent-Györgyi, mađarski kemičar, te ga je nazvao heksanurna kiselina, a kasnije L-askorbinska kiselina.⁷

Skorbut i beriberi bolest samo su neke od bolesti koje se pojavljuju pri nedostatku vitamina C u organizmu. Međutim, važno je spomenuti da vitamin C beneficira pri smanjenju plućnih infekcija, sudjeluje u izgradnji kolagena i regulaciji dijabetesa, te smanjuje stvaranje žučnih i bubrežnih kamenaca. Poznato je da on osnažuje imunitet i koristi se za sprječavanje prehlada.

Prema mnogim istraživanjima određene su količine potrebne za određenu dob i spol potrebne za održavanje zdravlja što možemo vidjeti iz **Tablice 4**.

Tablica 4. Potrebne doze vitamina C za djecu, adolescente i odrasle.

| Br. | Dob | <i>m</i> (vitamina C)/mg za muškarce | <i>m</i> (vitamin C)/mg za žene |
|-----|-------------------|---|------------------------------------|
| 1 | 0 - 6 mjeseci | 40 | |
| 2 | 7 - 12 mjeseci | 50 | |
| 3 | 1 - 3 godine | 15 | |
| 4 | 4 - 8 godina | 25 | |
| 5 | 9 - 13 godina | 45 | |
| 6 | 14 - 18 godina | 75 | 65 |
| 7 | 19+ godina | 90 | 75 |
| 8 | Trudnice i pušači | 100-150 | |

2.3.2. Apsorpcija, cirkulacija i izlučivanje vitamina C

Vitamin C se apsorbira iz gornjeg dijela probavnog sustava aktivnim prijenosnim sustavom i difuzijom. Njegovim redovitim unosom apsorbira se 75 % do 90 % vitamina C. Međutim pri visokim količinama, njegova apsorpcija se snižava na oko 16 %, dok pri niskom količinama (< 20 mg) apsorpcija može doseći i 98 %. Iako se dehidroaskorbinska kiselina apsorbira brže nego askorbat, količina dehidroaskorbinske kiseline u stanicama i plazmi, pri normalnim uvjetima je niska, jer stanice brzo reduciraju dehidroaskorbinsku kiselinu u askorbat, koji organizam (stanice crijeva odnosno eritorciti) napušta olakšanom difuzijom.

L-askorbinska kiselina je intermedijer u gulonolaktoskom putu metabolizma glukuronske kiseline. Vrste koje ga ne mogu sintetizirati nemaju gulonolakton oksidazu te imaju drugačiji put metabolizma glukuronske kiseline, a primjer su čovjek, primati, šišmiši, zamorac, neke ptice i ribe.

U ljudskom organizmu se reverzibilno oksidira do dehidroaskorbinske kiseline, koja posjeduje potpunu vitaminsku aktivnost. Kada L-askorbat, koji je snažan reducens, reducira druge molekule, on se pretvara u svoj oksidirani oblik, L-dehidroaskorbat. L-dehidroaskorbat reducira u L-askorbat enzimima i glutationom. Tijekom procesa stvara se radikal semidehidroaskorbinske kiseline. Slobodni radikal askorbata ne reagira sa kisikom, prema tome ne stvara se ni superoksid. Umjesto toga, dva radikala semiaskorbinske kiseline reagiraju i tvore jedan askorbat i jedan dehidroaskorbat. Uz pomoć glutaciona, dehidroaskorbat se pretvara u askorbat. Prisutnost glutaciona je bitna jer bez njega se dehidroaskorbat ne bi mogao pretvoriti u askorbat. D-enantiomer nema važnu fiziološku funkciju.

Pri visokim dozama (nekoliko stotina mg na dan) askorbat se akumulira u tijelu sve dok koncentracije u plazmi ne prijeđu bubrežni prag resorpcije. Koncentracije vitamina C u organizmu više od te vrijednosti se brzo izlučuju urinom. Iako je maksimalna količina vitamina C koja se može skladištiti većinom određena bubrežnim pragom i druga tkiva zadržavaju vitamin C u koncentracijama većim nego što su u krvi. Tkiva koja nakupljaju vitamin C u količinama 100 puta većim nego što je koncentracija vitamina C u krvi su nadbubrežna i prsna žlijezda, mrežnica oka, hipofiza te žuto tijelo. Tkiva s 10 do 50 većim koncentracijama vitamina C nego što je koncentracija vitamina C u krvi su mozak, slezena, pluća, testisi, limfni čvorovi, štitnjača, sluznica tankog crijeva, gušterača i bubrezi. Tjelesne zalihe vitamina C u čovjeka prilično su konstantne i iznose oko 20 mg kg⁻¹, čak i u slučaju

unosu velikih količina. Dnevno se utroši 3 - 4 % te količine, što predstavlja 40 - 60 mg na dan.

L-askorbinska kiselina ne katabolizira do CO_2 , nego se izlučuje urinom nepromijenjena ili u obliku raznih metabolita, kao što su askorbat-2-sulfat, dehidroaskorbat, 2,3-diokso-L-gulonat i oksalat. Askorbat se reapsorbira u bubrezima, čime se dio ovog vitamina zadržava u organizmu, dok se manji dio izlučuje znojem i fecesom.

3. EKSPERIMENTALNI DIO

3.1. Pribor i aparatura

Ekperimenti su izvođeni u staklenoj reakcijskoj posudi dvostrukih stjenki povezanoj s protočnim termostatom za održavanje konstantne temperature na 37 °C. Namještanje i očitavanje pH vrijednosti izvodilo se pomoću staklene pH elektrode (HI1131) i pH-metra HANNA HI 5522 spojenim na računalo (Slika 11.). Prije svake promjene koncentracije vitamina C za jednostavni i sustav sa natrijevim kloridom elektroda je ponovno kalibrirana. Reakcijska smjesa je miješana pomoću magnetske miješalice (IKA RCT Basic). Suspenzija je filtrirana preko membranskog filter papira (Milipore) veličine pora 0,22 µm. Prije dodavanje kalcijeva klorida u reakcijsku posudu izmjerena je vrijednost koncentracije kalcija, te početni i krajnji pH otopine kalcija i reakcijske smjese.



Slika 11. Slika aparature za određivanje pH vrijednosti ispitivanih otopina.

3.2. Popis kemikalija

Za pripremu taložnih sustava koristile su se kemikalije navedene u **Tablici 5**.

Tablica 5. Popis kemikalija za pripremu taložnih sustava.

| Naziv kemikalije | Kemijska formula | Proizvođač | Molarna masa/ g mol ⁻¹ |
|--|---|------------------------|-----------------------------------|
| Kalcijev klorid | CaCl ₂ | BDH Prolabo | 110,98 |
| Natrijev oksalat | Na ₂ C ₂ O ₄ | BDH Prolabo | 134,00 |
| Natrijev klorid | NaCl | BDH Prolabo | 58,44 |
| Sumporna kiselina | H ₂ SO ₄ | CARLO ERBA Reagents | 98,079 |
| Kalijev premanganat | KMnO ₄ | Gram Mol | 158,034 |
| L(+) Askorbinska kiselina (vitamin C) | C ₆ H ₈ O ₆ | Gram Mol | 158,034 |
| EDTA | C ₁₀ H ₁₆ N ₂ O ₈ | CARLO ERBA Reagents | 292,24 |

3.3. Priprema otopina

Priprema otopine 4 mol dm⁻³ otopine NaCl

Podaci:

$$c(\text{NaCl}) = 4 \text{ mol dm}^{-3}, V(\text{NaCl}) = 500 \text{ cm}^3, M(\text{NaCl}) = 58,44 \text{ g}$$

Račun:

$$n(\text{NaCl}) = c(\text{NaCl}) \cdot V(\text{NaCl}) = 4 \text{ mol dm}^{-3} \cdot 0,5 \text{ dm}^3 = 2 \text{ mol}$$

$$m(\text{NaCl}) = n(\text{NaCl}) \cdot M(\text{NaCl}) = 2 \text{ mol} \cdot 58,44 \text{ g mol}^{-1} = 116,88 \text{ g}$$

Postupak:

Iz zadanih podataka potrebno je izračunati masu natrijeva klorida koncentracije 4 mol dm⁻³. U čaši od 200 mL, na analitičkoj vagi, izvagali smo 116,88 g krutog NaCl. Pomoću lijevka širokog grla natrijev klorid usipali smo u odmjernu tikvicu od 500 mL. Uz povremeno mućkanje otopine dodavati vodu, a na kraju odmjernu tikvicu nadopuni do oznake.

Priprema otopine natrijeva oksalata, $\text{Na}_2\text{C}_2\text{O}_4$

Podaci:

$$c(\text{Na}_2\text{C}_2\text{O}_4) = 0,27 \text{ mol dm}^{-3}, V(\text{Na}_2\text{C}_2\text{O}_4) = 1 \text{ dm}^{-3}, M(\text{Na}_2\text{C}_2\text{O}_4) = 134,00 \text{ g mol}^{-1}$$

Račun:

$$\begin{aligned} m(\text{Na}_2\text{C}_2\text{O}_4) &= c(\text{Na}_2\text{C}_2\text{O}_4) \cdot V(\text{Na}_2\text{C}_2\text{O}_4) \cdot M(\text{Na}_2\text{C}_2\text{O}_4) \\ &= 0,27 \text{ mol dm}^{-3} \cdot 1 \text{ dm}^{-3} \cdot 134,00 \text{ g mol}^{-1} \\ &= 36,21 \text{ g} \end{aligned}$$

Postupak:

Pomoću analitičke vage izvagali smo 36,21 g i pomoću lijevka širokog grla prebacili u odmjernu tikvicu. Zaostatke na lijevku i čaši isprali smo pročišćenom deioniziranom vodom. Odmjernu tikvicu napunili smo do oznake.

Priprema otopine CaCl_2

Podaci:

$$V(\text{CaCl}_2) = 1 \text{ dm}^{-3}, c(\text{CaCl}_2) = 1 \text{ mol dm}^{-3}, M(\text{CaCl}_2) = 147,02 \text{ g mol}^{-1}$$

Račun:

$$m(\text{CaCl}_2) = c(\text{CaCl}_2) \cdot V(\text{CaCl}_2) \cdot M(\text{CaCl}_2) = 1 \text{ mol dm}^{-3} \cdot 1 \text{ dm}^{-3} \cdot 147,02 \text{ g} = 147,02 \text{ g}$$

Postupak:

Odvagali smo 147,02 g kalcijeva klorida. Pomoću lijevka širokog grla prebacili u odmjernu tikvicu od 1000 mL. Nakon što se sva krutina otopila odmjernu tikvicu smo nadopunili do oznake.

Priprema otopine H_2SO_4

Podaci:

$$V_2(\text{H}_2\text{SO}_4) = 100 \text{ mL}, c_2(\text{H}_2\text{SO}_4) = 2 \text{ mol dm}^{-3}, w(\text{H}_2\text{SO}_4) = 96 \%, \rho(\text{H}_2\text{SO}_4) = 1,834 \text{ kg dm}^{-3}$$

Račun:

$$c_1(\text{H}_2\text{SO}_4) = \rho \cdot =$$

$$= 1,834 \text{ g dm}^{-3} \cdot 0,96 / 98,95 \text{ g mol}^{-1} = 17,9528 \text{ mol dm}^{-3}$$

$$V_1(\text{H}_2\text{SO}_4) = = 11,10 \text{ mL}$$

Postupak:

Prema podacima iz računa odmjerili smo 11,10 mL 96 %-tne sumporne kiseline i otopinu razrijedili u odmjernoj tikvici od 100 mL kako bi dobili 2 mol dm^{-3} otopinu.

3.4. Standardizacija otopina

Standardizacija otopine CaCl₂ s EDTA

Postupak:

Pripremili smo razrijeđenu otopinu CaCl₂ u odmjernu tikvicu od 100 mL tako da smo pomoću mikropipete u odmjernu tikvicu ulili 10 mL 1 mol dm⁻³ CaCl₂ i nadopunili do oznake. U četiri Erlenmayerove tikvice dodali smo 10 mL razrijeđene CaCl₂, na vrh špatule indikator eriokrom crno T i 10 mL amonijačnog pufera pH = 10. Otopinu CaCl₂ titrirali smo s 0,1 mol dm⁻³ otopinom EDTA do prve promjene boje (svjetlo ljubičaste u svijetlo plavu). Zabilježili smo volumen utrošenog EDTA i izračunali točnu koncentraciju otopine CaCl₂.

Račun:

| Mjerenje/EDTA | V/ mL | ΔV/ mL | c / mol/L |
|-------------------|-------|--------|-----------|
| 1 | 10,2 | 10,05 | 0,1 |
| 2 | 10,0 | | |
| 3 | 10,0 | | |
| 4 | 10,0 | | |
| CaCl ₂ | 10,0 | - | ? |

Jednadžba reakcije: Ca²⁺ + Y⁴⁻ → CaY²⁻ 1 mol Ca²⁺ ~ 1 mol EDTA

$$c(\text{EDTA}) \cdot V(\text{EDTA}) = c(\text{CaCl}_2) \cdot V(\text{CaCl}_2)$$

$$c(\text{CaCl}_2) = c(\text{EDTA}) \cdot$$

$$= 0,1 \text{ mol dm}^{-3} \cdot$$

$$= 0,1050 \text{ mol dm}^{-3}$$

$$c(\text{CaCl}_2) \cdot V(\text{CaCl}_2) = c(\text{stock CaCl}_2) \cdot V(\text{CaCl}_2)$$

$$c(\text{stock CaCl}_2) = 0,102 \text{ mol dm}^{-3} \cdot = 1,005 \text{ mol dm}^{-3}$$

Standardizacija Na₂C₂O₄ s KMnO₄

Postupak:

Pripremili smo 2 mol dm⁻³ otopinu H₂SO₄ i titrival 0,02 mol dm⁻³ KMnO₄. U četiri Erlenmayerove tikvice stavili smo 20 mL prethodno priređene otopine natrijeva oksalata i 10 mL sumporne kiseline te otopine zagrijavali. Smjesu oksalata i sumporne kiseline titrirali smo kalijevim permanganatom dok se ružičasta boja u tikvici ne zadrži barem 30 sekundi. Zabilježili smo volumene KMnO₄ utrošene na reakciju i izračunali koncentraciju otopine natrijeva oksalata.

Račun:

| Mjerenje / KMnO ₄ | V/ mL | ΔV/ mL | c / mol/L |
|---|-------|--------|-----------|
| 1 | 11,0 | 10,9 | 0,02 |
| 2 | 10,7 | | |
| 3 | 11,0 | | |
| 4 | 10,9 | | |
| Na ₂ C ₂ O ₄ | 20,0 | - | ? |
| H ₂ SO ₄ | 10,0 | - | 2,00 |

- Iz omjera KMnO₄ i natrijeva oksalata izračunamo koncentraciju natrijeva oksalata

$$= 5,45 \cdot 10^{-4} \text{ mol}$$

3.5. Sinteza kalcijeva oksalata

Ekperimenti spontanog taloženja rađeni su u dva sustava koji se međusobno razlikuju po kemijskoj kompleksnosti:

1. Jednostavni sustav (Ps): sustav sastavljen samo od konstitucijskih komponenti, kalcijevih i oksalatnih iona
2. NaCl sustav (Pn): sustav sastavljen od konstitucijskih komponenti, kalcijevih i oksalatnih iona uz dodatak natrijeva klorida (NaCl) čime je namještena ionska jakost na približno fiziološku vrijednost ($I_c = 0,3 \text{ mol dm}^{-3}$).

Za pripremu taložnih sustava korištene su otopine natrijeva oksalata ($c(\text{Na}_2\text{C}_2\text{O}_4) = 4 \cdot 10^{-3} \text{ mol dm}^{-3}$) i kalcijeva klorida ($c(\text{CaCl}_2) = 7,5 \cdot 10^{-3} \text{ mol dm}^{-3}$) i deionizirana voda provodnosti manje od $0,055 \mu\text{S cm}^{-1}$. Početna pH vrijednost svih otopina namještena je na $\text{pH} = 6,5$ pomoću NaOH, odnosno HCl. Uzorci se razlikuju po masi dodanog vitamina C od 100 mg do 1000 mg (**Tablica 6.**).

Tablica 6. Početne koncentracije reaktanata i oznake taložnih sustava, te dodana masa vitamina C

| Taložni sustavi | | | | | |
|--|-----|-----|-----|-----|------|
| Jednostavni sustav | Ps1 | Ps2 | Ps3 | Ps4 | Ps5 |
| NaCl sustav | Pn1 | Pn2 | Pn3 | Pn4 | Pn5 |
| $c_i(\text{CaCl}_2) / \cdot 10^{-3} \text{ mol dm}^{-3}$ | 7,5 | 7,5 | 7,5 | 7,5 | 7,5 |
| $c_i(\text{Na}_2\text{C}_2\text{O}_4) / \cdot 10^{-3} \text{ mol dm}^{-3}$ | 4,0 | 4,0 | 4,0 | 4,0 | 4,0 |
| $c_i(\text{vitamin C}) / \text{mg}$ | 0 | 100 | 500 | 750 | 1000 |

Reakcijska posuda dvostrukih stjenki upotrebljena je u svim eksperimentima, a otopine su termostatirane na $37 \text{ }^\circ\text{C}$ koja je održavana pomoću protočnog termostata. Sintetizirano je deset uzoraka s različitim masama vitamina C (oznake uzoraka u **Tablici 6.**). Sustavi su miješani magnetskom miješalicom pri konstantnom broju okretaja (400 okretaja/min) (**Slika 12.**). Taložni proces praćen je mjerenjem pH reakcijske smjese kroz 15 minuta.



Slika 12. Slika aparature korištene za sintezu kalcijeva oksalata.

Nakon završetka reakcije svaki uzorak je profiltriran preko membranskog filtera (Milipore) veličine pora $0,22 \mu\text{m}$, a talog je ispiran s velikom količinom deionizirane vode. Profiltrirani talog sušen je na zraku.

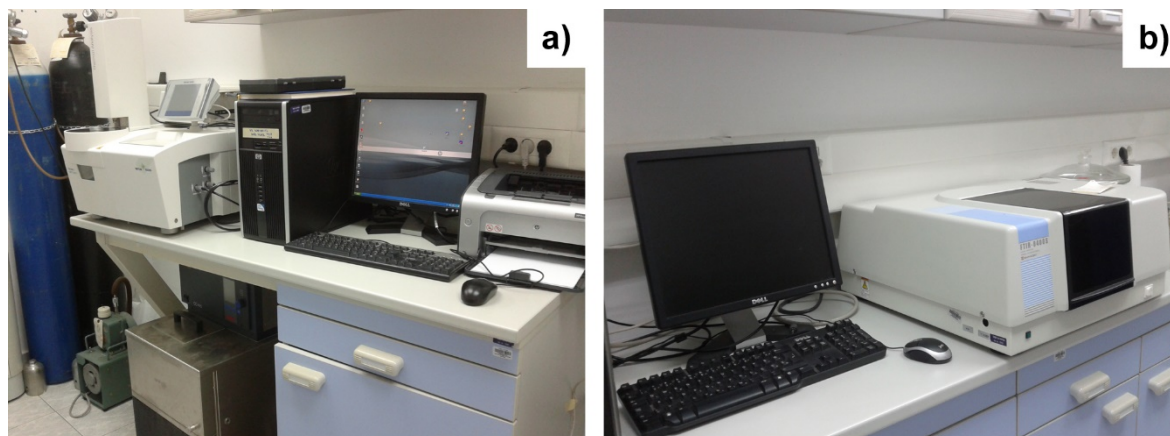
3.6. Analiza taloga kalcijeva oksalata

Za karakterizaciju taloga kalcijeva oksalata korištene su sljedeće metode: termogravimetrijska analiza (TGA), infracrvena (FT-IR) te optička mikroskopija (OM).

TGA-DSC analiza provedena je na instrumentu Mettler Toledo System 1 (**Slika 13 a**). Uzorci su ispitivani u atmosferi kisika, uz brzinu protoka plina $200 \text{ cm}^3 \text{ min}^{-1}$, s korakom snimanja $5 \text{ }^\circ\text{C min}^{-1}$ u temperaturnom području od $30 \text{ }^\circ\text{C}$ do $300 \text{ }^\circ\text{C}$. Rezultati su obrađeni pomoću računalnog programa STARe Software 10.0.

Izvagane su posudice od aluminijskog oksida. U svaku od njih je dodano približno 20 mg uzorka te je posudica s uzorkom ponovno izvagana. Točna dodana masa uzorka je izračunata iz razlike mase posudice s uzorkom i mase prazne posudice. Uzorak u posudici je stavljen u instrument na zagrijavanje tako da temperatura ravnomjerno raste zadanom brzinom, a promjena mase je bilježena instrumentom. Na temelju zabilježene promjene mase moguće je odrediti udio pojedinog hidratnog oblika u uzorku.

IR spektri snimljeni su pomoću Shimadzu FTIR 8400S spektrometra (**Slika 13. b**) u valnom području od 400 do 4000 cm^{-1} (rezolucija: 4 cm^{-1}) DRS tehnikom. Analizirani su spojevi u čvrstom stanju, dok je za snimanje na FT-IR spektrometru korištena DRIFT (*eng. diffuse reflectance infrared Fourier transform*) tehnika. Približno 1 mg krutog uzorka homogeno je pomiješano s približno 100 mg KBr. Za snimanje spektara i obradu podataka korišten je računalni program IR Solution 1.30.



Slika 13. Instrumentacija za a) termogravimetrijsku analizu i b) FT-IR spektroskopiju.

Za vizualnu karakterizaciju taloga te za utvrđivanje morfoloških svojstava istaloženih faza, korišten je svjetlosni mikroskop (Motic B1 sa digitalnom kamerom Moticam 2) (**Slika 14**).



Slika 14. Svjetlosni mikroskop s digitalnom kamerom priključen na prijenosno računalo.

4. Rezultati i diskusija

Rezultati su interpretirani za jednostavni sustav i sustav s natrijevim kloridom uz dodatak vitamina C. Ukupno je sintetizirano dvanaest uzoraka. Koncentracije kalcija ($c(\text{CaCl}_2) = 7,5 \cdot 10^{-3} \text{ mol dm}^{-3}$) i oksalata ($c(\text{Na}_2\text{C}_2\text{O}_4) = 4 \cdot 10^{-3} \text{ mol dm}^{-3}$) su bile konstantne. Ovim koncentracijskim područjem obuhvaćeni su uvjeti hiperoksalurije⁸⁻¹⁰ u kojima mogu nastati bubrežni kamenci. U svakom sustavu u kojem je dodana najviša količina vitamina C (1000 mg) napravljene su paralelno dvije sinteze. Jedna u kojoj se koristila kemikalija vitamina C i jedna u kojoj se koristio vitamin C koji se koristi kao dodatak prehrani. Korištene su navedene mase vitamina C kako bi se ispitalo utječe li povećana i maksimalna dozvoljena količina unosa vitamina C za odrasle osobe na taloženje kalcijevog oksalata u urinarnom traktu.

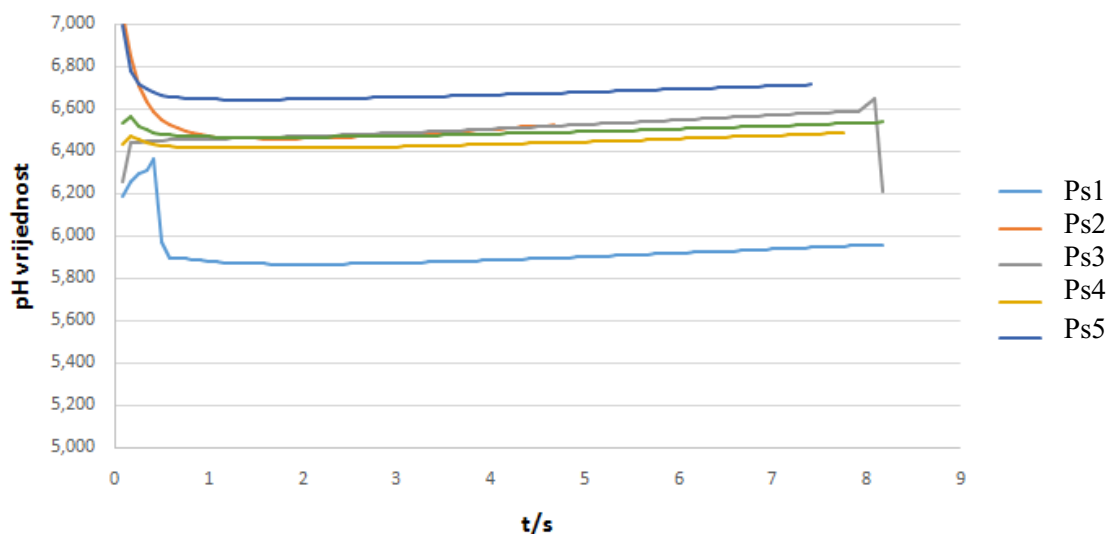
4.1. Jednostavni sustav

Taloženje kalcijeva oksalata u jednostavnom sustavu prikazano je detaljno u **Tablici 8**. Iz navedenih podataka može se uočiti da dodatak vitamina C u oksalatnu otopinu značajnije utječe na promjenu pH te otopine.

Tablica 8. Oznaka uzoraka, masa dodanog vitamina C, izmjeren pH ($\text{Na}_2\text{C}_2\text{O}_4$) nakon dodatka vitamina C

| Oznaka uzorka | m(vitC)/ mg | pH ($\text{Na}_2\text{C}_2\text{O}_4$) |
|---------------|----------------|--|
| Ps1 | - | 6,41 |
| Ps2 | 100 | 4,51 |
| Ps3 | 500 | 3,62 |
| Ps4 | 750 | 3,67 |
| Ps5 | 1000 | 3,63 |

Reakcija je praćena mjerenjem pH tijekom 15 minuta (**Slika 15.**). Uočena je razlika u pH vrijednosti sustava Ps1 (bez dodanog vitamina C) i sustava u kojima je dodana određena masa vitamina C (Ps2-Ps5). Mjerenjem pH vrijednosti uzoraka došlo je do povišenja pH vrijednosti za 0,5.



Slika 15. pH krivulje u jednostavnom sustavu kalcijeva oksalata uz dodatak određene mase vitamina C.

4.1.1 Termogravimetrijska analiza (TGA)

Termogravimetrijska analiza pokazuje da u najvećem udjelu taloži isključivo kalcijev oksalat monohidrat (COM) u svim uzorcima neovisno o dodatku vitamina C (**Tablica 9.**).

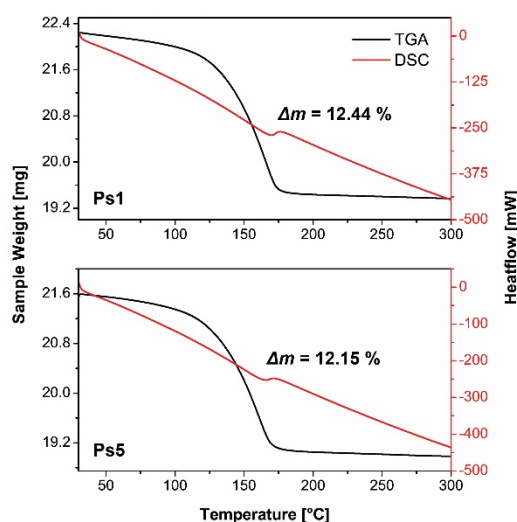
Tablica 9. Rezultati termogravimetrijske analize za jednostavni sustav kalcijeva oksalata. (t_0 – početna temperatura raspada, t_{max} – maksimalna temperatura raspada, t_e – završna temperatura raspada, $\Delta m / \%$ – promjena mase izražena u postocima, udio hidratne faze izražen u postocima).

| | 1. korak | | | 2. korak | | | Hidratna faza / % | | | |
|------------|------------------------|----------------------------|------------------------|------------------------|----------------------------|------------------------|-------------------|-----|-----|-----|
| | $t_0 / ^\circ\text{C}$ | $t_{max} / ^\circ\text{C}$ | $t_e / ^\circ\text{C}$ | $t_0 / ^\circ\text{C}$ | $t_{max} / ^\circ\text{C}$ | $t_e / ^\circ\text{C}$ | $\Delta m / \%$ | COM | COD | COT |
| Ps1 | 88,95 | 166,40 | 230,47 | - | - | - | 12,44 | 100 | - | - |
| Ps2 | 88,98 | 164,49 | 230,25 | - | - | - | 12,32 | 100 | - | - |
| Ps3 | 88,34 | 164,24 | 230,07 | - | - | - | 12,24 | 100 | - | - |
| Ps4 | 87,85 | 162,24 | 230,16 | - | - | - | 12,32 | 100 | - | - |

| | | | | | | | | | | |
|-----|-------|--------|--------|---|---|---|-------|-----|---|---|
| Ps5 | 88,85 | 162,87 | 230,68 | - | - | - | 12,15 | 100 | - | - |
|-----|-------|--------|--------|---|---|---|-------|-----|---|---|

Iz **Tablice 9.** i **Slike 16.** uočava se da je gubitak mase bio u samo jednom koraku, a iz prikazanih podataka može se uočiti da je u svim sustavima taložio kalcijev oksalat monohidrat. Teoretski gubitak mase za kristalnu vodu u čistom COM iznosi 12,33 %.¹² Gubitak mase uzorka Ps1 iznosi 12,44 %, dok za uzorak Ps5 vrijednost iznosi 12,15 %.

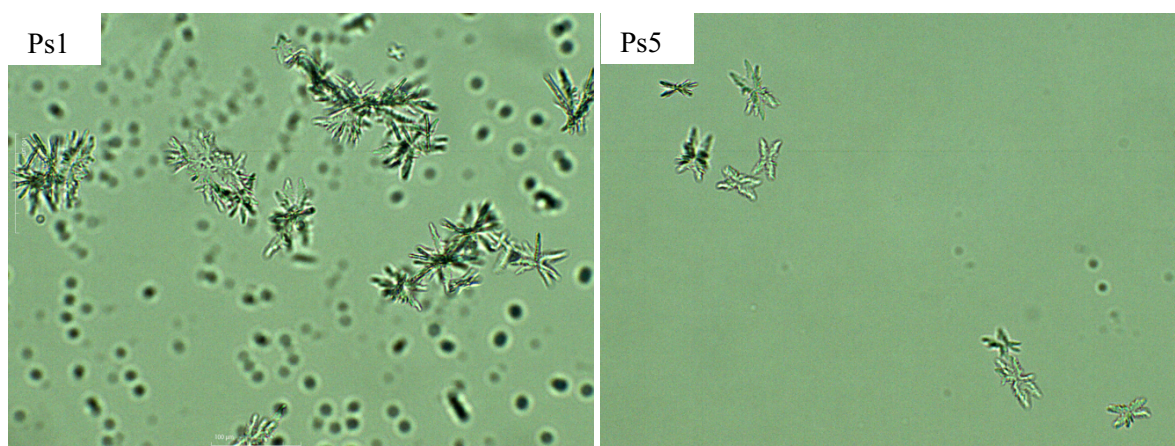
Rezultati prikazani u **Tablici 9.** očitani su iz termogravimetrijskih grafičkih prikaza (**Slika 16.** i **Slike 22., 23.** i **24.** u Prilozima) kao promjena mase tijekom termogravimetrijske analize. Radi jednostavnosti prikaza podataka analizirani su grafovi bez dodanog vitamina C (Ps1) i s najvišom dodanom masom vitamina C (Ps5).



Slika 16. Termogrami uzorka Ps1 i Ps5.

4.1.2 Optička mikroskopija (OM)

Optičkom mikroskopijom ispitana je veličina i morfologija kristala. Iz mikroskopskih slika (**Slika 17.**) dobro je vidljivo da u otopini bez vitamina C kristali kalcijevog oksalata agregiraju, dok u prisutnosti vitamina C gubi se agregacija. Kalcijev oksalat monohidrat je karakterističnog dendritastog oblika u oba prikazana sustava.

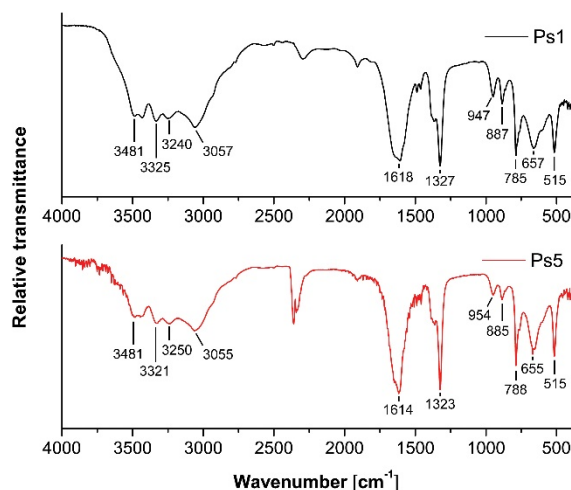


Slika 17. Morfologija kristala kalcijeva oksalata u sustavu Ps1 i Ps5.

Mikroskopske slike ostalih uzoraka za jednostavni sustav kalcijeva oksalata nalaze se u prilogu (**Slika 28.**).

4.1.3 Infracrvena spektrometrija (FT-IR)

U IR spektru (**Slika 18.**) COM pokazuje 5 karakterističnih pikova u područja O-H istezanja kod približno 3483, 3433, 3333, 3242 i 3057 cm^{-1} što odgovara simetričnim i asimetričnim vibracijama koordiniranih voda. U području od 400 - 1000 cm^{-1} nalaze se pikovi koji su korisni u analizi i identifikaciji prisutnosti COM u uzorku, posebice pikova na približno 945, 879 te 655 cm^{-1} . Pikovi na približno 785 i 513 cm^{-1} mogu se razlikovati po obliku i intenzitetu. Karakteristična karbonilna istezanja uočena su u području od 1200 – 1800 cm^{-1} , dok je antisimetrično istezanje karbonilne skupine na 1618 cm^{-1} te simetrično istezanje karbonilne skupine uočeno na približno 1325 cm^{-1} koji može biti koristan u predviđanju udjela COM/COD oblika u uzorku.¹¹ FT-IR analizom je također utvrđeno da je u svim uzorcima COM dominantna hidratna faza. U prilogu se nalaze preostali IR rezultati (**Slika 30.**).



Slika 18. IR spektri uzorka Ps1 i Ps5.

4.2. Sustav kalcijeva oksalata s natrijevim kloridom i vitaminom

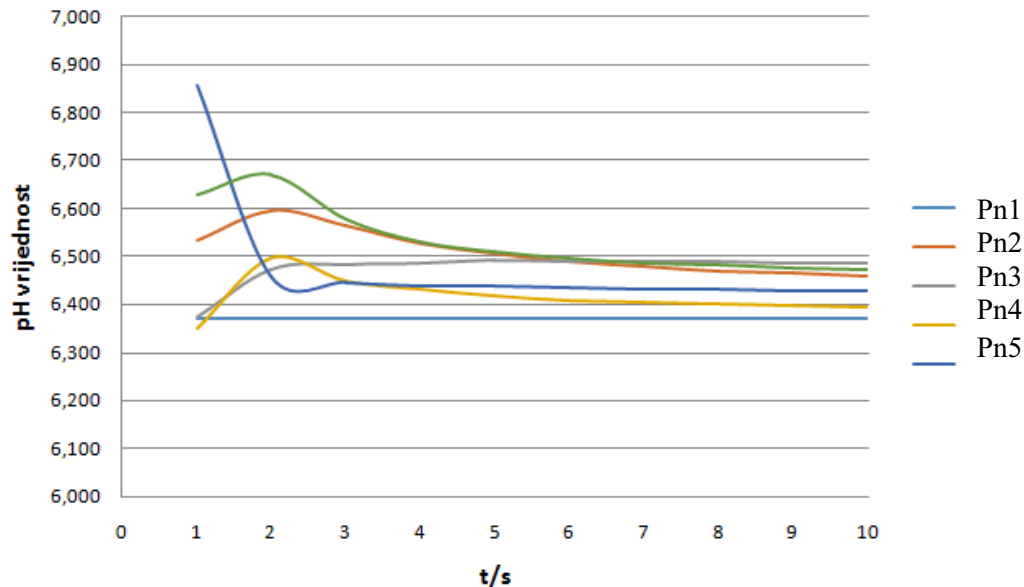
Taloženje kalcijeva oksalata u NaCl sustavu prikazano je detaljno u **Tablici 10**. Iz navedenih podataka, također se može uočiti da dodatak vitamina C u oksalatnu otopinu značajnije utječe na promjenu pH te otopine, međutim u usporedbi s jednostavnim sustavom uočava se da je ta promjena nešto manja.

Tablica 10. Oznaka uzoraka, masa dodanog vitamina C, izmjeren pH ($\text{Na}_2\text{C}_2\text{O}_4$) nakon dodatka vitamina C.

| Oznaka uzorka | m(vitC)/ mg | pH ($\text{Na}_2\text{C}_2\text{O}_4$) |
|---------------|----------------|--|
| Pn | - | 6,48 |
| Pn1 | 100 | 4,78 |
| Pn2 | 500 | 4,72 |
| Pn3 | 750 | 4,70 |
| Pn4 | 1000 | 4,68 |

Mjerene su pH vrijednosti NaCl sustava kroz petnaest minuta. Dobivene vrijednosti grafički su prikazane na **Slici 18**. Iz grafičkog prikaza uočava se promjena pH vrijednost pri promjeni mase dodanog vitamina C. Razlika između pH otopine bez dodanog vitamina C i otopina s

vitaminom C znatno manje se razlikuje od sustava bez natrijevog klorida. U ovom sustavu kalcijeva oksalata i natrijeva klorida dolazi do maksimalne promjene pH oko 0,15.



Slika 18. pH krivulje u NaCl sustavu.

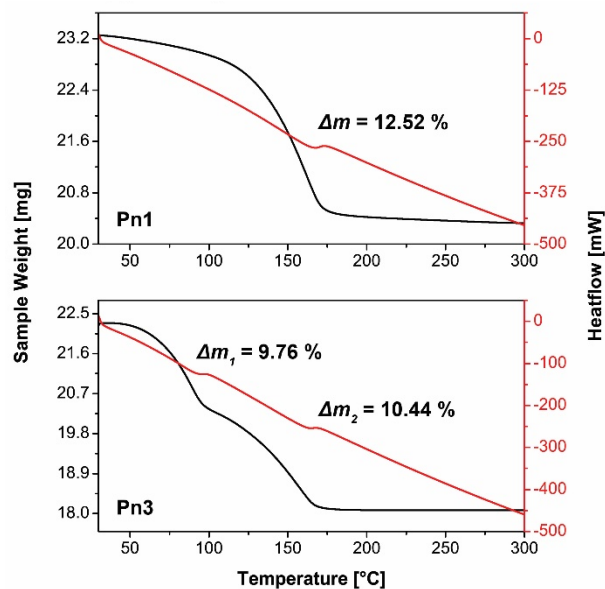
4.2.1. Termogravimetrijska analiza (TGA)

Rezultati prikazani u **Tablici 11.** očitani su iz termogravimetrijskih grafičkih prikaza (**Slika 19.** i **Slike 25., 26.** i **27.** u Prilozima) kao promjena mase tijekom termogravimetrijske analize. Radi jednostavnosti prikaza podataka analizirani su grafovi bez dodanog vitamina C (Pn1) i s najvišim udjelom COT hidratne faze (Pn3).

Iz **Tablice 11.** i **Slike 19.** uočava se da je gubitak mase za sustav Pn1 (bez dodanog vitamina C) bio u samo jednom koraku (12,52 %). Navedeni rezultat vrlo je sličan rezultatu dobivenom u jednostavnom sustavu, a teoretski gubitak mase za kristalnu vodu u čistom COM iznosi 12,33 %¹², te se može zaključiti da u sustavu Pn1 taloži COM. U svim ostalim sustavima uočava se pojava drugog koraka gubitka mase. Najviši udio gubitka mase u oba koraka uočava se u sustavu Pn3 20,20 %. Navedeni rezultat ukazuje na taloženje COM u smjesi sa kalcijevim oksalatom trihidratom (COT). Teoretski gubitak mase za kristalne vode u čistom COT iznosi 29,67 %.¹² Termogrami ostalih uzoraka nalaze se u prilogu.

Tablica 11. Rezultati termogravimetrijske analize za jednostavni sustav kalcijeva oksalata. (t_0 – početna temperatura raspada, t_{max} – maksimalna temperatura raspada, t_e – završna temperatura raspada, $\Delta m / \%$ – promjena mase izražena u postotcima, udio hidratne faze izražen u postotcima).

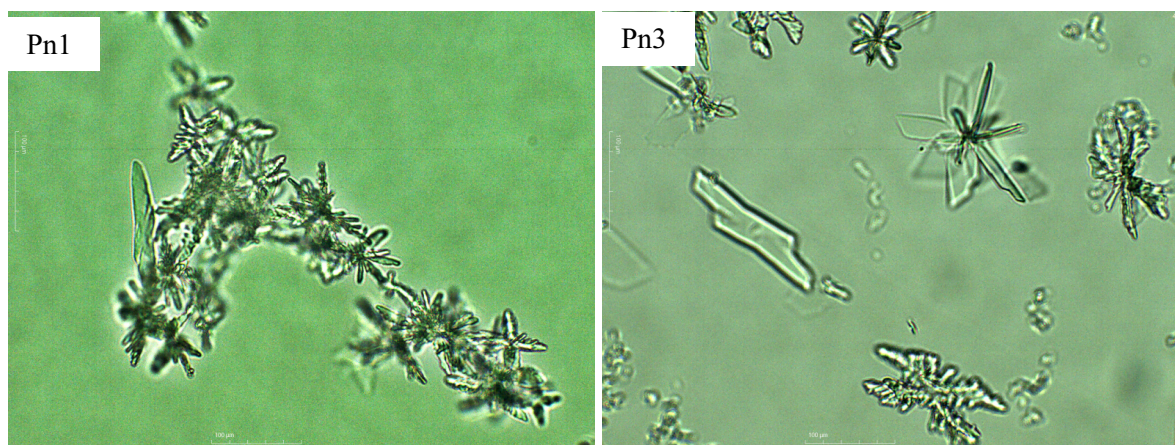
| | 1. korak | | | 2. korak | | | Hidratna faza / % | | | |
|------------|------------------------|----------------------------|------------------------|------------------------|----------------------------|------------------------|-------------------|-------|-----|-------|
| | $t_0 / ^\circ\text{C}$ | $t_{max} / ^\circ\text{C}$ | $t_e / ^\circ\text{C}$ | $t_0 / ^\circ\text{C}$ | $t_{max} / ^\circ\text{C}$ | $t_e / ^\circ\text{C}$ | $\Delta m / \%$ | COM | COD | COT |
| Pn1 | 88,42 | 162,92 | 229,48 | - | - | - | 12,52 | 100 | - | - |
| Pn2 | 42,99 | 77,82 | 100,24 | 101,12 | 162,09 | 211,18 | 15,45 | 82,01 | - | 17,99 |
| Pn3 | 42,05 | 89,68 | 106,14 | 106,14 | 158,01 | 217,13 | 20,20 | 54,61 | - | 45,39 |
| Pn4 | 42,11 | 88,35 | 108,49 | 107,59 | 162,72 | 217,66 | 18,88 | 62,23 | - | 37,77 |
| Pn5 | 42,72 | 86,17 | 106,85 | 106,70 | 168,85 | 218,21 | 17,87 | 68,05 | - | 31,95 |



Slika 19. Termogrami uzorka Pn1 i Pn3.

4.2.2. Optička mikroskopija (OM)

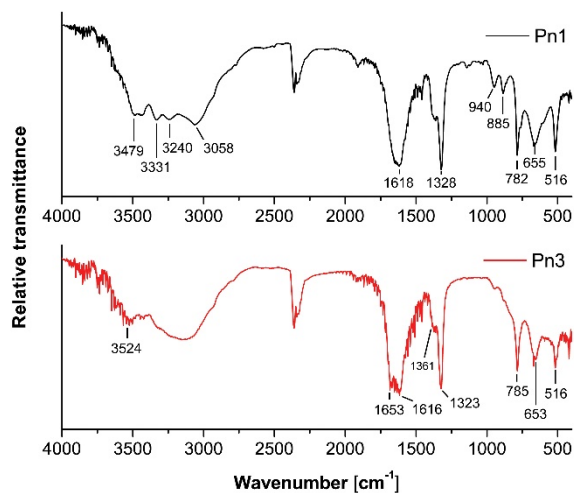
Iz mikroskopskih slika (**Slika 20.** i **Slika 29.** u Prilogu) dobro je vidljivo da u sustavu Pn1 kristali kalcijeva oksalata agregiraju, dok u prisutnosti vitamina C njihova količina znatno smanjila. Također u Pn3 sustavu uočava se pojava COT kristala koji su karakteristične pločaste i štapičaste morfologije.



Slika 20. Morfologija kristala kalcijeva oksalata u sustavu Ps1 i Ps3.

4.2.3. Infracrvena spektroskopija (FT-IR)

U IR spektru (**Slika 21.**) Pn1 sustav je vrlo sličan Ps1 sustavu, te se može zaključiti da taloži COM. U Ps3 sustavu u područja O-H istezanja ne uočavaju se karakteristični pikovi za COM. Uočava se vrlo slabi pik na 3524 cm^{-1} što odgovara simetričnim i asimetričnim vibracijama koordiniranih voda u COT. U području od $400 - 1000\text{ cm}^{-1}$ također se ne nalaze pikovi koji su korisni u analizi i identifikaciji prisutnosti COM u uzorku. Karakteristična karbonilna istezanja uočena su u području od $1200 - 1800\text{ cm}^{-1}$, dok je antisimetrično istezanje karbonilne skupine na 1616 i 1653 cm^{-1} te simetrično istezanje karbonilne skupine uočeno na približno 1323 cm^{-1} koji mogu biti korisni u uočavanju COT oblika u uzorku.¹¹ FT-IR analizom je također utvrđeno da je u svim uzorcima s dodanim vitaminom C prisutan COT u određenom postotku. Navedeni rezultati slažu se s dobivenim termogravimetrijskim rezultatima. U privitku se nalaze preostali IR rezultati (**Slika 31.**).



Slika 21. IR spektar za sustav kalcij oksalata, natrijeva klorida i vitamina C.

5. Zaključak

Cilj ovog završnog rada bilo je ispitivanje i karakterizacija kalcijeva oksalata dobivenih spontanom taloženjem u jednostavnom i NaCl sustavu uz dodatak određene mase vitamina C, zadovoljavajući uvjete hiperoksalurije pri $\text{pH}_i = 6,5$ te pri temperaturi od $37\text{ }^\circ\text{C}$ tijekom 15 minuta.

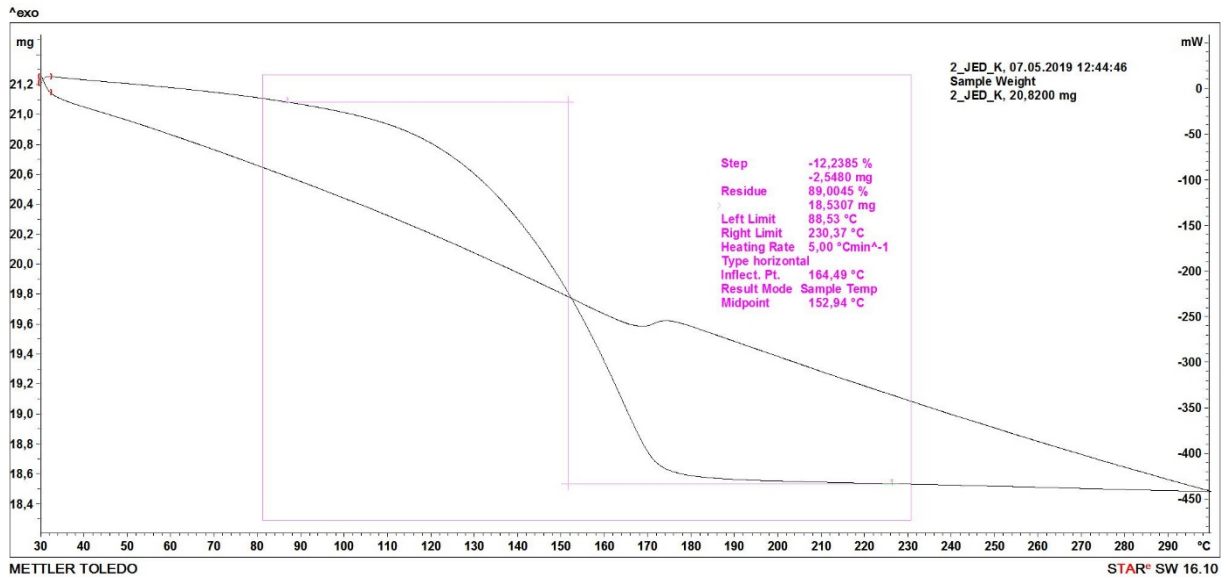
U jednostavnom sustavu ($c(\text{Na}_2\text{C}_2\text{O}_4) = 4 \cdot 10^{-3} \text{ mol dm}^{-3}$) i ($c(\text{CaCl}_2) = 7,5 \cdot 10^{-3} \text{ mol dm}^{-3}$) taloži isključivo kalcijev oksalat monohidrat (COM).

U NaCl sustavu ($c(\text{Na}_2\text{C}_2\text{O}_4) = 4 \cdot 10^{-3} \text{ mol dm}^{-3}$), ($c(\text{CaCl}_2) = 7,5 \cdot 10^{-3} \text{ mol dm}^{-3}$ $I_c = 0,3 \text{ mol dm}^{-3}$) bez dodanog vitamina c (Pn1) taloži kalcijev oksalat monohidrat (COM), dok u sustavima sa dodatkom vitamina C (Pn2-Pn5) dolazi do taloženja nestabilne hidratne faze, kalcijeva oksalata trihidrata (COT).

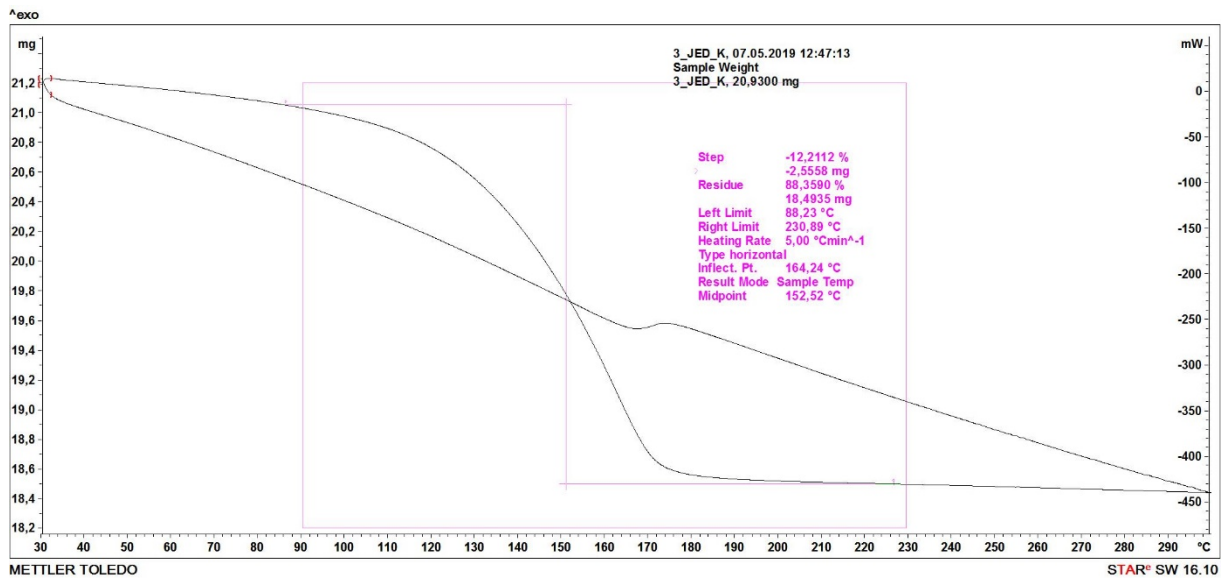
Ovakva vrsta istraživanja je vrlo korisna u svrhe i s ciljem boljeg razumijevanja utjecaja kompleksnosti sustava i dodanog aditiva (vitamina C) na taloženje kalcijeva oksalata, te u budućnosti može pripomoći pri rasvjetljavanju nastanka bubrežnih kamenaca.

6. Prilozi

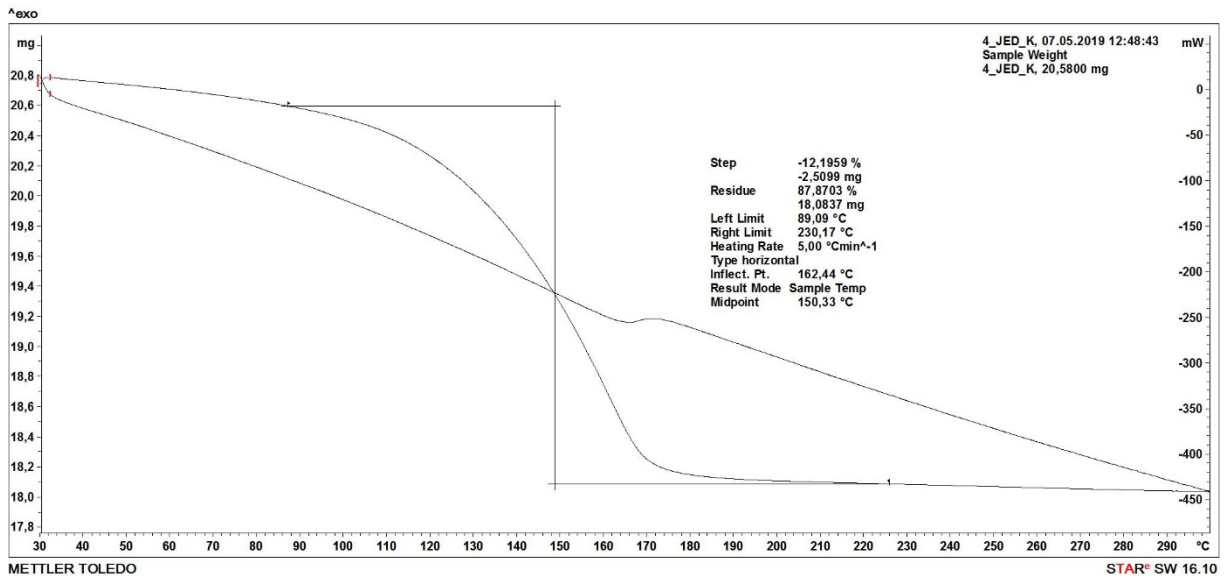
6.1. Termogrami kalcijeva oksalata taloženi u jednostavnom i NaCl sustavu



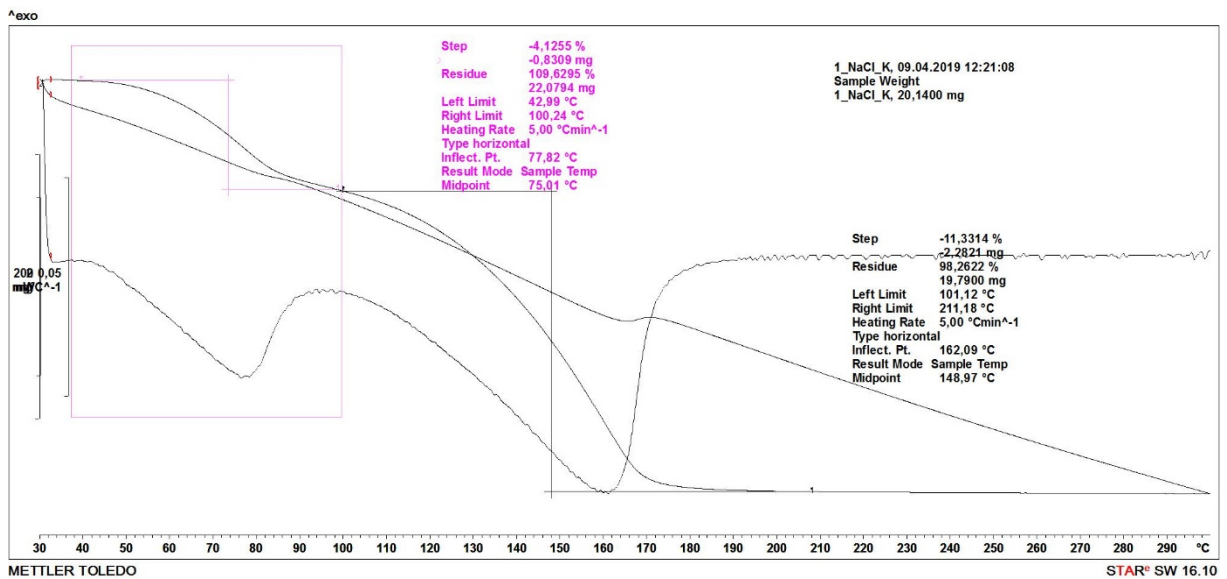
Slika 22. Termogram Ps1 (m (vitamin C) = 100 mg).



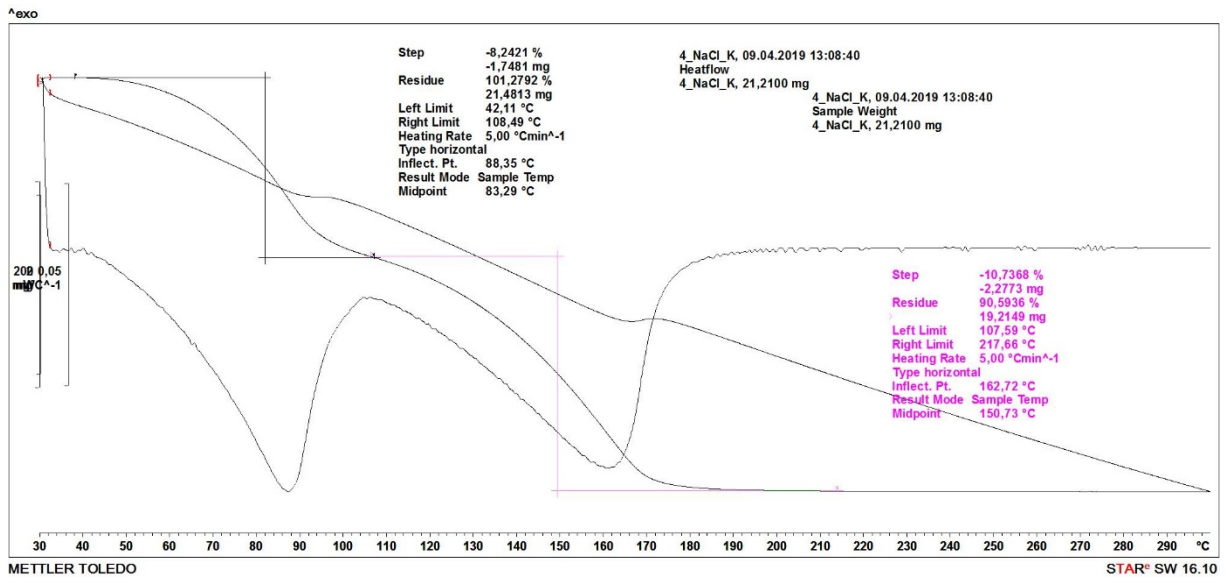
Slika 23. Termogram Ps2 (m (vitamin C) = 500 mg).



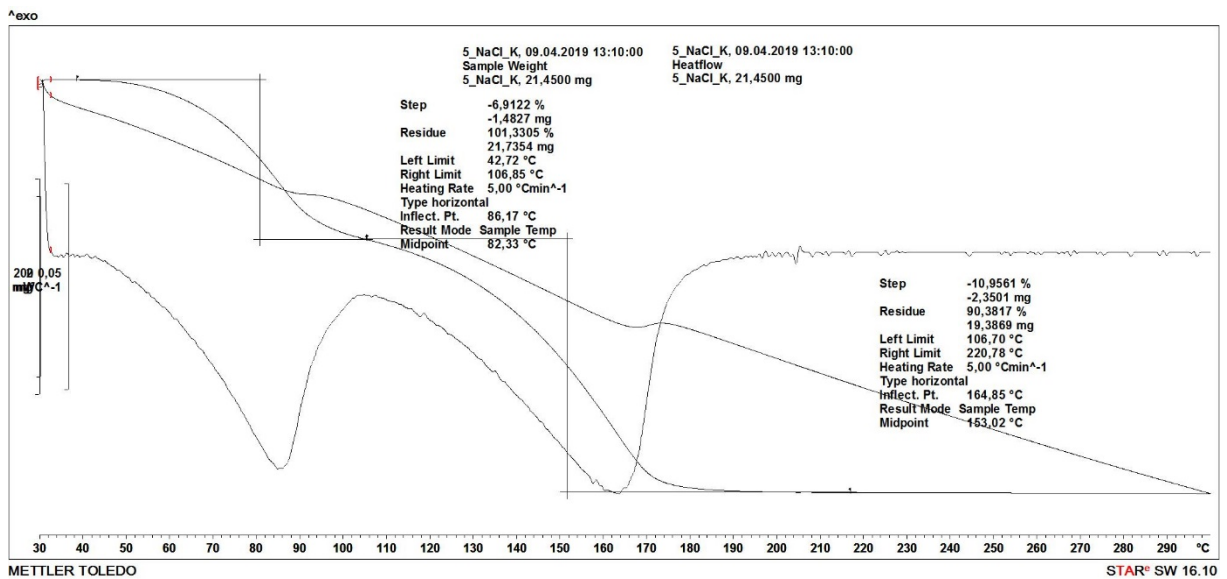
Slika 24. Termogram Ps3 (m (vitamin C) = 750 mg).



Slika 25. Termogram Pn2 (m (vitamin C) = 100 mg).

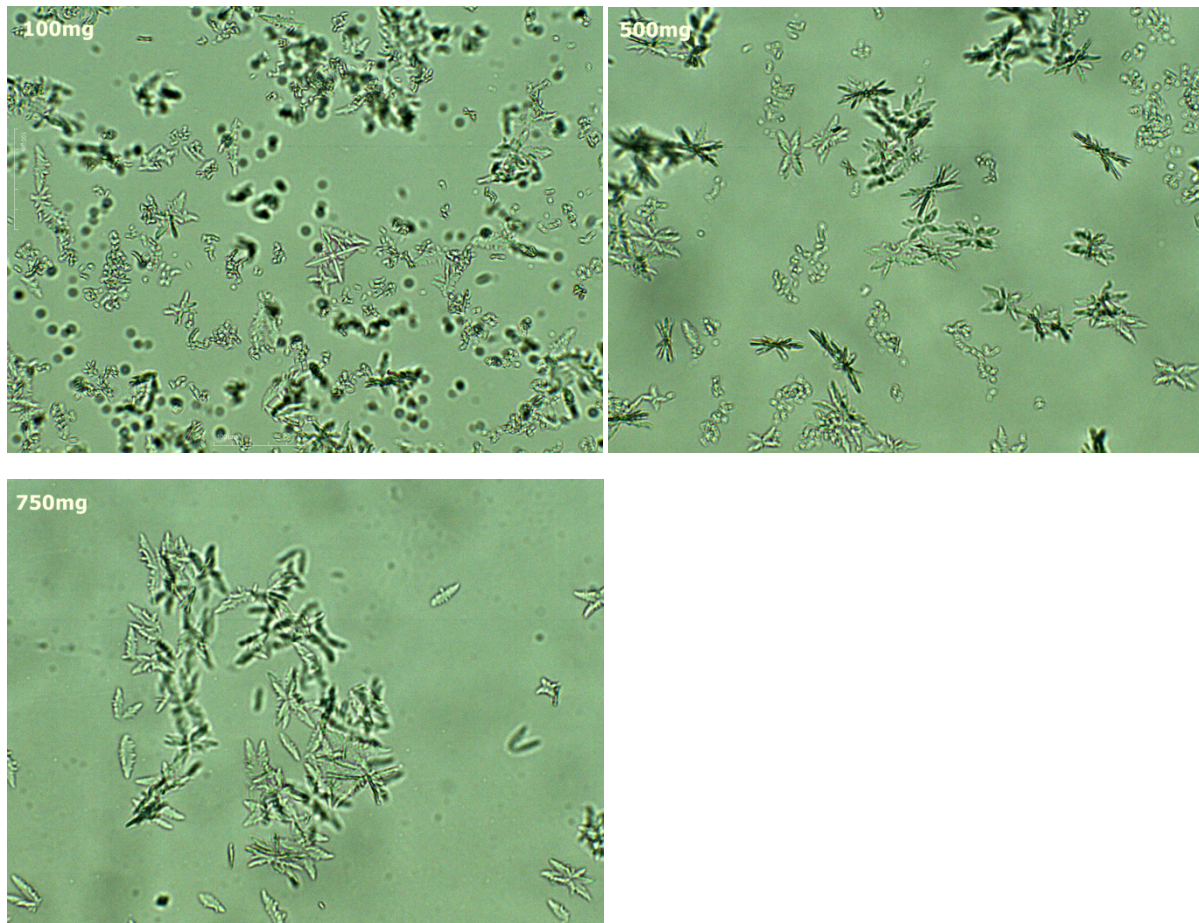


Slika 26. Termogram Pn4 (m (vitamin C) = 750 mg).



Slika 27. Termogram Pn5 (m (vitamin C) = 1000 mg).

6.2. Mikroskopske slike kristala kalcijeva oksalata taloženi u jednostavnom i NaCl sustavu

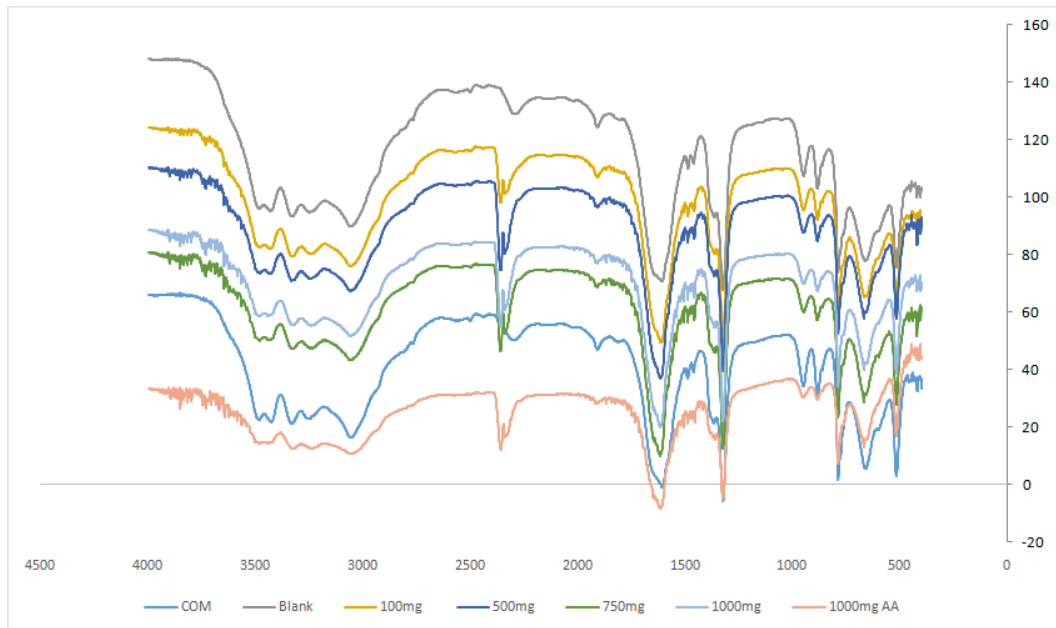


Slika 28. Morfologija kristala kalcijeva oksalata u jednostavnom sustavu s 100 mg, 500 mg i 750 mg vitamina C.

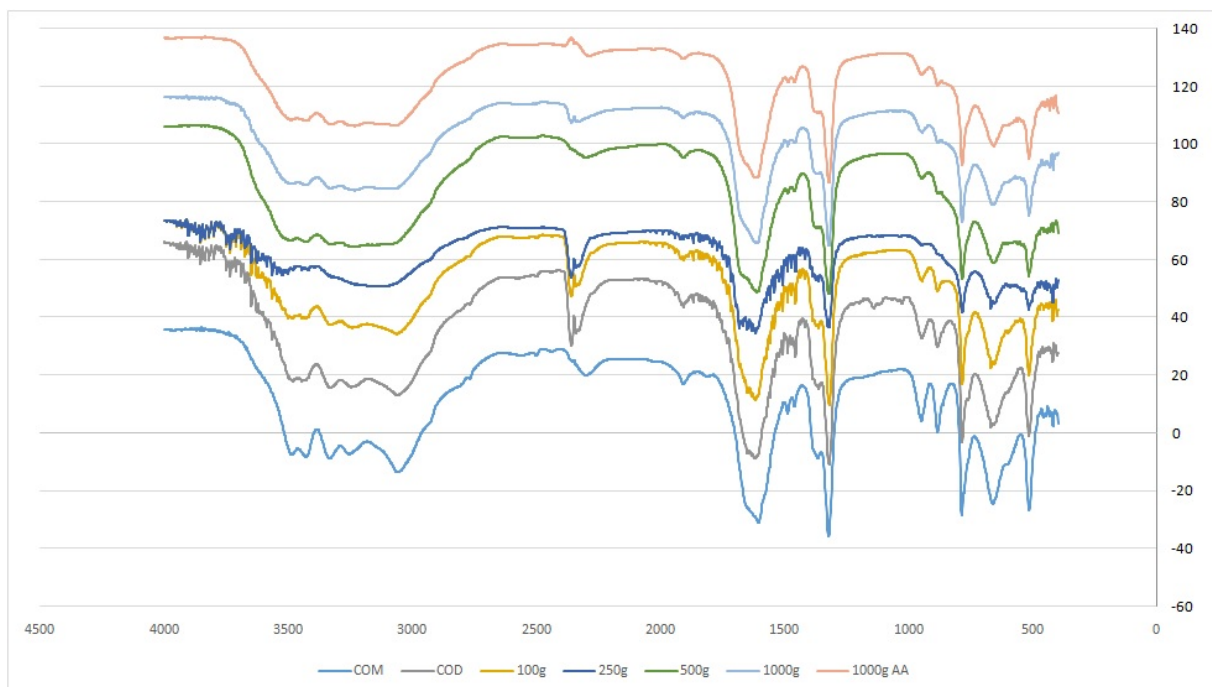


Slika 29. Morfologija kristala kalcijeva oksalata u NaCl sustavu s 100 mg, 750 mg i 1000 mg vitamina C.

6.3. IR spektri kalcijeva oksalata taloženi u jednostavnom i NaCl sustavu



Slika 30. IR spektari uzoraka istaloženih u jednostavnom sustavu.



Slika 31. IR spektari uzoraka istaloženih u NaCl sustavu.

7. LITERATURA

1. C.Y.C.P. *Kidney Stones*, Lancet, (1998.), 351: p. 1797 – 801.
2. Tiselius HG. Aetiology and investigation of stone disease. Curriculum in Urology. Eur Urol (1998), 2(1):1-7.
3. A.Tucak, M. Radonić, H. Furedi – Milhofer, D. Dekanić, Lj. Čečuk, *Urolitijaza*, Revija, Izdavački centar Radničkog sveučilišta „Božidar Maslarić“, Osjek, 1989.
4. D. Škrtić, H. Furedi – Milhofer, M. Marković, *Percipitation of calcium oxalates from high ionic solutions*, V. The influence of percipitation conditions and some additives on the nucleating phase, *J.Crys. Growth*, 1986.
5. A. E. Nielsen, *Croat Chem. Acta* 1980 53. p 255-279
6. S. J. Padayatty, A. Katz , Y. Wang, P. Eck, O. Kwon, J.-H. Lee, S. Chen, C. Corpe, A. Dutta, S. K. Dutta, *Vitamin C as an Antioxidant: Evaluation of Its Role in Disease Prevention*, Journal of the American College of Nutrition, 2003.
7. D.I. Harvie, *Limeys: The Conquest of Scurvy*, 2005.
8. O. A. Golovanova, YU.O. Punin, A. S. Vystoskiy i V. R. Khannanov, *Chem. Sustain. Dev.* 19 (2011) 463-470.
9. O. A. Golovanova, E. Yu. Achkasova, Yu. O. Punin i E. V. Zhelyaev, *Kristallografiya*, 51 (2006) 376-392.
10. A. R. Izatulina, O. A. Golovanova i Yu. O. Punin, *Chem. Sustain. Dev.* 16 (2008) 163-167.
11. C. Conti, M. Casati, C. Colombo, E. Possenti, M. Realini, G. D. Gatta, M. Merlinic, L. Brambilla, G. Zerbi, *Spectrochimica Acta Part A: Mol. Biomol. Spectr.* 150 (2015) 721-730
12. T. Echigo, M. Kimata, A. Kyono, M. Shmizu, T. Hatta, *Mineralo Maga* 69 (2005) 77-88.