# Mehanokemijska sinteza kalcijeva oksalata

**Sekulić, Marina**

**Undergraduate thesis / Završni rad**

**2018**

*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:182:889306

*Rights / Prava:* In copyright / Zaštićeno autorskim pravom.

*Download date / Datum preuzimanja:* **2024-04-24**

*Repository / Repozitorij:*

Repository of the Department of Chemistry, Osijek

# Mehanokemijska sinteza kalcijeva oksalata

# Mechanochemical synthesis of calcium oxalate

*Silvija Šafranko,* [a] *Dominik Goman,* [a] *Filip Bolić,* [a] *Marina Sekulić,* [a] *Anamarija Stanković,* [a*] *Nives Matijaković,* [b] *Ina Erceg* [c] i *Berislav Marković* [a]

[a] Odjel za kemiju, Sveučilište u Osijeku, Ulica cara Hadrijana 8A, 31000 Osijek, Hrvatska

[a] Department of Chemistry, University of Osijek, Ulica cara Hadrijana 8A, 31000 Osijek, Croatia

[b] Institut Ruđer Bošković, Laboratorij za procese taloženja, Bijenička cesta 54, 10000 Zagreb, Hrvatska

[b] Ruđer Bošković Institute, Laboratory for precipitation processes, Bijenička cesta 54, 10000 Zagreb, Croatia

[c] Institut Ruđer Bošković, Laboratorij za biokoloide i površinsku kemiju, Bijenička cesta 54, 10000 Zagreb

[c] Ruđer Bošković Institute, Laboratory for biocolloids and surface chemistry, Bijenička cesta 54, 10000 Zagreb, Croatia

[*] Anamarija Stanković, prof. biologije i kemije, aster@kemija.unios.hr

## Sažetak

Ova studija prikazuje mehanokemijsku sintezu kalcijeva oksalata u planetarnom kugličnom mlinu, bez i uz prisutnost otapala. Dosadašnja istraživanja su uglavnom bila usmjerena na otopinsku sintezu kalcijeva oksalata. U ovom radu opisujemo drugačiji pristup, koji će donijeti nova saznanja o sintezi kristala kalcijeva oksalata, a koje su uzrokovane utjecajem mehaničke energije.

Cilj istraživanja je sinteza, identifikacija i karakterizacija pojedine oksalatne hidratne faze sintetizirane iz kalcijevih soli (klorida, nitrata i sulfata). Ispitivan je utjecaj brzine mljevenja i praćena je reakcija u ovisnosti o vremenu sinteze. Strukturalna i termička svojstva uzoraka ispitana su FTIR spektroskopijom i termogravimetrijskom analizom (TGA). Morfološke karakteristike kalcijeva oksalata te raspodjela veličine čestica određene su optičkom mikroskopijom i dinamičkim raspršenjem svjetlosti (DLS).


**Ključne riječi:** *mehanokemija, kalcijevi oksalat monohidrat, bubrežni kamenci*


## Abstract

In this work, mechanochemical synthesis of calcium oxalate was done in planetary ball mill, with and without addition of water as a solvent. Previous researches were primarily focused on calcium oxalate synthesis in a solution. Here we report a different approach which may contribute to new findings in calcium oxalate crystal synthesis caused by an influence of mechanical energy.

The aim of this study is synthesis, identification and characterization of particular oxalate hydrate phase synthesized with calcium salts (chloride, nitrate and sulphate). The effects of grinding speed and reaction duration regarding the time of synthesis were investigated. Structural and thermal sample properties were studied by FTIR spectroscopy and thermogravimetric analysis (TGA). Morphologic characteristics of calcium oxalate and size distribution were measured by optical microscopy and dynamic light scattering (DLS).


**Keywords:** *mechanochemistry, calcium oxalate monohydrate, kidney stones*

## 1. Uvod

Urolitijaza se danas smatra jednim od najčešćih poremećaja urinarnog trakta. Prema zadnjim epidemiološkim podacima, učestalost pojave bubrežnih kamenaca neprestano raste posebice u industrijaliziranim zemljama kao rezultat modernog i ubrzanog načina života, ali i neadekvatne prehrane. Stvaranje bubrežnih kamenaca ovisi o kemijskom sastavu urina, komponentama koje mogu promovirati i/ili inhibirati proces, pH vrijednosti, ionskoj jakosti te prezasićenosti.[1]

U sastavu bubrežnih kamenaca mogu se pronaći različite soli fosfata i kalcija, međutim u najvećem se udjelu pojavljuju kalcijevi oksalati. Kalcijevi oksalati kristaliziraju u tri hidratna oblika: termodinamički stabilan kalcijev oksalat monohidrat ($CaC_2O_4 \cdot H_2O$, COM),[2,3] metastabilan kalcijev oksalat dihidrat ($CaC_2O_4 \cdot 2H_2O$, COD)[4,5] te metastabilan kalcijev oksalat trihidrat ($CaC_2O_4 \cdot 3H_2O$, COT).[6,7] COM i COD se najčešće pronalaze u sastavu bubrežnih kamenaca, dok je COT rijetko prisutan. Studije o kalcijevim oksalatima najveći naglasak stavljaju upravo na proučavanje COM zbog njegove patogenosti.[8] Istraživanja na kalcijevim oksalatima uglavnom su usmjerena na sinteze u otopini. [9-11]

Mehanokemijska sinteza je vrsta sinteze u čvrstom stanju (*solid-state*) kojom se u sustav dovodi mehanička energija koja kao pokretačka sila kemijske reakcije, uzrokuje povećani kontakt između čestica, pobuđivanje lokalnih reakcijskih mjesta te povećanje specifične površine tvari uslijed uspostavljanja visokoenergetskog stanja. Jedna od velikih prednosti ove metode jest mogućnost sinteze u odsutnosti otapala (ili uz dodatak vrlo male količine) što je istovremeno čini brzom, ekološki prihvatljivom i vrlo korisnom za pojedine reakcije uz izbjegavanje pojave solvatacijskih efekata. Mehanokemijski su procesi iznimno korisni za dobivanje čestica od nekoliko nanometara do nekoliko mikrometara. Osim same veličine čestica, također se može dobiti i uniformnija raspodjela njihovih veličina.[12,13]

Cilj ovog istraživanja je sinteza najstabilnije hidratne faze kalcijeva oksalata, COM, mehanokemijskom sintezom iz kalcijevih soli bez dodatka i s dodatkom male količine vode. Ovako sintetiziran COM u budućnosti može biti prikladan kao *in vitro* model za proučavanje rasta kristala i učinka potencijalnih inhibitora/aktivatora na stvaranje bubrežnih kamenaca.

## 2. Eksperimentalni dio

### *2.1. Materijali*

Za mehanokemijsku sintezu kalcijeva oksalata korištene su tri vrste kalcijevih soli: klorid ($CaCl_2 \cdot 2H_2O$, BDH Prolabo), sulfat ($CaSO_4 \cdot 2H_2O$, Kemika) i nitrat ($Ca(NO_3)_2 \cdot 4H_2O$, T.T.T.) te natrijev oksalat ($Na_2C_2O_4$, BDH Prolabo). Navedene kemikalije su *p. a.* čistoće. Deionizirana voda (provodnosti $\leq$ 0,055 μS/cm) korištena je u sintezama u kojima je dodavana minimalna

količina otapala te pri ispiranju uzoraka. Sinteze su provedene mljevenjem i usitnjavanjem polaznih reaktanata u planetarnom kugličnom mlinu Fritsch Pulverisette 7 (volumen reakcijske posude, $V$ = 20 cm$^3$, promjer posude, $D_v$ = 4,5 cm, promjer rotirajućeg diska, $R_p$ = 140 mm) s kuglicama od nehrđajućeg čelika (n = 80, promjer, $d_b$ = 5 mm; gustoća, $\rho$ = 7,7 g/cm$^3$ i masa, $m$ = 0,51 g). Prisutnost zaostalih aniona nakon reakcije ispitan je kvalitativnom analitičkom metodom za dokazivanja aniona. Otopina srebrova nitrata ($c(AgNO_3)$ = 0,1 mol dm$^{-3}$) je korištena za dokazivanje kloridnih iona, otopina barijeva nitrata ($c(Ba(NO_3)_2)$ = 0,1 mol dm$^{-3}$) za dokazivanje sulfatnih iona te 1 %-tna otopina difenilamina za dokazivanje nitratnih iona.

### *2.2 Karakterizacija sintetiziranih uzoraka*

Za karakterizaciju taloga kalcijeva oksalata korištene su sljedeće metode: FTIR spektroskopija, termogravimetrijska analiza (TG), DLS metoda za određivanje prosječne veličine i disperzije čestica te svjetlosna mikroskopija.

IR spektri snimljeni su pomoću Shimadzu FTIR 8400S spektrometra u valnom području od 400 do 4000 cm$^{-1}$ (rezolucija: 4 cm$^{-1}$) DRS tehnikom. Analizirani su spojevi u čvrstom stanju, a za snimanje je korištena DRIFT (eng. *Diffuse Reflectance Infrared Fourier Transform*) tehnika. Približno 1 mg krutog uzoraka pomiješan je s 100 mg KBr. Za snimanje spektara i obradu podataka korišten je računalni program IR Solution 1.30.

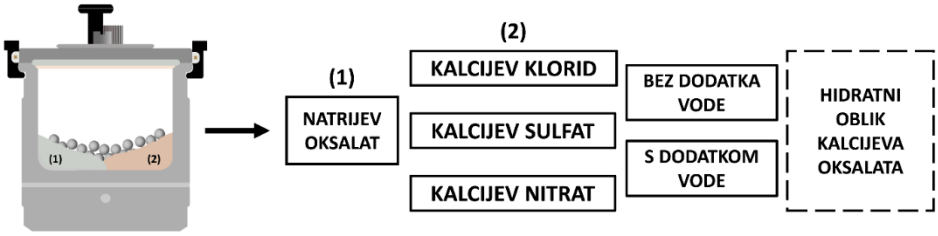
TG analiza provedena je na instrumentu Mettler Toledo System 1. Uzorci su ispitivani u atmosferi kisika, uz brzinu protoka plina 200 cm$^3$ min$^{-1}$, s korakom snimanja 5 °C min$^{-1}$ u temperaturnom području od 30 do 300 °C. Rezultati su obrađeni pomoću računalnog programa STARe Software 10.0.

Za vizualnu identifikaciju taloga i za utvrđivanje morfoloških karakteristika istaloženih faza, korišten je svjetlosni mikroskop (Motic, B1) opremljen digitalnom kamerom (Moticam 2). Prosječna veličina i disperzija čestica određena je dinamičkim raspršenjem svjetlosti (DLS) pomoću uređaja Zetasizer Nano ZS, Malvern, opremljen zelenim laserom (532 nm). Intenzitet raspršenog svjetla je detektiran pod kutom od 173°. Rezultati su prikazani kao maksimumi pikova raspodjele veličine čestica po volumenu. Sva su mjerenja ponovljena 6 puta. Mjerenja su provedena na 25 °C.

### *2.3 Mehanokemijska sinteza kalcijeva oksalata*

Sinteze su provedene u planetarnom kugličnom mlinu (slika 1) dodatkom polaznih reaktanata u masenom omjeru 1:1. U svim serijama sinteza, omjer mase reaktanata i mase kuglica je bio konstantan (1:8), dok su mijenjani polazni reaktanti (kalcijeve soli) te brzina (250, 500 i 750

o/min) i vrijeme (1 i 2 sata) mljevenja. Mehanokemijski procesi su usporedno provedeni bez otapala (samo s krutinama reaktanata) i uz malu količinu otapala (*V*(vode) = 5 mL). Analize uzoraka su napravljene prije i nakon ispiranja. Uzorci iz svih serija sinteza isprani su minimalnom količinom deionizirane vode.




*Slika 1* – Jednostavna shema mehanokemijske sinteze kristala kalcijeva oksalata

*Fig. 1* – Simplified scheme of the mechanochemical synthesis of calcium oxalate crystals

## 3. Rezultati i rasprava

### *3.1. Karakterizacija kalcijevih oksalata*

Mehanokemijskom sintezom kalcijeva oksalata dobiven je najstabilniji hidratni oblik kalcijev oksalat monohidrat, COM u svim uzorcima s dodatkom i bez dodatka vode. Prisutnost COM ispitan je FTIR spektroskopijom usporedbom dobivenih rezultata s literaturnim podacima standarda COM (tablica 1). Termogravimetrijskom analizom omogućena je kvantitativna analiza. Teoretski gubitak mase za kristalnu vodu u čistom COM je 12,33 %.[14-16] Termogravimetrijska analiza u svim sustavima provedena je na ispranim i osušenim uzorcima nakon 2 sata sinteze. Rezultati termogravimetrijske analize uzoraka (tablice 2, 3 i 4) ukazuju na to da se gubitak mase dogodio tijekom samo jednog koraka.

$$\text{COM - } CaC_2O_4 \cdot 1\ H_2O \rightarrow CaC_2O_4 + H_2O \qquad (1)$$

*Tablica 1* – Karakteristične vrpce COM standarda i njihova asignacija u IR spektru[14,17,18]

*Table 1* - Characteristic FTIR transmittance peaks and their assignments for COM standard sample[14,17,18]

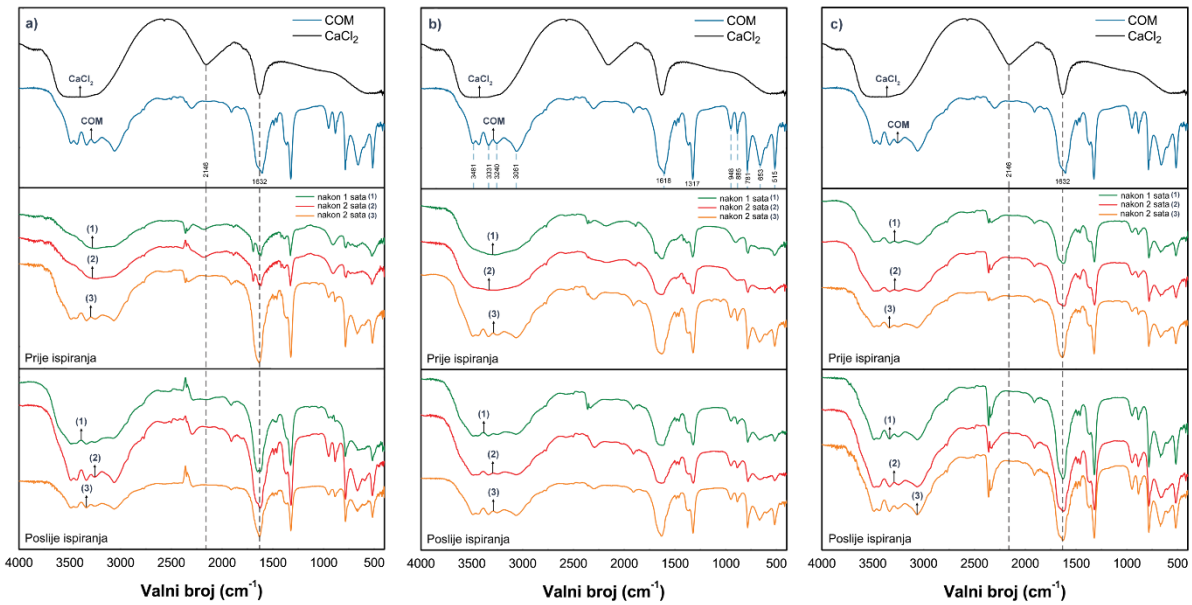
| **COM** /cm$^{-1}$ | **Asignacija**<br>**Assignment** |
|---|---|
| 3481<br>3331<br>3240<br>3061 | asimetrično i simetrično istezanje koordinirane vode (O-H istezanje)<br>asymmetric and symmetrical stretching of coordinated water (O-H stretching) |
| 1618 | asimetrično karbonilno istezanje $\nu_{as}(COO^-)$<br>asymmetric carbonyl stretch $\nu_{as}(COO^-)$ |
| 1317 | simetrično karbonilno istezanje i metal-karbonilno istezanje $\nu_s(COO^-)$<br>symmetrical carbonyl stretching and metal-carbonyl stretching $\nu_s(COO^-)$ |
| 948 | H-O-H svijanje |

| | |
|---|---|
| 885 | H-O-H bending |
| 781 | O-C-O asimetrične njihanje |
| 653 | O-C-O asymmetric swinging |
| 515 | O-C-O asimetrične mahanje<br>O-C-O asymmetric wagging |

### *3.2. Mehanokemijska sinteza s kalcijevim kloridom, $CaCl_2 \cdot 2H_2O$*

Slika 2 prikazuje IR spektre uzoraka dobivenih reakcijom kalcijeva klorida i natrijeva oksalata. Rezultati upućuju na to da pri svim brzinama mljevenja (250, 500 i 750 o/min) nastaje isključivo najstabilniji oblik COM. Analizom uzorka nakon 1 sata i pri najmanjoj brzini mljevenja (250 o/min), uočeno je zaostajanje reaktanta što se posebice uočava u području O-H istezanja (3500 - 3000 $cm^{-1}$) u uzorku bez dodatka vode i prije ispiranja (slika 2 (a)). Također se prisutnost polaznog reaktanta može zapaziti pojavom vrpce na približno 2148 $cm^{-1}$. Pri završetku reakcije (nakon 2 sata) u uzorku prije ispiranja uočene su oštrije vrpce COM u području O-H istezanja samo u uzorcima s dodatkom vode, a posebno se raspoznaje karakteristična vrpca za COM na približno 3491 $cm^{-1}$. U uzorcima bez dodatka vode i dalje zaostaje veća količina polaznog reaktanta. Svi uzorci su ispitani kvalitativnom analitičkom metodom kako bi se utvrdila čistoća uzorka. Prisutnost kloridnih iona se dokazivao dodatkom $AgNO_3$ i pojavom bijelog taloga AgCl. Pozitivna reakcija upućivala je na produkte manje čistoće te potrebu daljnjeg ispiranja sintetiziranog uzorka.

Analizom uzoraka nakon 1 sata sinteze i nakon ispiranja na IR spektru uočena je široka vrpca u području od 3500 – 3000 $cm^{-1}$ što i dalje upućuje na produkt manje čistoće i prisutnost polaznog reaktanta, dok se nakon 2 sata sinteze u uzorcima bez i s dodatkom vode, pojavljuju oštrije i intenzivnije vrpce u području O-H istezanja i otiska prsta, posebice vrpca na 3491 $cm^{-1}$ te ostale karakteristične vibracije za COM. Slično ponašanje uočeno je i kod brzina 500 i 750 o/min, međutim kod najveće brzine (750 o/min) uočeno je brže nastajanje produkta pojavom intenzivnijih vrpci u području od 3500 – 3000 $cm^{-1}$ čak i nakon 1 sata sinteze. Nakon ispiranja uzoraka sintetiziranih pri najvećoj brzini mljevenja, rezultati IR spektroskopije upućuju na dobivanje produkta visoke čistoće.




*Slika 2* - IR spektri sintetiziranih uzoraka pri brzinama: a) 250 o/min, b) 500 o/min i c) 750 o/min uspoređenih s IR spektrom standarda COM i reaktanta $CaCl_2$

*Fig. 2* - IR spectra of synthesized samples at grinding speed of a) 250 rpm, b) 500 rpm and c) 750 rpm. Results were compared with both IR spectra of COM standard sample and starting material $CaCl_2$

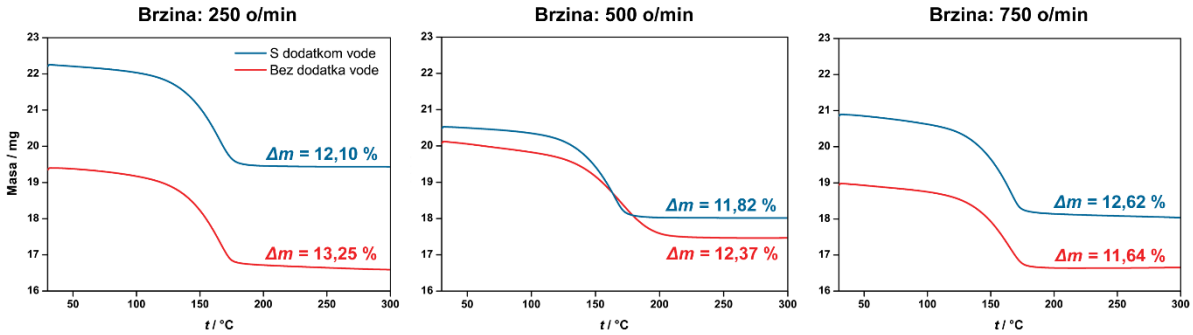
Na slici 3 i u tablici 2 prikazani su rezultati termogravimetrijske analize uzoraka s dodatkom i bez dodatka vode pri svim brzinama mljevenja. Prema rezultatima uočeno je da gubitak mase vode započinje i završava u približno jednakom temperaturnom rasponu ($t_0$ = 75,07 ± 2,25 °C; $t_e$ = 167,16 ± 1,43 °C). U svim uzorcima nastaje željeni hidratni oblik, COM.

*Tablica 2* – Rezultati termogravimetrijske analize uzoraka ($t_0$ – početna temperature razgradnje, $t_{max}$ – temperatura pri maksimalnoj brzini razgradnje, $t_e$ – temperatura kraja razgradnje, $\Delta m$ – gubitak mase)

*Table 2* - Results of the thermogravimetric analysis of the sample ($t_0$ - initial degradation temperature, $t_{max}$ - temperature of maximum degradation rate, $t_e$ - end of degradation temperature, $\Delta m$ - loss of mass)

| | | **Brzina mljevenja Grinding speed** | $t_0$ / °C | $t_{max}$ / °C | $t_e$ / °C | $\Delta m$ / mg | $\Delta m$ / % |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Poslije ispiranja uzoraka After sample washing | S dodatkom vode With addition of water | 250 | 78,35 | 224,93 | 166,51 | 2,69 | 12,10 |
| | | 500 | 73,20 | 223,49 | 165,68 | 2,43 | 11,82 |
| | | 750 | 76,93 | 225,07 | 167,25 | 2,64 | 12,62 |
| | Bez dodatka vode Without addition of water | 250 | 72,77 | 231,91 | 166,50 | 2,64 | 13,25 |
| | | 500 | 73,63 | 243,08 | 169,84 | 2,49 | 12,37 |
| | | 750 | 75,56 | 221,83 | 167,16 | 2,22 | 11,64 |

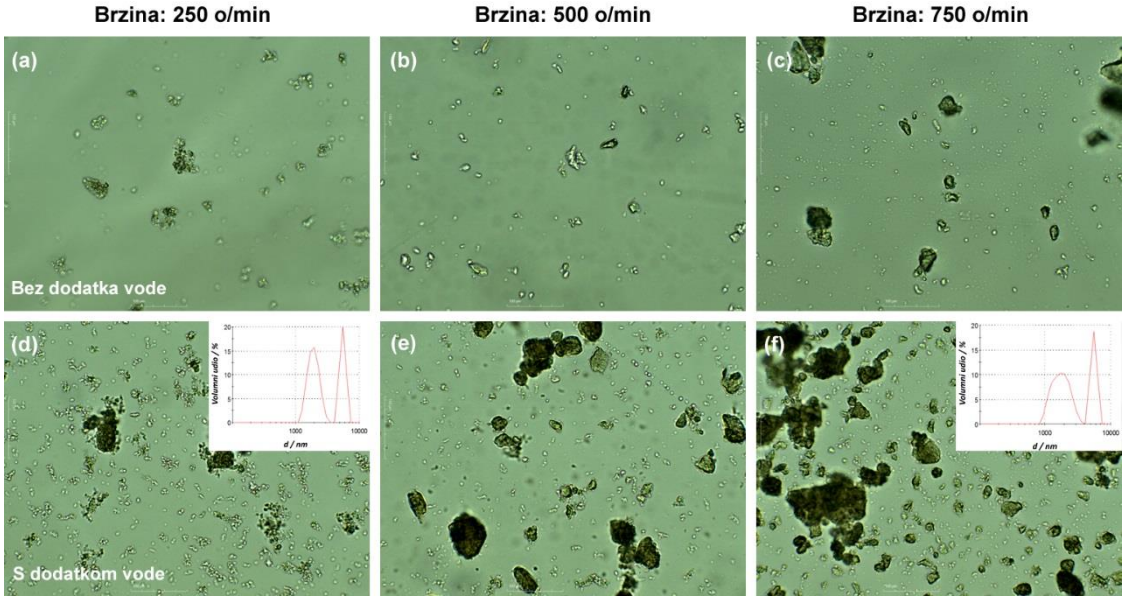
Kao što se može primijetiti u tablici 2 značajnije razlike u postotku gubitka mase nisu uočene, prosječno odstupanje iznosi 0,59 i varijabilitet je nizak (4,76 %).




*Slika 3* - Termogrami uzoraka sintetiziranih pri svim brzinama mljevenja polaznog reaktanta $CaCl_2$ ($\Delta m$ – gubitak mase)

*Fig. 3* - Thermograms of the samples synthesized from the starting material $CaCl_2$ by modulating grinding speed ($\Delta m$ - loss of mass)

Morfologija uzoraka te njihova raspodjela ispitana je svjetlosnom mikroskopijom i DLS metodom. Slika 4 prikazuje snimke uzoraka dobivenih nakon 2 sata sinteze pri svim brzinama u obje serije (s dodatkom i bez dodatka vode). Morfologiju kristala nije moguće odrediti optičkom mikroskopijom zbog izrazito malih i agregiranih čestica. Mikrografije pokazuje da se povećanjem brzine mljevenja dobivaju manje čestice. To potvrđuju rezultati DLS-a koji pokazuju da se u uzorcima dobivenim pri najmanjoj i najvećoj brzini mljevenja uz dodatak vode javlja bimodalna raspodjela veličine čestica. Povećanjem brzine mljevenja veličina čestica se smanjuje (250 o/min: $d$ = 1922,5 ± 51,62 nm; 750 o/min, $d$ = 1682,2 ± 272,36 nm, slika 4, umetci (d) i (f)). Također pri najvećoj brzini mljevenja uočava se šira raspodjela veličina čestica u odnosu na dobivenu raspodjelu pri brzini 250 o/min, što upućuje na nastajanje nehomogenijeg sustava. Veće čestice predstavljaju agregirane čestice koje nisu u potpunosti dispergirane ($d$ (250 o/min) = 5590,12 nm, $d$ (750 o/min ) = 5379,75 nm).

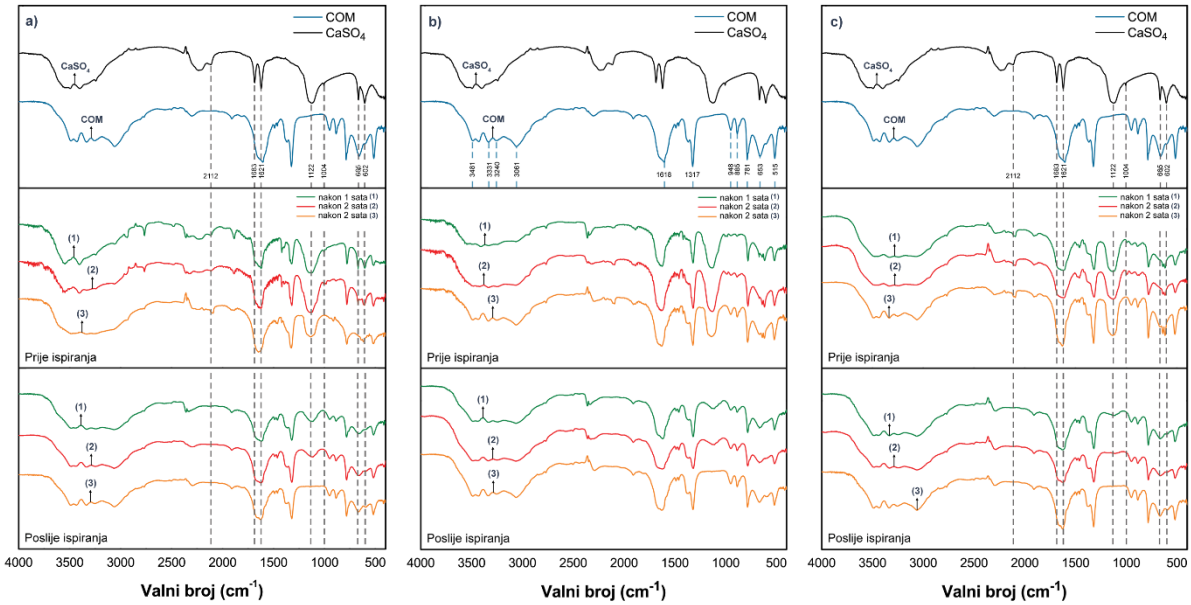



*Slika 4* - Snimke svjetlosne mikroskopije kristala hidrata kalcijeva oksalata u obje serije sinteze (s dodatkom i bez dodatka vode) i pri svim brzinama mljevenja. Umetak: raspodjela veličine čestica (d) i (f)

*Fig. 4* - Calcium oxalate crystals light microscopy images in both synthesis series (with and without addition of water) at all milling speeds. Inset: particle size distribution (d) and (f)

### *3.3. Mehanokemijska sinteza s kalcijevim sulfatom, $CaSO_4 \cdot 2H_2O$*

Strukturalna svojstva sintetiziranih uzoraka dobivenih mehanokemijskom sintezom kalcijeva sulfata i natrijeva oksalata ispitana su FTIR spektroskopijom te su rezultati prikazani na slici 5. Napravljena je usporedba uzoraka analiziranih nakon 1 sata sinteze, prije i poslije ispiranja te nakon 2 sata iz obje serije sinteza pri svim primijenjenim brzinama mljevenja. Iz dobivenih rezultata pri najmanjoj brzini (250 o/min) u svim uzorcima prije ispiranja vidljive su široke vrpce u području O-H istezanja te široka vrpca u području otiska prsta s karakterističnom vrpcom na približno 1122 $cm^{-1}$ koja odgovara asimetričnom istezanju $SO_4^{2-}$ skupina te na 1004 $cm^{-1}$ koja odgovara simetričnom istezanju $SO_4^{2-}$ skupina.[19] Također se uočava H-O-H istezanje polaznog reaktanta na približno 2112 $cm^{-1}$. Iz rezultata se može vidjeti da je u uzorcima obje serije dobiven produkt manje čistoće. Nakon 1 sata se uočavaju karakteristične vrpce COM, no vrpce postaju oštrije i intenzivnije tek nakon 2 sata sinteze, dok se produkti veće čistoće uočavaju u uzorcima s dodatkom vode. Vrpce pri 1004 $cm^{-1}$, 1122 $cm^{-1}$ i 2112 $cm^{-1}$ upućuju na zaostajanje sulfata. Reaktant se uklanja ispiranjem velikom količinom deionizirane vode. Povećanjem brzine mljevenja već nakon 1 sata sinteze uočavaju se vrpce COM uz zaostajanje polaznog reaktanta, što se posebice uočava pri najvećoj brzini (750 o/min).




*Slika 5* - IR spektri sintetiziranih uzoraka pri brzinama od a) 250 o/min, b) 500 o/min i c) 750 o/min uspoređenih s FTIR spektrom standarda COM i reaktanta $CaSO_4$

*Fig. 5* - IR spectra of synthesized samples at grinding speed a) 250 rpm, b) 500 rpm and c) 750 rpm. Results were compared with both FTIR spectra of COM standard sample and starting material $CaSO_4$

Nakon ispiranja uzoraka, uočavaju se oštrije vrpce COM, dok vrpce sulfata više nisu prisutne na IR spektru. Kako bi se utvrdila čistoća uzorka, provedena je kvalitativna analiza s reagensom $Ba(NO_3)_2$ da bi se dokazala prisutnost sulfatnih iona. U reakciji $Ba(NO_3)_2$ i sulfatnih iona nastaje bijeli talog $BaSO_4$ koji upućuju na potrebu daljnjeg ispiranja uzorka.

Isprani uzorci nakon 2 sata sinteze su ispitani termogravimetrijskom analizom te je utvrđena prisutnost COM u obje serije sinteza. U tablici 3 su prikazani rezultati termogravimetrijske analize koji ukazuju na gubitak mase ($\Delta m$) u jednom koraku približne vrijednosti jedne molekule vode. Gubitak mase započinje i završava u približno jednakom temperaturnom rasponu ($t_0$ = 79,38 ± 1,59 °C; $t_e$ = 170,24 ± 1,50 °C).

*Tablica 3* – Rezultati termogravimetrijske analize uzoraka ($t_0$ – početna temperature razgradnje, $t_{max}$ – temperatura pri maksimalnoj brzini razgradnje, $t_e$ – temperatura kraja razgradnje, $\Delta m$ – gubitak mase)

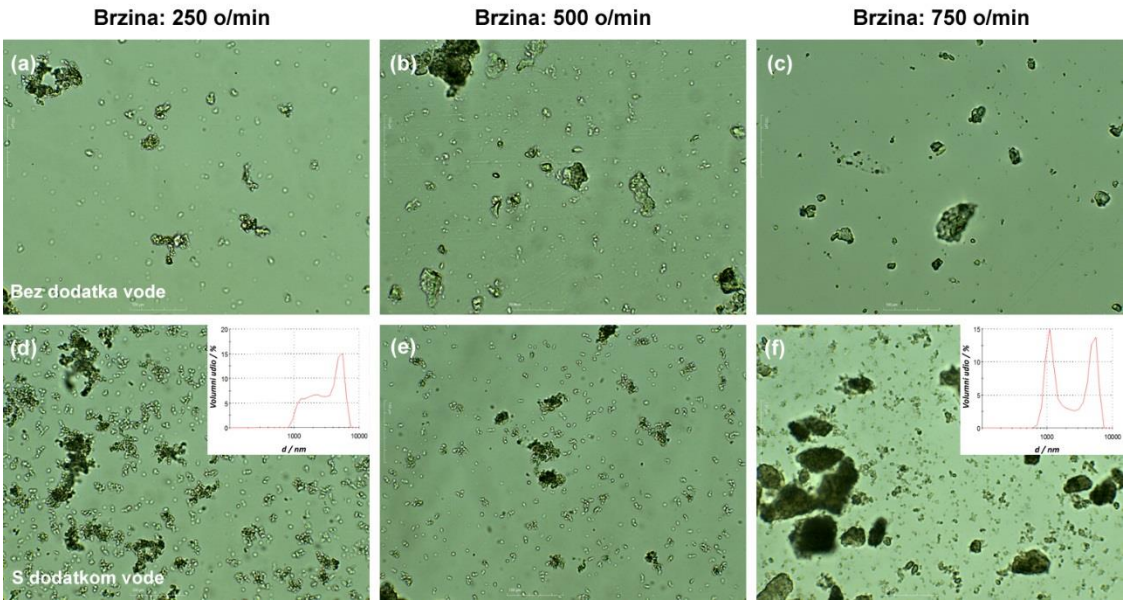
*Table 3* - Results of the thermogravimetric analysis of the sample ($t_0$ - initial degradation temperature, $t_{max}$ - temperature of maximum degradation rate, $t_e$ - end of degradation temperature, $\Delta m$ - loss of mass)

| | **Brzina mljevenja Grinding speed** | $t_0$ / °C | $t_{max}$ / °C | $t_e$ / °C | $\Delta m$ / mg | $\Delta m$ / % |
|---|---|---|---|---|---|---|
| S dodatkom vode | 250 | 81,57 | 168,79 | 243,87 | 3,07 | 13,43 |
| | 500 | 79,38 | 170,46 | 242,76 | 2,97 | 11,96 |
| | 750 | 80,16 | 168,96 | 241,71 | 2,99 | 12,04 |

| | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Poslije ispiranja uzoraka After sample washing | With addition of water | 250 | 80,04 | 169,45 | 243,47 | 3,11 | 12,96 |
| | Bez dodatka vode Without addition of water | 500 | 77,49 | 172,72 | 241,13 | 3,01 | 13,13 |
| | | 750 | 77,61 | 171,08 | 240,56 | 2,99 | 12,87 |

Značajnije razlike u gubitku mase nisu uočene povećanjem brzine mljevenja što potvrđuje prisutnost isključivo COM u svim uzorcima. Prosječno odstupanje iznosi 0,60 i varijabilitet je nizak (4,70 %).

Na temelju mikroskopskih snimki (slika 6) i DLS metode (slika 6, umetci (d) i (f)) procijenjena je raspodjela veličina čestica. Rezultati upućuju na to da se u seriji sinteze bez dodatka vode, veličina čestica smanjuje povećanjem brzine mljevenja s tendencijom stvaranja agregata. Pojava agregacije posebno je izražena u seriji s dodatkom vode (vidi slika 6, umetci (d) i (f)). Naime, izmjerene vrijednosti uzoraka dispergiranih čestica u seriji s dodatkom vode upućuju na bimodalnu raspodjelu čestica pri obje promatrane brzine (250 i 750 o/min). Razlike se uočavaju u uzorcima sintetiziranih pri brzini od 250 o/min gdje je vidljiva šira raspodjela veličina čestica uz moguću pojavu agregata pri obje brzine mljevenja.



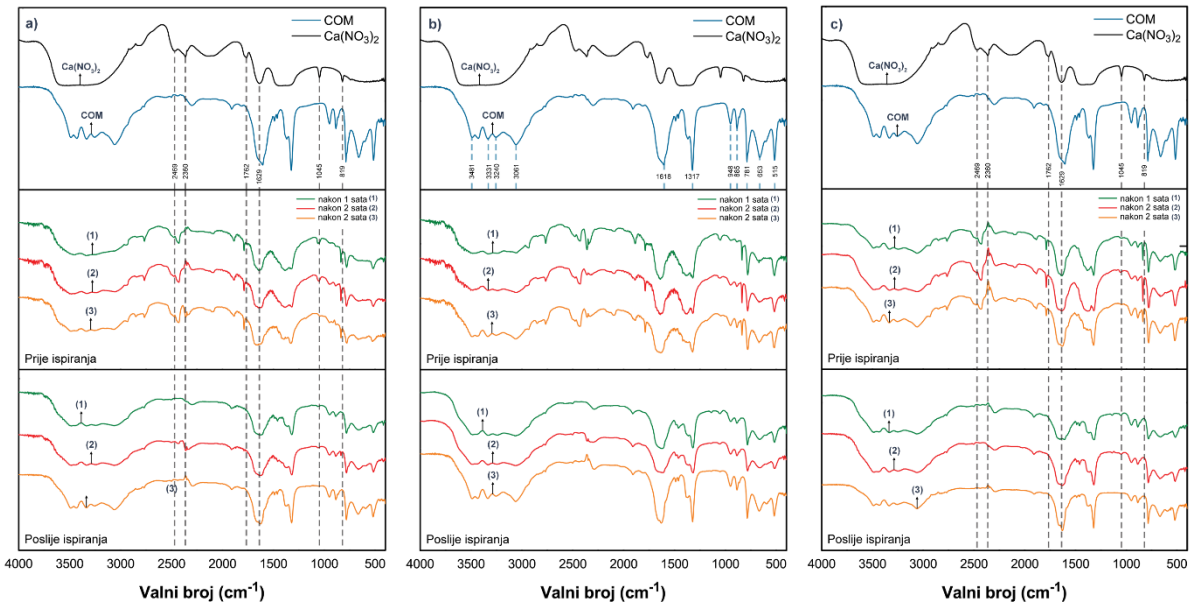

*Slika 6* - Snimke svjetlosne mikroskopije kristala hidrata kalcijeva oksalata u obje serije sinteze (s dodatkom i bez dodatka vode) i pri svim brzinama mljevenja. Umetak: raspodjela veličine čestica (d) i (f)

*Fig. 6* - Calcium oxalate crystals light microscopy images in both synthesis series (with and without addition of water) at all milling speeds. Inset: particle size distribution (d) and (f)

Srednja vrijednost promjera čestica pri brzini 250 o/min je $d$ = 1853,6 ± 277,92 nm, a pri brzini 750 o/min ona iznosi $d$ = 1498,0 ± 369,29 nm. Drugi maksimum, bez vidljive oštrije granice s prvim maksimumom, označava agregirane čestice koje nisu u potpunosti dispergirane ($d$ (250 o/min) = 4835,2 nm, $d$ (750 o/min ) = 4276,7 nm).

### *3.4. Mehanokemijska sinteza s kalcijevim nitratom, $Ca(NO_3)_2{\cdot}4H_2O$*

IR spektri uzoraka sintetiziranih reakcijom natrijeva oksalata i kalcijeva nitrata prikazani su na slici 7. Pri najmanjoj brzini (250 o/min) (slika 7 a)) pojavljuje se oštrija vrpca na 1045 $cm^{-1}$ koja odgovara simetričnom istezanju nitratnog iona.[20] Upravo se prema pojavi vrpce na 1045 $cm^{-1}$ mogla utvrditi prisutnost zaostalog reaktanta. Navedena vrpca se ne pojavljuje nakon ispiranja uzorka. Na zaostajanje reaktanta također upućuje i pojava široke vrpce u području O-H istezanja. Prije ispiranja uzoraka i nakon 1 sata sinteze u seriji bez dodatka vode, vrpca na 1045 $cm^{-1}$ posebno je izražena te se pojavljuje široka vrpca u području O-H istezanja. Nakon 2 sata sinteze, u seriji bez dodatka vode i dalje su izražene vrpce reaktanta, dok se u uzorku s dodatkom vode počinju pojavljivati karakteristične vrpce COM u području O-H istezanja. Vrpca na 1045 $cm^{-1}$ nestaje, a nazire se pojavljivanje vrpce na 1317 $cm^{-1}$ (karakteristična vrpca za COM).




*Slika 7* – IR spektri sintetiziranih uzoraka pri brzinama od a) 250 o/min, b) 500 o/min i c) 750 o/min uspoređenih s IR spektrom COM standarda i reaktanta $Ca(NO_3)_2$

*Fig. 7* - IR spectra of synthesized samples at grinding speed a) 250 rpm, b) 500 rpm and c) 750 rpm. Results were compared with both IR spectra of COM standard sample and starting material $Ca(NO_3)_2$

Uzorci su ispitani kvalitativnom analitičkom metodom kako bi se utvrdila čistoća uzorka. Nitratni ioni su dokazivani 1 %-tnom otopinom difenilamina, a pojava plavog prstena ukazivala je na prisutnost nitratnog iona.

Nakon ispiranja uzoraka dobivenih pri brzini mljevenja od 250 o/min uočavaju se oštrije i intenzivnije vrpce COM bez prisutnosti vrpci nitrata. Nakon 2 sata sinteze, u seriji s dodatkom vode, IR spektar upućuje na uzorak visoke čistoće COM. IR spektri uzoraka sintetiziranih pri brzini mljevenja od 500 o/min pokazuju slično ponašanje. Poslije ispiranja uzoraka i nakon 2 sata sinteze u seriji s dodatkom vode, uočavaju se intenzivnije vrpce u području O-H istezanja te oštrije vrpce na približno 1618 $cm^{-1}$ i 1317 $cm^{-1}$ bez pojave vrpci nitrata. Pri brzini mljevenja od 750 o/min, oštrije vrpce COM uočavaju se čak i nakon 1 sata sinteze, dok se produkt visoke čistoće može dobiti i prije ispiranja uzorka i nakon 2 sata sinteze u seriji s dodatkom vode.

*Tablica 4* – Rezultati termogravimetrijske analize uzoraka ($t_0$ – početna temperature razgradnje, $t_{max}$ – temperatura pri maksimalnoj brzini razgradnje, $t_e$ – temperatura kraja razgradnje, $\Delta m$ – gubitak mase)

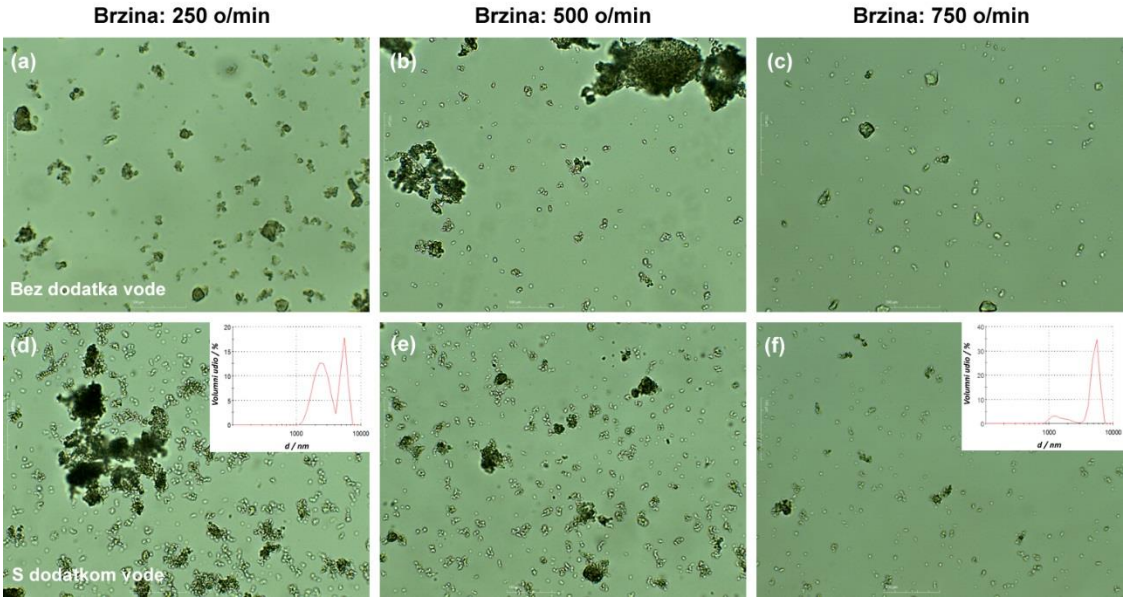
*Table 4* - Results of the thermogravimetric analysis of the sample ($t_0$ - initial degradation temperature, $t_{max}$ - temperature of maximum degradation rate, $t_e$ - end of degradation temperature, $\Delta m$ - loss of mass)

| | | **Brzina mljevenja Grinding speed** | $t_0$ / °C | $t_{max}$ / °C | $t_e$ / °C | $\Delta m$ / mg | $\Delta m$ / % |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Poslije ispiranja uzoraka After sample washing | S dodatkom vode With addition of water | 250 | 77,44 | 166,45 | 241,38 | 2,65 | 12,43 |
| | | 500 | 76,09 | 170,61 | 242,99 | 2,77 | 11,78 |
| | | 750 | 77,58 | 171,22 | 242,99 | 2,84 | 11,76 |
| | Bez dodatka vode Without addition of water | 250 | 77,73 | 158,91 | 241,55 | 1,94 | 8,25 |
| | | 500 | 78,79 | 169,48 | 243,30 | 2,77 | 11,77 |
| | | 750 | 77,26 | 167,64 | 243,66 | 2,62 | 11,81 |

Isprani i osušeni uzorci obje serije nakon 2 sata sinteze i pri svim primijenjenim brzinama mljevenja analizirani su termogravimetrijskom analizom (tablica 4) kako bi se utvrdio kvantitativni sastav pojedinog uzorka. Rezultati ukazuju na prisutnost COM. U sintezi kalcijeva oksalata s nitratom uočen je najmanji gubitak mase pri brzini od 250 o/min u odnosu na prethodne sinteze što bi moglo ukazivati na veće zaostajanje reaktanta u uzorku. Prosječno odstupanje iznosi 1,52 i varijabilitet je nizak (13,42 %).

Snimke dobivene svjetlosnom mikroskopijom i raspodjele veličine čestica sintetiziranih uzoraka s polaznim reaktantom kalcijeva nitrata prikazane su na slici 8. U seriji sinteza bez dodatka vode i pri najmanjoj brzini od 250 o/min uočavaju se nešto veće čestice u odnosu na čestice dobivene pri brzini mljevenja od 500 o/min, dok se puno manje čestice uočavaju pri

brzini od 750 o/min. Slično ponašanje vidljivo je i s dodatkom vode, dok se u ovoj seriji sinteze uočavaju i agregati čestica. Morfologiju kristala niti u jednom slučaju nije moguće odrediti zbog manjih veličina čestica.




*Slika 8* - Snimke svjetlosne mikroskopije kristala hidrata kalcijeva oksalata u obje serije sinteze (s dodatkom i bez dodatka vode) i pri svim brzinama mljevenja. Umetak: raspodjela veličine čestica (d) i (f)

*Fig. 8* - Calcium oxalate crystals light microscopy images in both synthesis series (with and without addition of water) at all milling speeds. Inset: particle size distribution (d) and (f)

DLS metodom je utvrđena bimodalna i šira raspodjela veličina čestica pri obje brzine mljevenja uz moguću prisutnost agregata što se vidi i mikroskopskom analizom (slika 8, umetci (d) i (f)). Izmjerene srednja vrijednost promjera čestica pri brzini 250 o/min je $d$ = 2246,5 ± 607,48 nm i pri 750 o/min iznosi $d$ = 1589,5 ± 149,92 nm. Drugi maksimum (bez vidljive granice s prvim maksimumom pri najmanjoj brzini), kao i u dosadašnjim analizama vjerojatno označava agregirane čestice koje nisu u potpunosti dispergirane ($d$ (250 o/min) = 5442,0 nm, $d$ (750 o/min ) = 4866,5 nm).

## 4. Zaključak

Mehanokemijskom sintezom kalcijeva oksalata iz tri soli kalcija (klorid, sulfat i nitrat) s natrijevim oksalatom uspješno je sintetiziran kalcijev oksalat monohidrat (COM). Pri najmanjoj brzini (250 o/min) željeni produkt veće čistoće pojavljuje se nakon 2 sata sinteze ili nakon ispiranja uzorka, dok pri najvećoj brzini mljevenja (750 o/min), neovisno o polaznom reaktantu produkt nastaje već nakon 1 sata sinteze. Produkt najveće čistoće, čak i pri najmanjoj brzini

mljevenja, dobiven je s polaznim reaktantom kalcijeva klorida, dok je najveće zaostajanje polaznog reaktanta uočeno u sintezi s kalcijevim nitratom. Nadalje, FTIR rezultate slijede i rezultati termogravimetrijske analize koji potvrđuju jednu, najstabilniju hidratnu fazu kalcijeva oksalata u svim uzorcima. Analiza mikroskopskih snimki nije dala informaciju o morfologiji kristala, dok raspodjela veličina čestica upućuje na nastajanje sustava s vidljive dvije populacije. U svim primjerima uočeno je da se povećanjem brzine mljevenja smanjuje veličina čestica. Pojava se može objasniti činjenicom da se uspostavljanjem visokoenergetskog stanja sustava uslijed rotacija i vibracija komponenti mlina, dolazi do udaranja kuglica visokih energija ovisnih o brzini mljevenja kojim se pospješuje mehanokemijski procesi usitnjavanja.

## Popis kratica i simbola
## List of abbreviations and symbols

| | | |
|---|---|---|
| COM | - | Kalcijev oksalat monohidrat |
| | - | Calcium oxalate monohydrate |
| COD | - | Kalcijev oksalat dihidrat |
| | - | Calcium oxalate dihydrate |
| COT | - | Kalcijev oksalat trihidrat |
| | - | Calcium oxalate trihydrate |
| DLS | - | Dinamičko raspršenje svjetlosti |
| | - | Dynamic light scattering |
| $t_e$ | - | Temperatura kraja razgradnje |
| | - | End of degradation temperature |
| $t_0$ | - | Početna temperatura razgradnje |
| | - | Initial degradation temperature |
| $t_{max}$ | - | Temperatura pri maksimalnoj brzini razgradnje |
| | - | Temperature of maximum degradation rate |
| o/min | - | Broj okretaja u minuti |
| rpm | - | Revolutions per minute |
| $\Delta m$ | - | gubitak mase uzorka |
| | - | the mass loss of sample |

## Literatura/References

1. K. P. Aggarwal, S. Narula, M. Kakkar, C. Tandonm, C., Nephrolithiasis: Molecular Mechanism of Renal Stone Formation and the Critical Role Played by Modulators, Biomed. Res. Int. **2013** (2013) 1 - 21, doi: https://doi.org/10.1155/2013/292953.
2. A. S. Bramley, M. J. Hounslow and R. L. Ryall, Aggregation during Precipitation from Solution. Kinetics for Calcium Oxalate Monohydrate, Chem. Engng. Sci. 52 (1997) 747-757, doi: https://doi.org/10.1016/S0009-2509(96)00447-2.
3. Lj. Brečević, D. Kralj, The influence of some amino acids on calcium oxalate dihydrate transformation, J. Cryst. Growth **79** (1986) 178-184, doi: https://doi.org/10.1016/0022-0248(86)90433-1.
4. Lj. Brečević, D. Kralj, J. Garside, Factors influencing the distribution of hydrates in calcium oxalate precipitation, J. Cryst. Growth **97** (1989) 460-468, doi: https://doi.org/10.1016/0022-0248(89)90227-3.
5. P. Brown, D. Ackermann, B. Finlayson, Calcium oxalate dihydrate (weddellite) precipitation, J. Cryst. Growth **98** (1989) 285-292, doi: https://doi.org/10.1016/0022-0248(89)90143-7.

6. D. Škrtić, M. Marković, Lj. Komunjer, H. Füredi-Milhofer, Precipitation of calcium oxalates from high ionic strength solutions: I. Kinetics of spontaneous precipitation of calcium oxalate trihydrate, J. Cryst. Growth **66** (1984) 431-440, doi: https://doi.org/10.1016/0022-0248(84)90227-6.
7. D. Škrtić, H. Füredi-Milhofer, M. Marković, Precipitation of calcium oxalates from high ionic strength solutions: V. The influence of precipitation conditions and some additives on the nucleating phase, J. Cryst. Growth 80 (1987) 113-120, doi: https://doi.org/10.1016/0022-0248(87)90530-6.
8. B. B. Tomažić, G. H. Nancollas, The dissolution of calcium oxalate kidney stones. A kinetic study. J. Urol. **128** (1982) 205-208, doi: https://doi.org/10.1016/S0022-5347(17)52819-0.
9. A. Šter, S. Šafranko, K. Bilić, B. Marković, D. Kralj, The effect of hydrodynamic and thermodynamic factors and the addition of citric acid on the precipitation of calcium oxalate dehydrate, Urolithiasis (2017) on line, doi: https://doi.org/10.1007/s00240-017-0991-0.
10. X.-Y. Sun, J.-M. Ouyang, M. Xu, Synthesis, characterization, and cytotoxicity assay of calcium oxalate dihydrate crystals in various shapes, CrystEngComm **18** (2016) 5463-5473, doi: https://doi.org/10.1039/C6CE00697C.
11. B. Grohe, S. Hug, A. Langdon, J. Jalkanen, K. A. Rogers, H. A. Goldberg, M. Karttunen , G. K. Hunter, Mimicking the biomolecular control of calcium oxalate monohydrate crystal growth: effect of contiguous glutamic acids, Langmuir **28** (2012) 12182-12190, doi: https://doi.org/10.1021/la3018985.
12. W. L. Suchaneka, P. Shuka, K. Byrappaa, R. E. Rimana, K. S. TenHuisenb, V. F. Janasb, Mechanochemical–hydrothermal synthesis of carbonated apatite powders at room temperature, Biomaterials **23** (2002) 699-710, doi: https://doi.org/10.1021/la3018985.
13. T. Tsuzuki, K. Pethick, P. G. McCormick, Synthesis of $CaCO_3$ Nanoparticles by Mechanochemical Processing, Journal of Nanoparticle Research **2** (2000) 375-380, doi: https://doi.org/10.1023/A:101005150.
14. J. Kaloustian, T. F. El-Moselhy, H. Portugal, Determination of calcium oxalate (mono- and dihydrate) in mixtures with magnesium ammonium phosphate or uric acid: the use of simultaneous thermal analysis in urinary calculi, Clin. Chim. Acta **334** (2003) 117-129, doi: https://doi.org/10.1016/S0009-8981(03)00228-6
15. T. Echigo, M. Kimata, A. Kyono, M. Shmizu, T. Hatta, Re-investigation of the crystal structure of whewellite [$Ca(C_2O_4)\cdot H_2O$] and the dehydration mechanism of caoxite [$Ca(C_2O_4)\cdot 3H_2O$], Mineral. Mag. **69** (2005) 77-88, doi: https://doi.org/10.1180/0026461056910235.
16. M. Berenyi i G. Liptay, The use of thermal analysis in medical science with special reference to nephroliths, J. Thermal. Anal. **3** (1971) 437-443, doi: https://doi.org/10.1007/BF02188652.
17. F. GrasesA. MillanA. Conte, Production of calcium oxalate monohydrate, dihydrate or trihydrate, Urol. Res. 18 (1990) 17-20, doi: https://doi.org/10.1007/BF00294575.
18. W. O. S. Doherty, O. L. Crees, E. Senogles, The preparation of calcium oxalate dihydrate crystals, Cryst. Res. Technol. 29 (1994) 517-524, doi:https://doi.org/10.1002/crat.2170290412
19. A. Periasamy, S.Muruganand, M.Palaniswamy, Vibrationl studies of $Na_2SO_4$, $K_2SO_4$, $NaHSO_4$ and $KHSO_4$ crystals, J. Chem. **2** (2009) 981-989, ISSN: 0974-1496.
20. R. Frost, K. Erickson, T. Kloprogge, Vibrational spectroscopic study of the nitrate containing hydrotalcite Mbobomkulite, Spectrochimica Acta *Part A* 61 (2005) 2919-2925, doi: https://doi.org/10.1016/j.saa.2004.11.002.