Mehanokemijska sinteza kalcijeva oksalata iz kalcijeva nitrata

Goman, Dominik

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:182:499981

Rights / Prava: In copyright / Zaštićeno autorskim pravom.

Download date / Datum preuzimanja: **2024-03-29**

Repository / Repozitorij:

Repository of the Department of Chemistry, Osijek



SVEUČILIŠTE JOSIPA JURJA STROSSMAYERA U OSIJEKU

ODJEL ZA KEMIJU

Dominik Goman

Mehanokemijska sinteza kalcijeva oksalata iz kalcijeva nitrata

ZAVRŠNI RAD

Mentor: izv. prof. dr. sc. Igor Đerđ

Neposredna voditeljica: dr. sc. Anamarija Stanković, asistent

Osijek, 2018.

SAŽETAK

Ovim istraživanjem je prikazana mehanokemijska sinteza kalcijeva oksalata, bez i uz prisutnost otapala (vode), u planetarnom kugličnom mlinu. Sva istraživanja do sada su ponajviše bila usmjerena na sintezu kalcijeva oksalata otopinskom kemijom. Ovim radom nastojalo se opisati drugačiji pristup, kako bi se pridonijelo novim saznanjima o sintezi kalcijeva oksalata, ekološki osvještenijom, mehanokemijskom metodom. Konačni cilj istraživanja jest sinteza, karakterizacija te identifikacija pojedine hidratne faze, dobivene reakcijom kalcijeva nitrata tetrahidrata i natrijeva oksalata. Reakcija je praćena u ovisnosti o vremenu reakcije i brzini mljevenja. Strukturna i termička svojstva uzoraka ispitana su FT-IR spektroskopijom i termogravimetrijskom analizom (TGA). Morfološke osobine kalcijeva oksalata, kao i klasifikacija veličine čestica, određene su optičkom mikroskopijom i metodom dinamičkog raspršenja svjetlosti (DLS).

ABSTRACT

The study presents the mechanochemical synthesis of calcium oxalate, without and in the presence of solvents, in a planetary ball mill. All studies so far have focused mainly on the synthesis of calcium oxalate using solution chemistry. In this paper, we described a different approach that could contribute to new findings in the field of calcium oxalate synthesis using mechanochemical approach. The ultimate goal of the research is synthesis, as well as structural characterization and identification of individual oxalate hydrate phase, gained by the synthesis of calcium salts (of the chlorides, nitrates and sulphates). The reaction is monitored depending on the duration of the synthesis, to determine if the effect of the milling velocity on the reaction exists. Structural and thermal properties of the sample were tested by FTIR spectroscopy and thermogravimetric analysis (TGA). Morphological properties of calcium oxalate as well as particle size distribution are gained by optical microscopy and dynamic light scattering (DLS).

Sadržaj

1. UVOD 5

2. LITERATURNI DIO 6

2.1. Biomineralizacija 6

2.2. Urolitijaza 7

2.3. Bubrežni kamenac 8

2.3.1. Kalcijevi oksalati 9

2.4. Stvaranje kalcijevih oksalata u ljudskom organizmu 10

2.5. Sinteza kalcijevih oksalata u laboratoriju 11

2.5.1. Otopinska kemija 11

2.5.2. Mehanokemijska sinteza 12

2.5.3. Planetarni kuglični mlin 14

2.6. Metode identifikacije 15

2.6.1. Infracrvena spektroskopija 15

2.6.2. Termogravimetrijska analiza 17

2.6.3. Metoda dinamičkog raspršenja svjetlosti 19

2.3.4. Optička mikroskopija 20

3. EKSPERIMENTALNI DIO 21

3.1. Pribor i aparatura 21

3.2. Popis kemikalija 22

3.3. Karakterizacija kristalnog sjemena 22

3.3.1. FT-IR spektrometrija 22

3.3.2. Termogravimetrijska metoda 23

3.3.3. Metoda dinamičkog raspršenja svjetlosti (DLS) 23

3.3.4. Optička mikroskopija 23

3.3.5. Analitičko određivanje nitrata 23

3.4. Sinteza kristalnog sjemena 24

4. REZULTATI I RASPRAVA 26

4.1. Sinteza kalcijeva oksalata pri 250 okr/min 26

4.2. Sinteza kalcijeva oksalata pri 500 okr/min 27

4.3. Sinteza kalcijeva oksalata pri 750 okr/min 28

5. ZAKLJUČAK 33

6. LITERATURA 34

7. PRILOG 38

1. UVOD

Prisutnost kamenca u mokraćnom sustavu, ili tzv. urolitijaza, jedan je od najčešćih poremećaja urinarnog trakta današnjice. Učestalost te pojave prema zadnjim epidemiološkim podacima bilježi veliki porast. Poremećaj se pretežno javlja u razvijenim zemljama, koje svoj BDP zasnivaju na industriji, te također kao posljedica ubrzanog i modernog načina života. Ovisno o kemijskom sastavu urina, pH vrijednosti, ionskoj jakosti, prezasićenosti, ili pak sastavnicama koje mogu poticati i/ili inhibirati proces, čimbenici su koji uvelike utječu na stvaranje bubrežnih kamenaca.[1] Najveći udio u sastavu bubrežnih kamenaca čine kalcijevi oksalati, dok se i u manjim postotcima mogu pronaći i različite soli poput fosfata, urata, karbonata.

Kalcijevi oksalati kristaliziraju u tri hidratna oblika: termodinamički stabilan kalcijev oksalat monohidrat ($CaC_2O_4 \cdot 2H_2O$, COM)[2,3], metastabilan kalcijev oksalat dihidrat ($CaC_2O_4 \cdot 2H_2O$, COD)[4,5] te metastabilan kalcijev oksalat trihidrat ($CaC_2O_4 \cdot 2H_2O$, COT)[6,7]. COM i COD se najčešće pronalaze u sastavu bubrežnih kamenaca, dok je COT rijetko prisutan. Najveći naglasak studije o kalcijevim oksalatima pridodaju se proučavanju COM, uglavnom zbog njegove patogenosti. Istraživanja provođena na kalcijevim oksalatima pretežno su temeljena na sintezi u otopinama.[6]

Sinteze u čvrstom stanju, kojima se u sustav dovodi mehanička energija, nazivaju se mehanokemijske sinteze. Mehanička energija djeluje kao pokretačka sila kemijskih reakcija, koja istovremeno dovodi do povećanog dodira među česticama, pobuđivanja lokalnih reakcijskih mjesta, te povećanja specifične površine tijela tijekom uspostavljanja visokoenergetskog stanja. Navedena metoda sadrži mnoge prednosti poput: omogućavanja sinteze u odsutnosti otapala (ili uz vrlo male količine) koje ju čine bržom, izbjegavanja solvatacijskog efekta, a kao ponajveću prednost čini njezina ekološka prihvatljivost. Karakteristično za produkte takve sinteze jest vrlo mala veličina čestica, od nekoliko nanometara do nekoliko mikrometara, kao i postizanje homogene raspodjele.[8]

Cilj ovoga rada je mehanokemijskom sintezom, iz kalcijeva nitrata i natrijeva oksalata, bez i uz dodatkak male količine vode, sintetizirati najstabilniju hidratnu fazu, kalcijev oksalat monohidrat.

2. LITERATURNI DIO

2.1. Biomineralizacija

Biomineralizacija je složen biokemijski proces koji rezultira nastankom anorgansko-organskih biominerala, a izgrađuju ih živi organizmi. Tako nastale strukture odgovaraju mineralima po kemijskom sastavu i kristalnoj strukturi. Biominerali najčešće dolaze u obliku soli i to ponajviše kalcijevih karbonata ili fosfata, te se uz njih još dodatno ističu soli barija, stroncija i silikata, a ukupno je poznato više od 60 biominerala.[9] Cjelokupni živi svijet ih koristi u biološkoj primjeni, odnosno u svrhu izgradnje zubi, kostiju, životinjskih oklopa. Biomineralizacija uveliko doprinosi i u postizanju novih saznanja, ali isto tako povezuje i mnoge grane različitih znanosti.

Odvijanje procesa biomineralizacije moguće je na nekoliko različitih mjesta pa se stoga dijeli na[10]:

- Ekstracelularni proces – izvan stanice, na površini ili unutar netopljive makromolekulske stanice;
- Intercelularni proces – u prostoru između gusto složenih stanica;
- Epicelularni proces – na stjenkama stanice;
- Intracelularni proces – u ograđenom prostoru.

Ekstracelularna i intracelularna mjesta omogućavaju biološki kontroliranu mineralizaciju.

Poznato je da je biomineralizacija složen proces u kojemu se odvija interakcija između organske komponente (matriksa), te anorganske tvari (npr. Ca^{2+}). Krucijalnu gradivnu jedinicu matrice čine biopolimeri, odnosno polisaharidi, proteini te fosfolipidi, jer se u uzorku nalaze u manjem udjelu, ali ipak poboljšavaju svojstva i čvrstoću materijala. Upravo navedene sastavnice imaju mogućnost utjecaja na rast, sastav, oblik, fazu, orijentaciju i teksturu samoga kristala. U podjeli prema topljivosti bioloških makromolekula od kojih je sačinjen organski dio, razlikujemo: topljivu (proteini) i netopljivu (polisaharidi) organsku matricu.[11]

S obzirom na prethodno navedenu podjelu, vrlo jasno se da zaključiti da postoje hidrofobni i hidrofilni dijelovi koji su centri velikoga lokalnog naboja. Takva mjesta omogućavaju odvijanje dipolne, vodikove ili čak elektrostatske vezne interakcije za vrijeme procesa nukleacije, dok su

ionske interakcije između anorganske i organske komponente opisane predloženim mehanizmom.[9]

Hidrofilne jedinice organskog dijela biominerala potiču interakacije s ionima, koji će rezultirati nastankom čvrste strukture određene orijentacije. Hidrofobni matriks ujedno je i temelj u izgradnji rasta kristala, koji zajedno u suradnji s topljivim dijelom ima sposobnost regulacije rasta biominerala.

Nažalost, istim mehanizmom mogu nastati i nepoželjni biominerali poput bubrežnih kamenaca, karijesa i aterosklerotičnih plakova procesom patološke biomineralizacije.[12] U pojedinim slučajevima taloženje može biti potaknuto pojedinim sastavnicama urina kao što su aminokiseline i proteini (organski promotori).

2.2. Urolitijaza

Proces nakupljanja čvrstih kristaličnih tvari u mokraćnom mjehuru ili bubrezima, čiji je krajnji produkt nastajanje kamenca, naziva se urolitijaza.[13] Prema podacima, bolest je učestalija kod muškaraca, nego kod žena. U većini slučajeva javlja se u obliku recidivirajuće bolesti procesom patološke biomineralizacije (odvija se po jednakom principu kao i kalcifikacija). Ponovno nastajanje kamenca ovisi o ekološkim, nutritivnim i genetičkim čimbenicima.

Prezasićenje urina i/ili prisutnost visoke koncentracije mokraćne kiseline smatraju se jednim od promotora urolitijaze.[1] Hrana bogata purinom (purin; heterociklički aromatski organski spoj koji predstavlja skupinu gradivnih jedinica DNA i RNA) glavni je uzrok visoke koncentracije mokraćne kiseline, što je i dokazano biokemijskim procesom razgradnje purina na krajnji produkt, mokraćnu kiselinu, odnosno urate.[14] Prezasićene otopine prelaze u nestabilno stanje koja u reakciji s drugim faktorima uzrokuju taloženje soli.

Oštećeni površinski sloj bubrežnih stjenki pruža vezno mjesto potrebno za agregaciju bubrežnih kamenaca, određene veličine i oblika, koji su nastali ponajprije interakcijom kristala kalcijevih oksalata i bubrežnog tkiva. Oštećenja tkiva nastaju uslijed promjene položaja bubrežnog kamenca.

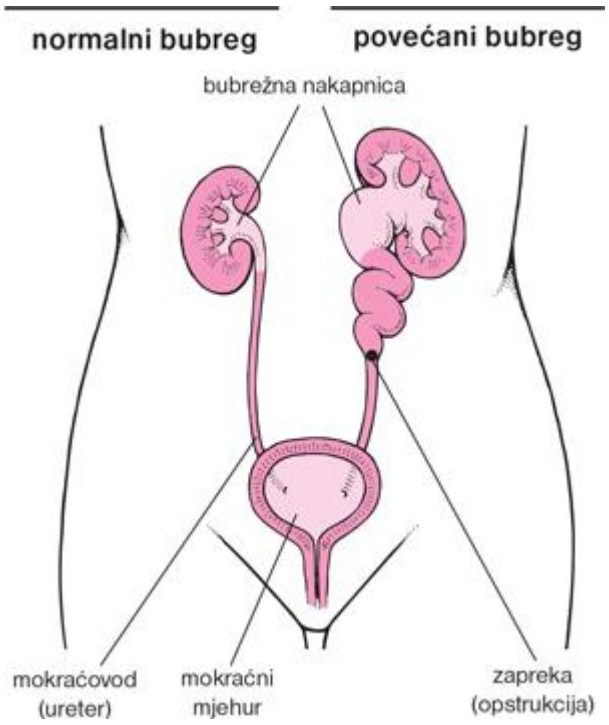
Razlog više za taloženje kristala je i nedostatak inhibitora. Magnezijevi, citratni ili pirofosfatni ioni predstavljaju skupinu inhibitora koji pomoću organske matrice stvaraju predložak za rast

kristala.[15] Aglomeracija, nukleacija od sastavnih jedinica, i rast, tri su međusobno povezana koraka koja opisuju nastanak kristala.

Pravilan životni stil i kontrolirana prehrana pomažu u prevenciji urolitijaze. Također je poželjan smanjeni unos natrijeva klorida jer njegovo neoprezno konzumiranje potiče prekomjerno izlučivanje kalcija, a smanjeno oksalata. Zasićenost urina se smanjuje hidratacijom i ograničenim unosom hrane bogatom purinom.

2.3. Bubrežni kamenac

Razvoj industrije i gradova ubrzalo je način života stanovništva i samim time uskratilo vrijeme čovjeku da se kvalitetno posveti sebi, što se očitovalo i kroz prehranu. Hrana bogata purinom poput plave ribe, iznutrica, suhomesnatih proizvoda jedan je od glavnih razloga, uz druge čimbenike, nastanku bubrežnih kamenaca. Neistraženost takvog tipa bolesti potaknulo je znanstvenike na istraživanja, čiji su rezultati pokazali kako se radi o složenom procesu i da su kalcijevi oksalati glavni konstituenti bubrežnih kamenaca. Bubrežni kamenci nastaju na unutrašnjoj površini bubrega, a njihovo odvajanje i putovanje mokraćovodom uzrokuje oštećenje tkiva i oštru bol sve do donjeg dijela abdomena.[13] Sudbina kamenca određena je veličinom odnosno promjerom kristala pa će tako kristali manji od 5 mm biti iz tijela izlučeni mokraćom, dok će za kristale promjera 5-7 mm vjerojatnost za takvim načinom uklanjanja biti upola manja.[15] Medicinska pomoć ili operativni zahvat biti će potreban za kamence promjera većih od 7 mm[15] i takav tip najčešće uzrokuje zastoj u mokraćovodu, što će za posljedicu imati retenciju urina, odnosno blokadu protoka urina te će sve skupa na kraju rezultirati hidronefrozom (**Slika 1**). Hidronefroza[16] je pojava proširenja kanalnog sustava bubrega do kojeg dolazi uslijed nakupljanja mokraće kao posljedice povratnog pritiska na bubreg. U zdravih osoba mokraća otječe pod niskim tlakom, no u slučaju začepljena mokraća se počinje nakupljati u kanalićima bubrega, zvanim tubulima i središnjem dijelu što uzrokuje proširenje bubrega i pritisak na tkivo te će tako dovesti do njegove smanjene aktivnosti i oštećenja organa.



Slika 1. Hidronefroza uzrokovana pokretanjem i retencijom kamenca.[17]

Kako bi se izbjegao operativni zahvat kamenac iz urinarnog trakta se uklanja perkutanom nefrilitomijom (metoda razbijanja kamenca), uretroskopijom te novijom tehnologijom, primjerice šok valovima – litotripsija (razbijanje kamena).

Istraživanja su dokazala kako oksalati ili fosfati u reakciji s kalcijevim solima daju najveći udio kamenaca. Općenito kamenci su smjesa već spomenutih fosfata i oksalata zajedno s mokraćnom kiselinom.

2.3.1. Kalcijevi oksalati

Kalcijevi oksalati su netopljivi minerali široko rasprostranjeni na Zemlji, a osim patogene aktivnosti imaju ulogu održavanja homeostaze kalcija i zaštite biljaka.[18]

U prirodi se mogu pronaći tri hidratna oblika kalcijevih oksalata: termodinamički stabilan kalcijev oksalat monohidrat (COM, $CaC_2O_4 \cdot H_2O$, vevelit)[2,3], metastabilan dihidrat (COD, $CaC_2O_4 \cdot 2H_2O$, vedelit)[4,5] i također metastabilni trihidrat (COT, $CaC_2O_4 \cdot 3H_2O$)[6,7].

COM kristalizira u dvije monoklinske strukture[19]: osnovnoj, koja je stabilna iznad 45°C i strukturi stabilnoj ispod 45°C. Dehidratacijom dihidrata (COD) u monohidrat može nastati i treća, tj. ortorombska struktura. Omjer količine kristalnog sjemena i ukupne površine kristala određuje brzinu rasta COM u uvjetima spontanog taloženja na kristalnom sjemenu.

Kalcijev oksalat dihidrat (COD) kristalizira u tetragonskom sustavu.[19] Dihidrat koji nastaje u vodenoj otopini stvara tetragonsku bipiramidu i tetragonsku prizmu. Kinetika COD povezuje se transformacijom odnosno dehidratacijom u termodinamički stabilni COM. Brzina taloženja slabo je istražena zbog ograničenih eksperimentalnih uvjeta te je brzina rasta COD u odnosu na COM znatno manja.

Kalcijev oksalat trihidrat (COT) kristalizira u triklinskom sustavu.[19] Kinetika kristalnog rasta određena je površinskim procesima te se porastom temperature može ubrzati proces direktnog prijelaza COT u COM. Transformacija se odvija bez dobivanja dihidrata kao međuprodukta.[6]

2.4. Stvaranje kalcijevih oksalata u ljudskom organizmu

Stvaranje urina odvija se u funkcionalnoj jedinici bubrega zvanoj nefron.[20] Urin kao konačni produkt nastaje filtracijom i reapsorpcijom vode te niskomolekularnih tvari na kraju neforna. Specifični uvjeti pružaju mogućnost nastanaka slabo topljivih spojeva koji nastaju kombinacijom pojedinih iona s oksalatnim, fosfatnim ili uratnim ionima. Anorganski i organski ioni urina među kojima se posebice ističu ioni urata, citrata, bikarbonata, oksalata, kalcija, klorida, natrija, fosfata i magnezija utječu na prosječnu ionsku jakost urina koja iznosi 0,33 mol/L, dok se pH vrijednost kreće između 4,5 i 7,5 ovisno o njegovom sastavu.[20]

COM nužno prati prezasićenost u urinu, jer su kalcijevi i oksalatni ioni prisutni u koncentracijama iznad produkta topljivosti. Takvo stanje nije dovoljno kako bi se potaknula homogena nukleacija njegovih kristala. Osim navedenih sastavnica, urin još sadrži i prirodne inhibitore. Zaštitni sloj koji izgrađuju glikozaminoglukani, a unutrašnjoj površini bubrega, uspješno hidratizira površinu te sprječava prihvaćanje bakterija na stanice površinskog sloja. Stvaranje kristala biti će omogućeno zahvaljujući visokoj koncentraciji pojedinih iona koji uklanjaju zaštitni sloj.[21]

Promjena ionske ravnoteže također može inicirati taloženje kristala, dok bubrežni kamenci nastaju od produkata metabolizma. Koncentracija kalcijevih oksalata u normalnom urinu je četiri puta viša od njegove topljivosti.[22] Osim pojačanim izlučivanjem iona kalcija i oksalatnog aniona, ionski sastav urina se može uravnotežiti i promjenom pH vrijednosti. Povećanje prezasićenosti s obzirom na kalcijev fosfat izazvano je promjenom pH vrijednosti iznad 6,5 koja dovodi do povećanih količina dvovalentnih i trovalentnih iona.

Heterogena nukleacija započinje na već postojećoj podlozi iz vlastite čvrste faze kada prezasićenost otopine doseže 7-11 puta veću vrijednost od konstante produkta topljivosti. Prvi kristalići (nukleusi) se deponiraju u papile u kojima se odvija druga faza, rast kristala. Sitni kamenci nastali posljednom fazom, agregacijom, zaustavljaju se na bubregu i nastavljaju svoj rast. Posljedica dugotrajnog rasta, odvajanja i putovanje kamenca mokraćovodom neizbježno završava hidronefrozom.

2.5. Sinteza kalcijevih oksalata u laboratoriju

Sinteze u laboratorijima su ponajviše usmjerene na otopinsku kemiju, dok će se u ovome radu usmjeriti na mehanokemijsku sintezu.

Kalcijevi oksalati u laboratorijskim uvjetima mogu se sintetizirati kombinacijom kalcijevih soli s natrijevom oksalatom. Poznati su kalcij klorid, kalcij sulfat i kalcij nitrat.

2.5.1. Otopinska kemija

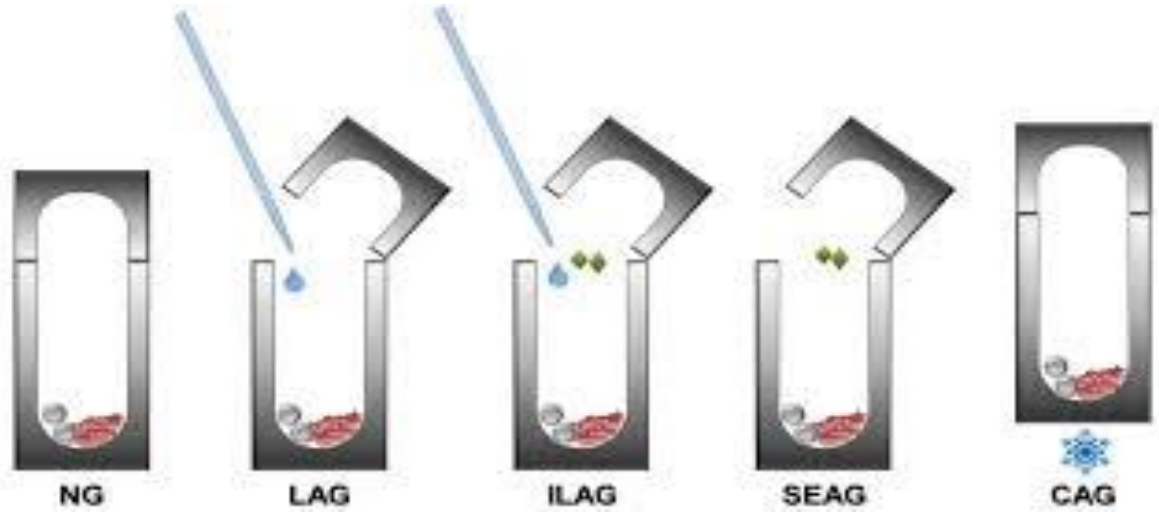
Otopinska kemija već dugi niz godina glavni je način sinteze nebrojenih spojeva. Njezina prednost se ističe u kontroli mnogobrojnih uvjeta koji omogućavaju razne varijacije u sintezama. Pojedini radovi koji su se bavili morfologijom kristala kalcijeva oksalata promatrali su utjecaj pufera, temperature[5], pH, molarne koncentracije, brzinu miješanja te vrijeme inkubacije.[23] Prisutnost pufera u otopini potiče agregaciju i rast COM kristala dok pH veći od 5,0 utječe na njegovu prisutnost. Miješanjem prezasićenih otopina pomoću magnetske miješalice rezultiralo je smanjenjem kristala svih kristalnih faza, odnosno većom brzinom miješanja nastali su manji kristali. Konačno je utvrđeno da je kristalizacija kalcijeva oksalata učinkovitija pri 4 ˚C, nego na promatranih 25 ˚C i 37 ˚C.[23] Ekološki i sigurnosni problemi koji se neizbježno postavljaju kada je riječ o ljudskome zdravlju i okolišu potaknulo je znanstvenike na potragu za

alternativnim metodama sinteze. Savjesno i odgovorno zbrinjavanje nastalog otpada uzrokuje visoke novčane troškove. Svi negativni čimbenici otopinske kemije utjecali su i kasnije rezultirali mehanokemijom, energetski učinkovitom metodom koja omogućava istraživanja bez upotrebe skupocjenih i opasnih otapala.[24]

2.5.2. Mehanokemijska sinteza

Mehanokemija kao grana kemije čvrstoga stanja, bavi se procesima nastajanja produkata u obliku krutina uslijed primjene mehaničke energije. Glavni problem kemije takvoga tipa jest odnos između reaktivnosti i strukture reaktanata koji se rješava uz pomoć uređaja za intenzivno mljevenje. Upotrebom rotacijskog mlina i mehaničke sile, supstance u čvrstome stanju međusobno reagiraju i daju konačni produkt.[25]

Koncept mehanokemije nije u potpunosti razjašnjen, no jasno je kako ima visok potencijal u širokoj primjeni. Navedena metoda pronalazi primjenu i u novom području kemije, supramolekulskoj kemiji. Supramolekulska kemija je kemija međumolekulskih veza, ona obuhvaća strukture i uloge entiteta (odnosno molekulskih nakupina) dobivenih udruživanjem dviju ili više kemijskih vrsta.[26] Srodnost ta dva područja vidljiva je iz pojedinih zajedničkih načela poput molekulskog prepoznavanja, strukturnih učinaka predložaka i samoodržavanja. Posljednja dva načela opisuju proces u kojemu dva ili više spoja stupaju u međusobnu interakciju kroz različite međumolekulske veze čime nastaju velike molekulske nakupine ili tzv. „supermolekule“.[26] Tri glavna procesa mehanokemije su: jednomolekulska manipulacija, sonokemijske reakcije i mljevenje koje je široko rasprostranjeno i najčešće korišteno. Čvrsti reaktanti se usitnjavaju i miješaju ručno ili strojno te se na taj način reaktantima povećava dodirna površina i osigurava energija potrebna molekulama za gibanje. Postupkom se osim navedenog uklanjaju i površinski produkti što omogućava daljnju reakciju.[27] Mljevenje svoju primjenu pronalazi u organometalnim sintezama, organskoj kemiji te u obradi metalo-organskih materijala.[26] Primjena mehanokemije u svrhu redukcije cinbarita uz dodatak octa, procesom mljevenja, opisana je u spisima koji datiraju iz 4. stoljeća prije Krista. Tim načinom utemeljena je LAG metoda (eng. *Liquid assisted grinding*), odnosno tekućinom potpomognuto mljevenje. Osim LAG metode postoje i suho mljevenje (eng. *Neat grinding*, NG), mljevenje potpomognuto ionima i tekućinom (eng. *Ion-liquid assisted grinding*, ILAG) te mljevenje taljevine (eng. *Grinding annealing*, GA).



Slika 2. Shematski prikaz mogućih metoda mehanokemijske sinteze[28]

Sinteze ovoga istraživanja izvedene su pomoću dvije rekacijske posude, od kojih je u jednu dodana određena količina ultra čiste vode (5 mL). Takav pristup značio je da će se u daljnjemu radu koristiti LAG i NG metode mehanokemijske sinteze.

Najjednostavnija vrsta mljevenja jest suho mljevenje, NG metoda, koja se provodi bez prisutnosti otapala. Mljevenje se može izvesti u tarioniku s tučkom, rukom ili strojno (primjerice uz pomoć kugličnog ili vibracijskog mlina) u suhim uvjetima.[27]

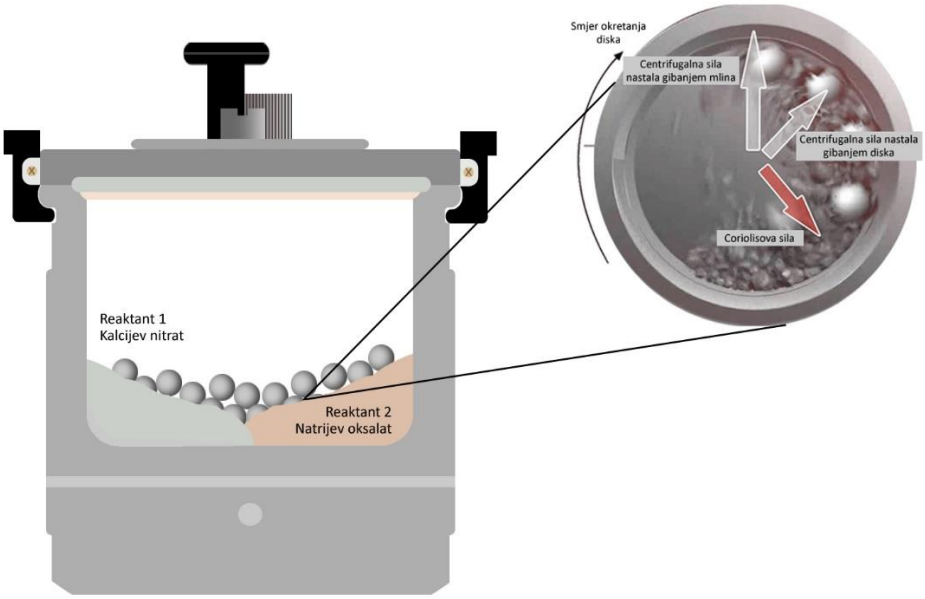
Iznimna učinkovitost LAG metode, u odnosu na suho mljevenje, ubrzala je razvoj mehanokemijske sinteze. Njezina uspješnost je vidljiva u procesu kristalizacije iz otopine ili taljevine. Ključna je katalitička količina otapala za koju se smatra kako ima dvostruko značenje. Najprije ono stvara sloj otapala na površini čestica reakcijske smjese koji olakšava prijanjanje čestica i difuzije molekula reaktanata. Osim toga otapalo ima i katalitičku ulogu koja ovisi, naravno i o vrsti te svojstvima samog otapala.[27] Promjena topljivosti ne utječe značajno na samo iskorištenje reakcije. Razlog zašto ono ne utječe je upravo sustav koji se ponaša kao da nema prisutnog otapala, gledajući sa termodinamičkog stajališta. Naime, tako mala količina otapala ipak je dovoljna da poboljša difuziju molekula, krucijalnu za molekulsko prepoznavanje. Dodatno objašnjenje se krije u tome da LAG-metoda stvara uvjete prezasićenosti tvari i na taj način izbjegava učinak njihove relativne topljivosti.[26] Okruženje oslobođeno kinetičkih

barijera i termodinamičkog utjecaja topljivosti, čini ovu metodu najboljim izborom za istraživanje molekularnog slaganja i strukturnih čimbenika.

2.5.3. Planetarni kuglični mlin

Suvremena kemija i moderna tehnologija okreću se ekološki osviještenijim načinima sinteze, kako je već ranije spomenuto. Jedno od rješenja jest mljevenje, koristeći planetarni kuglični mlin, osim kojeg postoje još i mlin za trešnje te miješanje i vibraciju. Visokoenergijsko mljevenje svoju upotrebu pronalazi u mehanokemiji, izradi legura te mehaničkoj aktivaciji.[29,30]

Kontroliranjem uvjeta: promjenom posude, veličine kuglica, brzine rotacije i geometrije mlina dobivaju se različita svojstva mljevenog praškastog materijala. Prednost takvih sinteza je i dobivanje produkata željenih karakteristika.[31,8]



Slika 3. Skica reakcijske posude za mljevenje te prikaz sila i njihovog smjera djelovanja tijekom sinteze.[29]

Gibanje koje se odvija u mlinu za vrijeme podudarno je s planetarnim gibanjem od kojega i potječe naziv. Posude za mljevenje gibaju se brzinom (kutna brzina okretanja posude) za

vrijeme rotacije. Revolucija i revolucijska brzina odnose se na gibanje diska na kojemu su smještene posude te tako kutna brzina gibanja diska pospješuje učinak kuglica.[30] Takvim gibanjem sustav posjeduje uz gravitacijsku još dodatno Coriolisovu i centrifugalnu silu. Prisutnost navedenih sila povećavaju kinetičku energiju čak za 100 puta u odnosu na gravitacijsku energiju.

Karakteristike planetarnih mlinova poput frekvencije i velikih brzina utječu na reaktante te je poznat podatak za Pulverisette 7 Premium seriju mlinova da postižu centrifugalnu akceleraciju od 95 g.

Razvoj kemije i metode sinteza ovim načinom vidljive su i u još jednoj dodatnoj prednosti. Mapa za mljevenje (eng. *miling map*) koja se konstruira pomoću frekvencije sudara, kinetičke energije i brzine sudara kuglica u posudi, definira uvjete pri kojima će nastati određena faza produkta i energije koja se prenese na prah tijekom mljevenja. Konfiguracijom spomenutih uvjeta moguće je dobiti točno određenu fazu odnosno, amorfnu, kristalnu ili čak omjer faza u leguri ili metalnom oksidu.

Izrada točnog matematičkog modela u svrhu povezivanja parametara koji utječu na mljevenje i energiju mljevenja nailazi na problem upravo zbog brojnosti samih parametara. Cilj takvoga modela je stvaranje veze između parametara mljevenja s frekvencijom sudara kuglica sa stjenkom posude i drugim kuglicama te energije kuglica.[30]

2.6. Metode identifikacije

2.6.1. Infracrvena spektroskopija

Elektromagnetsko zračenje u rasponu valnih duljina od 0,7 do 500 nm naziva se infracrvenim zračenjem (IR) čija je primjena u spektroskopiji od iznimne važnosti. Osnovna uloga jest identifikacija nepoznatog spoja.[32]

Infracrveno zračenje je smješteno je između mikrovalnog i vidljive svjetlosti, te se može podijeliti na tri područja:

Tablica 1. Podjela infracrvenog područja prema valnim duljinama, odnosno valnim brojevima.

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}

Pomoću valne duljine, odnosno valnoga broja koji predstavlja recipročnu vrijednost, promatra se apsorpcija infracrvenog zračenja koja dovodi do promjene u vibracijskim energijskim razinama. Različiti intenziteti energije rezultiraju i različitim promjena pa će tako u dalekom području biti opažene promjene u rotacijskim razinama molekula. U srednjem se odvija promjena vibracijskih razina većine molekula dok će u bliskom biti potrebna niža energija za elektronske prijelaze.[32]

Apsorpcijom IR zračenja dolazi do brojnih promjena u molekuli. Porast udaljenosti među jezgrama i amplitude oscilacije uzrokuje jače razdvajanje naboja što na kraju rezultira većom promjenom dipolnog momenta koji ima ključnu ulogu potrebnu za apsorpciju IR zračenja. Molekule aktivne u IR području nužno moraju posjedovat promjenjivi dipolni moment, dok primjerice atomi u metalu ne posjeduju dipolne oscilacije te su stoga neaktivne.

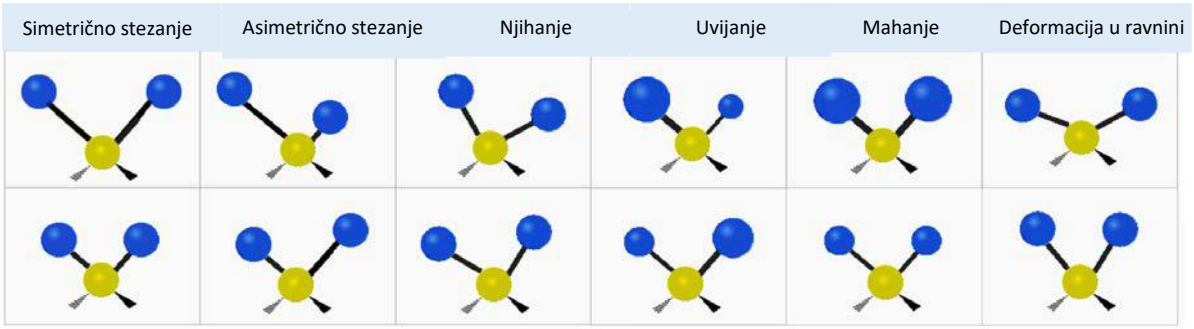
Molekulske vibracije dijele se na vibracije deformacije i vibracije istezanja.

1) Vibracije deformacije

   Vrijedi jedino za slučaj kada su prisutna najmanje tri atoma te uzrokuje promjene kuta između dvije veze koje vibriraju.[32]

   Dijeli se na:

   - Mahanje (eng. *Wagging*)
   - Uvijanje (eng. *Twisting*)
   - Njihanje (eng. *Rocking*)
   - Deformacija u ravnini (eng. *Scissoring*)



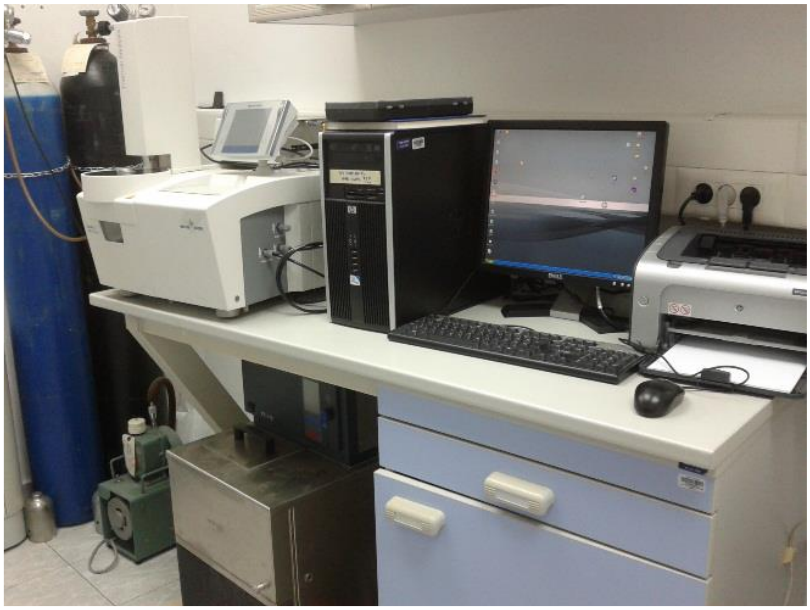
Slika 4. Vrste molekulskih vibracija [32]

2) Vibracije istezanja

Istezanje se odvija na području međunuklearne osi njezinom dužinom te može biti simetrično i antisimetrično. Antisimetrično istezanje predstavlja udaljavanje jedne i približavanje druge jezgre centru mase. Simetrično istezanje se događa kada se dvije jezgre istovremeno približavaju ili udaljavaju od centra mase.

2.6.2. Termogravimetrijska analiza

Termogravimetrijska analiza (TGA) je metoda praćenja promjene mase uzorka u ovisnosti o temperaturi ili vremenu u kontroliranoj atmosferi, te se karakterizacija uzorka vrši na temelju izgubljene ili dobivene mase.[32] Naime, postoje izotermna i neizotermna termička analiza koje se razlikuju u ovisnostima prema kojima se prati promjena kemijskih svojstava promatrane tvari. Neizotermna termogravimterijska analiza se odvija u ovisnosti o vremenu (dok je temperatura konstantna), te izotermna koja se odvija u ovisnosti o porastu temperature (uz jednaku i stalnu brzinu porasta temperature). Takvim vrstama analize moguć je gubitak mase u jednom ili više koraka.



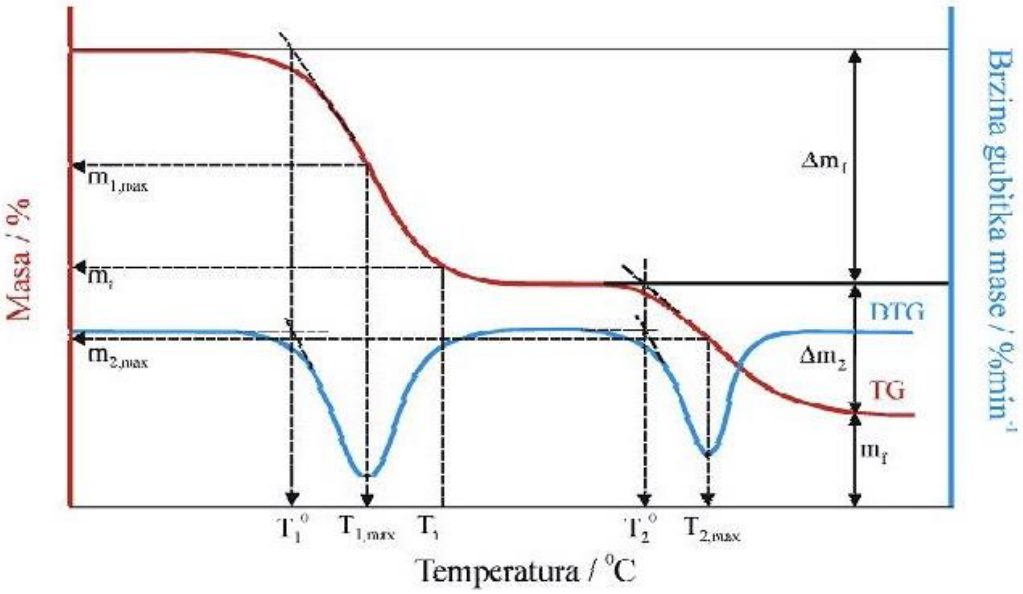
Slika 5. Uređaj za termogravimetrijsku analizu.

U svrhu dobivanja informacija o mehanizmu raspada neke tvari ili o procjeni njezine toplinske stabilnosti koriste se termogravimetrijske metode koje rezultate daju u obliku krivulje. Tako nastala krivulja ovisi o eksperimentalnim uvjetima kao što su vrsta plina koja protječe pećи, brzini grijanja te obliku i masi uzorka.[32]

Analiza ispitivane tvari ovim načinom odvija se uz pomoć vrlo preciznog i osjetljivo instrumenta zvanoga termovaga. Njezine sastavne komponente su precizna vaga i peći kontrolirane temperaturnim programerom, a sam uređaj je spojen na računalo. Sam proces TGA analize je relativno jednostavan, a sastoji se od postavljanja izvaganih zdjelica (bez i sa uzorkom) koje se zatim uvlače u peć i kontrolirano zagrijavaju. Iznimno je bitno da preciznost uređaja bude održana.

Zahvaljujući naprednim uređajima, uz spomenutu metodu istovremeno je bilo moguće koristiti i diferencijalno pretražnu kalorimetriju (DSC) koja mjeri količinu oslobođene ili apsorbirane topline tijekom zagrijavanja ili hlađenja uzorka pri konstantnoj temperaturi.[32]

Podaci koje instrument daje ispisuju se na računalu u obliku grafova poznatih kao termogrami koji odgovaraju točno samo jednom kemijskom spoju. Karakterizacija spoja se odvija uz pomoć specifičnih točaka termograma.



Slika 6. Termogram s pripadajućim točkama.[32]

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

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

m_f – konačna masa uzorka / g

Δm – gubitak mase uzorka / g

2.6.3. Metoda dinamičkog raspršenja svjetlosti

Fizikalna metoda pomoću koje se određuje distribucija veličine malih čestica u suspenziji. Često se koristi u svrhu karakterizacije i praćenja stabilnosti čestica Metoda se temelji na raspršenju svjetlosti koja prolazi sredstvom koje ne posjeduje jedinstvenu dielektričnu konstantu.[33] Elektroni ispitivanog materijala tu istu svjetlost emitiraju u raspršenom obliku. Raspršeni valovi nastali dipolnim oscilacijama vezanih elektrona nalaze se u istoj fazi što objašnjava Rayleighova teorija čestica. Promatranjem raspršene svjetlosti, okomito na ravninu polarizacije, uočit će se kako nisu prisutne kutne distribucije jer takva svjetlost nastaje

zbrajanjem konstruktivnih doprinosa induciranih dipolnih momenata paralelnih s ravninom polarizacije.[33]

2.3.4. Optička mikroskopija

Tehnika od iznimne važnosti koja oku nevidljive predmete čini vidljivima. Najčešće se koristi kao metoda provjere i potvrde rezultata dobivenih drugim metoda ili u svrhu karakterizacije kristalnog sjemena.[32] Polarizirana svjetlost uvelike unaprjeđuje mogućnosti mikroskopa i omogućava mu osim određivanja oblika kristala, boje te veličine i puno veću moć u karakterizaciji kristala. Moć razlučivanja mikroskopa ne ovisi jedino o broju i kvaliteti leća, već i o valnoj duljini svjetlosti koja se koristi za osvjetljivanje uzorka.[32]



Slika 7. Aparatura za optičku mikroskopiju

3. EKSPERIMENTALNI DIO

3.1. Pribor i aparatura

Sve sinteze ovoga rada izvedene su mehanokemijskom metodom pomoću Fritsch „Pulverisette 7“ planetarnoga mlina (**Slika 8**). Podešavanje uređaja na željene parametre omogućilo je sinteze pri različitim okretajima, točnije pri 250 okr/min, 500 okr/min i 750 okr/min (**Tablica 2**). Uređaj posjeduje dvije stanice u koje se postavljaju posude za mljevenje (V = 20 cm^3, promjer posude, D_v = 4,5 cm, promjer rotirajućeg diska, R_p = 140 mm). Željeni reaktanti (2,5 g kalcijeva nitrata tetrahidrata i 2,5 g natrijeva oksalata) dodaju se posudama zajedno s kuglicama za mljevenje (n = 80, promjer, d_b = 5 mm; gustoća, ρ = 7,7 g/cm^3 te masa, m = 0,51 g) te se sve oprezno zatvori pripadajućim poklopcima posuda.



Slika 8. Rotacijski planetarni kuglični mlin

3.2. Popis kemikalija

Za mehanokemijsku sintezu kalcijeva oksalata korištene su slijedeće kemikalije: kalcijev nitrat ($Ca(NO_3)_2 \cdot 4H_2O$, T.T.T.)) i 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. Prisutnost zaostalih nitratnih aniona nakon reakcije ispitan je kvalitativnom analitičkom metodom za dokazivanja aniona (1%-tna otopina difenilamina).



Slika 9. Reaktanti korišteni u sintezi

3.3. Karakterizacija kristalnog sjemena

Strukturalna svojstva sintetiziranih uzoraka određena su FT-IR spektroskopijom i termogravimetrijskom analizom, dok je raspodjela veličina čestica određena mikroskopskim snimcima i DLS metodom.

3.3.1. FT-IR spektrometrija

Kruti uzorci nakon perioda sušenja, DRIFT tehnikom (eng. *Diffuse reflectance infrared Fourier transform*) su pripremljeni za FT-IR spektrometriju. Priprema uzorka takvom tehnikom podrazumijeva njegovo fino i sitno usitnjavanje u ahatnom tarioniku. Tako usitnjeni uzorak homogeno se pomiješa s KBr. Za snimanje backgrounda upotrebljen je KBr koji je i miješan s uzorcima. Pripremljenom smjesom se puni nosač koji se postavlja u uređaj za mjerenje.

Snimanje IR spektara izvršeno je pomoću Shimadzu FTIR 8400S u valnom području od 400 do 4000 cm^{-1} (rezolucija: 4 cm^{-1}) DRS tehnikom. Prikupljanje i obrada podataka izvedena je uz pomoć računalnog programa IR Solution 1.30.

3.3.2. Termogravimetrijska metoda

Prije samoga mjerenja iznimno je bitno zabilježiti preciznu odvagu uzorka. Najprije se izvažu posudice od aluminijeva oksida, a zatim se u njih doda približno 20 mg uzorka. Posudica se ponovno izvaže te se točna masa zabilježi iz razlike ta dva podatka. Posudica postavljena u instrument zagrijava se na temperaturi koja ravnomjerno raste zadanom brzinom. Iz promjene mase moguće je odrediti hidratni oblik uzorka.

Uzorci su ispitivani u atmosferi kisika, uz brzinu protoka plina 200 mL/min, s korakom snimanja 5 °C/min u temperaturnom području od 30 do 300 °C. Rezultati su obrađeni pomoću Mettler Toledo System 1 instrumenta i računalnog programa STARe Software 10.0.

3.3.3. Metoda dinamičkog raspršenja svjetlosti (DLS)

Prosječna veličina i disperzija čestica određena je metodom dinamičkog raspršenja svjetlosti (DLS). U tu svrhu korišten je Zetasizer Nano ZS, Malvern, uređaj opremljen zelenim laserom (532 nm). Pod kutom od 173° zapažen je intenzitet raspršenog svjetla. Mjerenja su izvedena pri 25 °C te ponovljena šest puta. Rezultati su prikazani kao maksimumi pikova raspodjele veličine čestica po volumenu.

3.3.4. Optička mikroskopija

Trinokularnim svjetlosnim mikroskopom B1-223E-SP Elite Motic sa kamerom MOTICAM 2 koja je spojena na računalo izvršena je identifikacija taloga i utvrđivanje morfoloških karakteristika istaloženih faza.

3.3.5. Analitičko određivanje nitrata

Kvalitativnom analitičkom metodom ispitani su uzorci kako bi se utvrdila čistoća uzoraka. 1%-tnom otopinom difenilamina, dokazivani su nitratni ioni.

3.4. Sinteza kristalnog sjemena

Reaktanti potrebni za sintezu su bili kalcijev nitrat tetrahidrat i natrijev oksalat čije su mase iznosile 2,5 grama (omjer masa 1:1). Sinteza se izvodila uz pomoć rotacijskog planetarnog kugličnog mlina (Fritsch pulverisette 7) koji sadrži dvije reakcijske posude, u koje se dodaju metalne kuglice i reaktanti. Kao što je već spomenuto, sinteza se ovakvom metodom odvija bez prisutnosti otapala, no ipak u jednu od reakcijskih posuda je dodano još i 5 ml vode (Milli-Q, provodnosti $\leq$ 0,055 μS/cm) kako bi u konačnom produktu zaostalo što je manje moguće reaktanata (i nečistoća) (**Tablica 2**).

Tablica 2. Sintetizirani uzorci s obzirom na vrijeme i brzinu rotacije

		10 min	**30 min**	**45 min**	**60 min**	**75 min**	**90 min**	**105 min**	**120 min**
250 okr/min	bez H_2O	1.uzorak	2.uzorak	3.uzorak	4.uzorak	5.uzorak	6. uzorak	7.uzorak	8.uzorak
	sa H_2O	9.uzorak	10.uzorak	11.uzorak	12.uzorak	13.uzorak	14.uzorak	15.uzorak	16.uzorak
500 okr/min	bez H_2O	17.uzorak	18.uzorak	19.uzorak	20.uzorak	21.uzorak	22.uzorak	23.uzorak	24.uzorak
	sa H_2O	25.uzorak	26.uzorak	27.uzorak	28.uzorak	29.uzorak	30.uzorak	31.uzorak	32.uzorak
750 okr/min	bez H_2O	33.uzorak	34.uzorak	35.uzorak	36.uzorak	37.uzorak	38.uzorak	39.uzorak	40.uzorak
	sa H_2O	41.uzorak	42.uzorak	43.uzorak	44.uzorak	45.uzorak	46.uzorak	47.uzorak	48.uzorak

Ukupno vrijeme reakcije iznosilo je 2 sata, ali u određenim vremenskim intervalima reakcija je bila zaustavljena, ponajviše kako bi se uzeli uzorci u svrhu praćenja prijelaza reaktanata u produkt. Reakcija je bila zaustavljena nakon prvih deset minuta, zatim nakon dvadeset minuta te je nastavljeno nakon svakih petnaest minuta sve dok ukupno vrijeme reakcije nije dosegnulo dva sata. Reakcija se također izvodila i pri tri različite brzine okretaja, točnije pri brzini od 250 okr/min, 500 okr/min te 750 okr/min (**Tablica 2**). Nakon svakog zaustavljanja reakcije bilo je potrebno sastrugati reakcijsku smjesu sa kuglica i stjenki reakcijske posude u plastične posudice (**Slika 10**). Završetkom sinteze pri tri različite brzine uzorci su ostavljeni da se potpuno osuše nakon čega je uslijedila analiza faza.



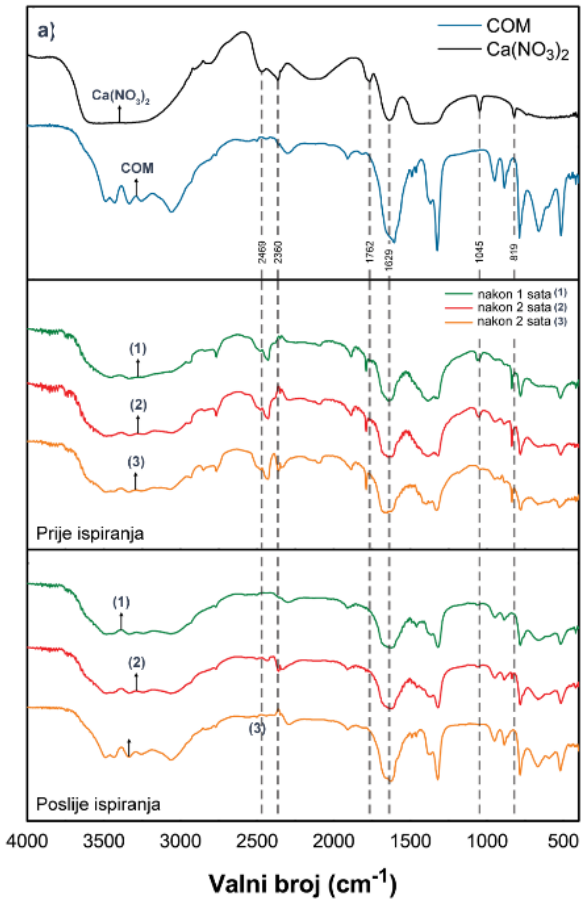
Slika 10. Plastične posudice s uzorcima

4. REZULTATI I RASPRAVA

Sinteze svih uzoraka izvedene su mehanokemijskom metodom prilikom čega se nastajalo da svi uvjeti budu identični uz promjenu samo jednoga parametra, brzine okretaja u minuti. Interpretacija rezultata će biti izvedena upravo prema tom parametru, te će se zbog jednostavnosti prikazati rezultati uzoraka nakon dva sata sinteze pri sve tri brzine, prije i poslije ispiranja. Analiza rezultata izvedena je FT-IR spektroskopijom, TGA/DSC analizom, a morfologija kristala pomoću svjetlosne mikroskopije te DLS tehnikom u svrhu utvrđivanja veličine čestica.

4.1. Sinteza kalcijeva oksalata pri 250 okr/min

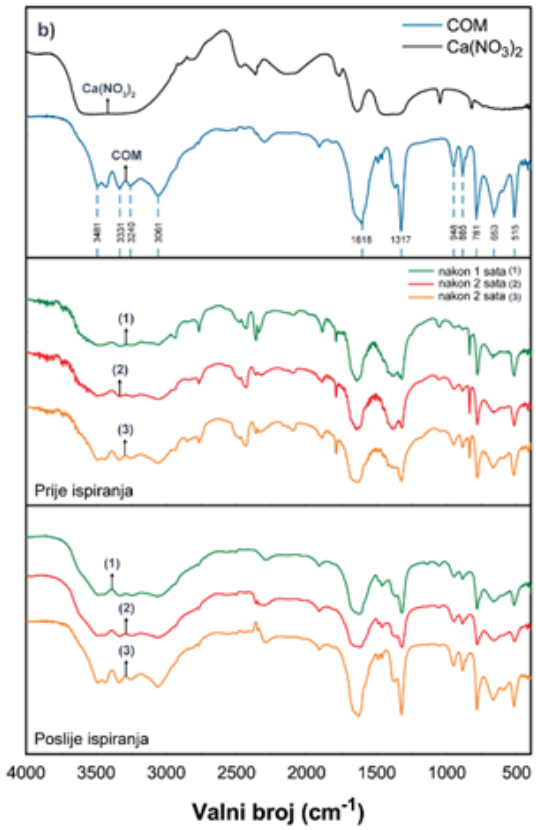
Nakon sinteze 8 uzoraka s dodatkom i 8 osam uzoraka bez dodatka vode pri 250 okr/min (**Tablica 2.**), uzorci su ostavljeni na sušenju (**Slika 10**). Tjedan dana poslije uzorci su analizirani FT-IR spektroskopijom. Dobiveni rezultati jasno su pokazali da nakon već deset minuta nastaje COM (**slike 17.** i **18.** u Prilogu), ali je značajan udio nitrata, karakteristična vrpca na 1045 cm^{-1}. Objašnjenje standardnog spektra COM i reaktanta kalcijeva nitrata (**Slika 11.**) nalaze se u Prilogu (**Slika 16.**, **Tablica 4.**). Uklanjanje reaktanata provedeno je višestrukim ispiranjem (≈ 250 mL) vodom. Da se uzorak većinom sastojao od polaznih soli bio je dokaz i zamućenje vode kojom se ispiralo (mutna matičnica koja se skupljala u odsisnoj boci). Ispiranje se izvodilo uobičajenom metodom pomoću Büchnerovog lijevka. Ispiranje je manje zahtjevno bilo za uzorke iz reakcijske posude u koju se dodala voda, što znači da je na ovoj brzini mala količina vode imala značajnu ulogu u uklanjaju reaktanata (**slika 19.** i **20.** u Prilogu). Nakon ponovnog sušenja i snimljenih IR spektara jasno je vidljivo kako je COM, nakon dva sata sinteze, prisutan u vrlo čistom obliku, ali bez prisutnosti zaostalog nitrata (**Slika 11.**).



Slika 11. IR spektri 4., 8. i 16. uzorka, nastalih nakon jednog i dva sata sinteze, prije i poslije ispiranja, pri brzini 250 okr/min u usporedbi s IR spektrom reaktanta $Ca(NO_3)_2$ i COM standarda

4.2. Sinteza kalcijeva oksalata pri 500 okr/min

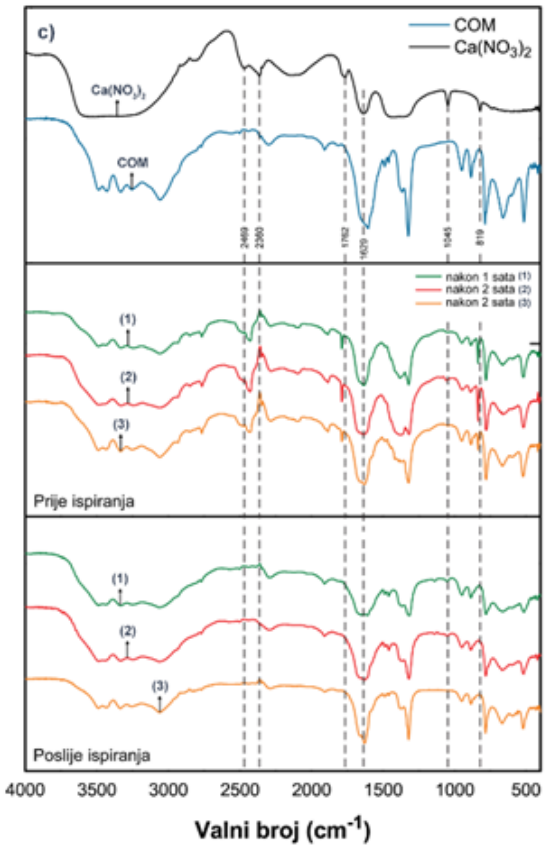
Sinteza i analiza kalcijeva oksalata pri 500 okr/min provedena je na identičan način, kao i pri brzini od 250 okr/min. Problem zaostatka reaktanata susreće se i na ovoj brzini mljevenja iako se za vrijeme ispiranja ne javlja zamućenje od 30. uzorka, iz reakcijske posude u kojoj je dodana voda. IR spektri ispranih uzoraka kojima je bila dodana voda na početku sinteze, pokazali su nakon dva sata sinteze, odnosno u 24. i 32. uzorku, intenzivnije maksimume (**Slike 28.** i **29**. u Prilogu) na 1317 cm^{-1} i 1618 cm^{-1} te u O-H području istezanja. Objašnjenje standardnog spektra COM i reaktanta kalcijeva nitrata (**Slika 12.**) nalaze se u Prilogu (**Slika 16.**, **Tablica 4.**).



Slika 12. IR spektri 20., 24. i 32. uzorka, nastalih nakon jednoga i dva sata, prije i poslije ispiranja, pri brzini 500 okr/min u usporedbi s IR spektrom reaktanta $Ca(NO_3)_2$ i COM standarda

4.3. Sinteza kalcijeva oksalata pri 750 okr/min

Rezultati uzoraka sintetiziranih na ovoj brzini mljevenja su vrlo zanimljivi zato što pokazuju oštrije vrpce COM već nakon sat vremena sinteze, te samim time i vrlo mali udio zaostalih reaktanata. 48. uzorak iz reakcijske posude u kojoj je dodana voda, pokazuje produkt visoke čistoće i prije ispiranja (**Slika 37.** u Prilogu). Objašnjenje standardnog spektra COM i reaktanta kalcijeva nitrata (**Slika 13.**) nalaze se u Prilogu (**Slika 16.**, **Tablica 4.**).



Slika 13. IR spektri 36., 40. i 48. uzorka, nastalih nakon jednoga i dva sata, prije i poslije ispiranja, pri brzini 750 okr/min u usporedbi s IR spektrom reaktanta $Ca(NO_3)_2$ i COM standarda

Tablica 3. Rezultati termogravimetrijske analize uzoraka pri tri različite brzine (t_0 – početna temperatura razgradnje, t_{max} – temperatura pri maksimalnoj brzini razgradnje, t_e – temperatura kraja razgradnje, Δm – gubitak mase)

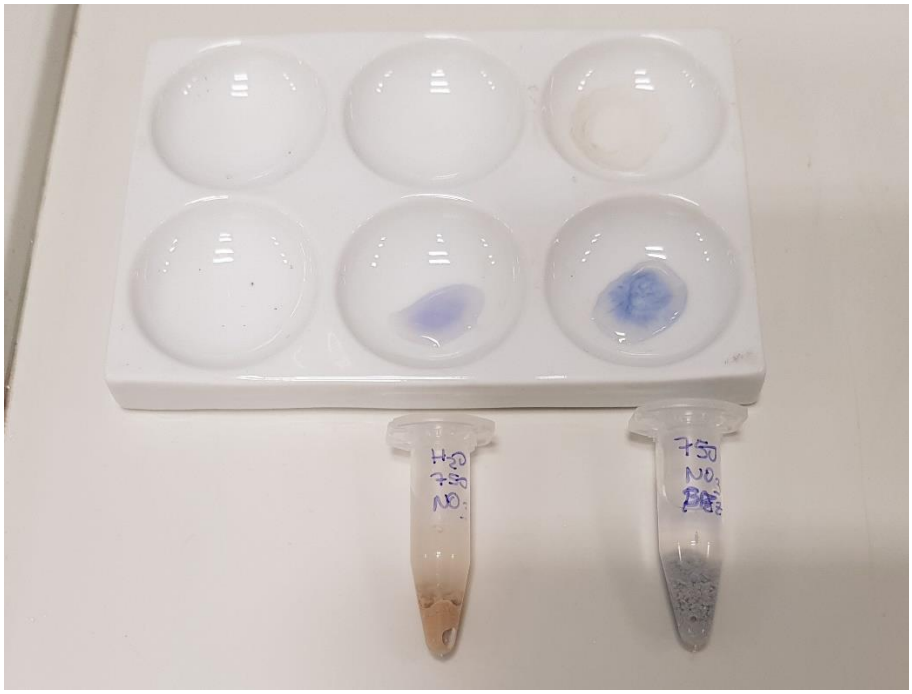
		Brzina mljevenja	t_0 / °C	t_{max} / °C	t_e / °C	Δm / mg	Δm/ %
Poslije ispiranja uzoraka	S dodatkom vode	250	77,44	166,45	241,38	2,65	12,43
		500	76,09	170,61	242,99	2,77	11,78
		750	77,58	171,22	242,99	2,84	11,76
	Bez dodatka vode	250	77,73	158,91	241,55	1,94	8,25
		500	78,79	169,48	243,30	2,77	11,77
		750	77,26	167,64	243,66	2,62	11,81

Uzorci (8., 16., 24., 32., 40., 48.) sve tri brzine, dobiveni nakon dva sata, isprani i osušeni analizirani su termogravimetrijskom metodom. Cilj je bio utvrditi kvantitativni sastav pojedinog uzorka (**Tablica 3.**). Teoretski je poznato da gubitak mase za kristalnu vodu u slučaju čistog COM iznosi 12,33 %.[34,35] Termogravimetrijskom analizom je ustanovljeno da se gubitak mase dogodio u samo jednome koraku. Grafički prikazi rezultata nalaze se u Prilogu (**Slike 21**., **22**., **30**., **31**., **38**. i **39**.).

$$COM - CaC_2O_4 \cdot 1\ H_2O \rightarrow CaC_2O_4 + H2O$$

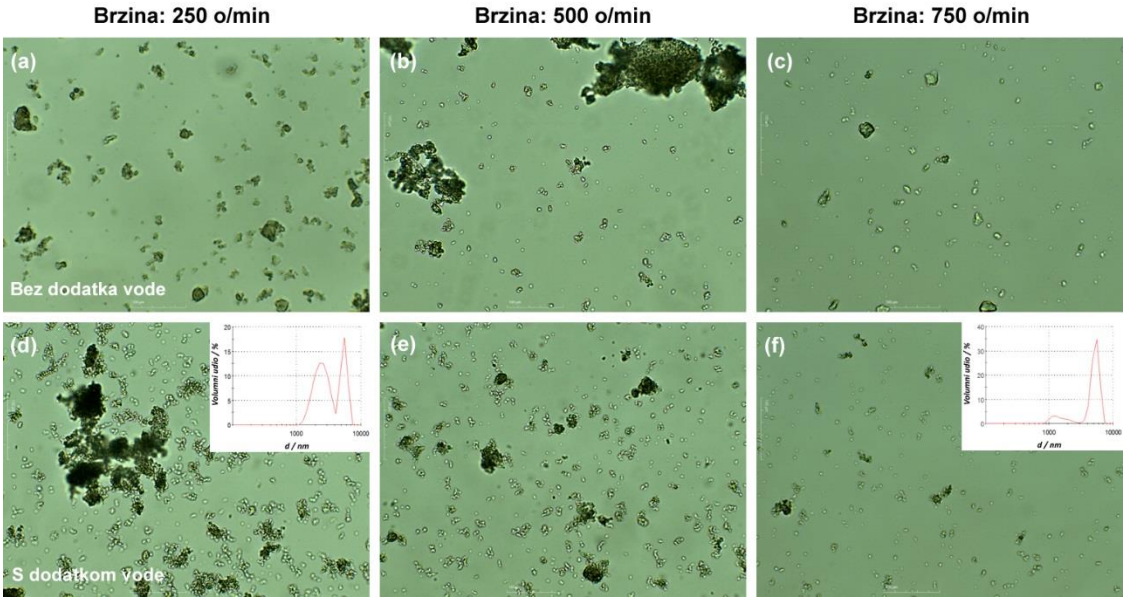
Analizom je utvrđeno kako je isključivo prisutan COM u produktu i potvrđen veliki zaostatak reaktanata posebice pri brzini 250 okr/min koji je vidljiv u malom gubitku mase.

Kako bi se potpuno uvjerili u zaostatak reaktanata korištena je analitička metoda dokazivanja nitratnih iona. Mala količina, 8., 16., 24., 32., 40. i 48. uzorka bila je dispergirana u vodi. Takvoj otopini dodan je organski reagens difenilamin kap po kap, oprezno uz stjenke epruvete. Na dodirnoj površini tih dviju otopina različite gustoće nastaje plavkasti prsten što je dokaz prisutnosti nitratnih iona (**Slika 14.**).



Slika 14. Dokaz zaostatka reaktanta (NO_3) u produktu (analitičkom metodom)

Svjetlosnom mikroskopijom 8., 16., 24., 32., 40. i 48. uzorka te metodom raspodjele veličina čestica 8. i 48. uzorka, dobivene su snimke koje jasno pokazuju kako se povećanjem brzine dobivaju sve manje čestice. Trend smanjena čestica prate potpuno suhi uzorci i uzorci kojima je dodana mala količina vode na samome početku (**Slike 23.** i **40.** u Prilogu). U uzorcima iz serije s vodom uočava se i stvaranje agregata čestica. Mala veličina čestica onemogućila je određivanje morfologije kristala.



Slika 15. Snimke svjetlosne mikroskopije kristala hidrata kalcijeva oksalata u obje serije sinteze (s vodom i bez dodatka) pri svim brzinama mljevenja. Na snimkama (d i f) su dodani i DLS rezultati.

DLS metodom analizirani su uzorci 8. i 48. pri 250 okr/min i 750 okr/min. Kako mikroskopskom, tako i ovom analizom je utvrđeno da veća brzina mljevenja za posljedicu ima manju veličinu čestica. Srednja vrijednosti promjera čestica pri brzini od 750 okr/min iznosi d = 1589,5 ± 149,92 nm dok pri 250 okr/min taj podatak iznosi d = 2246,5 ± 607,48 nm. Agregirane čestice koje su se javljale i u prethodnim analizama vidljive su na drugome maksimumu (d(750 okr/min) = 4866,5 nm, d(250 okr/min) = 5442,0 nm).

5. ZAKLJUČAK

Mehanokemijskom metodom sinteze kalcijeva oksalata iz kalcijeva nitrata tetrahidrata i natrijeva oksalata, uspješno je dobiven kalcijev oksalat monohidrat (COM). Različite brzine mljevenja utjecale su na zaostajanje reaktanata i veličinu čestica produkta. Produkt visoke čistoće, pri najnižoj brzini od 250 okr/min vidljiv je nakon dva sata sinteze ili nakon ispiranja uzorka. Pri najvišoj brzini od 750 okr/min željeni produkt nastaje već nakon sat vremena sinteze. Prisutnost kalcijeva oksalata monohidrata u svima uzorcima ustanovljena je FT-IR i termogravimetrijskom analizom. Njihovi rezultati potvrđuju jasno postojanje isključivo najstabilnije hidratne faze. Rotacija i vibracija koja se odvija u mlinu potiče kuglice na sudare s reaktantima, uslijed čega se akumulira visoka energija koja poboljšava proces mljevenja/usitnjavanja. Povećanjem brzine povećava se energija, pospješuje mljevenje te se dobivaju manje čestice produkta što je potvrđeno svjetlosnom mikroskopijom.

6. LITERATURA

[1] K. P. Aggarwal, S. Narula, M. Kakkar, C. Tandonm, *BioMed. Res. Int.* 2013, 2013, 292953.

[2] A. S. Bramley, M. J. Hounslow i R. L. Ryall, *Chem. Eng. Sci.* **52** (1997), 747-757.

[3] K. Pitt, G. P. Mitchell, A. Ray, B. R. Heywood i M. J. Hounslow, *J. Cryst. Growth* **361** (2012), 176-188.

[4] C. Conti, M. Casati, C. Colombo, M. Realini, L. Brambilla i G. Zerbi, *Spectrochim. Acta A: Mol. Biomol. Spectrosc*. 128 (2014), 413-419.

[5] A. Šter, S. Šafranko, K. Bilić, B. Marković i D. Kralj, *Urolithiasis* 46(3) (2018), 243-256

[6] D. Škrtić, M. Marković, Lj. Komunjer i H. Füredi-Milhofer, *J. Cryst. Growth* **66** (1984), 431-440.

[7] D. Škrtić, H. Füredi-Milhofer i M. Marković, *J. Cryst. Growth* **80** (1987), 113-120.

[8] T. Tsuzuki, K. Pethick, P. G. McCormick, Journal of Nanoparticle Research 2 (2000), 375-380.

[9] S. Mann, *Biomineralization: Principles and Concepts in Bioinorganic Materials Chemistry*, Oxford University Press, SAD, 2002.

[10] S. Weiner, P.M. Dove, *An overview of biomineralization processes and the problem of vital effect*. Rev Mineral Geochem. 2003;54:1-29

[11] M. Fricke, D. Volkmer, *Crystallization of Calcium Carbonate Beneath Insoluble Monolayers : Suitable Models of Mineral - Matrix Interactions in Biomineralization?* Top Cur Chem. 270, 2007., 9. str, 1 – 41

[12] V. Babić-Ivančić, H. Furedi-Milhofer, B. Purgarić, N. Brničević, Z. Despotović, *Precipitation of Calcium oxalate from high ionic strenght solutions III The influence of reactant concentrations on the properties of precipitates.* J. Crystal Growth 1985. 71: p. 655-663

[13] A. Tucak, M. Radonić, H. Furedi-Milhofer, D. Dekanić, Lj. Čečuk, *Urolitijaza*, Revija, Izdavački centar Radničkog sveučilišta „Božidar Maslarić“ , Osijek 1989.

[14] J. M. Berg, J. L. Tymoczko, L. Stryer, Biochemistry, W.H. Freeman & Co., New York, 2011.

[15] 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

[18] D. Škrtić, H. Furedi-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, 1986.

[19] A. Thomas, *Biomimetic Growth and Morphology Control of Calcium Oxalates*, Doktorski rad, TU Dresden, Njemačka, 2009., str. 4.

[20] J. E. Hall, *Guyton and Hall textbook of medical physiology*, Philadelphia, PA: Elsevier, 2016.

[21] W.A. See, W.R.D., J. Urol., 1992. 147: p. 541.

[22] FL., C., ed. *Physical chemistry of calcium stone disease* In; F.L. Coe, J.H.Parks. Nephrolithiasis: Pathogenesis and treatmant, 2nd ed, C.N.Y. Medical. 1988. 38-58.

[23] V. Thongboonkerd, T. Semangoen, S. Chutipongtanate, Factors determining types and morphologies of calcium oxalate crystals: Molar concentrations, buffering, pH, stirring and temeprature. Clinica Chemmica Acta 367 (2006) 120-131

[24] Kanis, D. (2015.) Mehanokemijska sinteza Schiffovih baza. Završni rad, Osijek: Odjel za kemiju. A. Alačova, J. Ficeriova, M. Golja, *Mechanochemistry and preparation of nanocrystalline materials.* Metalurgija 43, 2004., 4., p. 305-309.

[25] A. Alačova, J. Ficeriova, M. Golja, Mechanochemistry and preparation of nanocrystalline materials. Metalurgija 43, 2004., 4., p. 305-309. Zelić, M. (2017.) *Supramolekulska kemija i mehanokemijska sinteza.* Zagreb: Prirodoslovno-matemtički fakultet, Kemijski odsjek.

[26] Zelić, M. (2017.) Supramolekulska kemija i mehanokemijska sinteza. Zagreb: Prirodoslovno-matemtički fakultet, Kemijski odsjek. Brekalo, I. (2012.) *Schiffove baze izvedene*

iz mesalazina i aromatskih amina: Mehanokemijska sinteza i sinteza u čvrstom stanju potpomognuta parama otapala. Zagreb: Prirodnoslovno-matematički fakultet.

[27] Brekalo, I. (2012.) Schiffove baze izvedene iz mesalazina i aromatskih amina: Mehanokemijska sinteza i sinteza u čvrstom stanju potpomognuta parama otapala. Zagreb: Prirodnoslovno-matematički fakultet.

[28] Nogalo, I. (2016.) Sinteza i struktura kokristala o-hidroksi imina povezanih halogenskom vezom. Diplomski rad, Zagreb: Kemijski odsjek, Prirodoslovno-matematički fakultet. Crnković, T. (2016.) *Interakcija albumina s nanočesticama srebra različite površinske funkcionalizacije*. Diplomski rad, Zagreb: Farmaceutsko-biokemijski fakultet.

[29] Talajić, M. (2015.) Mokro usitnjavanje zeolita u planetarnom mlinu. Završni rad, Zagreb: Fakultet kemijskog inženjerstva i tehnologije.

[30] Khoa X. H., Bae S., Bae S., Kim B. W., Kim J. S., Planetary Ball Mill Proces sin Aspect of Milling Energy, J. Kor.Powd. Met. Inst. 21 (2), 2014, 155-164 Talajić, M. (2015.) *Mokro usitnjavanje zeolita u planetarnom mlinu.* Završni rad, Zagreb: Fakultet kemijskog inženjerstva i tehnologije.

[31] W. L. Suchaneka, P. Shuka, K. Byrappaa, R. E. Rimana, K. S. TenHuisenb, V. F. Janasb,, Biomaterials 23 (2002), 699-710

[32] Šafranko, S. (2016.) Utjecaj mehaničkog miješanja, temperature i koncentracije citrata na taloženje kalcijeva oksalata. Završni rad, Osijek; Odjel za kemiju.

[33] Crnković, T. (2016.) Interakcija albumina s nanočesticama srebra različite površinske funkcionalizacije. Diplomski rad, Zagreb: Farmaceutsko-biokemijski fakultet.

[34] 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

[35] 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

[36] 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.

[37] W. O. S. Doherty, O. L. Crees, E. Senogles, *The preparation of calcium oxalate dihydrate crystals*, Cryst. Res. Technol. 29 (1994) 517-524

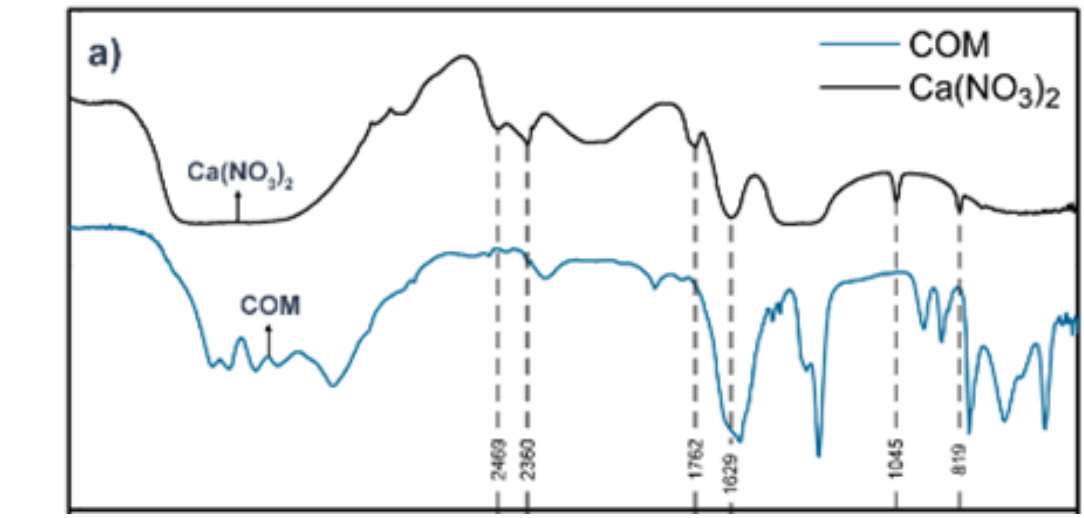
WEB IZVORI:

[16] https://www.chop.edu/conditions-diseases/ureteropelvic-junction-upj-obstruction

[17] Medicinski priručnik za pacjente: *Hidronefroza*, (2014). URL: http://www.msd-prirucnici.placebo.hr/msd-za-pacijente/bolesti-bubrega-i-mokracnih-putova/opstrukcija-zacepljenje-mokracnog-sustava/hidronefroza (13.08.2018.)

7. PRILOG

GRAFOVI FT-IR SPEKTROSKOPIJE, TG MJERENJA I SNIMKE SVJETLOSNE MIKROSKOPIJE



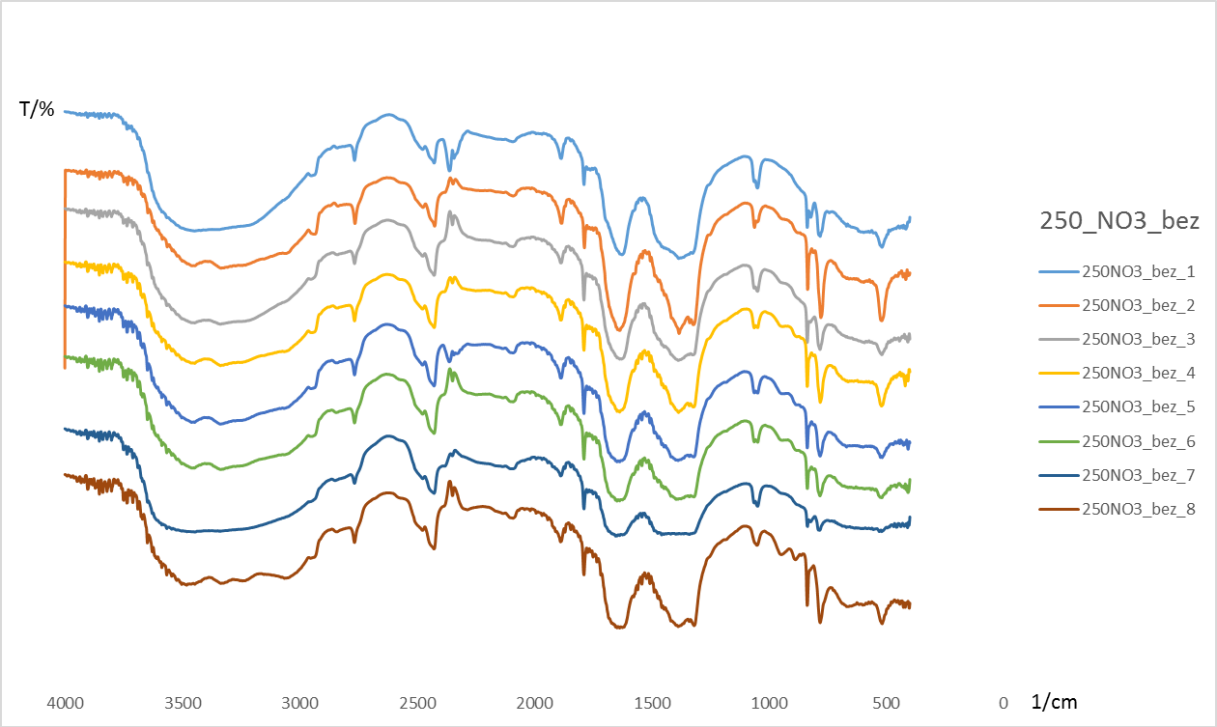
Slika 16. IR spektri s karakterističnim pikovima za COM i $Ca(NO_3)_2$

Tablica 4. Karakteristične vrpce COM standarda i njihova pridruženja u IR području[35,36,37]

COM/cm^{-1}	Približavanje
3481 3331 3240 3061	asimetrično i simetrično istezanje koordinirane vode (O-H istezanje)
1618	asimetrično karbonilno istezanje (COO^-)
1317	simetrično karbonilno istezanje i metal-karbonilno istezanje (COO^-)
948 885	H-O-H savijanje
781 653	O-C-O asimetrično njihanje
515	O-C-O asimetrično njihanje

Prilikom analiziranja IR spektra prikazanog na slici 16. jasno se mogu uočiti oštriji maksimumi karakteristični za COM. U području oko 3000 cm^{-1} javljaju se O-H istezanje. Idući prema nižim vrijednostima, na oko 1600 cm^{-1}, prisutna su C-O antisimetrična istezanja, dok na 1317 cm^{-1} imamo simetrična C-O istezanja. U području oštrih, šiljastih pikova na vrijednosti 515 cm^{-1} zabilježena su O-C-O asimetrična njihanja.

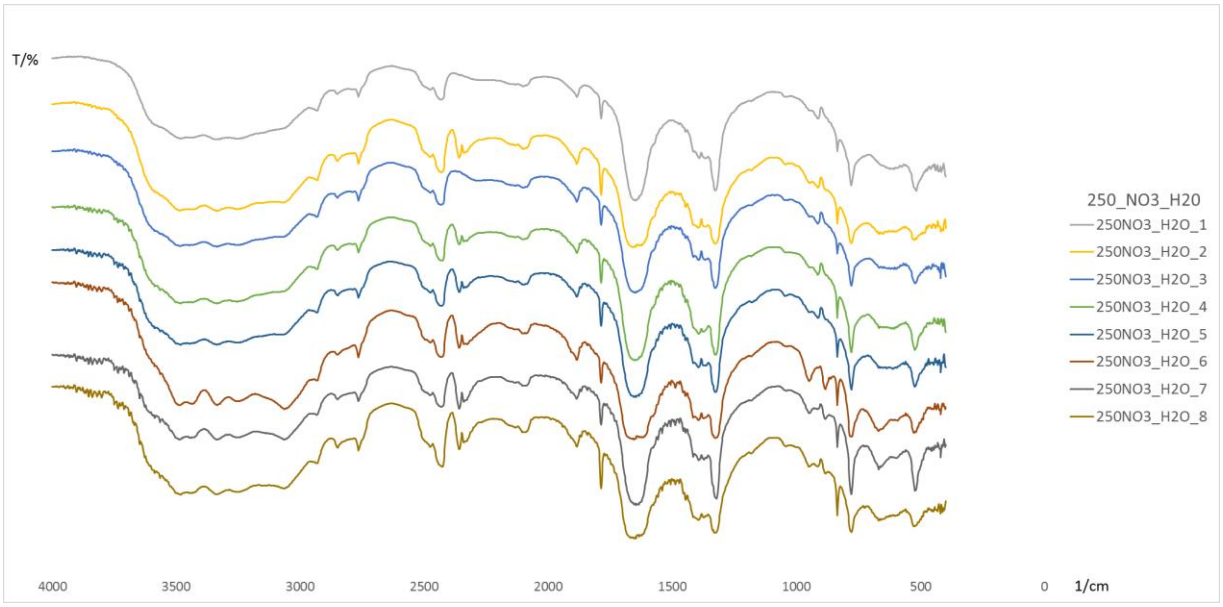
1. Prilog za sintezu pri 250 okr/min



Slika 17. IR spektar osam uzoraka bez vode, prije ispiranja, pri brzini 250 okr/min

Tablica 5. Pojašnjenje oznaka u legendi prema broju uzorka i vremenu sinteze

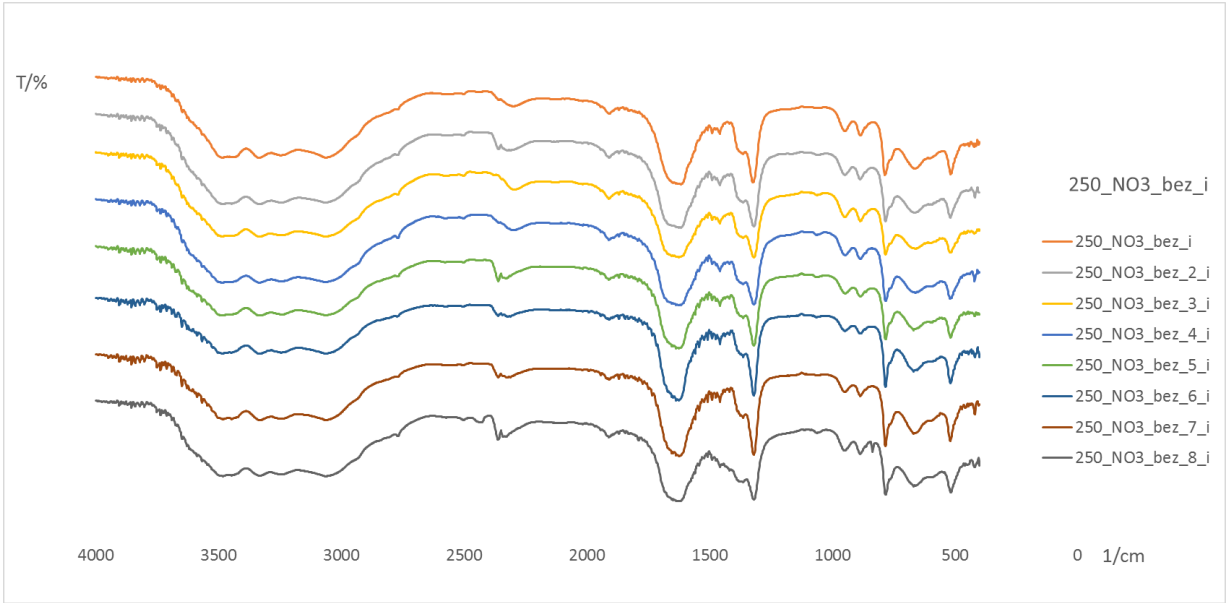
10 min	30 min	45 min	60 min	75 min	90 min	105 min	120 min
250_NO_3_bez_1 = 1. uzorak	250_NO3_bez_2 = 2. uzorak	250_NO3_bez_2 = 3. uzorak	250_NO3_bez_2 = 4. uzorak	250_NO3_bez_2 = 5. uzorak	250_NO3_bez_2 = 6. uzorak	250_NO3_bez_2 = 7. uzorak	250_NO3_bez_2 = 8. uzorak



Slika 18. IR spektar osam uzoraka s dodatkom vode, prije ispiranja, pri brzini 250 okr/min

Tablica 6. Pojašnjenje oznaka u legendi prema broju uzorka i vremenu sinteze

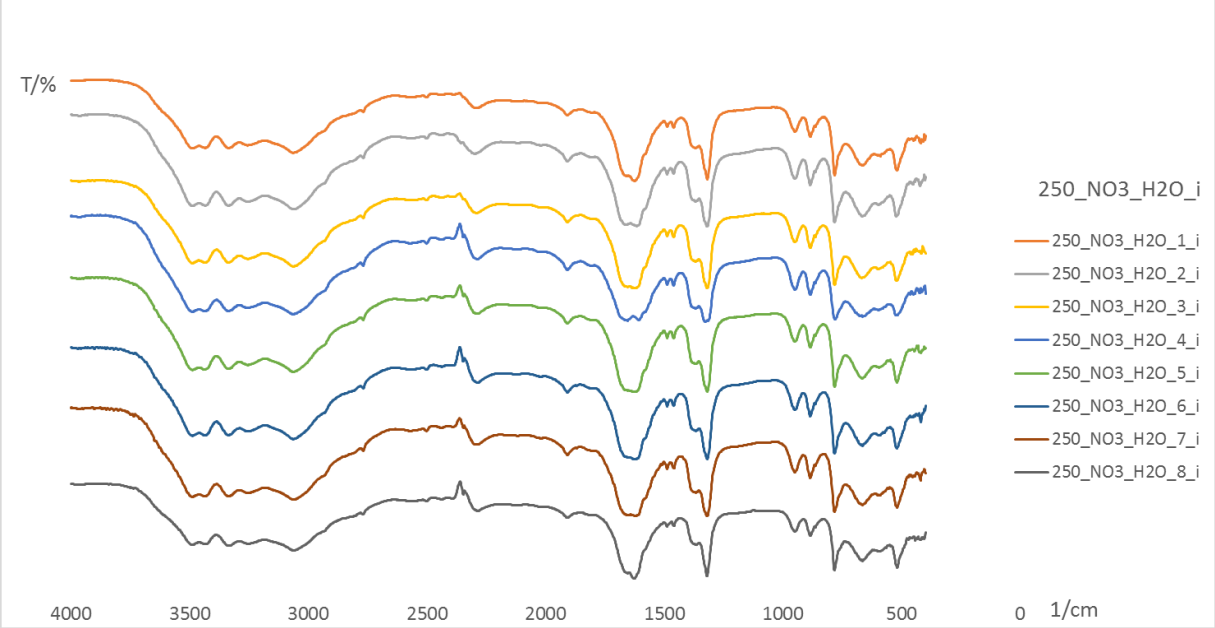
10 min	30 min	45 min	60 min	75 min	90 min	105 min	120 min
250NO_3_bez_1 = 9. uzorak	250NO3_bez_2 = 10. uzorak	250NO3_bez_2 = 11. uzorak	250NO3_bez_2 = 12. uzorak	250NO3_bez_2 = 13. uzorak	250NO3_bez_2 = 14. uzorak	250NO3_bez_2 = 15. uzorak	250NO3_bez_2 = 16. uzorak



Slika 19. IR spektar osam uzoraka bez vode, poslije ispiranja, pri brzini 250 okr/min

Tablica 7. Pojašnjenje oznaka u legendi prema broju uzorka i vremenu sinteze

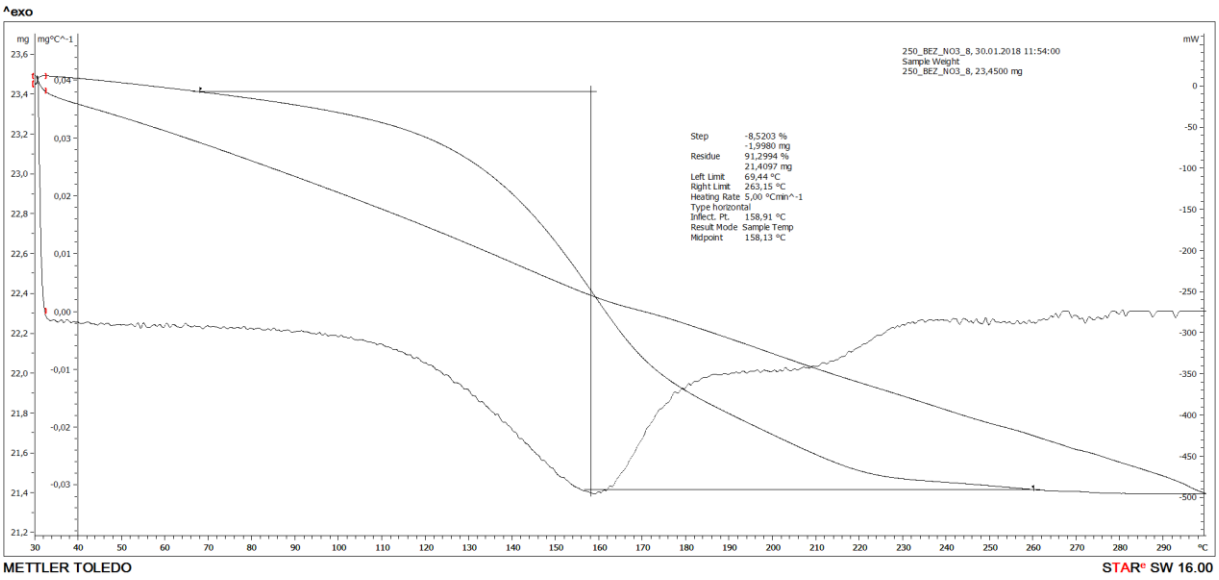
10 min	30 min	45 min	60 min	75 min	90 min	105 min	120 min
250_NO_3_bez_1 = 1. uzorak	250_NO3_bez_2 = 2. uzorak	250_NO3_bez_2 = 3. uzorak	250_NO3_bez_2 = 4. uzorak	250_NO3_bez_2 = 5. uzorak	250_NO3_bez_2 = 6. uzorak	250_NO3_bez_2 = 7. uzorak	250_NO3_bez_2 = 8. uzorak



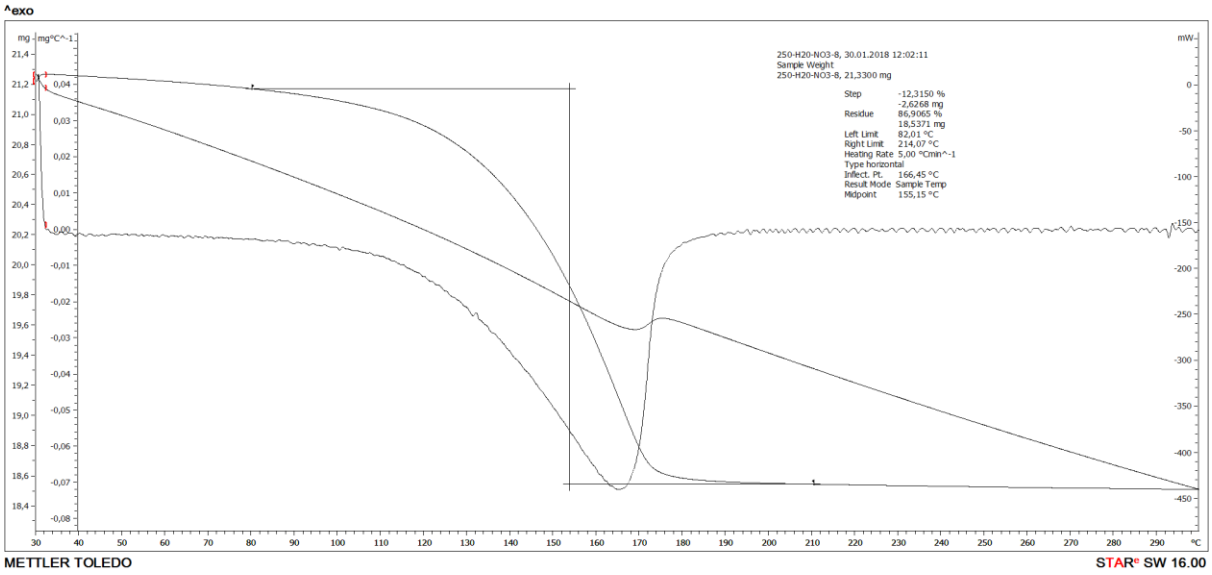
Slika 20. IR spektar osam uzoraka s dodatkom vode, poslije ispiranja, pri brzini 250 okr/min

Tablica 8. Pojašnjenje oznaka u legendi prema broju uzorka i vremenu sinteze

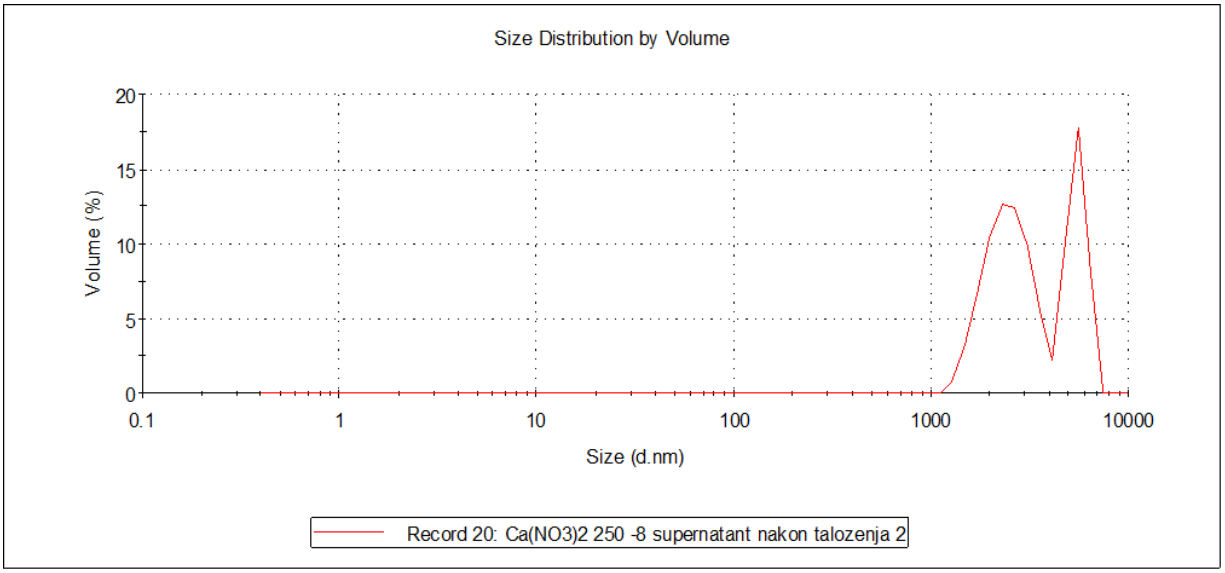
10 min	30 min	45 min	60 min	75 min	90 min	105 min	120 min
250NO_3_bez_1 = 9. uzorak	250NO3_bez_2 = 10. uzorak	250NO3_bez_2 = 11. uzorak	250NO3_bez_2 = 12. uzorak	250NO3_bez_2 = 13. uzorak	250NO3_bez_2 = 14. uzorak	250NO3_bez_2 = 15. uzorak	250NO3_bez_2 = 16. uzorak



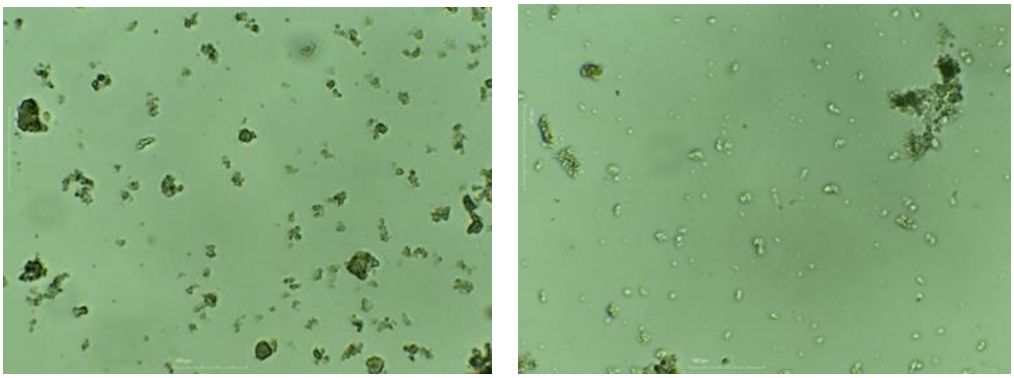
Slika 21. Termogram 8. uzorka bez dodatka vode nastalog nakon dva sata sinteze, poslije ispiranja, pri brzini 250 okr/min



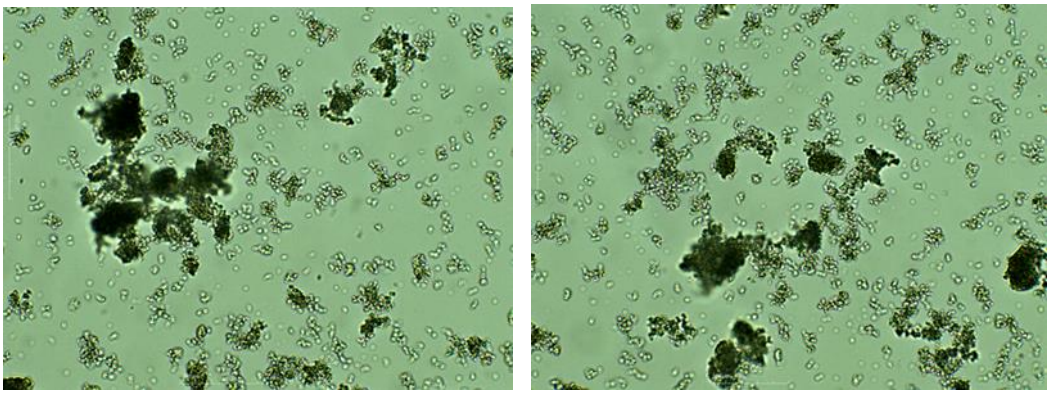
Slika 22. Termogram 16. uzorka s dodatkom vode nastalog nakon dva sata sinteze, poslije ispiranja, pri brzini 250 okr/min



Slika 23. Prikaz rezultata DLS mjerenja 8. uzorka s dodatkom vode nastalog nakon dva sata, poslije ispiranja, pri brzini 250 okr/min

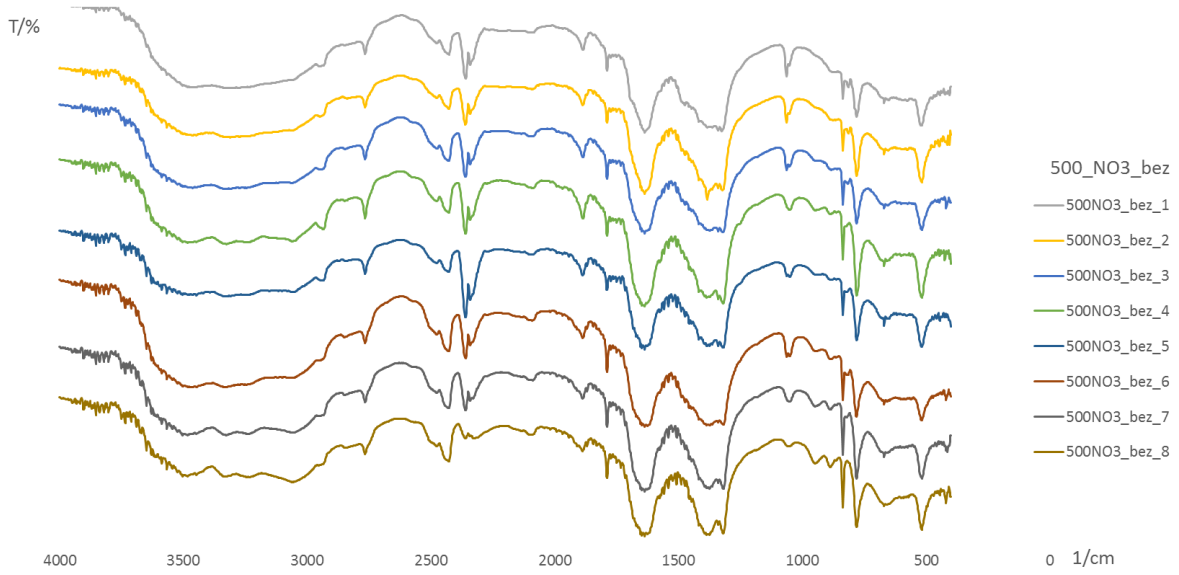


Slika 24. Snimke svjetlosnim mikroskopom 8. uzorka bez dodatka vode nastalog nakon dva sata, poslije ispiranja, pri brzini 250 okr/min



Slika 25. Snimke svjetlosnim mikroskopom 16. uzoraka s dodatkom vode nastalog nakon dva sata, poslije ispiranja, pri brzini 250 okr/min

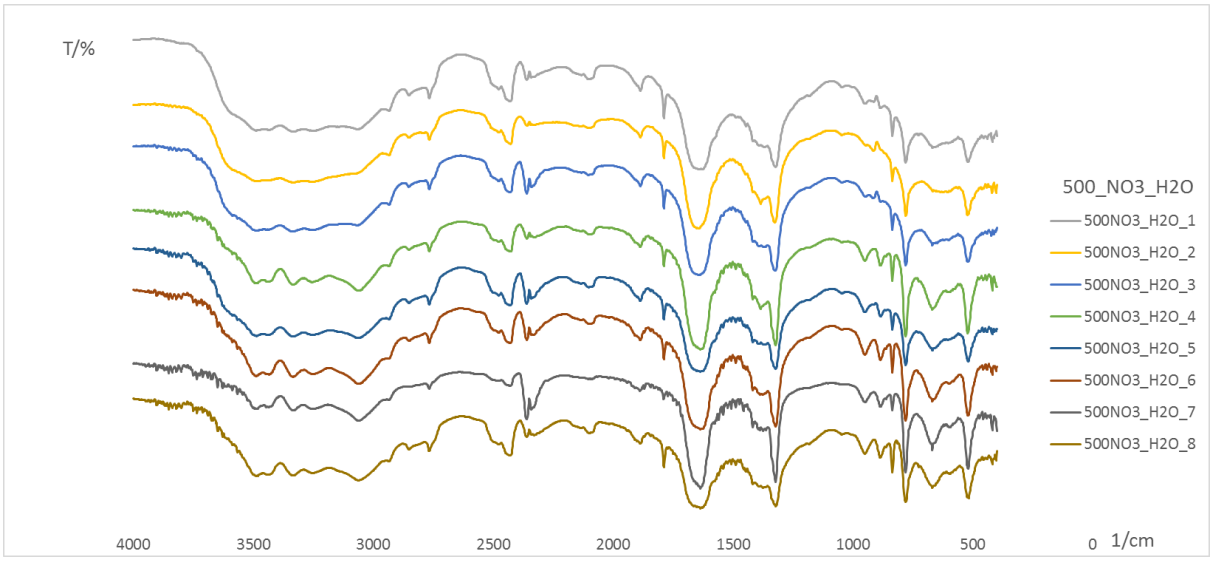
2. Prilog za sintezu pri 500 okr/min



Slika 26. IR spektri osam uzoraka bez dodatka vode, prije ispiranja, pri brzini 500 okr/min

Tablica 9. Pojašnjenje oznaka u legendi prema broju uzorka i vremenu sinteze

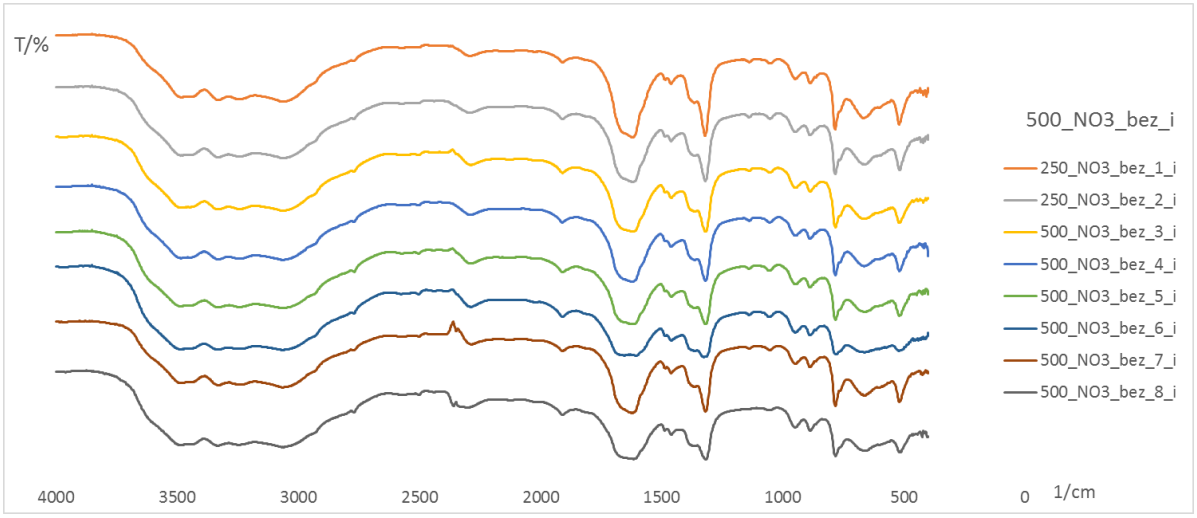
10 min	30 min	45 min	60 min	75 min	90 min	105 min	120 min
250NO_3_bez_1 = 17. uzorak	250NO3_bez_2 = 18. uzorak	250NO3_bez_2 = 19. uzorak	250NO3_bez_2 = 20. uzorak	250NO3_bez_2 = 21. uzorak	250NO3_bez_2 = 22. uzorak	250NO3_bez_2 = 23. uzorak	250NO3_bez_2 = 24. uzorak



Slika 27. IR spektri osam uzorka s dodatkom vode, prije ispiranja, pri brzini 500 okr/min

Tablica 10. Pojašnjenje oznaka u legendi prema broju uzorka i vremenu sinteze

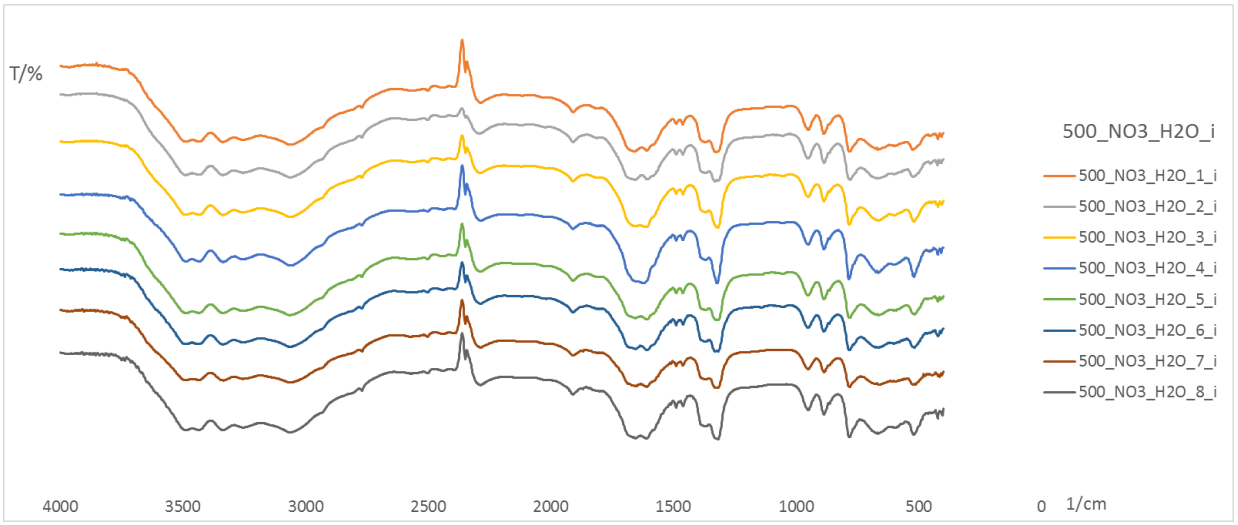
10 min	30 min	45 min	60 min	75 min	90 min	105 min	120 min
250NO_3_bez_1 = 25. uzorak	250NO3_bez_2 = 26. uzorak	250NO3_bez_2 = 27. uzorak	250NO3_bez_2 = 28. uzorak	250NO3_bez_2 = 29. uzorak	250NO3_bez_2 = 30. uzorak	250NO3_bez_2 = 31. uzorak	250NO3_bez_2 = 32. uzorak



Slika 28. IR spektri osam uzoraka bez dodatka vode, poslije ispiranja, pri brzini 500 okr/min

Tablica 11. Pojašnjenje oznaka u legendi prema broju uzorka i vremenu sinteze

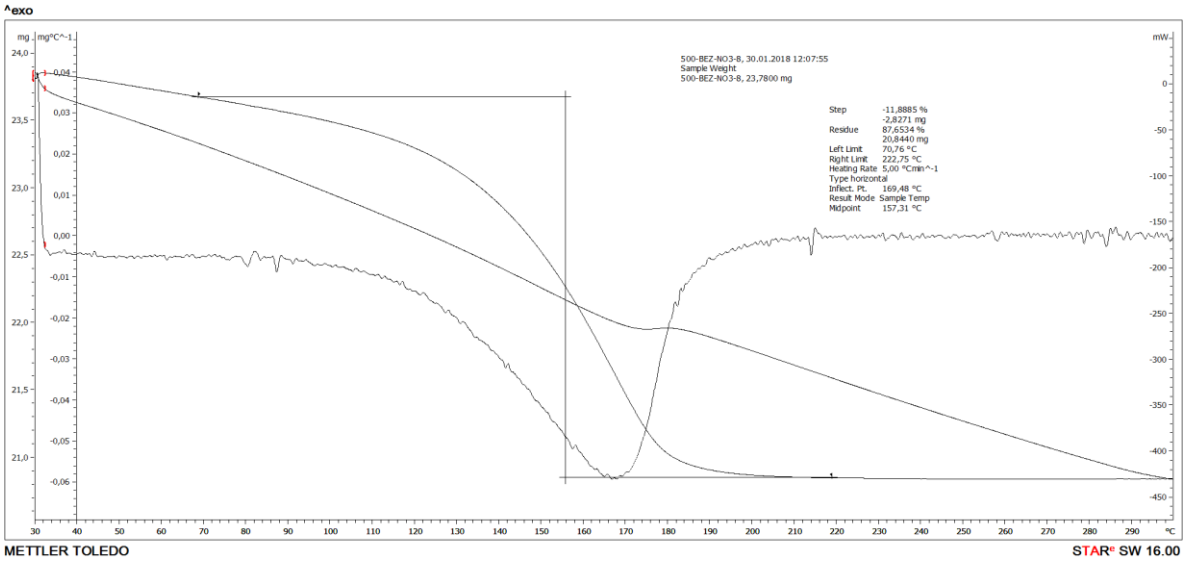
10 min	30 min	45 min	60 min	75 min	90 min	105 min	120 min
250NO_3_bez_1 = 17. uzorak	250NO3_bez_2 = 18. uzorak	250NO3_bez_2 = 19. uzorak	250NO3_bez_2 = 20. uzorak	250NO3_bez_2 = 21. uzorak	250NO3_bez_2 = 22. uzorak	250NO3_bez_2 = 23. uzorak	250NO3_bez_2 = 24. uzorak



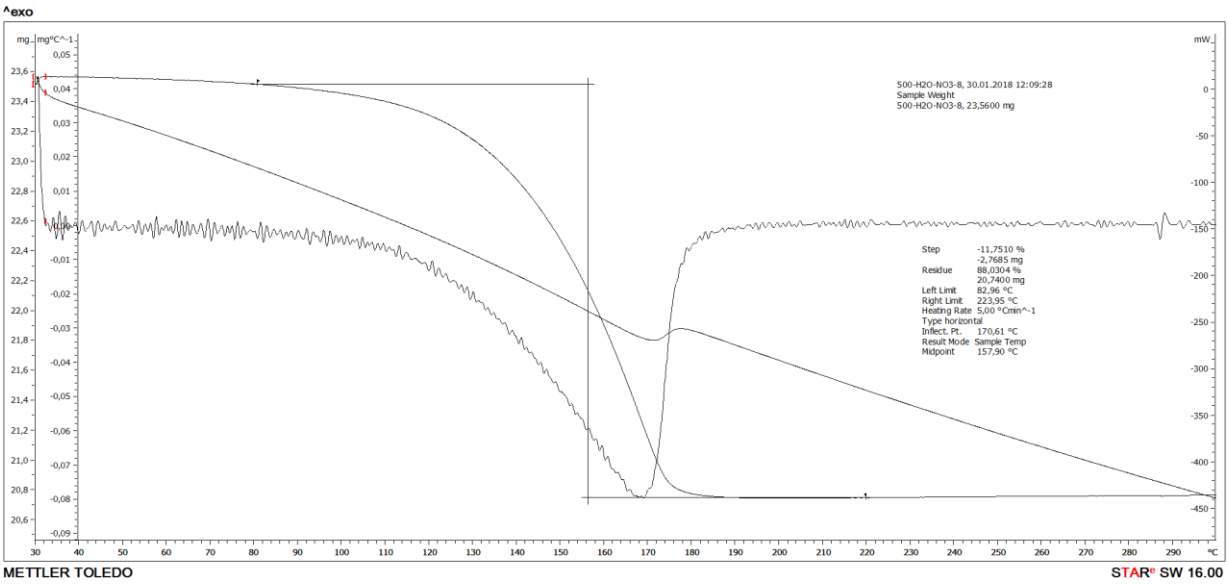
Slika 29. IR spektri osam uzoraka s dodatkom vode, poslije ispiranja, pri brzini 500 okr/min

Tablica 12. Pojašnjenje oznaka u legendi prema broju uzorka i vremenu sinteze

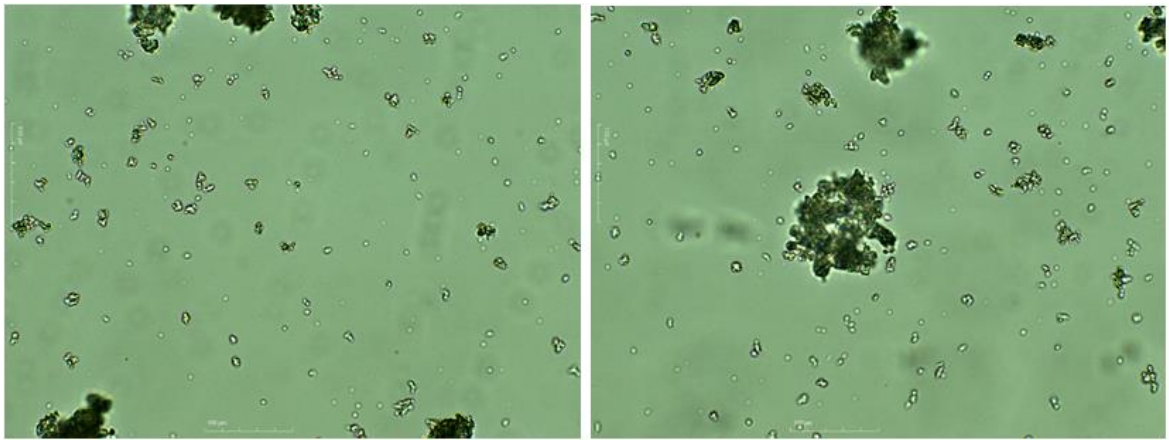
10 min	30 min	45 min	60 min	75 min	90 min	105 min	120 min
250NO_3_bez_1 = 25. uzorak	250NO3_bez_2 = 26. uzorak	250NO3_bez_2 = 27. uzorak	250NO3_bez_2 = 28. uzorak	250NO3_bez_2 = 29. uzorak	250NO3_bez_2 = 30. uzorak	250NO3_bez_2 = 31. uzorak	250NO3_bez_2 = 32. uzorak



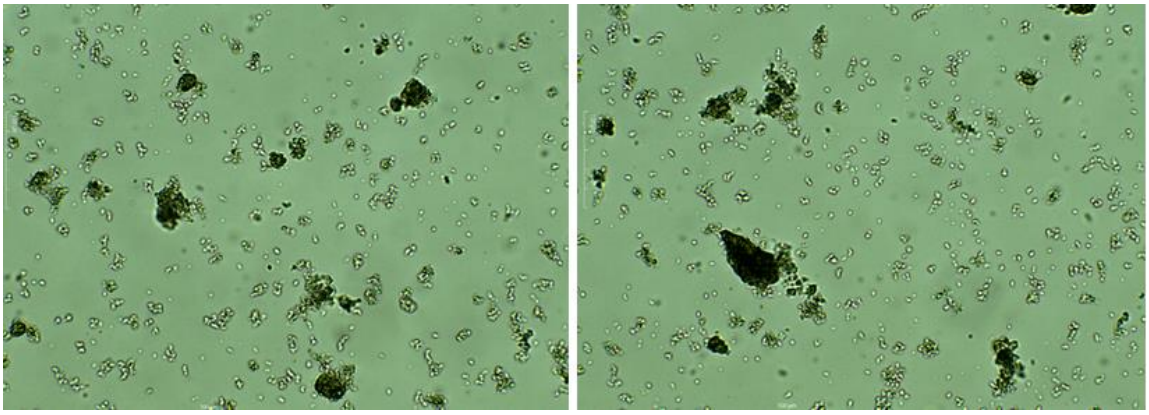
Slika 30. Grafički prikaz rezultata TG mjerenja 24. uzorka bez dodatka vode nastalog nakon dva sata, poslije ispiranja, pri brzini 500 okr/min



Slika 31. Grafički prikaz rezultata TG mjerenja 32. uzorka s dodatkom vode nastalog nakon dva sata, poslije ispiranja, pri brzini 500 okr/min

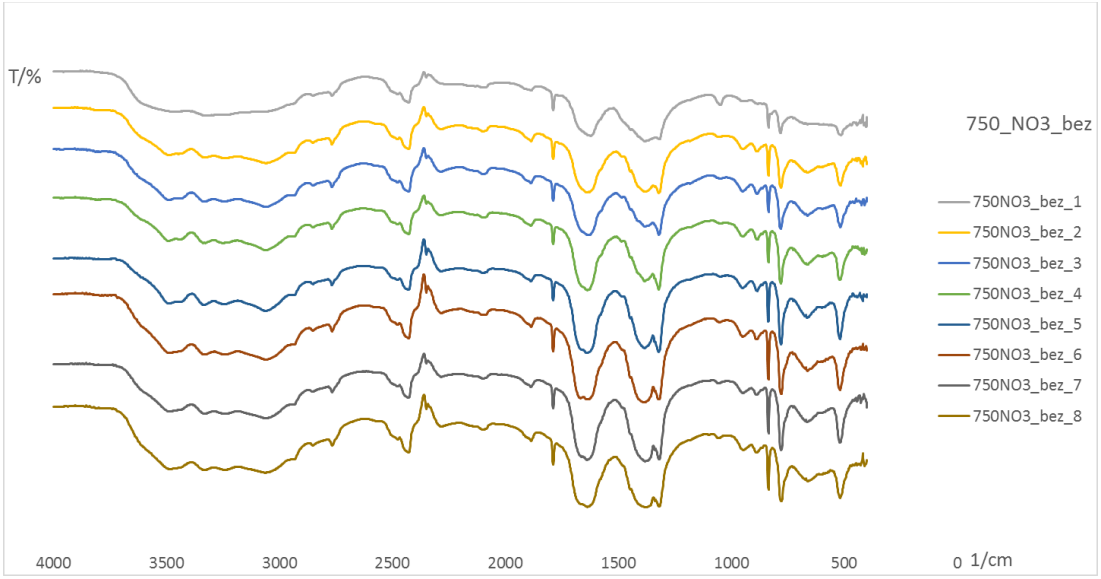


Slika 32. Snimci svjetlosne mikroskopije 24. uzoraka bez dodatka vode nastalog nakon dva sata, poslije ispiranja, pri brzini 500 okr/min



Slika 33. Snimci svjetlosne mikroskopije 32. uzorka s dodatkom vode nastalog nakon dva sata, poslije ispiranja, pri brzini 500 okr/min

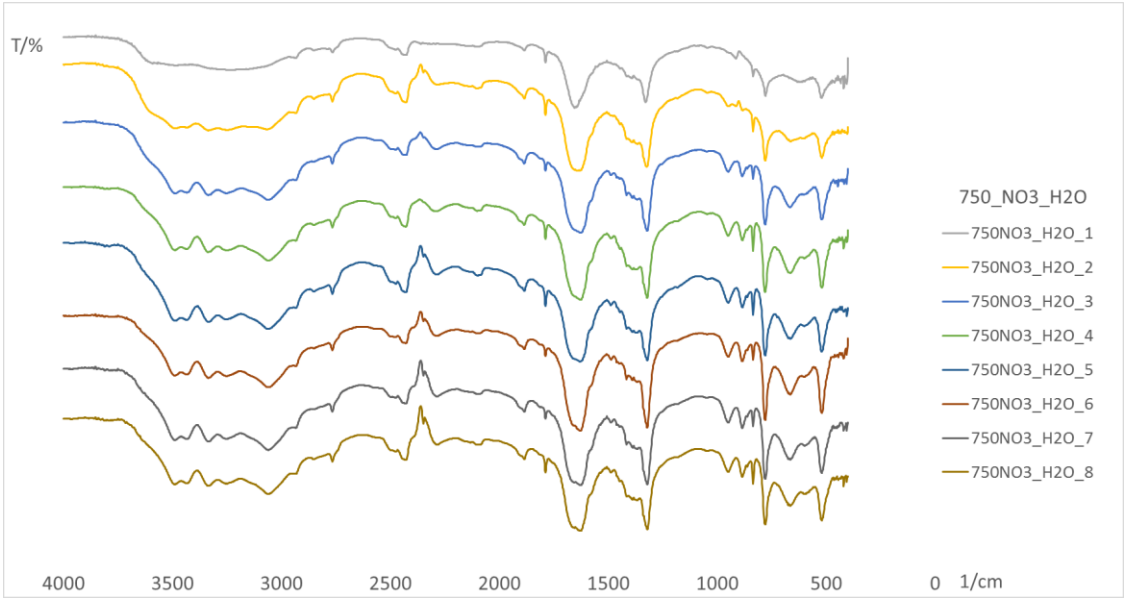
3. Prilog za sintezu pri 750 okr/min



Slika 34. IR spektri osam uzoraka bez dodatka vode, prije ispiranja, pri 750 okr/min

Tablica 13. Pojašnjenje oznaka u legendi prema broju uzorka i vremenu sinteze

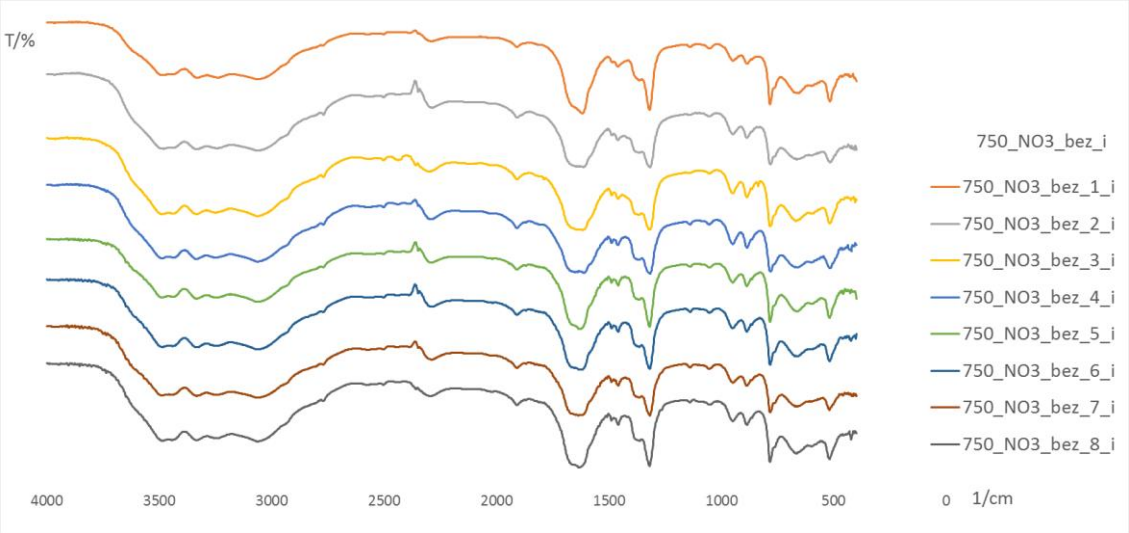
10 min	30 min	45 min	60 min	75 min	90 min	105 min	120 min
250NO$_3$_bez_1 = 33. uzorak	250NO3_bez_2 = 34. uzorak	250NO3_bez_2 = 35. uzorak	250NO3_bez_2 = 36. uzorak	250NO3_bez_2 = 37. uzorak	250NO3_bez_2 = 38. uzorak	250NO3_bez_2 = 39. uzorak	250NO3_bez_2 = 40. uzorak



Slika 35. IR spektri osam uzoraka s dodatkom vode, prije ispiranja, pri 750 okr/min

Tablica 14. Pojašnjenje oznaka u legendi prema broju uzorka i vremenu sinteze

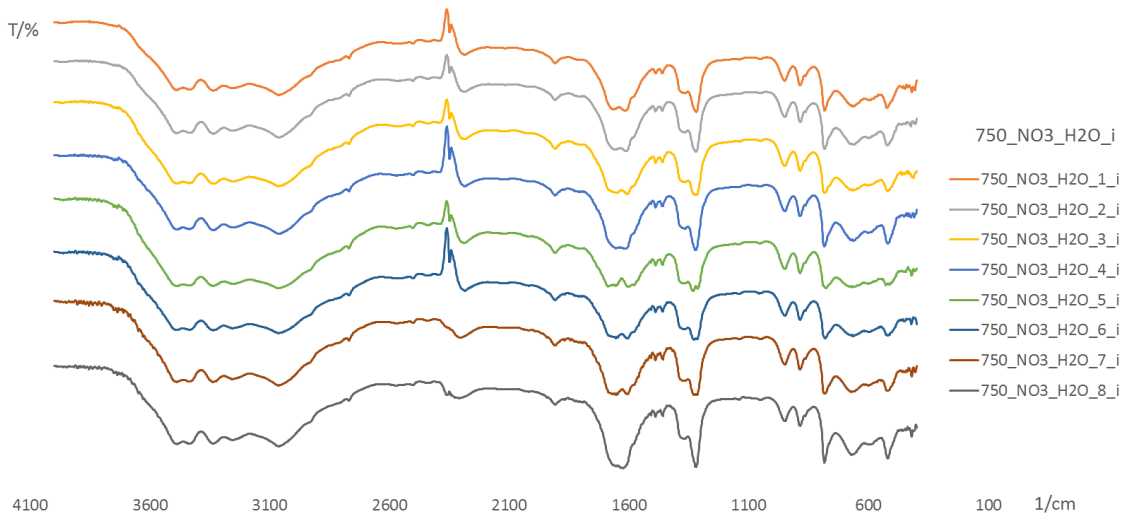
10 min	30 min	45 min	60 min	75 min	90 min	105 min	120 min
250NO_3_bez_1 = 41. uzorak	250NO3_bez_2 = 42. uzorak	250NO3_bez_2 = 43. uzorak	250NO3_bez_2 = 44. uzorak	250NO3_bez_2 = 45. uzorak	250NO3_bez_2 = 46. uzorak	250NO3_bez_2 = 47. uzorak	250NO3_bez_2 = 48. uzorak



Slika 36. IR spektri osam uzoraka bez dodatka vode, poslije ispiranja, pri 750 okr/min

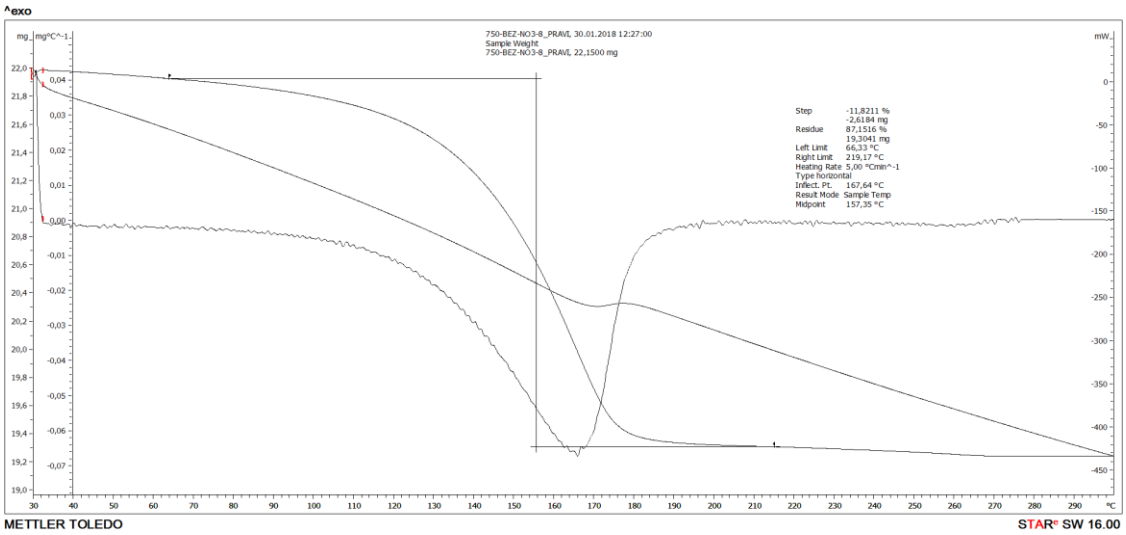
Tablica 15. Pojašnjenje oznaka u legendi prema broju uzorka i vremenu sinteze

10 min	30 min	45 min	60 min	75 min	90 min	105 min	120 min
250NO_3_bez_1 = 33. uzorak	250NO3_bez_2 = 34. uzorak	250NO3_bez_2 = 35. uzorak	250NO3_bez_2 = 36. uzorak	250NO3_bez_2 = 37. uzorak	250NO3_bez_2 = 38. uzorak	250NO3_bez_2 = 39. uzorak	250NO3_bez_2 = 40. uzorak

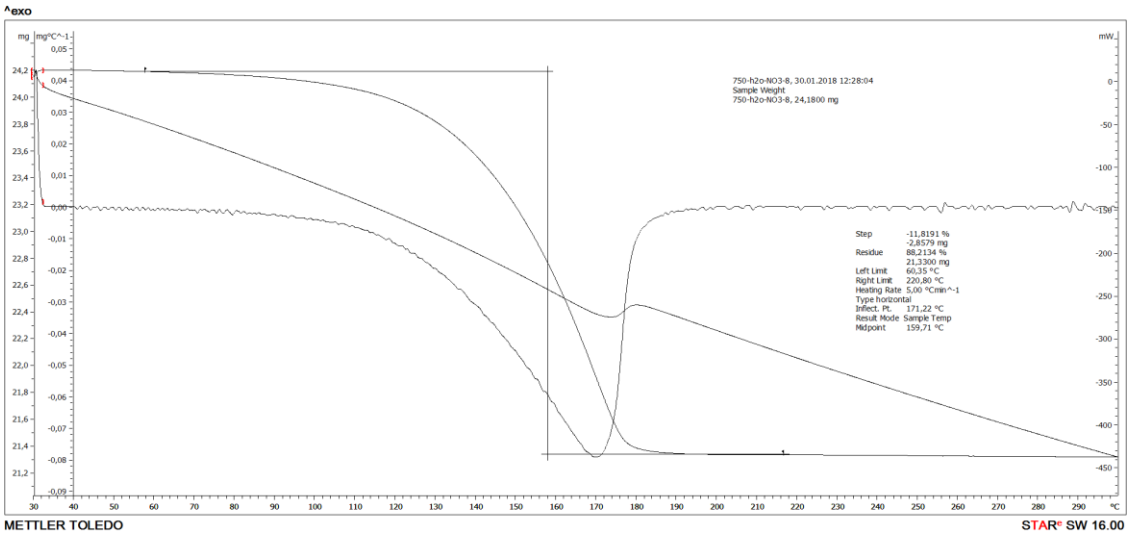


Slika 37. IR spektri osam uzoraka s dodatkom vode, poslije ispiranja, pri 750 okr/min
Tablica 16. Pojašnjenje oznaka u legendi prema broju uzorka i vremenu sinteze

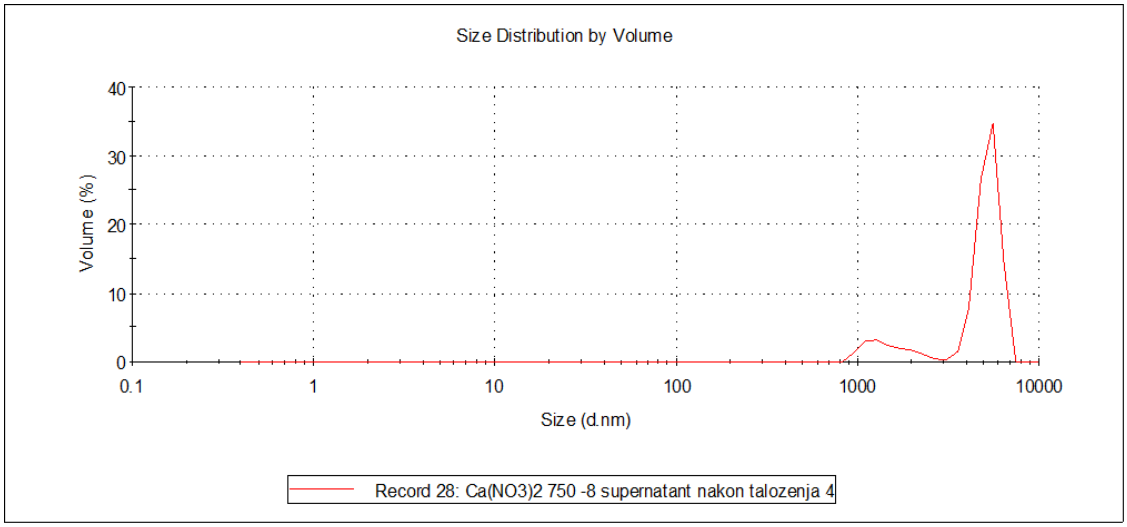
10 min	30 min	45 min	60 min	75 min	90 min	105 min	120 min
250NO_3_bez_1 = 41. uzorak	250NO3_bez_2 = 42. uzorak	250NO3_bez_2 = 43. uzorak	250NO3_bez_2 = 44. uzorak	250NO3_bez_2 = 45. uzorak	250NO3_bez_2 = 46. uzorak	250NO3_bez_2 = 47. uzorak	250NO3_bez_2 = 48. uzorak



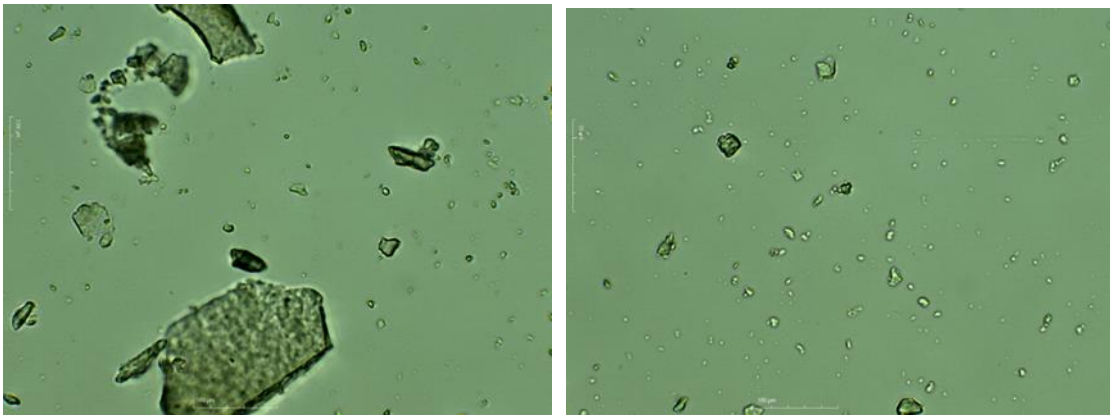
Slika 38. Grafički prikaz rezultata TG mjerenja 40. uzorka bez dodatka vode nastalog nakon dva sata, poslije ispiranja, pri 750 okr/min



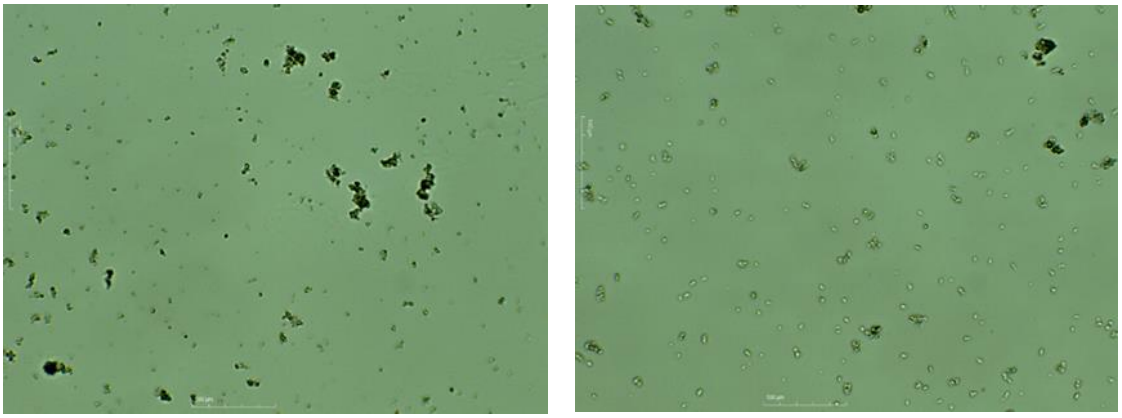
Slika 39. Grafički prikaz rezultata TG mjerenja 48. uzorka s dodatkom vode nastalog nakon dva sata, poslije ispiranja, pri brzini 750 okr/min



Slika 40. Grafički prikaz rezultata DLS tehnike 48. uzorka s dodatkom vode nastalog nakon dva sata, poslije ispiranja, pri brzini 750 okr/min



Slika 41. Snimci svjetlosne mikroskopije 40. uzoraka bez dodatka vode nastalog nakon dva sata, poslije ispiranja, pri brzini 750 okr/min



Slika 42. Snimci svjetlosne mikroskopije 48. uzoraka s dodatkom vode nastalog nakon dva sata, poslije ispiranja, pri 750 okr/min