Organski minerali u urinarnom traktu ljudskog tijela

Njegovec, Sanja

Master's thesis / Diplomski rad

2015

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, Faculty of Science / Sveučilište u Zagrebu, Prirodoslovno-matematički fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:217:286232

Rights / Prava: In copyright / Zaštićeno autorskim pravom.

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

Repository / Repozitorij:

Repository of the Faculty of Science - University of Zagreb

SVEUČILIŠTE U ZAGREBU

PRIRODOSLOVNO – MATEMATIČKI FAKULTET

GEOLOŠKI ODSJEK

ORGANSKI MINERALI U URINARNOM TRAKTU LJUDSKOG TIJELA

DIPLOMSKI RAD

Sanja Njegovec

Zagreb, 2015.

Sveučilište u Zagrebu

Prirodoslovno-matematički fakultet

Geološki odsjek

Sanja Njegovec

Organski minerali u urinarnom traktu ljudskog tijela

Diplomski rad

predložen Geološkom odsjeku

Prirodoslovno-matematičkog fakulteta

Sveučilišta u Zagrebu

radi stjecanja akademskog stupnja

magistra prirodnih znanosti,

znanstveno polje geologija,

grana geologija zaštite okoliša

Zagreb, 2015.

Ovaj diplomski rad izrađen je na Geološkom odsjeku pod mentorstvom prof. dr. sc. Vladimira Bermanca, u sklopu diplomskog studija geologije zaštite okoliša na Prirodoslovno–matematičkom fakultetu Sveučilišta u Zagrebu.

Zahvala

Posebno zahvaljujem svom mentoru prof. dr. sc. Vladimiru Bermancu na pomoći, vodstvu i strpljenju prilikom izrade ovog diplomskog rada.

Srdačno zahvaljujem dr. sc. Vesni Babić-Ivančić s Instituta Ruđer Bošković na pruženom znanju, stručnim savjetima i velikoj susretljivosti što mi je puno olakšalo pisanje ovog rada.

Zahvaljujem prof. dr. sc. Jasenki Sremac i prof. dr. sc. Jasni Hrenović na sugestijama prilikom izrade ovog rada.

Zahvaljujem gospodinu Marinu i asistentici Andrei na utrošenom vremenu i velikoj pomoći prilikom izrade eksperimentalnog djela rada.

Hvala svim kolegama i prijateljima, a posebno hvala Sandinju i Emmaču bez kojih studiranje ne bi bilo toliko zabavno i lijepo poglavlje u mom životu. ☺

*Veliko hvala mom Zagorcu Tomislavu što je uvijek bio uz mene. ^^*

Najveće hvala mojim roditeljima, sisterici Nikolini, baki i ostaloj obitelji na razumijevanju i velikoj podršci tokom studiranja.

Sanja

TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

Sveučilište u Zagrebu

Prirodoslovno-matematički fakultet

Geološki odsjek

Diplomski rad

ORGANSKI MINERALI U URINARNOM TRAKTU LJUDSKOG TIJELA

SANJA NJEGOVEC

Rad je izrađen na: Prirodoslovno-matematičkom fakultetu, Horvatovac 102 a, 10 000 Zagreb

Sažetak:

Cilj ovog rada bio je opisati organske minerale koji se javljaju u bubrežnim kamencima. Najveći postotak bubrežnih kamenaca čine kamenci građeni od kalcijskih oksalata, weddellita i whewellita. Urični kamenci se javljaju u obliku uricita i dihidrata. Bubrežni kamenci jedna su od najčešćih bolesti mokraćnog sustava, te nam je znanje o njihovom kemijskom sastavu i morfologiji važno za razumijevanje načina njihovog nastanka i kasnijeg liječenja. Za analizu kemijskog sastava i morfologije korištene su infracrvena spektroskopija (FT-IR), renTgenska difrakcija na prahu (XRD) i pretražujući elektronski mikroskop (SEM). Rezultati su pokazali da se većini uzoraka sastoji se od whewellita i hidroksiapatita. U malim postocima zastupljeni su weddellit, uricit i dihidrat mokraćne kiseline.

Ključne riječi: bubrežni kamenci, weddellit, whewellit, IR, SEM, uricit, dihidrat urične kiseline, XRD

Rad sadrži: 56 stranica, 25 slika, 15 tablica, 28 literaturnih navoda

Jezik izvornika: hrvatski

Rad je pohranjen u: Prirodoslovno-matematički fakultet, Središnja geološka knjižnica,

Horvatovac 102 a, 10 000 Zagreb

Mentor: dr. sc. Vladimir Bermanec, akademik

Ocjenjivači: dr. sc. Vladimir Bermanec, akademik

dr. sc. Jasna Hrenović, izv. prof.

dr. sc. Jasenka Sremac, izv. prof.

Rad prihvaćen: 13. veljače, 2015.

Zagreb, 2015.

BASIC DOCUMENTATION CARD

University of Zagreb

Faculty of Science

Department of Geology

Master of Science Thesis

ORGANIC MINERALS IN HUMAN URINARY TRACT

SANJA NJEGOVEC

Thesis completed in: Faculty of Science, Horvatovac 102 a, 10 000 Zagreb

Abstract:

The purpose of this study was to identify organic minerals in urinary calculi. Calcium oxalates, whewellite and weddellite, are the most common organic minerals in calculi. Uric acid calculi crystallizes in anhidrous (uricite) and dihydrous form. Kidney stone disease is increasingly common. The identification of the chemical composition and morphology is important for understanding their etiology and proper management. Calculi were subjected to infrared spectroscopy (FT-IR), X-ray powder diffraction (XRD) and scanning electron microscopy (SEM). The results show that the whewellite and hydoxyapatite are most common compound. Other minerals such as weddellite, uricite and uric acid dihydrate are found.

Keywords: kidney stones, weddellite, whewellite, IR, SEM, uricite, uric acid dihydrate, XRD

Thesis contains: 56 pages, 25 figures, 15 tables, 28 references

Original in: croatian

Thesis deposited in: Faculty of Science, Central geological library, Horvatovac 102 a, 10 000 Zagreb

Supervisor: PhD Vladimir Bermanec, Prof. Emer.

Reviewers: PhD Vladimir Bermanec, Prof. Emer.

PhD Jasna Hrenović, Assoc. Prof.

PhD Jasenka Sremac, Assoc. Prof.

Thesis accepted: February, 13th 2015.

Zagreb, 2015.

Sadržaj

1. UVOD 1

2. PREGLED DOSADAŠNJIH ISTRAŽIVANJA 3

3. PATOGENEZA 4

4. KALCIJSKI KAMENCI 7

4.1. KALCIJSKI OKSALATI 7

4.1.1. Whewellitni kamenci 8

4.1.1.1. Whewellitni kamenci nastali na papili 8

4.1.1.2. Whewellitni kamenci nastali u šupljini bubrega 10

4.1.2. Weddellitni kamenci 11

4.1.2.1. Weddellitni kamenci nastali na papili 11

4.1.2.2. Weddellitni kamenci nastali u šupljini bubrega 11

4.2. HIDROKSILAPATITNI KAMENCI 12

5. URATNI KAMENCI 14

5.1. KOMPAKTNI KAMENCI 15

5.1.1. Kamenci s kompaktnom unutrašnjosti 15

5.1.2. Kamenci s poroznom unutrašnjosti 15

5.2. POROZNI KAMENCI 16

5.2.1. Kamenci porozne unutrašnjosti 16

5.2.2. Kamenci s dobro razvijenim vanjskim dijelom 17

6. MATERIJALI I METODE 18

6.1. PRETRAŽUJUĆA ELEKTRONSKA MIKROSKOPIJA (SEM) 19

6.2. RENTGENSKA DIFRAKCIJA NA PRAHU (XRD) 20

6.3. IR SPEKTROSKOPIJA 22

7. REZULTATI 25

8. RASPRAVA 48

9. ZAKLJUČAK 53

10. LITERATURA 54

PRILOZI

1. UVOD

U ovom radu bit će opisani organski minerali koji izgrađuju bubrežne kamence (kalcijski oksalati i soli mokraćne kiseline). Provedeno je istraživanje na pet uzoraka bubrežnih kamenaca, prikupljenih s područja Sjeverozapadne Hrvatske i Osijeka. Cilj rada bio je otkriti koje minerale sadrže bubrežni kamenci. Na temelju njihovog sastava može se zaključiti način njihovog nastanka, a kasniije i odgovarajuća terapija potrebna za njihovo liječenje i uklanjanje.

Bubrežni kamenci su nakupine minerala nastale u bubrezima iz prezasićene mokraće. Većina minerala u bubrežnim kamencima ista je po sastavu, strukturi i mehanizmu nastanka kao i onih u prirodi. U mokraći se nalaze tvari-promotori, koje pospješuju nastanak kamenaca. To su: kalcij, oksalatni ioni, fosfatni ioni, urati, natrij (Basavaraj i dr., 2007). Također se nalaze i inhibitori, tvari koje smanjuju mogućnost nastanka kamenaca. Inhibitori su: ukupni volumen mokraće, citrati, pirofosfat, mokraćne makromolekule. Iako se u mokraći nalaze mali kristali, da bi oni kristalizirali u veće-bubrežne kamence, potrebno je nekoliko čimbenika. Mokraća mora biti prezasićena, koncentracija promotora mora biti velika, a inhibitora vrlo mala. Pri normalnim uvjetima koncentracija promotora i inhibitora je u ravnoteži te ne dolazi do stvaranja kamenaca. Bubrežni kamenci se mogu svrstati u četiri osnovne grupe: kalcijski, uratni, struvitni i cistinski (Gibson, 1974).

Kalcijski kamenci su najčešći tipovi i čine 70% do 80% bubrežnih kamenaca (Tazzoli i Domeneghetti, 1980). Sastoje se od kalcijskih oksalata i fosfata. Dva najčešća kalcijska oksalata su whewellit, $CaC_2O_4xH_2O$ i weddellit, $CaC_2O_4x2H_2O$ (Back i Mandarino, 2008). Najčešći kalcijski fosfat je hidroksilapatit, $Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2$ (Back i Mandarino, 2008).

Uratni kamenci čine 13% svih bubrežnih kamenaca (Grases i dr., 2000). Čine ih soli mokraćne kiseline, anhidrat (uricit), $C_5H_4N_4O_3$ (Back i Mandarino, 2008) i dihidrat mokraćne kiseline, $C_5H_4N_4O_3x2H_2O$.

Struvitni kamenci su građeni od magnezijskog amonijevog fosfata, $((NH_4)Mg(PO_4)x6H_2O)$ (Back i Mandarino, 2008). Uz struvit u kamencu se može pojaviti u manjem dijelu apatit koji je po sastavu kalcij fosfat. Najveći su bubrežni kamenci, čine 10% do 15% svih bubrežnih kamenaca i vezani su za infekcije urinarnog sustava (Grases i dr., 1998).

Cistinski kamenci čine mali postotak (1%) svih bubrežnih kamenaca (Coe i Favus, 1991). Cistin je aminokiselina koja je sastavni gradbeni čimbenik mišića, živaca i ostalih dijelova tijela. Ukoliko dođe do nakupljanja cistina u mokraći dolazi do stvaranja kamenaca. Takvi kamenci su zastupljeniji kod osoba koje boluju od cistinurije (genetski poremećaj koji uzrokuje preveliko lučenje cistina u mokraću).

Mineralogija je u medicini važna zbog mineraloških metoda koje se koriste u proučavanju patoloških minerala u ljudskom tijelu. Jedna od najčešćih primjena mineralogije je u proučavanju bubrežnih kamenaca. Neke od metoda su: rentgenska difrakcijska analiza (XRD), polarizacijska mikroskopija, pretraživajuća elektronska mikroskopija (SEM), infracrvena spektroskopija (FT-IR).

2. PREGLED DOSADAŠNJIH ISTRAŽIVANJA

Bergman i Scheele (1800) započinju prva istraživanja na bubrežnim kamencima, otkrivajući uratne kamence (Grases i dr., 2002). J.F. Heller (1860) uvodi kemijske analize, temeljene na boji, tvrdoći i kemijskim reakcijama, koje se smatraju početkom moderne kliničke kemije. Početkom dvadesetog stoljeća glavne analize bubrežnih kamenaca temeljene su na otkrivanju sastava aniona i kationa prisutnih u kamencima. Tek 1950. uočavaju se nedostaci tih analiza. Zbog nemogućnosti otkrivanja teksture i strukture bubrežnih kamenaca važnih u razumijevanju nastanka različitih vrsta kamenaca u analizi kamenaca dolazi do korištenja fizikalnih metoda kao što je rentgenska difrakcija. Prien (1947) u svojim radovima iznosi da je glavni problem u nedostatku osnovnih znanja o sastavu bubrežnih kamenaca u neadekvatnim metodama analiziranja, te pokušava klasificirati bubrežne kamence i ustanoviti odnos imeđu patogeneze, strukture i sastava kamenaca. U tom periodu dolazi do objavljivanja radova s rezultatima istraživanja novih eksperimentalnih saznanja o sastavu i mikromorfologiji kamenaca temeljenih na pretražujućoj elektronskoj mikroskopiji. Frondel i Prien (1947) uvode polarizacijsku mikroskopiju u analitčkoj analizi bubrežnih kamenaca (Basiri i dr., 2012). Jhaummer-Lauloo i Subratty uvode infracrvenu spektroskopiju kao fizikalno kemijsku metodu. Sinhg je u svom radu koristio Fourierovu transformacijsku spektroskpiju te zaključio da je ona vrlo točna i dovoljna u otkrivanju sastava kamenaca. Od 1970.-ih fizikalno kemijske metode (IR i XRD) postaju sve zastupljenije što dovodi do otkrića mnogih kristalnih formi u bubrežnim kamencima. Rebentisch je uvrstio IR spektroskpiju i rentgensku difrakcijsku analizu u referentne metode istraživanja bubrežnih kamenaca jer daju pouzdane analitičke rezultate. Daudon (1993) daje prvu klasifikaciju bubrežnih kamenaca u odnosu na uvjete u urinarnom traktu (Grases i dr., 2002).

3. PATOGENEZA

U procesu stvaranja kamenaca glavnu ulogu imaju tri faktora (Kuzmanić, 1991). To su prezasićenost mokraće, prisutnost inhibitora kristalizacije i retencija kristalnih čestica. Taloženje započinje nukleacijom na nečistoćama ili klicama, te nastajanjem nukleusa (Sikirić, 1998). Slijedi rast nukleusa u kristale koji je ponekad praćen nastajanjem novih sekundarnih nukleusa, zbog čega su u otopini prisutni kristali različitih dimenzija. Kristali mogu postojati u stabilnoj suspenziji ili se mogu koagulirati. Kada kristal naraste dolazi do sedimentacije. To je posljedni stupanj procesa u kojem prestaje rast pojedinačnih čestica. No sistem nije stabilan sve dok se ne istaloži sav suvišak otopljene tvari. U uobičajnim uvjetima mokraća je prezasićena otopina, a ravnoteža se održava pod utjecajem koloida i inhibitora kristalizacije (Kuzmanić,1991). Preduvjet za iniciranje procesa kristalizacije je stupanj saturacije mokraće, mokraća mora biti prezasićena.

Kristalizacija počinje na takozvanoj liniji saturacije, koja je određena molarnim koncentracijama tvari u otopini. Ukoliko stupanj saturacije otopine raste, u jednom trenutku doći će do spontane nukleacije kristala. Ako je otopina nezasićena ne dolazi do kristalizacije. Rastom stupnja saturacije dolazi do nukleacije kristala. Između nezasićene otopine i nukleacije nalazi se metastabilna zona, gdje je otopina prezasićena, ali ne dolazi do nukleacije jer inhibitori onemogućuju nukleaciju. Kalcij, oksalat i fosfat fromiraju mnoge topljive soli međusobno ali i s tvarima iz mokraće, kao što je npr. citrat (Coe i Favus, 1991). Supersaturacija mokraće može se povećati dehidracijom ili povećanim izlučivanjem kalcija, oksalata ili fosfata. Nukleacija je proces nastajanja centara na kojima može doći do spontanog rasta (Sikirić, 1998). Postoje dvije vrste nukleacije: homogena i heterogena. U homogenoj nukleaciji nastaju klasteri. Povećanjem saturacije nastaju veći i brojniji klasteri. Kada su klasteri dovoljno stabilni dolazi do kristalizacije i ispod prvotno potrebne razine supersaturacije. Pravilan rast kristala na površini drugog naziva se epitaksijalni rast, a ukoliko je sjeme nukleacije strana tvar nukleacija je heterogena (Coe i Favus, 1991). U heterogenoj nukleaciji kao centri kristalnog rasta služe nečistoće prisutne u otopini. Ukoliko je strukturno slaganje površine nečistoće s kristalom dobro, međupovršinska energija dviju krutina bit će manja od međupovršinske energije kristal-

otopina, te će do nukleacije doći pri koncentracijama nižim od onih u homogenim otopinama (Sikirić, 1998). Nakon završetka nukleacije slijedi kristali rast.

Kristalni rast je rezultat niza uzastopnih procesa koji se odvijaju u otopini i na površini kristala. Glavni parametri koji određuju brzinu i mehanizam kristalnog rasta su prezasićenje, veličina kristala, dostupna površina i parametri kristalnih ploha. Pri ekstremno malim prezasićenjima rast kristala objašnjava se mehanizmom spontanog rasta. Pri niskim prezasićenjima kristalni rast kontroliran je površinskom nukleacijom, no prelaskom određenog prezasićenja kristalni rast postaje kontroliran transportom materijala. Rast kristala s glatkim plohama započinje nastajanjem nukleusa na kristalnoj plohi. Nastali nukleus se širi plohom sve dok ne nastane monosloj. Za male kristale vrijeme potrebno da se prekrije površina pri niskim prezasićenjima, kraće je od trajanja nukleacije. Zbog toga je nukleacija onaj stupanj koji određuje brzinu rasta, pa se na mehanizam tog rasta mogu primjeniti principi dvodimenzionalne nukleacije. Takav mehanizam kristalnog rasta naziva se mononuklearni rast. Kada se radi o većim kristalima i višim prezasićenjima vrijeme potrebno za nastanak monosloja je usporedivo, ili duže, od vremena nukleacije. Takav mehanizam se naziva polinuklearni rast. Kod takvog rasta površina je uvijek prekrivena nukleusima koji se šire i urastaju jedan u drugi. U oba slučaja postoji nukleacijska barijera koja se definira kao kritično prezasićenje. Dva mehanizma opisuju transport materijala kroz otopinu. To su difuzija i konvekcija. U procesima kontroliranim difuzijom, manji kristali rast će brže pa će čestice nastalog taloga biti približno jednake veličine. Ako se otopljena tvar u otopini nalazi u obliku nekoliko ionskih vrsta koncetracija otopljene tvari bit će suma nekoliko neovisnih parametara.

Nakon kristalnog rasta dolazi do sekundarnih procesa, fizikalnih i kemijskih promjena. Najvažnija su tri procesa: 1) agregacija, 2) Ostwaldovo zrenje i 3) transformacija metastabilnih faza.

1) Agregacija kristala i kristalni rast često se odvijaju oko organskog matriksa, bakterija, proteina, oštećenog epitela ili celularnog detritusa. Posljedica agregacije čestica su smanjenje njihovog broja i stvaranje čestica većih dimenzija.

2) Dvofazni sistem koji se sastoji od polidisperznog taloga u dodiru s matičnicom je termodinamički nestabilan zbog velike međupovršine. Smanjenje energije postiže se

otapanjem malih čestica i rastom većih sve dok ne nastanu samo veliki kristali. Dijelovi kristala velike energije (bridovi, uglovi, dendritni ogranci) će se prefercijalno otopiti, a višak otopljene tvari istaložit će se na mjestima manje energije (stepenice, dislokacije). Ta pojava zove se Ostwaldovo zrenje (Sikirić, 1998).

3) Kada u taložnom procesu nastaje nekoliko faza, prva se taloži faza najveće topljivosti. Faza s najnižom međupovršinskom energijom nukleirat će prva iz prezasićene otopine. Starenjem u matičnici metastabilne faze se otapaju, a taloži se slijedeća termodinamički stabilnija faza. Nukleacija sekundarnog taloga je heterogena. Amorfni talozi su podložni unutarnjim preuređivanjima (dehidratacija, uređivanje kristalne strukture) prije nego što postanu heteronukleusi sekundarnog taloženja (Sikirić, 1998).

Inhibitori sprečavaju agregaciju i rast kristala tako što se adsorbiraju na površinu kristala (Kuzmanić, 1991). Inhibitori su citrati, pirofosfati, magnezij, cink i dijelovi RNK. Oštećenja epitela na koja se zalijepi kristal, na vršcima papila, dovode do zadržavanja kristala i njegovog potpunog rasta. Poremećaj ravnoteže faktora koji određuju aktivnost inhbitora, to jest stupanj zasićenja mokraće, određuje procese koji dovode do stvaranja kamenaca. Povećano izlučivanje kalcija, mokraćne kiseline, oksalata ili cistina, uz smanjenu aktivnost inhibitora (magnezija, cinka, citrata, pirofosfata) pospješuje proces kristalizacije i stvaranje kamenaca.

4. KALCIJSKI KAMENCI

Kalcijski kamenci su najčešći tipovi i čine 70% do 80% bubrežnih kamenaca (Tazzoli & Domeneghetti, 1980). Sastoje se od kalcijskih oksalata i fosfata. Kalcij je glavni sastojak kosti i mišića. Onaj kalcij koji ne ulazi u sastav mišića i kosti odlazi u bubrege gdje, ako nije izlučen s ostalim sastojcima, čini bubrežne kamence.

4.1. KALCIJSKI OKSALATI

Kalcijski oksalati se u prirodi pojavljuju u tkivima biljaka, sedimentima organskog porijekla i u 70% bubrežnih kamenaca (Sikirić, 1998). Kalcijski oksalati kristaliziraju u tri forme: monohidrat (whewellit), dihidrat (weddellit) i trihidrat (caoxit). Caoxit ne dolazi u kamencima jer je za njegov nastanak potrebna vrlo niska temperatura (Grases i dr., 1990). Whewellit i weddellit su dva najčešća kalcijska oksalata u bubrežnim kamencima. Whewellit je češći kod pacijenata s normalnim izlučivanjem kalcija i manjkom inhibitora, dok se weddellit javlja u uvjetima većeg izlučivanja kalcija, normalnog izlučivanja citrata i pri pH većim od šest (Grases i dr., 1998).

Whewellit, $CaC_2O_4xH_2O$ je kalcijski oksalat monohidrat, monoklinskog sustava (Echigo i dr., 2005). Rijeđe su prisutni kristali, a češće je to kristalinični agregat smeđe do zelenkaste boje. Boja će ovisiti o različitim količinama organske tvari (npr. krv) uklopljene u bubrežni kamenac. U bubrežnim kamencima može formirati dva tipa kamenca. Ako je formiran u bubrežnoj papili, sastoji se od male jezgre koju čine apatit, brushit ($CaHPO_4x2H_2O$) i whitlockit ($Ca_9Mg(PO_3OH)(PO_4)_6$) (Back i Mandarino, 2008). Drugi tip koji ne nastaje u papili također može imati jezgru, ali je ona izgrađena od apatita. Oba tipa su izgrađena koncentrično oko jezgre.

Weddellit, $CaC_2O_4x2H_2O$ je kalcijski oksalat dihidrat, tetragonskog sustava (Echigo i dr., 2005). Za razliku od whewellita dolazi u kristalnom obliku. Najčešće dolazi u formama tetragonskih dipiramida i prizmi. Boje mu variraju od žućkasto-bijele do prozirne ovisno o udjelu organske materije. Kod weddellita je prisutan ciklički rast koji je vidljiv po drugačijoj boji i poziciji mlađih kristala.

Pseudomorfizam

Parcijalnom dehidratacijom weddellita mogu nastati zrnaste, hrapave prizme whewellita (Gibson, 1974). Kristali su bezbojni, žuto-zeleni i smeđi. Pseudomorfoza kristala weddellita započinje u jezgri i nastavlja se prema površini čineći ih sitnozrnatima. Površina kristala ostaje netaknuta zbog kontakta s otpinom (urinom) u kojoj su uvjeti za nastanak weddellita stabilni.

4.1.1. Whewellitni kamenci

Whewellitni kamenci se dijele u dvije grupe: whewellitni kamenci nastali na papili i whewellitni kamenci nastali u šupljini bubrega (Grases i dr., 1998). Ovisno o prezasićenjima whewellitni kamenci se talože u tri morfološka oblika. Pločice ukoliko je prezasićenje nisko, dendriti ukoliko je prezasićenje srednje i mikrokristalinični agregati ukoliko je prezasićenje visoko (Sikirić, 1998).

4.1.1.1. Whewellitni kamenci nastali na papili

Karakterističan kamenac nastao na papili sastoji se od jezgre, zrakasto posloženih kristala u središnjem dijelu i koncentričnih lamina koje čine vanjski rub (Grases i dr., 1998). Detaljnijim pregledom kristala otkriveno je da se radi o izduženim kristalima složenih u ploče okomito na površinu jezgre. Izduženi kristali se svakih 100 mikrometara nalaze u izmjeni s organskom materijom. Upravo zbog tih izmjena lamine se vide makroskopski i

glavno su obilježje whewellitnih kamenaca. Veći kamenci sadrže i više jezgri, no jedna jezgra se uvijek nalazi u blizini spajanja s papilom. To je primarna jezgra na kojoj počinje prvotna kristalizacija. Mogu se razlikovati četiri tipa različite strukture prve jezgre.

Prvi tip je sferična do ovalna jezgra ispunjena nasumično raspoređenim kristalima whewellita. Kristali tvore kompleksan uzorak zbog sraštanja i međusobnog uraštanja. Prema površini jezgre kristali postaju sve gušći. Fragmenti organske materije vidljivi su po površini kristala.

Drugi tip jezgre sastoji se većinom od organske tvari.

Treći tip jezgre sastoji se od tankog sloja kristala hidroksilapatita, na kojem kristaliziraju izduženi kristali whewellita koji su okomiti na jezgru.

Četvrti tip je sferična do ovalna jezgra ispunjena sferulicama hidroksilapatita i fragmenata organske tvari.

Nastanak jezgre glavni je dio kristalizacije whewellitnih kamenaca. Jezgra služi kao supstrat na kojem će kristalizirati izduženi kristali koji čine središnji sloj kamenca. Nastanak kamenaca objašnjava se 'mahaničkom' teorijom. Zadržavanje čestice u bubregu neophodno je za nastanak kamenca. Novi kristali nastaju na toj čestici, u kontaktu s urinom prezasićenim na kalcijski oksalat. Čestica zaostala u bubregu služi kao susptrat za nastanak kristalične konkrecije, kamenca, te se može smatrati jezgrom kamenca. Te su čestice pričvršćene za oštećeni epitel papile. Nastanak jezgre započinje nastankom rastresitog sloja sastavljenog od uraslih i međusobno sraslih kristala, na oštećenom tkivu papile. Povećani nastanak kristala i organske tvari na površini jezgre sprječava daljnji rast kamenca, te dolazi do nastanka sloja izduženih kristala. Na takav način nastaje prvi tip jezgre. Različitim patološkim procesima nastaje smjesa proteina i organske tvari, koja se prilijepi za papilu. To je preduvjet za nastanak drugog tipa jezgre. Iako su proteini i organska tvar dobar supstrat za kristalizaciju whewellita, do kristalizacije dolazi tek kada se ustabile uvjeti rasta smjese. Ukoliko se smjesa nastavi povećavati whewellitne jezgre će se raspasti prije nego što dođe do nastanka većih kristala. Treći tip jezgre nastaje kada se mineralizirani dio oštećene papile prekrije organskom tvari, koja služi kao supstrat za kristalizaciju kristala whewellita. Četvrti tip jezgre nastaje promjenam na papili u

kombinaciji s uvjetima u urinu (pH vrijednost urina veća od šest, smanjeno izlučivanje magnezija u urinu), što dovodi do kristalizacije hidroskilapatita koji služi kao susptrat za nastanak kristala whewellita.

4.1.1.2. Whewellitni kamenci nastali u šupljini bubrega

Kamenci ovog tipa mogu se podijeliti u dva podtipa. Prvi podtip su kamenci čija je struktura slična stijenama nastalih sedimentacijom (Grases i dr., 1998). Po površini sadrže mnoge šupljine ispunjenje sferulicama hidroksilapatita. Veće šupljine sadrže sferule s vlastitom jezgrom, ispunjenu kristalima whewellita, veličine do 50 mikrometara. Oko jezgre se nalazi sloj zrakasto izduženih kristala. Sferule nastaju na površini već nastalog kamenca. Za nastanak kamenaca ovog podtipa bitne su morfološke karakteristike bubrega, šupljine bubrega moraju biti vrlo uske ili bez stalnog dotoka urina. Prvi korak u nastanku kamenca je sedimentacija čestica u šupljini bubrega, nakon koje slijedi kristalizacije na već stvorenom kamencu.

Drugi podtip sadrži jezgru iz koje kasnije nastaje kamenac. Izduženi kristali whewellita koji potječu iz jezgre, čine unutrašnjost kamenca. Jezgru čine sferični ili planarni kristala hidroksilapatita ili organske tvari. Okomito na jezgru pružaju se izduženi kristali whewellita. Taloženje organske tvari ili nastanak hidroskilapatita prvi su korak u nastanku ovog podtipa. Ukoliko se početna čestica zadrži u šupljini mogu nastati izduženi kristali whewellita.

Razlika u morfologiji ovih kamenaca je u mjestu nastanka. Prvi podtip nastaje u vrlo uskim šupljinama s vrlo slabim dotokom urina, dok drugi podtip nastaje u otvorenoj šupljini sa stalnim dotokom urina i slobodnim prostorom za pomicanje.

4.1.2. Weddellitni kamenci

Weddellitni kamenci dijele se na kamence nastale na papili i one nastale u šupljini (Grases i dr., 1998). Weddellit je termodinamički nestabilna faza kalcijskog oksalata i u kontaktu s otopinom prelazi u stabilnu fazu, whewellit. Transformacija se može vrlo lako prepoznati po tipičnom uzorku na plohama kristala ili po šupljinama trokutaste forme ispunjene kristalima whewellita. Da bi kristali weddellita kristalizirali potrebni su određeni kinetički uvjeti: visok omjer Ca^{2+}/oksalat, prisustvo citrata i koloida kalcijskog fosfata pri pH većim od šest. Nastajanje weddellita pri ovim kinetičkim uvjetima povoljnije je nego nastajanje whewellita.

4.1.2.1. Weddellitni kamenci nastali na papili

Na ovim kamencima jasno je uočljivo mjesto spajanja na papilu. Mjesto spajanja čini mala jezgrica whewellita ili naslage hidroksilapatita, na koje se talože veliki piramidalni kristali weddellita, tvoreći agregate i sraslace (Grases i dr., 1998). Nastanak kamenca ovisan je o povoljnim uvjetima u urinu (visok udio kalcija u urinu, prisutnost citrata i pH veći od šest).

4.1.2.2. Weddellitni kamenci nastali u šupljini bubrega

Ovu grupu kamenaca možemo podijeliti u dvije podgrupe, IIa i IIb. IIa kamenci sastoje se od piramidalnih kristala weddellita i kristala whewellita koji su nastali transformacijom weddellita (Grases i dr., 1998). Kamenci mogu sadržavati i male količine hidroksilapatita. Za nastanak kamenaca šupljine bubrega trebaju imati vrlo slabu urološku aktivnost. Taloženje organskih čestica ili hidroksilapatita poticat će nastanak weddellita. Količina kalcijskih oksalata monohidrata ovisit će o vremenu u kojem je kamenac proveo u tijelu.

IIb kamenci sastoje se od kristala weddellita, kristala whewellita nastalih tranformcijom weddellita i velikih količina hidroksilapatita, tvoreći dobro diferencirane slojeve. Bolesnici koji boluju od hiperkalciurije, pate od ovog oblika kamenca. Za nastanak kamenaca

potrebna je slaba urološka aktivnost. Taloženje hidroksilapatita pri pH većim od šest, inducira i nastanak weddellita. Dobro diferencirani slojevi hidroksilapatita i weddellita predstavljaju sezonske promjene nastale zbog drugačijeg sastava urina uzrokovane promjenama u prehrani.

4.2. HIDROKSILAPATITNI KAMENCI

Iako hidroksilapatit pripada u grupu fosfatnih minerala koji izgrađuju kamence, potrebno ga je opisati zbog njegove česte asocijacije s kalcijskim oksalatima u bubrežnim kamencima. U bubrežnim kamencima razlikujemo nekoliko kalcijskih fosfata. To su hidroksilapatit, $Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2$, brushit, ($CaHPO_4x2H_2O$) i whitlockit, ($Ca_9Mg(PO_3OH)(PO_4)_6$), trikalcij fosfat (Back i Mandarino, 2008). Brushit je termodinamički stabilna faza pri pH uvjetima manjim od pet dok je hidroksilapatit stabilan pri uvjetima većim od pet. Magnezij je inhibitor nastanka hidroksilapatita (Sikirić, 1998).

Unutrašnjost kamenaca sastoji se od slojeva amorfne strukture, nazvane aspidinska struktura hidroksilapatita (Grases i dr., 1998). Slojevi aspidinske strukture građeni su od malih sferula, veličine 0.1 mikrometara. Sferule hidroksilapatita, ispunjene su amorfnim materijalom i sadrže male kristale na površini, veličine od 5 do 10 mikrometara ili ih čine slojevi malih kristala koji okružuju šupljine. U šupljinama kamenca javljaju se zasebno ili u nakupinama veličine do 50 mikometara. Ponekad je moguće uočiti sferule veličine i do 100 mikrometara u masi kamenca. Te sferule sastoje se od koncentričnih lamina aspidinske strukture, nastale su posebno u bubregu te kasnije pripojene kamencu. Kamenci građeni od kalcijskog fosfata uvijek imaju šuplju unutrašnjost. Za nastanak hidroksilapatitnih kamenaca moraju biti zadovoljeni određeni uvjeti u urinu (pH oko sedam, niska koncentracija magnezija). Veličina kamenaca, zaobljenost i šuplja unutrašnjost, ukazuju na nastanak kamenca u ograničenom prostoru sa slabom urološkom aktivnošću. Kamenci nastaju u maloj šupljini s okruglim dnom. Šupljina je u većini vremena ispunjena otopinom. Ukoliko kraj šupljine prođe tok male brzine, otopina u šupljini počne se rotirati i nastaje vrtlog. Upravo zbog vrtloga čestice taložene po šupljini

ili oko centra kamenca pokazuju koncetričnu laminaciju. Starenjem kamenca laminacija poprima oblik aspidinske strukture. Kada kamenac ispunjava cijelu šupljinu ili zaklanja otvor šupljine bubrega prestaje njegov rast. No, njegov centar je i dalje ispunjen otopinom iz koje se talože čestice. Ukoliko se takav kamenac osuši, unutrašnjost ostaje šuplja.

5. URATNI KAMENCI

Uratni kamenci čine 13% svih bubrežnih kamenaca. Iako se radi o dostatnom postotku nije im dana pažnja kao kalcijskim oksalatima i fosfatima. Mogući razlog tome je što se takvi kamenci mogu lako liječiti. Drugi razlog je taj što mokraćna kiselina kristalizira kao uricit ($C_5H_4N_4O_3$), dihidrat ($C_5H_4N_4O_3x2H_2O$) ili kao mješavina obje modifikacije, a dihidrat brzo transformira, odnosno prelazi u uricit. Ovi čimbenici čine analizu uratnih kamenaca i njihovog nastanka vrlo zahtjevnom (Nasir, 1999). Različiti uvjeti kristalizacije uvjetuju različite grupe uratnih kamenaca. Većina se sastoji od uricita, no 20% sadrži velike količine dihidrata, a 3% uratnih kamenaca sastoji se od dihidrata koji čini 95% kamenca (Grases i dr., 2000). Za one kamence koji se sastoje od uricita ne zna se je li uricit nastao prijelazom iz dihidrata ili je uricit nastao primarno. Vjeruje se da je mehanizam nastanka ovih kamenaca sličan nastanku kalcijskih kamenaca, odnosno nastanku uratnih kamenaca može pogodovati nastanak whewellitne jezgre, na kojoj će rasti i istaložiti se uratni kamenac. Uratni kamenci mogu se podijeliti u dvije grupe s obzirom na strukturu. Dijele se na kompaktne i porozne kamence. (Grases i dr., 2000).

Uricit

Uricit je anhidrat mokraćne kiseline, formule $C_5H_4N_4O_3$ (Back i Mandarino, 2008). Kristalizira u monoklinskom sustavu, u klasi 2/*m*. Tvrdoća mu je 1-2. Boja mu je bijela isto kao i crt (Afaj i Sultan, 2005).

Rijedak je organski mineral, prvi put opisan 1973. godine, u sastavu guana. Tipski lokalitete je špilja Ding Donga u Australiji. Ime je dobio po svom sastavu, mokraćnoj kiselini. Pojavljuje se uz brushit, biphosphammit, syngenit (Bridge, 1974).

Sastavni je dio urata koji ulaze u sastav bubrežnih kamenaca. Minerali uricita u kamencima su mali, okrugli i često sferoidalnog oblika. Zrna su prizmatskog oblika, a rubovi pokazuju tanku zrakastu laminaciju, žućkaste do smeđe boje (Nasir, 1999).

5.1. KOMPAKTNI KAMENCI

Ovaj tip kamenca nastao je kristalizacijom čestica mokraćne kiseline i uključuje male i velike čestice taložene iz urina. S obzirom na jezgru i unutarnju građu urolita mogu se podijeliti u dvije podgrupe (Grases i dr., 2000).

5.1.1. Kamenci s kompaktnom unutrašnjosti

Kamenci kristaliziraju oko jezgre smještene u središtu ili na površini kamenca. Središnja jezgra sastoji se od nekoliko dobro razvijenih i slabo povezanih kristala uricita ili malih konkrecija whewellita. Kompaktna unutrašnjost formirana je od naizgled cilindričnih kristala koji se radijalno šire prema rubu kamenca. Cilindrični kristali su pločasti i povezani. Često je vidljiva i koncentrična ili ovalna laminacija (Grases i dr., 1998). Granice između cilindričnih slojeva čine neorijentirani kristalići uricita. Kamenci su pretežno izgrađeni od uricita koji je kristalizirao direktno iz urina, nije nastao transformacijom iz dihidrata. Takvi kamenci imaju oblik oblutka i veličine su do nekoliko milimetara. Površina im je glatka i često su prekriveni organskom tvari (Grases i dr., 2000).

5.1.2. Kamenci s poroznom unutrašnjosti

Jezgra ovih kamenaca sastoji se od velikih, nepovezanih i bez reda posloženih kristala uricita. Porozna unutrašnjost sastoji se od malih kristalića uricita koji potječu od jezgre. Unutrašnjost se sastoji od gusto i rijetko zapakiranih slojeva koji pokazuju koncentričnu laminaciju. Uočeni su pojedinačni kristali dihidrata i uricita. Organska tvar je prisutna u većoj količini nego kod prvog tipa (Grases i dr, 2000).

Kamenci prvog tipa nastaju na jezgri koja se sastoji ili od nekoliko velikih kristala uricita ili malih konkrecija whewellita. Jezgra se nalazi u šupljini bubrega i nalazi se u stalnom kontaktu s urinom. Na jezgri, koja je u stalnom kontaktu s urinom superzasićenoj s uricitom i nezasićenoj dihidratom, počinje kristalizirati sloj uricita. Cilindrični kristali koji

čine vanjski sloj nalaze se i u unutrašnjosti kamenca. Takvi kristali upućuju na uvjete niske prezasićenosti tokom stvaranja kamenca i sporu kristalizaciju. Međutim, periodične pojave koncentičnih laminacija neorijentiranih kristalića ukazuju na povremene epizode povećanja zasićenosti. Dulji periodi veće prezasićenosti doveli bi do nastanka novih kristala uricita i dihidrata, što bi uzrokovalo raspad cilindrične strukture. Unutrašnjost takvih kamenca sastoji se od malih neposloženih kristalića. Kamenac u nastajanju nije vezan za šupljinu te se nalazi u konstantnom pokretu i u prezasićenoj mokraći sa dovoljno materijala za rast. Takvi uvjeti dovode do nastanka okruglog kamenca s jezgrom u središtu (Grases i dr., 1998).

5.2. POROZNI KAMENCI

Prilikom nastanka ovakvog tipa kamenaca, uz sedimentaciju važnu ulogu ima i kristalizacija. S obzirom na strukturu vanjskog dijela mogu se podijeliti u dvije grupe.

5.2.1. Kamenci porozne unutrašnjosti

Kamenci nastaju od materijala organskog podrijetla i porozne su unutrašnjosti. Sastoje se od kristala uricita i whewellita karakterističnih oblika i veličina te od manjih kristalnih dijelova nasumično rasprostranjenih u unutrašnjosti (Grases i dr., 1998). Vanjski rub sastoji se od tankog, kompaktnog sloja kristalnog materijala. Taj sloj formira glatku površinu donjeg dijela i rubova kamenca. Tanji kristalinični sloj formira gornju nepravilnu površinu, s čestom pojavom sferula. Vanjski sloj koji okružuje kamenac i unutrašnjost sastoji se od većih čestica koje su nastale sekundarnim rastom prvotno malih kristalića taloženih iz urina. Sastavni dio ovih kamenaca je uricit koji dolazi zajedno s kristalima whewellita koji je rasprostranjen u masi samog kamenca, te većih blokova dihidrata koji je kasnije prešao u uricit, što je vidljivo po paralelnim i longitudinalnim pukotinama. Postoji i

mogućnost modifikacije ovog tipa kamenca gdje nedostaje tanki vanjski sloj, i postoji veća koncentracija organske tvari (Grases i dr., 1998).

5.2.2. Kamenci s dobro razvijenim vanjskim dijelom

Drugi tip kamenca sastoji se od dobro razvijenog vanjskog sloja kamenca, sastavljen od velikih blokova dihidrata, koji je prešao u uricit, što je vidljivo po pukotinama u kristalnoj masi. Ovaj sloj stvara takozvani omotač, koji je ili prazan ili ispunjen raznim česticama (kristali, ostaci organske materije) taloženim iz mokraće tokom nastanka kamenca. Kristalne čestice ovog tipa kamenca nastaju naknadnim taloženjem, na što ukazuje njihova veličina koja ne može biti dosegnuta u kratkom periodu kontakta s mokraćom u bubregu (Grases i dr., 1998).

Kamenci drugog tipa imaju složeniju građu. Složenost uzrokuju tri procesa: rast kristala, sedimentacija i trasformacije u otopini. Porozni kamenci nastaju stvaranjem kristalića uricita ili dihidrata u zatvorenoj šupljini bubrega. Kristali uricita nalaze se na dnu šupljine bubrega dok kristali dihidrata ispunjavaju cijelu šupljinu. Kristali mokraćne kiseline, kalcijskih oksalata ili ostaci organske materije talože se u povoljnim uvjetima u šupljini. Dihidrat, ukoliko se nalazi u kontaktu s urinom dulji period, prelazi u kristale uricita. Unutrašnjost ovakvih kamenaca ispunjena je mješavinom kristala uricita, whewellita i organske tvari. Unutrašnjost je porozna i minerali su nasumično razmješteni zbog kaotičnog načina nastanka. Kada se šupljina ispuni s materijalom dolazi do nastanka ovojnice i prestaje rast kamenca, no moguć je sekundaran rast nodulica na površini kamenca (Grases i dr., 1998).

6. MATERIJALI I METODE

Analizirano je pet uzoraka s područja Sjeverozapadne Hrvatske i Osijeka. Uzorci su dimenzija od nekoliko milimetara do nekoliko centimetara, s vidljivim kristalima po površini. Uzorci s područja Sjeverozapadne Hrvatske označeni su slovom K i pripadajućom brojkom, dok su uzorci iz Osijeka označeni oznakom OS i pripadajućom brojkom. Za proučavanje morfologije korišteni su svjetlosni mikroskop i SEM, a za kemijski sastav rentgenska analiza i IR spektroskopija.

U Tablici 1 nalazi se popis svih uzoraka i njihovih karakteristika vidljivih makroskopski.

Tablica 1. Popis uzoraka i njihovih karakteristika.

UZORAK	SASTAV	VELIČINA	BOJA	ODREĐENE KARAKTERISTIKE
K2	Uricit Dihidrat urične kiseline	3 mm	Žućkasto do bijela	Sitni kristali
K4	Whewellit Weddellit	6.5 mm	Bijela do smeđa	Piramidalni kristali weddellita i sferulit whewellita
K8	Cholesten	5.5 cm	Sivo- bijela do smeđa	Sferule po površini, zrakasti kristali na jednoj strani kamenca
OS4	Whewellit Hidroksilapatit Whitlockit	Razmrvljeni, promatrani uzorak 7mm	Bijela	Lamine po rubu, sitni kristali po unutrašnjosti
OS9	Whewellit hidroksilapatit	1.5 cm	Bijelo-žuta do smeđa	Kristali whewellita,praškasti hidroksilapatit, lupinasta građa

6.1. PRETRAŽUJUĆA ELEKTRONSKA MIKROSKOPIJA (SEM)

Pretražujuća elektronska mikroskopija (SEM) je najviše korištena metoda u karakterizaciji morfologije materijala. SEM je precizan za istraživanje morfologije bubrežnih kamenaca jer SEM uređaji rade na povećanjima od 10 do preko 500 000 puta, što omogućuje istraživanje vrlo sitnih struktura. Osim što je vidljiva površina samih kristala, SEM nam omogućuje i uvid u različite faze kamenaca te su vidljive strukture, to jest minerali koji nisu otkriveni drugim metodama (Giannossi i Summa, 2012). Istraživani uzorak promatra se pomoću snopa elektrona. SEM je nedestruktivna metoda koja producira slike visoke rezolucije (Basiri i dr., 2012).

SEM stvara snop elektrona fokusiranih u točku (spot) promjera oko 5 milimetara, energije od 100 do 30 keV. Ukoliko dođe do neelastičnog sudara elektrona iz snopa i uzorka dolazi do izbijanja elektrona iz elektronskog omotača atoma uzorka (Plodinec, 2014). Ti se elektroni nazivaju sekundarni elektroni (SE), najlakše se detektiraju i malih su energija (< 50 keV). SEI detektor prikazuje površinu uzorka u visokoj rezoluciji, što ga čini vrlo pogodnim za proučavanje morfologije. Pri sudarima elektrona s atomskom jezgrom atoma koji grade uzorak, može doći do odbijanja elektona iz elektronskog snopa. Te elastično odbijene elektrone nazivamo elektroni povratnog raspršenja (BSE, Back Scatter Electrons). BSE detektor prikazuje uzorak u nijansama sive boje koje odgovaraju atomskim težinama atoma koji izgrađuju uzorak. Kemijski elementi različitog atomskog broja uzrokuju različiti kontrast na detektoru. BSE detektor koristi se za proučavanje razlika kemijskog sastava uzorka, smanjuje efekte izazvane nakupljanjem elektrona na površini uzorka (nabijanje), pa se s njim mogu snimati i uzorci koji nisu električki vodljivi. Uzorke koji nisu električki vodljivi možemo montirati na nosače te ih presvući s tankim slojem metala ili ugljika. Tipični SEM sastoji se od volframske katode. Volfram je pogodan jer ima najvišu točku taljenja od svih metala, što mu omogućuje zagrijavanje tako da emitira elektrone. Snop elektrona ima energiju 0,3 do 40 keV te se fokusira pomoću kondenzorske leće. Nakon toga fokusirani snop prolazi kroz skenirajuće zavojnice koje ga otklanjaju u x i y smjeru od osi tako da skenira duž kvadratnog područja uzorka. Međudjelovanjem elektrona iz primarnog snopa i molekula uzorka stvara se signal, koji se detektira tvoreći sliku na video ekranu.

Svi uzorci snimljeni su na Geološkom odsjeku Prirodoslovno-matematičkog fakulteta u Zagrebu.

6.2. RENTGENSKA DIFRAKCIJA NA PRAHU (XRD)

Rentgenska difrakcija na prahu je najprikladnija metoda za detektiranje mineralnog sastava. Upravo zbog razlikovanja različitih mineralnih sastojaka u mješavini smatra se najboljom metodom za analizu kemijskog sastava bubrežnih kamenaca (Giannossi i Summa, 2012). Rentgenska analiza ima prednosti u pouzdanosti i točnosti kvalitativne i kvantitativne analize. Sve kristalne strukture su jedinstvene i imaju jedinstvene difrakcijske difraktograme. Mineralni sastojci u bubrežnim kamencima često imaju vrlo slične kemijske značajke te ih je teško razlikovati, zato je u nekim slučajevima rentgenska analiza potrebnija od drugih metoda.

Rentgenske zrake su elektromagnetski valovi i nosioci su promjenljivog elektromagnetskog polja. Ako se elektron nađe na putu takvog elektromagnetskog vala on je pobuđen na vibracije i postaje izvor elektromagnetskog vala iste frekvencije i valne duljine (Lužaić, 2007). Kada snop rentgenskih zraka padne na uzorak dio zraka prolazi, dio se apsorbira, a dio se raspršuje na elektronskom omotaču svakog atoma uzorak te nastaju različite linije karakterističnog valnog zračenja, K_α i K_β. S α se označavaju linije iz podserije u kojoj su najjače linije, s β linije iz slijedeće podserije na primjer CuK_α. Difrakcija rentgenskih zraka posljedica je refleksije snopa i interferencije s ekvidistantnim plohama kristalne rešetke. Do pojačanja amplitude reflektiranih rentgenskih zraka s ekvidistantnih ploha doći će ako jedna zraka zaostaje za drugom za cjelobrojni umnožak valne duljine, što je definirano Bragg-ovim zakonom: $n\lambda = 2d \sin\theta$, gdje je:

θ - kut kojim treba ozračiti uzorak da bi došlo do konstruktivne interferencije

λ - valna duljina primjenjenog zračenja (CuK_α zračenje ima valnu duljinu od 1,5045 Å)

d - razmak između ekvidistantnih ravnina kristalne rešetke

Poznavajući vrijednosti λ i θ može se pomoću ove jednadžbe odrediti *d*. Rezultat analize je rentgenogram iz kojeg se prema visini i položaju pikova mogu kvalitativno i kvantitativno

odrediti mineralne faze u uzorku. Dvije različite kristalne tvari, zbog različitog rasporeda i vrste atoma, nikada neće dati istu rentgensku sliku. Za razliku od njih isti mineral uvijek daje istu sliku. Za identifikaciju nepoznatog spoja koristi se Hanawalt sustav u kojem su kristalni spojevi svrstani u skupine po razmaku *d* najjačeg intenziteta. Iz difraktograma se najprije odrede kutevi θ a zatim se preko Bragg-ovog zakona izračunaju međumrežne udaljenosti *d*. Vrijednosti međumrežne udaljenosti se uspoređuju za 3 pika najjačeg intenziteta, te se na taj način dolazi do naziva i kemijske formule spoja, kao i broja kartice. Kartica sadrži sve *d* vrijednosti tog spoja, Müllerove indekse *h*, *k* i *l*, te parametre jedinične ćelije. Na taj način doznajemo nepoznati spoj.

Uzorci su analizirani na Mineraloško petrografskom zavodu Prirodoslovno-matematičkog fakulteta u Zagrebu. Korišten je uređaj Phillips X'Pert Pro za rentgensku difrakciju na prahu. Korištena je bakrena anoda Cu *K*α (*λ* = 1.54178 Å) pri naponu od 40 kV i jakosti struje od 40 mA.

6.3. IR SPEKTROSKOPIJA

IR spektroskopija korisna je tehnika za identifikaciju organskih i anorganskih tvari. Na određenim valnim brojevima javljaju se vrpce karakteristične za određeni spoj koji se nalazi u kamencima, te zbog toga IR spektroskopija ima najveću primjenu u istraživanju bubrežnih kamenaca (Giannossi i Summa, 2012).

Infracrveno zračenje je elektromagnetsko zračenje valnih duljina od 0.7 do 500 μm. Nalazi se između vidljivog i mikrovalnog zračenja. IR zračenje možemo podijeliti na tri dijela: blisko, srednje i daleko (Tablica 1). U području bliskog infracrvenog zračenja (I) događaju se elektronski prijelazi nižih energija kao i neke promjene u vibracijskim, odnosno rotacijskim razinama molekula. Srednje područje infracrvenog zračenja (II) je ono u kojem se uglavnom nalaze vibracijsko-rotacijske promjene većine molekula, pa je to područje od posebne važnosti. Ovo područje se također najviše koristi u kemijskim analizama. U području dalekog infracrvenog zračenja (III) opažaju se mnoge čiste promjene u rotacijskim razinama u molekuli, za razliku od bliskog i srednjeg, gdje se promjene vibracijskih razina superponiraju s promjenama u rotacijskim razinama.

Tablica 2. Područje infracrvenog zračenja

Blisko (I)	0.7 μm–2.8 μm	14 000 cm^{-1}–3600 cm^{-1}
Srednje (II)	2.8 μm–50 μm	3600 cm^{-1}–200 cm^{-1}
Daleko (III)	50 μm-500 μm	200 cm^{-1}–20 cm^{-1}

IR spektri imaju veliki značaj jer omogućuju detekciju funkcionalnih skupina i identifikaciju organskog spoja u cjelini. Određene skupine atoma adsorbiraju energiju te nastaju vrpce na istim frekvencijama. Identifikacija nepoznatog spoja bazirana je na postojanju područja u spektru koje se naziva 'otisak prsta' (finger print region). Svaki organski spoj ima karakterističan spektar u tom području koji ne pokazuje ni jedna druga tvar. Uzorak stavljen u spektrofotometar izloži se kontinuiranom infracrvenom zračenju . Do adsorpcije

dolazi kada upadno zračenje odgovara energiji određene molekulske vibracije. Bilježe se područja koja odgovaraju vibracijama istezanja i savijanja u molekuli. Položaj apsorpcijske vrpce u infracrvenom spektru neke molekule ovisi o više čimbenika. To su relativne mase atoma, polarnost same molekule, jakosti veze među atomima i dr., a moguće su i dodatne interakcije između vibracija unutar iste molekule. Valni broj proporcionalan je energiji, nalazi se na osi x, a najviše energije vibriranja nalaze se na lijevoj strani spektra. Postotak transmitancije nalazi se na osi y. Valni broj daje informacije o funkcionalnim skupinama u molekuli. Spektar se analizira pomoću tablica koje sadrže frekvencije određenih funkcionalnih skupina. Dva različita pristupa koriste se u IR spektroskopiji. Direktna IR transmisija, u kojoj se uzorak miješa s kalijevim bromidom i slaže u oblik pastile, i prigušena totalna refleksija (ATR).

Priprema KBr-pastile je najjednostavnija tehnika pripreme krutog uzorka za snimanje spektra (Madejová i Komadel, 2001). Uzorak se usitni u ahatnom tarioniku, pomiješa sa suhim kalijevim bromidom u homogenu smjesu i preša u hidrauličkoj preši u oblik pastile (vrlo tanke pločice). Preporučljivo je uzeti oko 1 mg uzorka na 100 mg KBr za molekulske težine do 200. S porastom molekulske težine količina se proporcionalno povećava. Pastila se stavi u odgovarajući nosač spektrofotometra te potom snimi spektar. Dobiveni spektar u pravilu mora odgovarati analiziranoj tvari. Ako ne odgovara u potpunosti, to može biti posljedica polimorfije ili promjene uslijed velikog pritiska, odnosno reakcije s kalijevim bromidom prilikom prešanja.

ATR tehnika (Attenuated total reflection) omogućuje stvaranje mape i dubine profila raspodjele funkcionalnih grupa preko površine ili na udaljenosti od površine u masi uzorka (Madejová i Komadel, 2001). U karakterizaciji područja površine u istraživanjima koja su obično povezana s adhezijom potrebni su eksperimenti koji uključuju refleksiju. Refleksijska infracrvena spektroskopija površine može se provesti primjenom prigušene unutarnje refleksije (ATR) kada je uzorak relativno mekan materijal s niskim indeksom loma. Priprema uzorka je vrlo laka i nije potrebno miješanje s kalijevim bromidom. Uzorak se stavlja u bliski kontakt s prizmom materijala (Ge, silicij) s relativno visokim indeksom loma, a infracrveno zračenje se reflektira od međupovršine prizma/uzorak. Na valnoj duljini na kojoj uzorak apsorbira, refleksija će biti prigušena (attenuated) ili manja nego potpuna. Na taj način dobiva se apsorpcijski ATR spektar koji je sličan transmisijskom IR

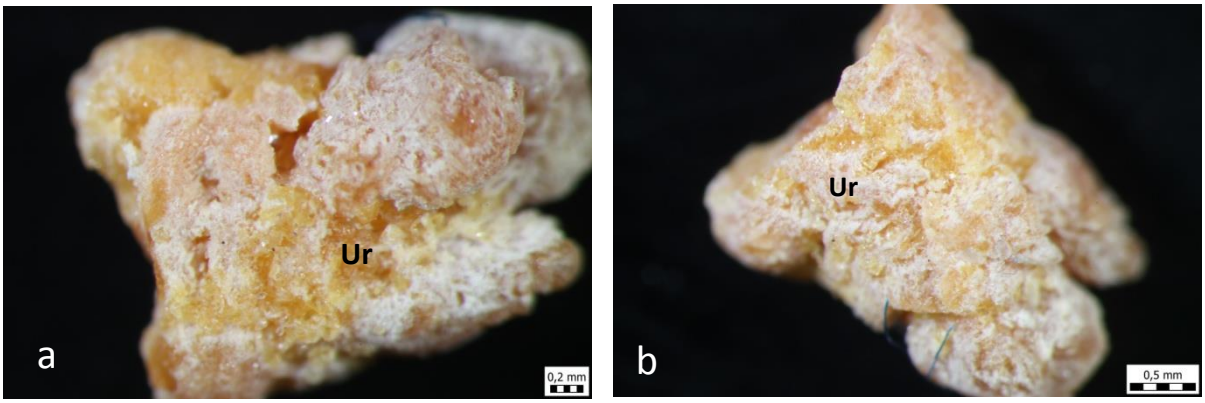
spektru. ATR je kao i druge vrste infracrvene spektroskopije vrlo osjetljiva metoda za identifikaciju funkcionalnih grupa i stoga je moćna tehnika za karakterizaciju.

Korišten je uređaj Bruker tensor 27, platinum atr za spektorskopsku analizu.

Uzorci su analizirani na Mineraloško-petrografskom zavodu na Prirodoslovno-matematičkom fakultetu u Zagrebu.

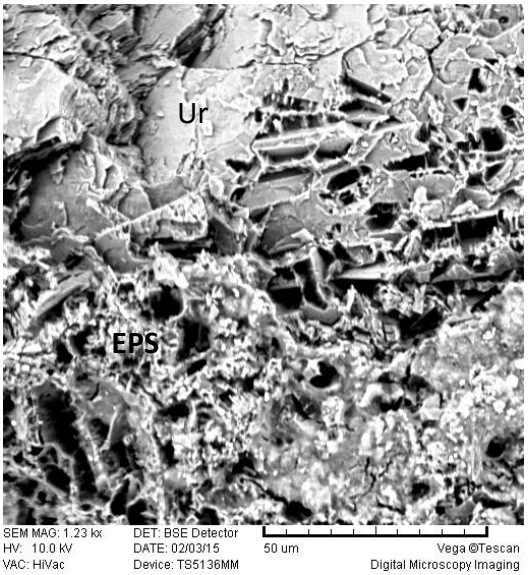
7. REZULTATI

UZORAK K2



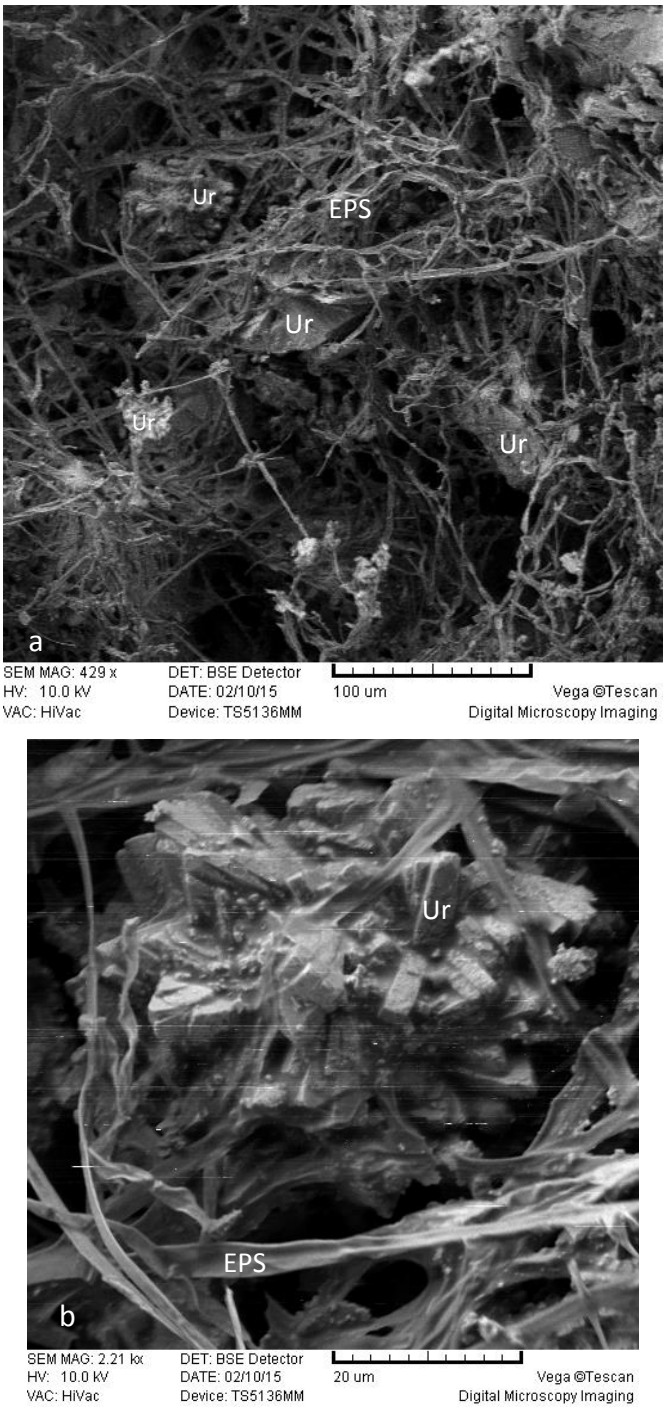
Slika 1.a) i b) prikaz površine uratnog kamenca snimljene sa svjetlosnim mikroskopom, vidljivi mali kristalići uricita (Ur) bijele i žute boje.

Uratni kamenac na slici 1.a i 1.b pokazuje tipičnu bijelu do žućkastu boju. Nepravilnog i sferoidalnog oblika je, veličine 3 milimetara. Po površini kamenca naziru se bijeli (Slika 1. b) i žuti kristalići uricita (Slika 1.a) prizmatskog oblika, mikrometarskih dimenzija.



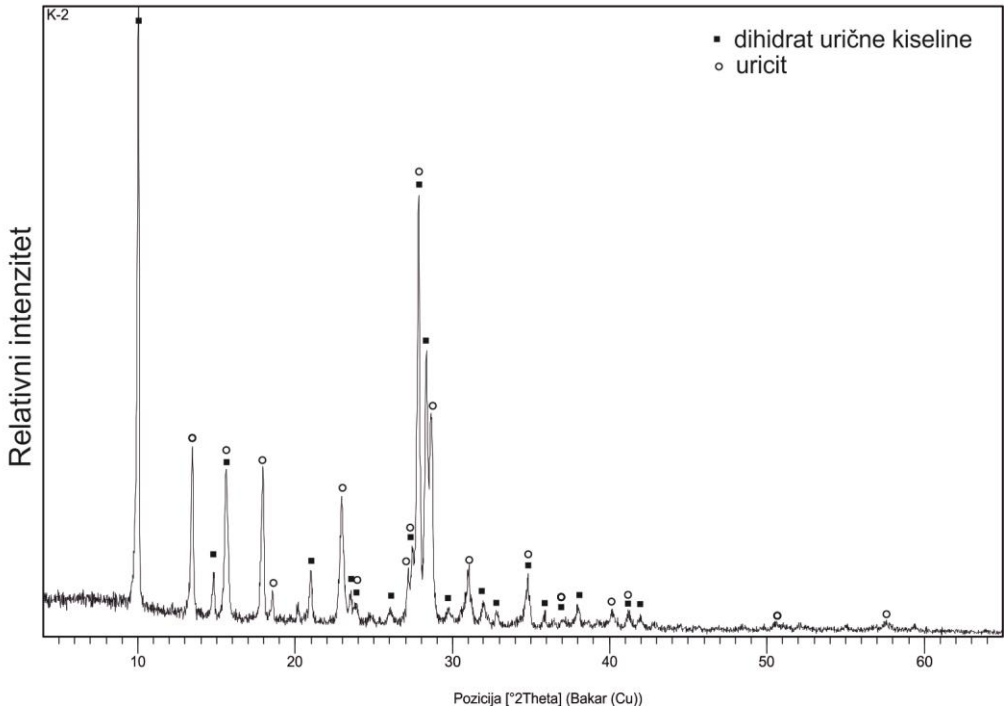
Slika 2. Prikaz površine uričnog kristala snimljene s elektronskim mikroskopom. Vidljivi su kristali uricita (Ur) i ekstracelularni polisaharidi (EPS).

Na slici 2 vidljivo je da cijelu površinu uratnog kamenca čine nasumično raspoređeni, pločasti i nepravilni kristali uricita. Na nepravilnim kristalima uricita vidljive su paralelne i longitudinalne pukotine dužine 20 do 25 µm. Pločasti kristali su dužine do 20 µm i međusobno su spojeni. Kristali su prekriveni i organskom tvari koju čine ekstracelularni polisaharidi (EPS).



Slika 3.a) Prikaz ekstracelularnih polisaharida koji okružuju kristale uricita (Ur), b) uvećani prikaz sferulita uricita; snimljeno s elektronskim mikroskopom.

Na slici 3.a vidljivi su kristali uricita veličine do 80 µm i sferuliti (građeni od kristala uricita), okruženi ekstracelularnim polisaharidima (EPS), dužine 100 µm. Na slici 3.b uvećani je prikaz jednog sferulita građenog od monoklinskih kristala uricita, veličine 8 do 10 µm, koji se radijalno šire iz jezgre sferulita. Ekstracelularni polisaharidi koji okružuju sferulit, široki su 4 µm.

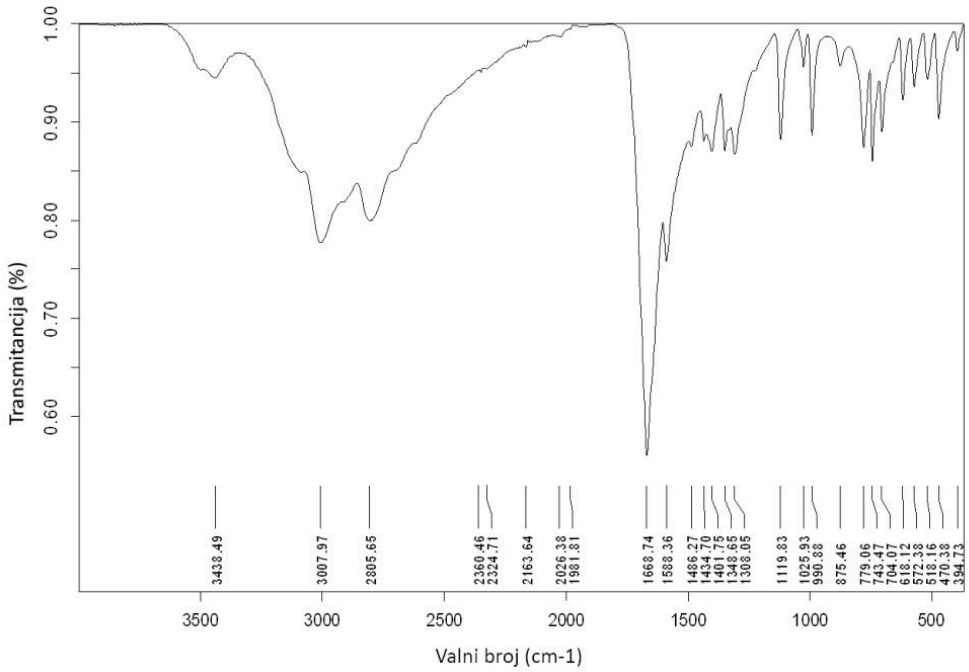


Slika 4. Difraktogram uzorka K2

Tablica 3. Broj kartice minerala dihidrata uričnе kiseline i uricita.

Ref. kod	Naziv minerala	Kemijska formula
00-019-1996	Dihidrat uričnе kiseline	$C_5H_4N_4O_3x2H_2O$
00-028-2016	Uricit	$C_5H_4N_4O_3$

Uzorak K2 analiziran je pomoću programa *X'Pert High Score Plus*. Pripadajuća tablica difrakcijskih maksimuma nalazi se u Prilogu I.

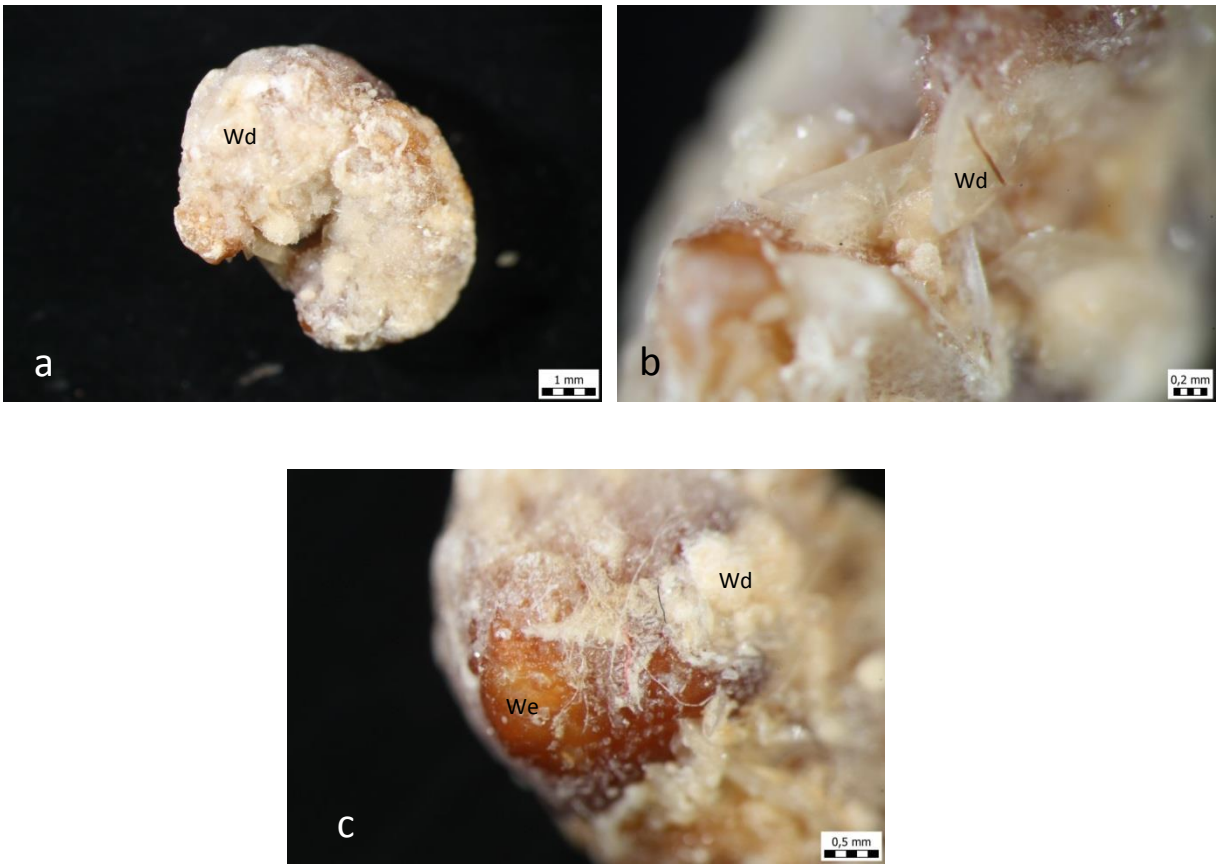


Slika 5. FT-IR spektar uzorka K2. (ATR), $\tilde{\nu}_{max}$ /cm^{-1} : 3438 (N-H istezanje), 3007 (N-H istezanje), 1668 (C=O istezanje), 1434 (C=C istezanje), 1119 (C-N istezanje), 779 (C=O istezanje), 470 (NH_4^+ deformacije istezanja).

Asignacija FT-IR spektra uzorka K2 pokazala je karakteristične vrpce: na 3438 cm^{-1} nalazi se vrpca slabog intenziteta koja pripada N-H istezanju, na 3007 cm^{-1} nalazi se široka vrpca slabijeg intenziteta N-H istezanja, oštra vrpca jakog intenziteta nalazi se na 1668 cm^{-1} i pripada C=O istezanju karbonilne skupine, vrpca slabijeg intenziteta nalazi se na1434 cm^{-1} i pripada C=C istezanju, oštra vrpca slabog intenziteta nalazi se na 1119 cm^{-1} i pripada C-N istezanju, vrpca na 779 $cm^{-}1$ pripada C=O istezanju, vrpca slabog intenziteta na 470 cm^{-1} pripada NH_4^+ deformacijama.

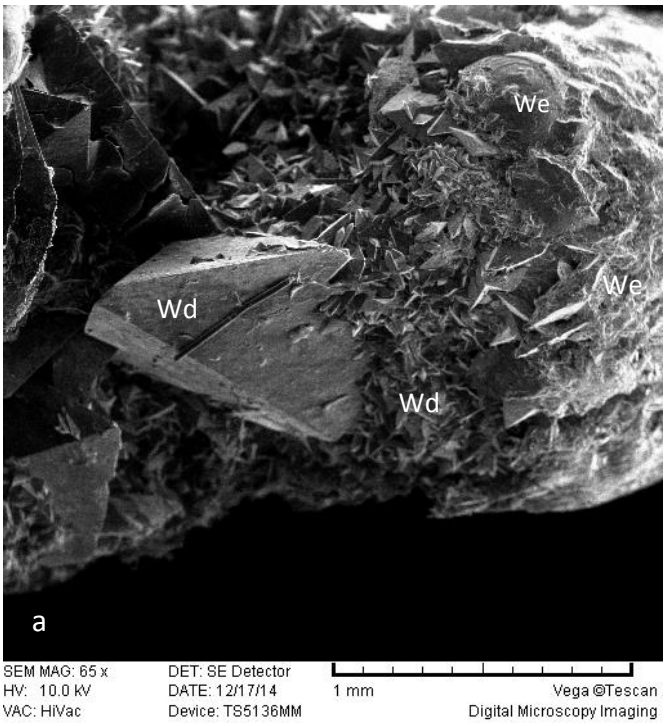
Tablica s karakterističnim vrpcama i valnim brojevima nalazi se u Prilogu II.

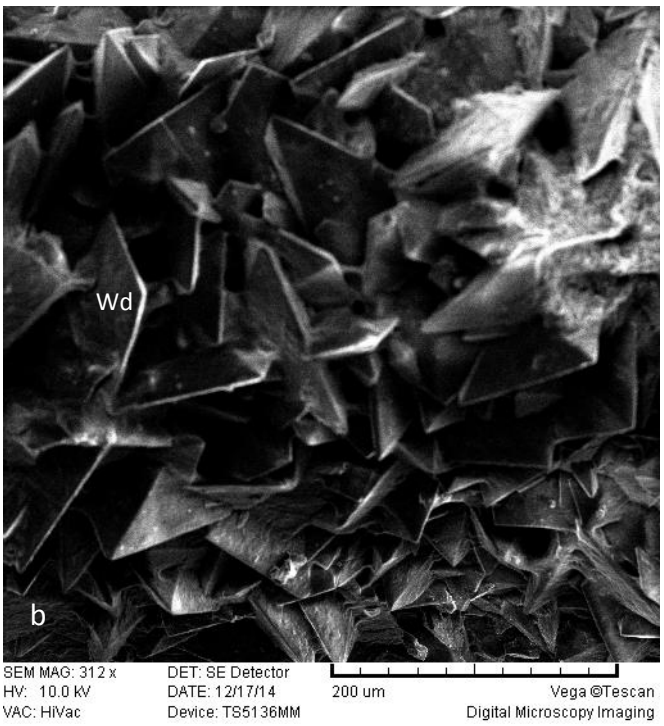
UZORAK K4



Slika 6. Prikaz uzorka K4 snimljenog sa svjetlosnim mikroskopom, a) prikaz kristala weddellita (Wd) koji grade površinu, b) uvećani prikaz kristala weddellita, c) uvećani prikaz sferulita whewellita (We) okruženog kristalima weddellita.

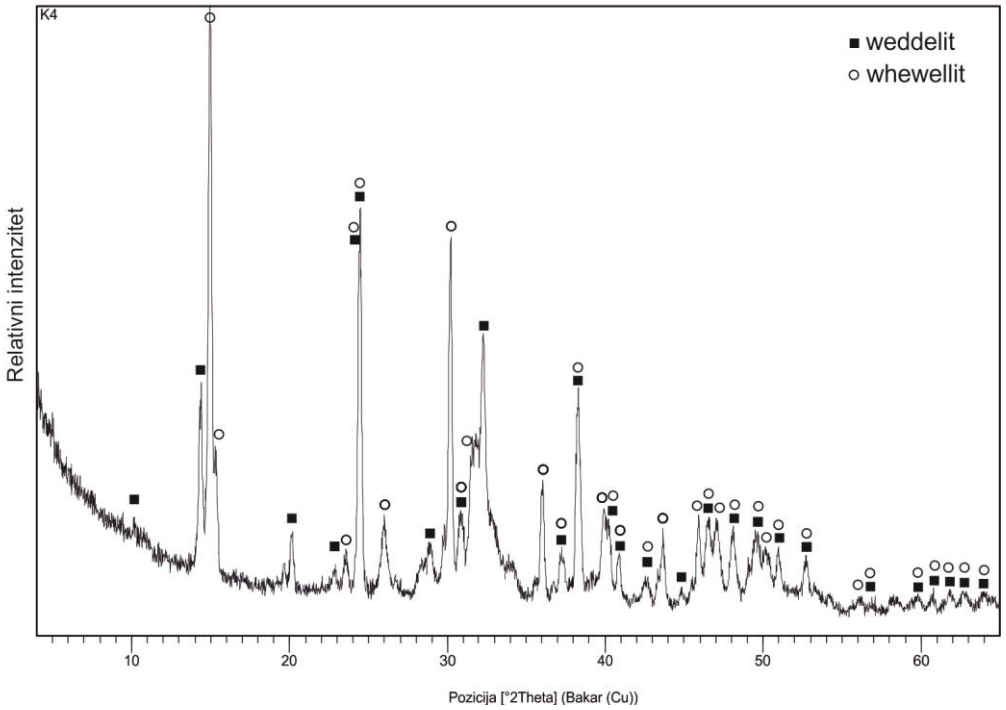
Bubrežni kamenac uzorka K4 je nepravilnog i sferoidalnog oblika, veličine 6.5 milimetara. Na površini su vidljivi prizmatski kristali weddellita, bijele boje, ispod kojih se nalazi kristalinični agregat whewellita, smeđe boje (Slika 6.a). Slika 6.b prikazuje uvećani prikaz tetragonskih kristala weddellita, bijele boje i veličine 0.9 milimetara. Na slici 6.c vidljiv je kristalinični agregat whewellita smeđe boje.





Slika 7. Prikaz površine kamenca snimljene s elektronskim mikroskopom, a) uvećani prikaz kristala weddelita (Wd) i whewellita (We), b) uvećani prikaz kristala weddellita

Na slici 7.a vidi se veliki dipiramidalni kristal weddelita, veličine 1 milimetra, okružen manjim sraslacima weddellita, te manjim i većim sferulitom whewellita. Na slici 7.b uvećani je prikaz manjih dipiramidalnih kristala weddellita, veličine do 100 µm.

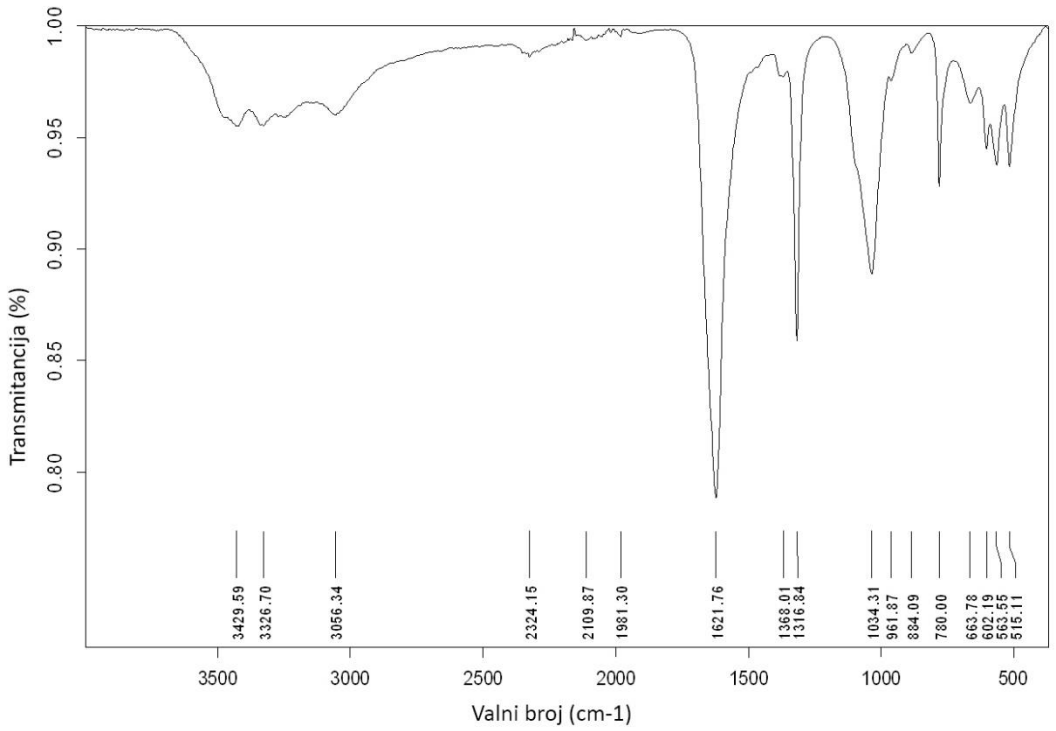


Slika 8. Difraktogram uzorka K4

Tablica 4. Broj kartice minerala weddellita i whewellita

Ref. kod	Naziv minerala	Kemijska formula
01-075-1314	Weddellit	$CaC_2O_4x2H_2O$
00-020-0231	Whewellit	$CaC_2O_4xH_2O$

Uzorak K4 analiziran je pomoću programa *X'Pert High Score Plus*. Pripadajuća tablica difrakcijskih maksimuma nalazi se u Prilogu I.

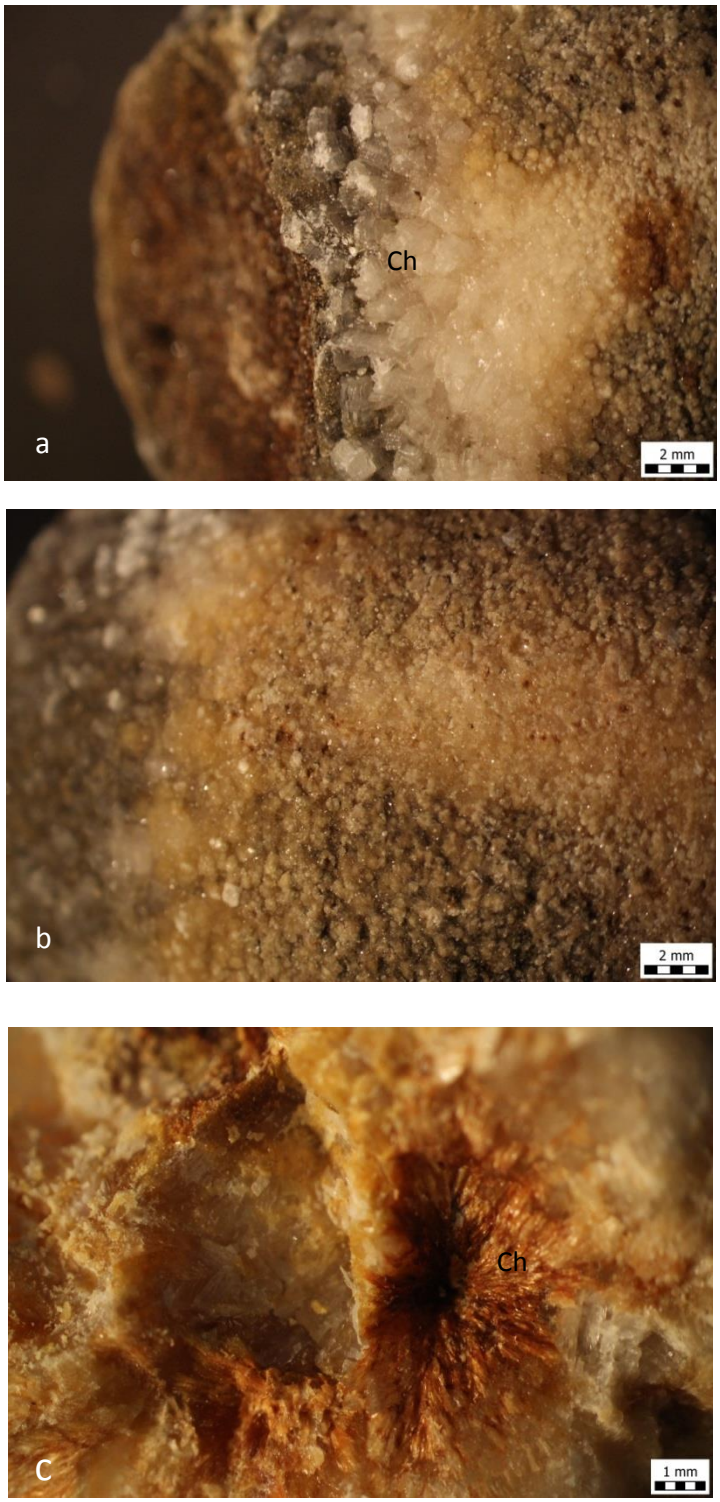


Slika 9. Prikaz FT-IR spektra uzorka K4. (ATR), $\tilde{\nu}_{max}$ /cm^{-1}: 3326 (O-H istezanje), 1620 (C=O istezanje), 1316 (C-O istezanje), 1034 (PO_4^{3-} istezanje), 780 (C-C istezanje), 515 (O-C-O savijanje)

Asignacijom FT-IR spektra K4 uočene su karakteristične vrpce: široka vrpca na 3326 cm^{-1} pripada O-H istezanju kristalne vode, oštra vrpca jakog intenziteta na 1620 cm^{-1} pripada C=O istezanju, na 1316 cm^{-1} nalazi se oštra vrpca manjeg intenziteta C-O istezanja, 1034 cm^{-1} pripada širokoj apsorpcijskoj vrpci, manjeg intenziteta PO_4^{3-} istezanja, oštra vrpca malog intenziteta na 780 cm^{-1} pripada C-C istezanju, na 515 cm^{-1} nalazi se vrpca malog intenziteta O-C-O savijanja.

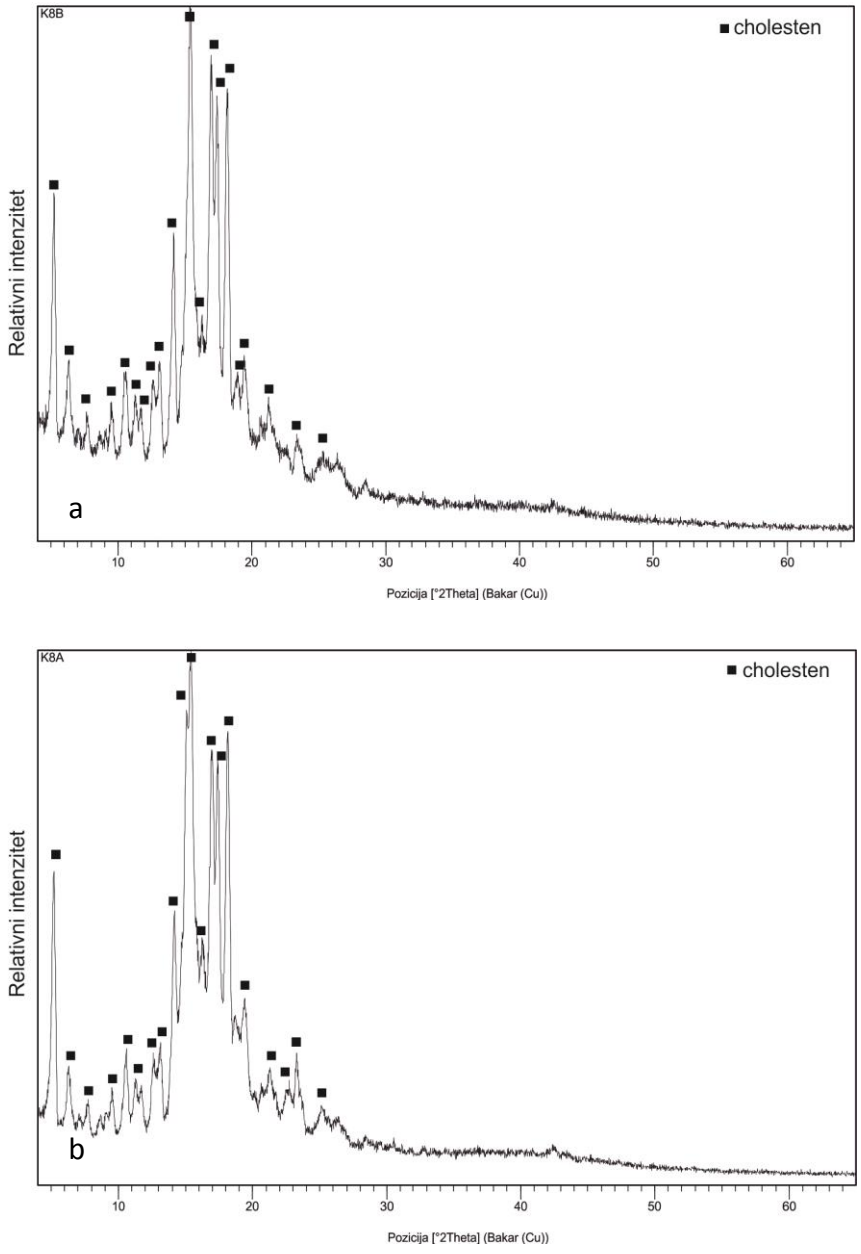
Tablica s karakterističnim vrpcama i valnim brojevima nalazi se u Prilogu II.

UZORAK K8



Slika 10. Prikaz površine uzorka K8 snimljene sa svjetlosnim mikroskopom, a) uvećani prikaz zrnate strukture cholestena (Ch), b) prikaz površine kamenca s vidljivim sferulama, c) uvećani prikaz zrakastih kristala cholestena.

Slika 10.b prikazuje površinu uzorka K8, bijelo do sive boje, prepunu sferula. Slike 10.a i 10.b su uvećani prikazi različitih strana kamenca. Slika 10.a prikazuje bijele i sive kristale cholestena, zrnate strukture veličine do 1.5 milimetara dok slika 10.b prikazuje radijalno raspoređene, smeđe kristale cholestena, veličine 2 milimetra.

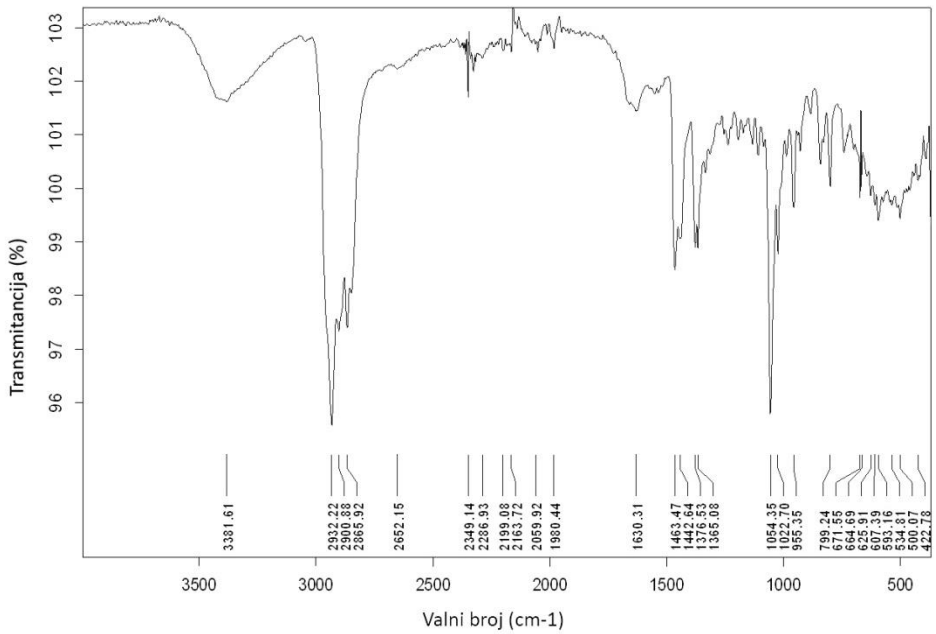


Slika 11. a) difraktogram uzorka K8a, b) difraktogram uzorka K8b

Tablica 5. Broj kartice cholestena

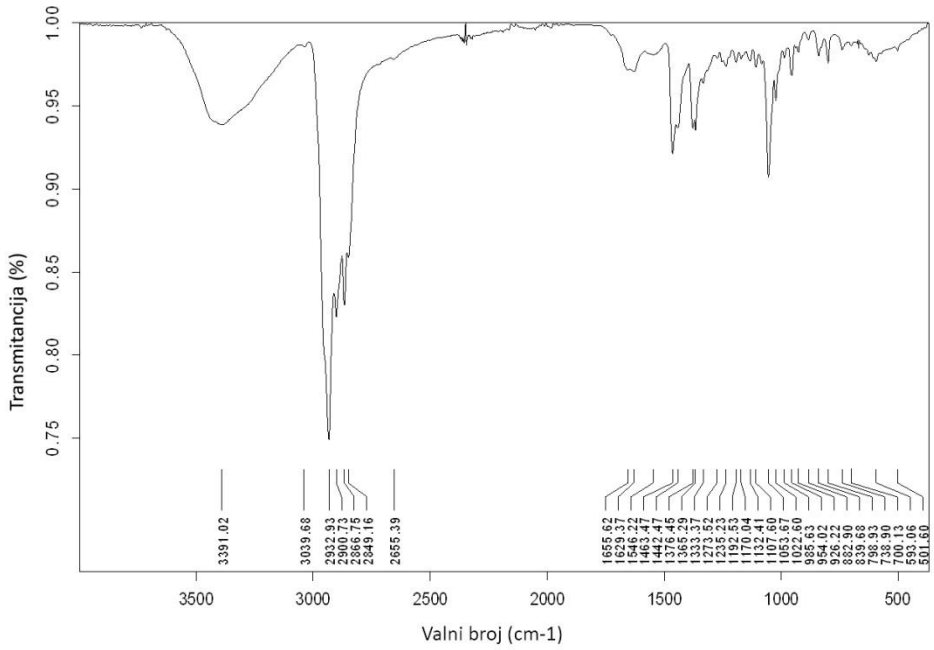
Ref. kod	Naziv minerala	Kemijska formula
00-007-0742	Cholesten	$C_{27}H_{46}O$

Uzorci K8a i K8b analizirani su pomoću programa *X'Pert High Score Plus*. Pripadajuće tablice difrakcijskih maksimuma nalazi se u Prilogu I.



Slika 12. Prikaz FT-IR spektra uzorka K8a. (ATR), $\tilde{\nu}_{max}$ /cm^{-1}: 2932 (CH_2 istezanje), 1463 (CH_2, CH_3 savijanje), 1054 (C-C savijanje), 593 (C-C istezanje).

Asignacijom FT-IR spektra uzorka K8a određene su karakteristične vrpce: oštra apsorpcijska vrpca, jakog intenziteta na 2932 cm^{-1} pripada asimetričnom istezanju CH_2, na 1463 cm^{-1} nalazi se vrpca slabog intenziteta koja pripada CH_2 i CH_3 istezanju, oštra vrpca, jakog intenziteta na 1054 cm^{-1} pripada C-C savijanju, široka vrpca, slabog intenziteta na 593 cm^{-1} pripada istezanju C-C unutar prstena.

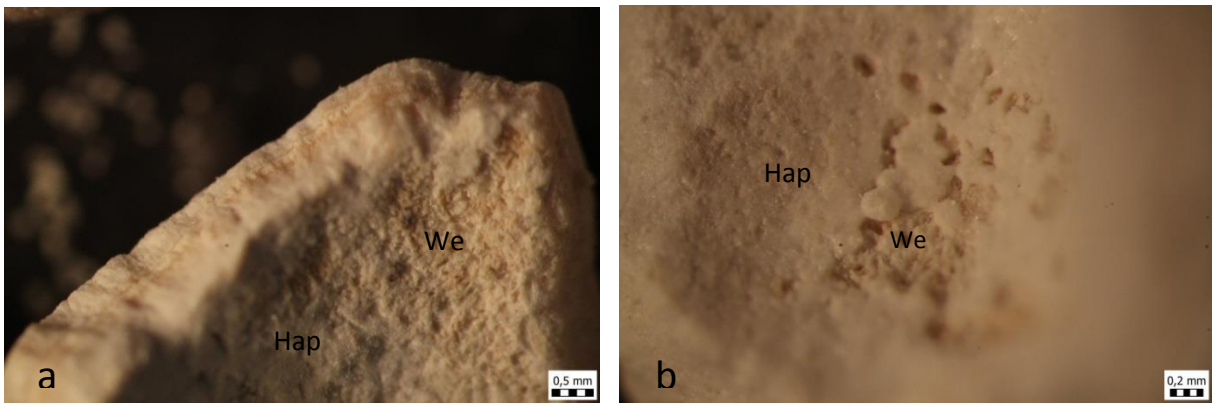


Slika 13. Prikaz FT-IR spektra uzorka K8b. (ATR), $\widetilde{\nu}_{max}$ /cm^{-1}: 2932 (CH_2 istezanje), 1463 (CH_2, CH_3 savijanje), 1053 (C-C savijanje), 738 (C-C istezanje)

Asignacijom FT-IR spektra uzorka K8b određene su karakteristične vrpce: oštra vrpca, jakog intenziteta na 2932 cm^{-1} pripada CH_2 istezanju unutar prstena, na 1463 cm^{-1} nalazi se apsorpcijska vrpca slabog intenziteta koja pripada savijanju CH_2 i CH_3, oštra vrpca slabog intenziteta na 1053 cm^{-1} pripada C-C istezanju, na 738 cm^{-1} nalazi se vrpca slabog intenziteta koja pripada istezanju C-C unutar prstena.

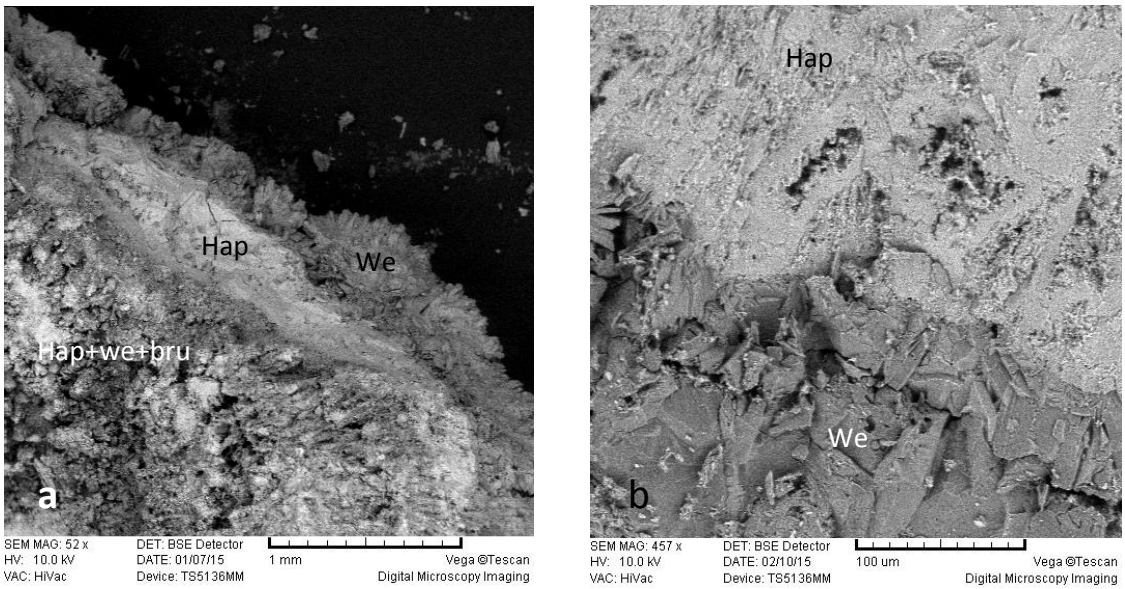
Tablica s karakterističnim vrpcama i valnim brojevima nalazi se u Prilogu II.

UZORAK OS4



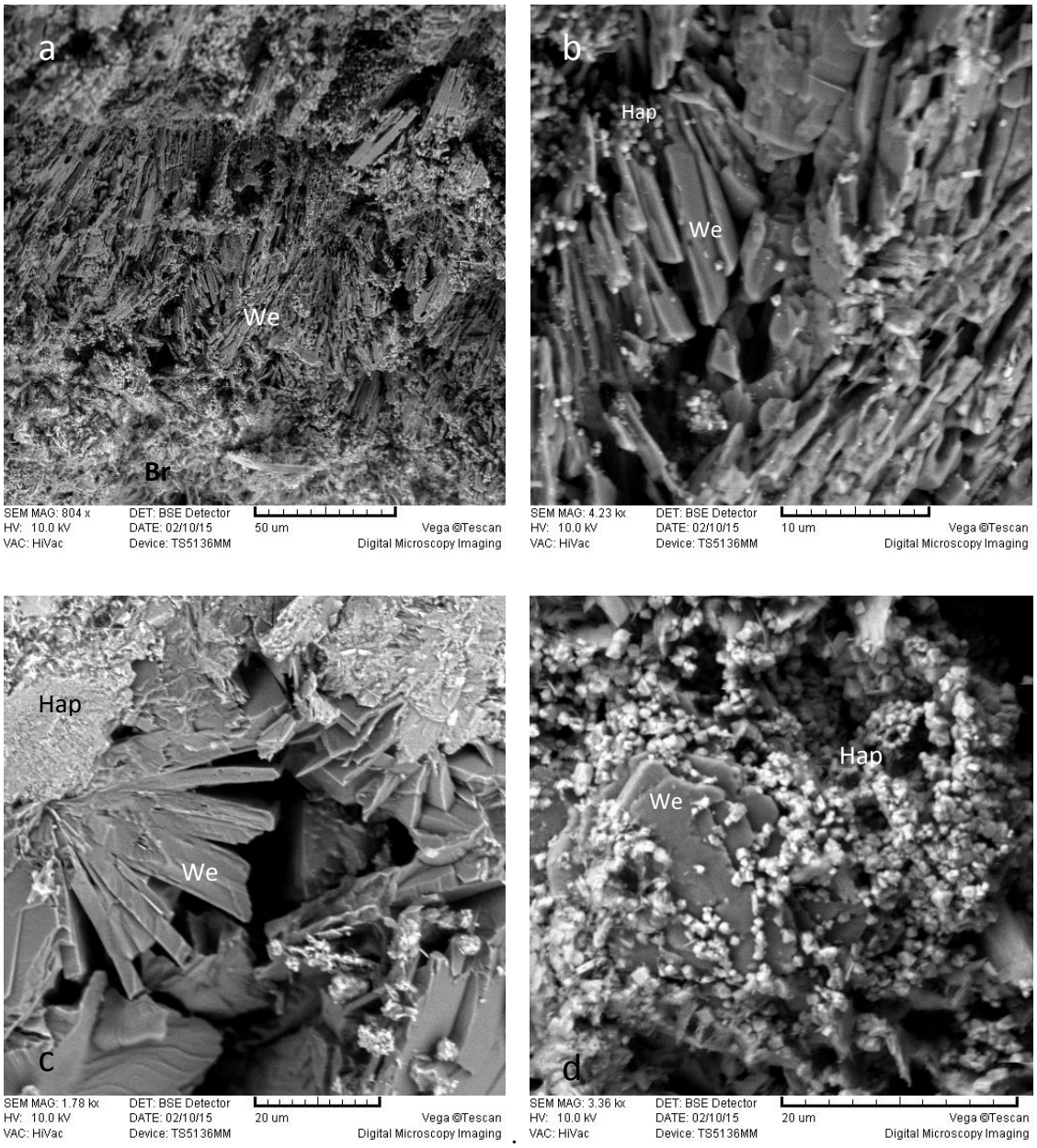
Slika 14. Prikaz površine uzorka OS4 snimljene sa svjetlosnim mikroskopom, a) vidljive lamine na rubu i sitni kristali whewellita (We) i hidroksilapatita (Hap), b) uvećani prikaz kristala whewellita i hidroksilapatit.

Kamenac OS4 je veličine 7 milimetara, bijele je boje i prazne unutrašnjosti. Na rubu kamenca prisutna je laminacija, a na unutrašnjoj strani vidljivi su sitni kristali whewellita i hidroksilapatit u obliku bijele korice (Slika 14.a). Na slici 14.b uvećani je prikaz korice hidroksilapatita koji okružuje sitne kristaliće whewellita.



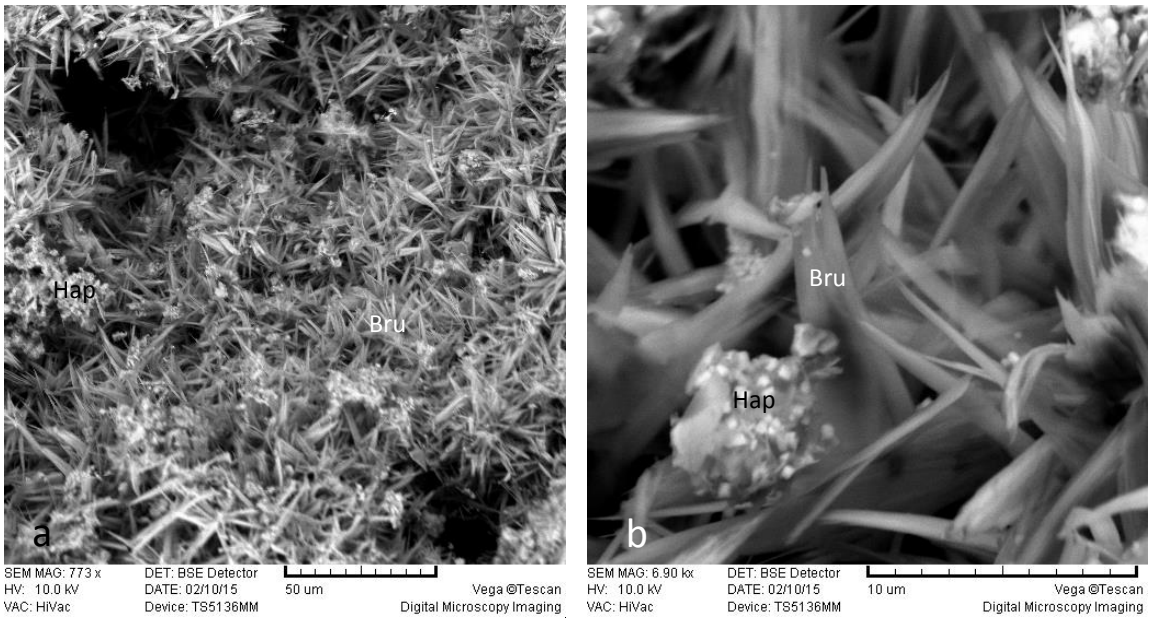
Slika 15. Prikaz ruba kamenca OS4 snimljenog s elektronskim mikroskopom, a) vidljivi kristali whewellita (We), brushita (Bru) i hidroksilapatit (Hap), b) uvećani prikaz ruba gdje se spajaju dvije različite faze, whewellit i hidroksilapatit.

Slika 15.a uzorka OS4 prikazuje rub kamenca koji se sastoji od tri različite faze: whewellitnih kristala na rubu, hidroksilapatita koji čini središnji dio širine 0.5 milimetara i unutarnjeg djela koji se sastoji od mješavine raznih kristala. Na slici 15.b uvećani je prikaz whewellitne i hidroksilapatitne faze, gdje je jasno vidljiva razlika u samoj strukturi.



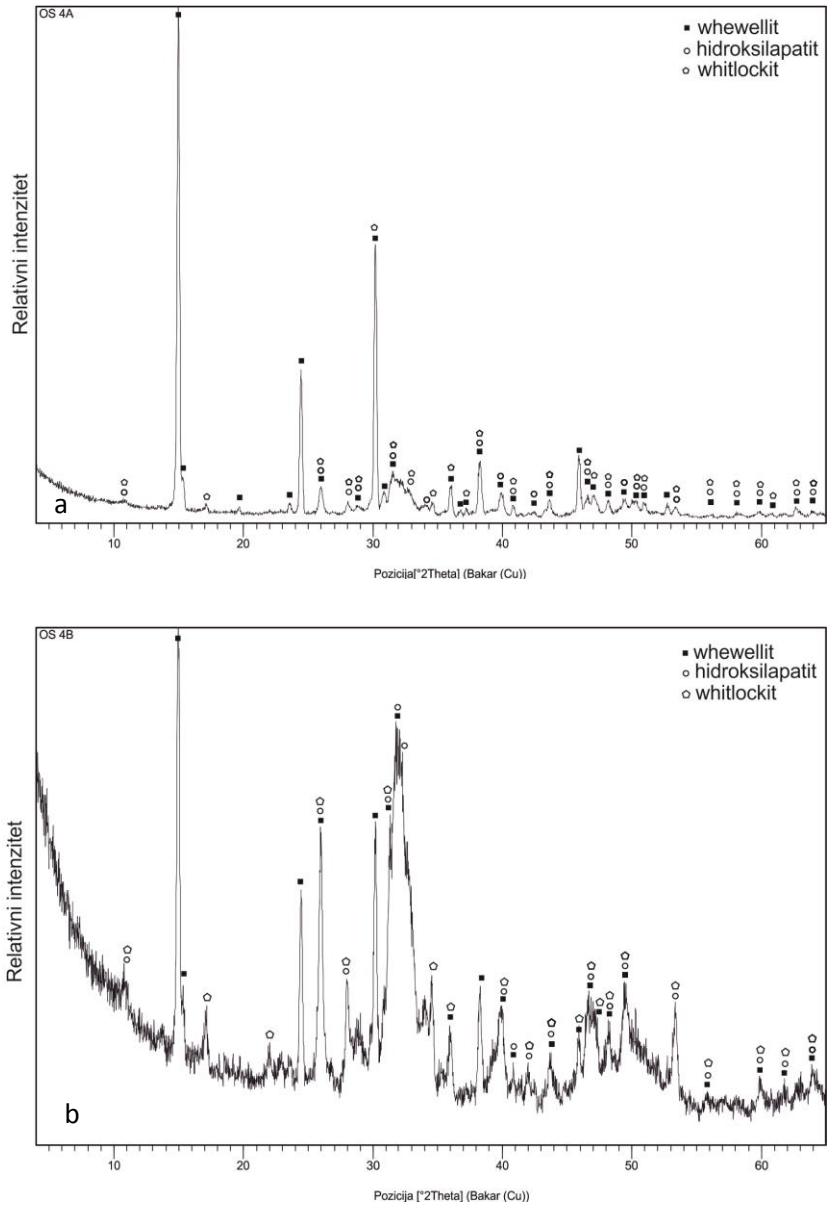
Slika 16. a) prikaz kristala whewellita (We) i brushita (Bru), b) uvećani prikaz kristala whewellita i sferula hidroksilapatita (Hap), c) kristali whewellita u okruženju hidroksilapatita, b) kristal whewellita okružen sferulama hidroksilapatita; snimljeno s elektronskim mikroskopom.

Slika 16.a uvećani je prikaz whewellitnih i igličastih kristala brushita. Na slikama 16.b i 16.c vide se štapićasti kristali whewellita veličine 26 µm, koji se nalaze u kontaktu sa sferulama hidroksilapatita veličine oko 2 µm (Slika 16.b). Slika 16.d prikazuje kristal whewellita veličine 24 µm, okružen nakupinama sferula hidroksilapatita.



Slika 17. Prikaz igličastih kristala brushita u uzorku OS4 sminljenih elektronskim mikroskopom, a) nakupine igličastih kristala brushita (Bru), b) uvećani prikaz kristala brushita i sferula hidroksilapatita (Hap).

Slika 17.a prikazuje dio površine kamenca OS4 koju izgrađuju igličasti kristali brushita veličine do 24 µm. Kristali se nalaze u nakupinama a na nekim kristalima brushita vidljive su i male sferule hidroksilapatita (Slika 17.d).

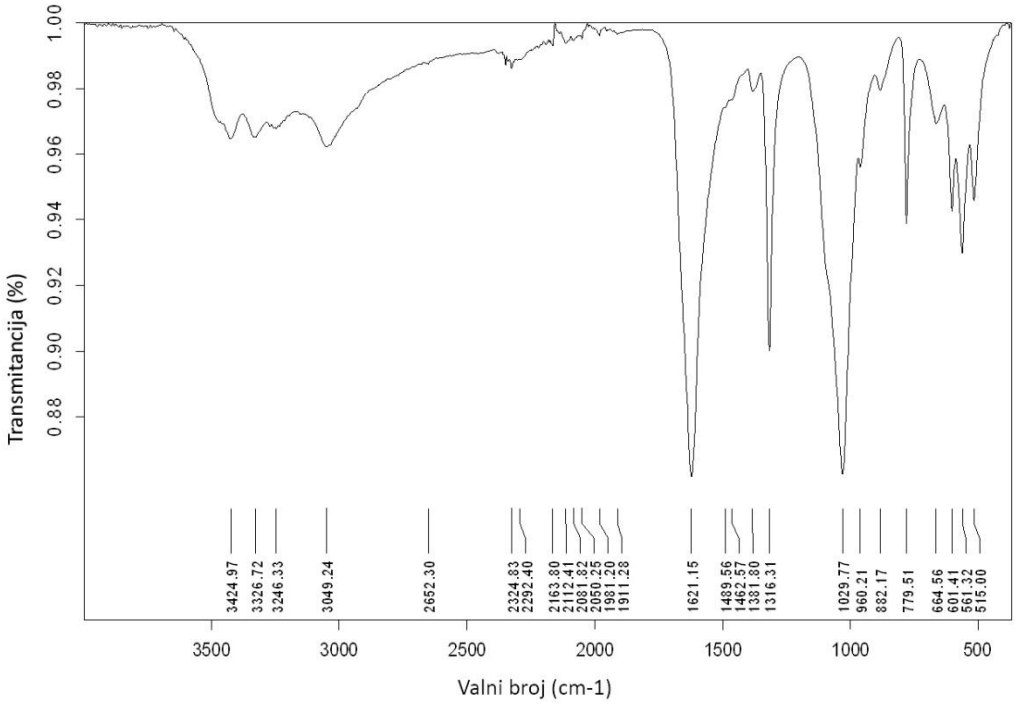


Slika 18 difraktogram uzorka OS4a (a) i OS4b (b)

Tablica 6. Broj kartice minerala whewellita, hidroksilapatita i whitlockita

Ref. kod	Naziv minerala	Kemijska formula
00-020-0231	Whewellit	$CaC_2O_4xH_2O$
01-074-0565	Hidroksiapatit	$Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2$
01-070-2064	Whitlockit	$Ca_{18}Mg_2H_2(PO_4)_{14}$

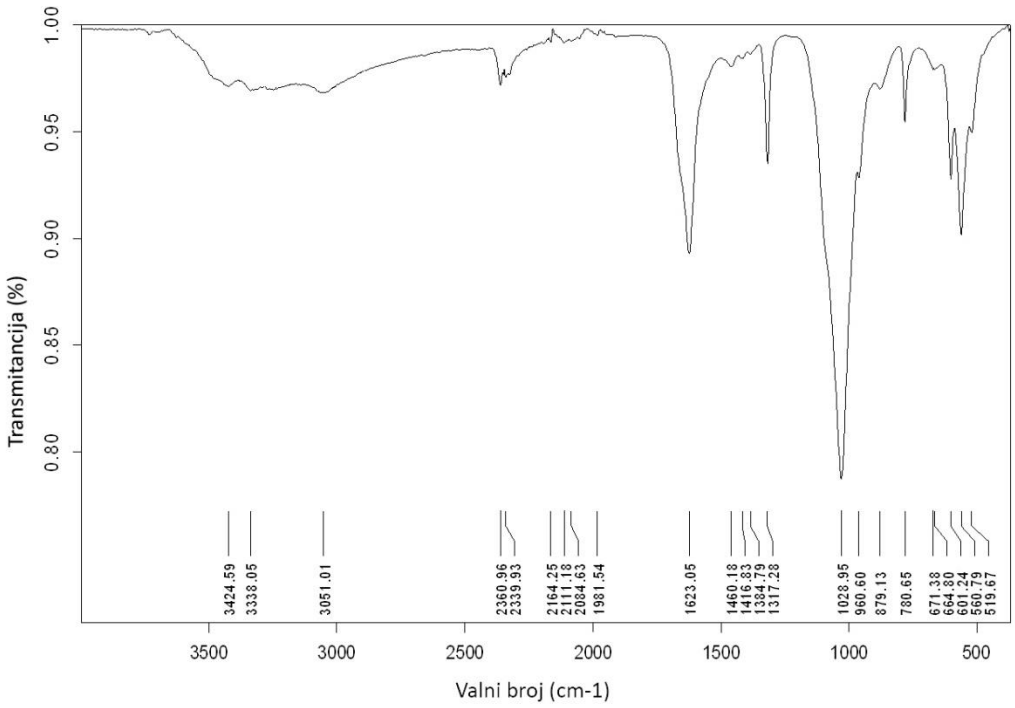
Uzorci OS4a i OS4b analizirani su pomoću programa *X'Pert High Score Plus*. Pripadajuće tablice difrakcijskih maksimuma nalazi se u Prilogu I.



Slika 19. FT-IR spektar uzorka OS4a. (ATR), $\tilde{\nu}_{max}$ /cm^{-1}: 3326 (O-H istezanje), 1621 (C=O istezanje), 1316 (C-O istezanje), 1029 (PO_4^{3-} istezanje), 779 (C-C istezanje), 515 (O-C-O savijanje).

Asignacijom FT-IR spektra OS4a određene su karakteristične vrpce: na 3326 cm^{-1} nalazi se široka vrpca slabog intenziteta koja pripada O-H istezanju, oštra vrpca, jakog intenziteta na 1621 cm^{-1} pripada C=O istezanju, na 1316 cm^{-1} nalazi se oštra vrpca slabijeg intenziteta koja pripada C-O istezanju, jak intenzitet i oštra vrpca na 1029 cm^{-1} pripadaju istezanju PO_4^{3-}, oštra vrpca, slabog intenziteta na 779 cm^{-1} pripada C-C istezanju, na 515 cm^{-1} nalazi se vrpca slabog intenziteta O-C-O istezanja.

Tablica s karakterističnim vrpcama i valnim brojevima nalazi se u Prilogu II.

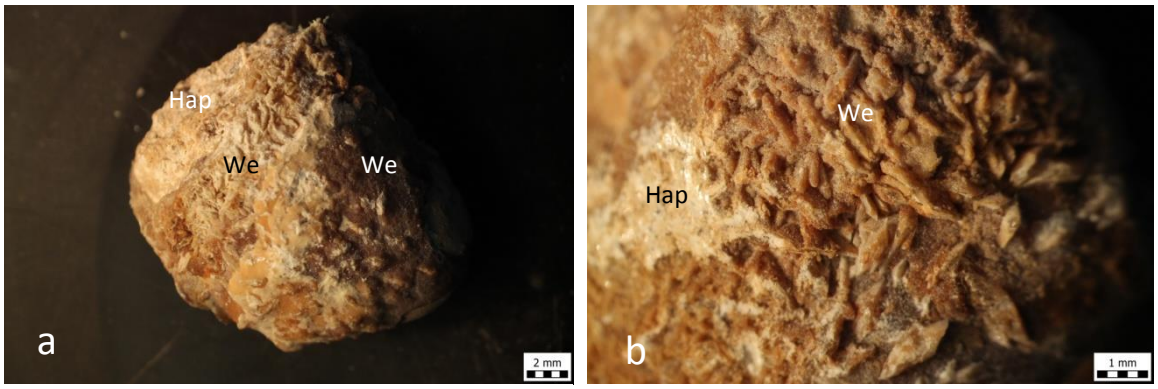


Slika 20. FT-IR spektar uzorka OS4b. (ATR), $\tilde{\nu}_{max}$ /cm^{-1}: 3333 (O-H istezanje), 1623 (C=O istezanje), 1317 (C-O istezanje), 1028 (PO_4^{3-} istezanje), 519 (O-C-O istezanje).

Asignacijom FT-IR spektra uzorka OS4b određene su karakteristične vrpce: na 3333 cm^{-1} nalazi se široka vrpca O-H istezanja, vrpca slabog intenziteta na 1623 cm^{-1} pripada C=O istezanju, na 1317 cm^{-1} nalazi se vrpca vrlo slabog intenziteta C-O istezanja, oštra vrpca, jakog intenziteta pripada PO_4^{3-} istezanju, vrpca slabijeg intenziteta na 519 cm^{-1} pripada O-C-O istezanju.

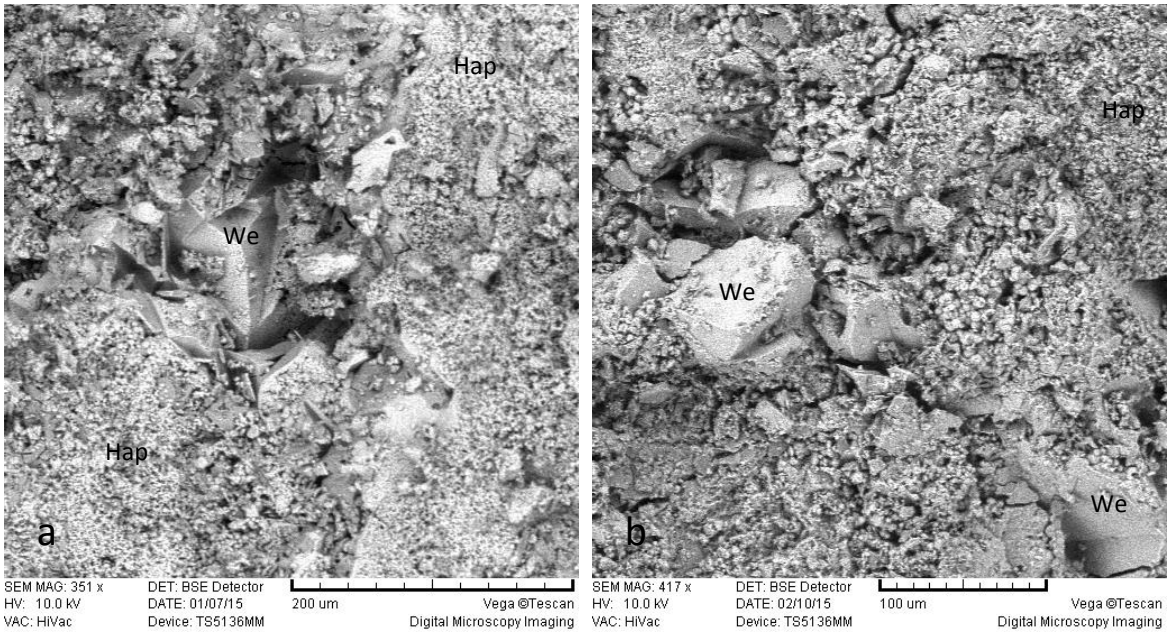
Tablica s karakterističnim vrpcama i valnim brojevima nalazi se u Prilogu II.

UZORAK OS9



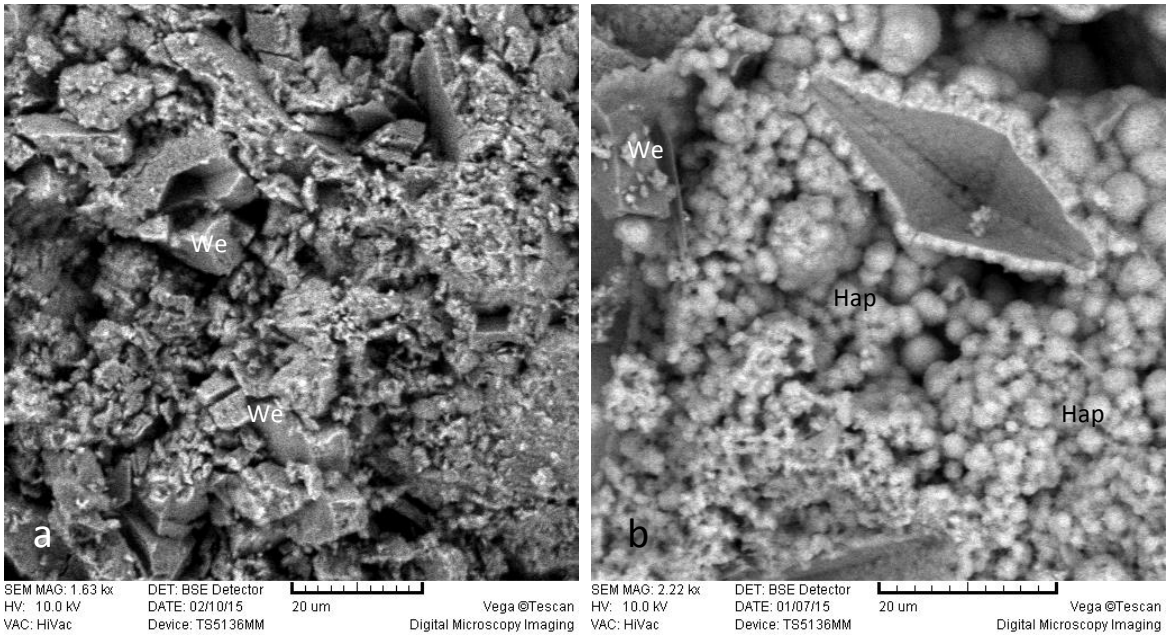
Slika 21. Prikaz uzorka OS9 snimljenog sa svjetlosnim mikroskopom, a) vidljivo postojanje više faza (hidroksilapatit, whewellit), b) uvećani prikaz kristala whewellita (We) i hidroksilapatita (Hap).

Slika 21.a prikazuje izgled kamenca, (uzorak OS9) veličine 1.5 centimetra s jasno vidljivim različitim fazama. Whewellit čini tamnu, smeđu fazu i kristale koji su vidljivi na sredini kamenca, svijetlu, bijelu fazu čini hidroksilapatit. Na slici 21.b vidljivi su monoklinski kristali whewellita raspoređeni po površini i bijela praškasta tvar koju čini hidroksilapatit.



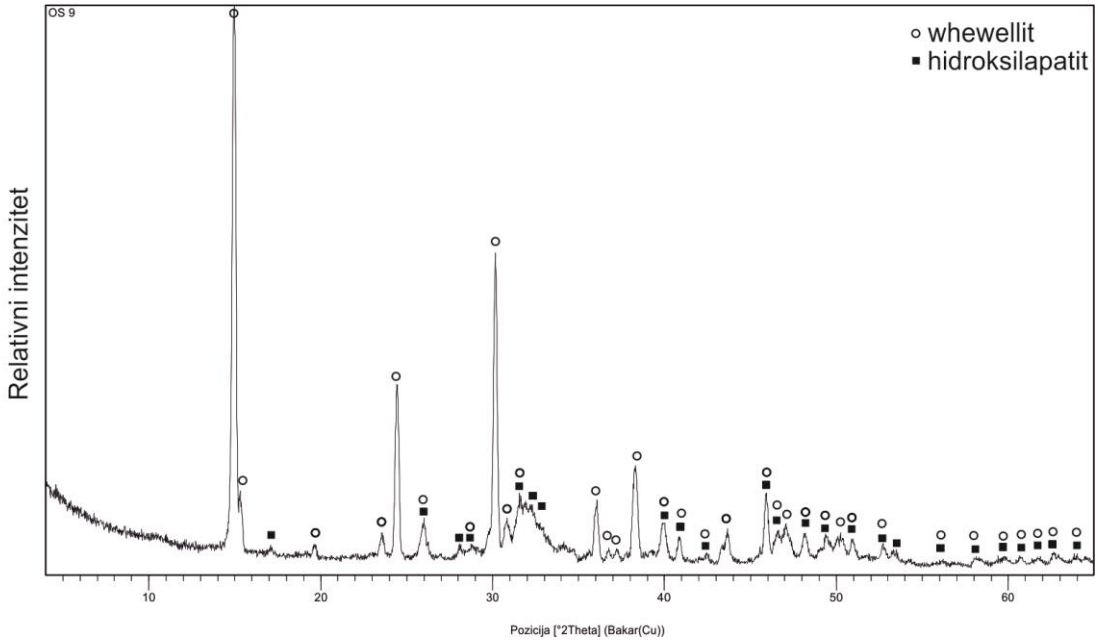
Slika 22. Prikaz površine uzorka OS9 snimljene s elektronskim mikroskopom, a) i b) prikaz kristala whewellita (We) i hidroksilapatita (Hap).

Na slikama 22. a i b nalazi se prikaz površine kamenca OS9 koja se sastoji od kristala whewellita i sferula hidroksilapatita. Monoklinski kristali whewellita, veličine do 100 µm, prekriveni su sferulama hidroksilapatita.



Slika 23. a) prikaz kristala whewellita raspoređenih po površini, b) prikaz kristala whewellita i nakupina sferula hidroksilapatita; snimljeno s elektronskim mikroskopom.

Slika 23.a prikazuje dio kamenca OS9 koji se sastoji od kristala whewellita,veličine 8 do 16 µm, koji su nasumično raspoređeni po površini kamenca. Na slici 23.b nalazi se monoklinski kristal whewellita, veličine 14 µm, oko kojeg se nalazi dio kamenca građen u potpunosti od sferula hidroksilapatita, veličine do 4 µm. Na slici je vidljiv kalup veličine 38 µm.

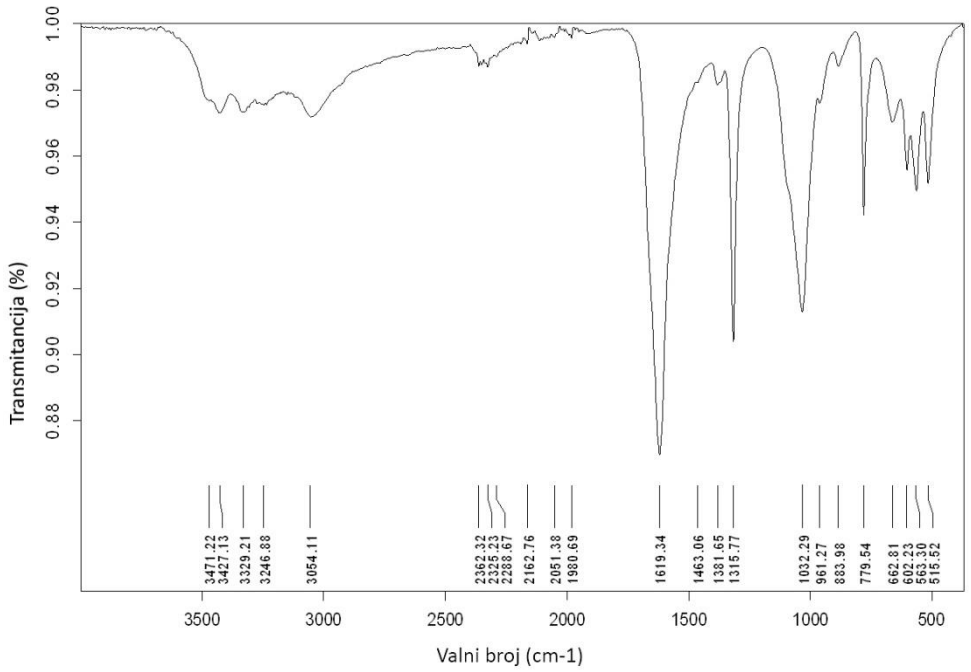


Slika 24. Difraktogram uzorka OS9

Tablica 7. Broj kartice minerala whewellita i hidroksilapatita

Ref. kod	Naziv minerala	Kemijska formula
00-020-0231	Whewellit	$CaC_2O_4xH_2O$
00-025-0166	Hidroksiapatit	$Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2$

Uzorak OS9 analiziran je pomoću programa *X'Pert High Score Plus*. Pripadajuća tablica difrakcijskih maksimuma nalazi se u Prilogu I.



Slika 25. FT-IR uzorka OS9. (ATR), $\tilde{\nu}_{max}$ /cm^{-1}: 3427 (O-H istezanje), 1619 (C=O istezanje), 1315 (C-O istezanje), 1032 (PO_4^{3-} istezanje), 779 (C-C istezanju), 515 (O-C-O savijanje).

Asignacijom FT-IR spektra uzorka OS9 dobivene su karakteristične vrpce: široka vrpca, slabog intenziteta na 3427 cm^{-1} pripada O-H istezanju kristalne vode, na 1619 cm^{-1} nalazi se oštra vrpca, jakog intenziteta koja pripada C=O istezanju, oštra vrpca ali slabijeg intenziteta na 1315 cm^{-1} pripada C-O istezanju, na 1032 cm^{-1} nalazi se vrpca jakog intenziteta koja pripada PO_4^{3-} istezanju, oštra vrpca, slabog inteziteta nalazi se na 779 cm^{-1} i pripada C-C istezanju, na 515 cm^{-1} nalazi se vrpca slabog intenziteta koja pripada O-C-O savijanju.

Tablica s karakterističnim vrpcama i valnim brojevima nalazi se u Prilogu II.

Prikaz mineralnih vrsta i struktura otkrivenih pojedinom metodom prikazano je u tablici 8.

Tablica 8. Prikaz otkrivenihmineralnih vrsta i struktura.

	XRD	**IR**	**SEM**
K2	Uricit Dihidrat urične kiseline	Uricit Dihidrat urične kiseline	Uricit Dihidrat urične kiseline Eps
K4	Whewellite Weddellit	Whewellite Weddellit	Whewellite Weddellit
K8	Kolesterol	Kolesterol	/
OS4	Whewellit Hidroksilapatit Whitlockit	Whewellit Hidroksilapatit Whitlockit	Whewellit Hidroksilapatit Brushit
OS9	Whewellit Hidroksilapatit	Whewellit Hidroksilapatit	Whewellit Hidroksilapatit

8. RASPRAVA

Bubrežni kamenci sastoje se od kristaliničnih tvari koje mogu biti organske ili anorganske prirode. Većina bubrežnih kamenaca sastoji se mješavine različitih mineralnih tvari (npr. uricit, apatit i weddellit) (Gray i dr., 1982). Najdjelotvornija metoda u analizi bubrežnih kamenaca je rentgenska analiza. Ona je najosjetljivija i može otkriti rijetke anorganske tvari (Basiri i dr., 2012). Najraširenij u primjenu ima IR spektroskopija jer zahtijeva vrlo malo uzorka, brza je i vrlo učinkovita (Selvaraju i Raja, 2012).

U ovom radu analizirano je pet uzoraka, od toga četiri uzorka bubrežnih kamenaca (K2, K4, OS4 i OS9) i jedan žučni kamenac (K8). Za analizu kemijskog sastava korištene su IR spektroskopija i rentgenska analiza, a za morfologiju SEM analiza uz prethodno pregledavanje uzoraka kamenaca pod polarizacijskim mikroskopom.

Rezultati dobiveni rentgenskom difrakcijom praha (Slika 8) pokazali su da je uzorak K4 građen od kalcijskih oksalata (whewellita i weddellita) (Slika 6), OS4 i OS9 sastoje od kalcijskih oksalata i mješavine s hidroksilapatitom (Slike 18, 24) te ih možemo svrstati u kalcijske kamence (Coe i Favus, 1991). Uzorak K2 (Slika 1.a, b) sastoji se od soli urične kiseline, uricita i dihidrata (Slika 4) te ga svrstavamo u urične kamence (Coe i Favus, 1991). Uzorak K8 (Slika 10) sastoji se od kolesterola (Slika 11), te ga svrstavamo u žučne kamence (Channa i dr., 2008).

Kemijski sastav uzoraka određen je rentgenskom difrakcijom praha i potvrđen s FT-IR spektroskopijom. FT-IR spektri pokazuju apsorpcijske vrpce na određenim valnim duljinama, koje pripadaju karakterističnim funkcionalnim skupinama. Na intenzitet same vrpce utječe koncentracija tvari i struktura molekula prisutnih tvari u mješavini. Prema apsorpcijskim vrpcama savijanja i istezanja, mogu se razlikovati različite tvari koje grade bubrežne kamence (Khaskheli i dr., 2012).

Asignacijom FT-IR spektara uočene su karakteristične vrpce za pojedine mineralne vrste. Uzorak OS4 makroskopski je pokazao mogućnost postojanja dvije faze te su napravljena dva FT-IR spektra (Slika 19, 20). Asignacija FT-IR spektara uzorka otkrila je da se zaista radi o različitim fazama. Spketar uzorka OS4a pokazuje oštru apsorpcijsku vrpcu jakog intenziteta na 1621 cm^{-1} koja upućuje na C=O istezanje, oštru apsorpcijsku vrpcu ali

slabijeg intenziteta na 1316 cm^{-1} koja ukazuje na C-O istezanje, oštru vrpcu jakog intenziteta na 1029 cm^{-1} koja upućuje na PO_4^{3-} istezanje, vrpcu slabog intenziteta na 779 cm^{-1} koja upućuje na C=O istezanje, i vrpcu slabog intenziteta na 515 cm^{-1} koja upućuje na O-C-O savijanje (Slika 19) (Selvaraju i dr., 2012). Za razliku od spektra OS4a asignacija spektra OS4b pokazala je da su karakteristična vrpce na 1623 cm^{-1} i 1317 cm^{-1} vrlo slabog intenziteta, dok je vrpca na 1028 cm^{-1} koja upućuje na istezanje PO_4^{3-} oštra i jakog apsorpcijskog intenziteta (Slika 20). Možemo zaključiti da se radi o dvije različite faze, gdje je jedna bogatija whewellitom, a druga hidroksilapatitom.

Asignacijom FT-IR spektara uzoraka K4, OS4 i OS9 uočene su karakteristične vrpce za pojedine funkcionalne skupine koje se javljaju kod oksalatnih kamenaca i kamenaca koji su mješavina oksalata i hidroksilapatita. Apsorpcijske vrpce s pikovima od 3424 cm^{-1} do 3049 cm^{-1} pripadaju O-H istezanju, uvijek su prisutne i pripadaju kalcijskom oksalatu monohidratu, whewellitu (Slika 9, 19, 20, 25) (Sekkoum i dr., 2011). Na 2292 cm^{-1} javlja se vrpca vrlo slabog intenziteta koja pripada istezanju CO_2 iz zraka (zbog atmosferskog utjecaja prilikom pripreme uzorka ili snimanja). Vrpce od 2081 cm^{-1} do 1911 cm^{-1} pripadaju šumu koji se javlja zbog nečistoća uzorka ili greške instrumenta. Oko 1620 cm^{-1} i 1316 cm^{-1} javljaju se oštre vrpce vrlo jakog intenziteta koje pripadaju C=O i C-O istezanju. Oko 1029 cm^{-1} javlja se vrpca koja pripada istezanju PO_4^{3-}, a njezin intenzitet i oblik ovise o količini hidroksilapatita u uzorku (Slike 19, 20, 25). Oštra vrpca manjeg intenziteta javlja se na 779 cm^{-1} i pripada C-C istezanju whewellita. Na 515 cm^{-1} javlja se vrpca koja pripada O-C-O savijanju.

Asignacijom FT-IR spektra uzorka K2 (Slika 1, 2, 3) koji pripada uratnim kamencima su karakteristične vrpce za taj spoj. Od 3438 cm^{-1} do 2805 cm^{-1} dolazi do istezanja N-H skupine i te su vrpce karakteristične za anhidrat uričnе kiseline. Na 1668 cm^{-1} nalazi se oštra vrpca jakog intenziteta koja pripada C=O savijanju, isto kao i vrpca slabijeg intenziteta na 1588 cm^{-1}. Vrpce slabijeg intenziteta oko 1434 cm^{-1} pripadaju C=C istezanju, oštra vrpca malog intenziteta na 1119 cm^{-1} pripada C-N istezanju. Nazubljene vrpce oko 470 cm^{-1} pripadaju N-H istezanju (Slika 5) (Sekkoum i dr., 2011).

Difraktogram (Slika 11) i FT-IR spektar (Slika 12, 13) uzorka K8 (Slika 10) već su naizgled bili u potpunosti drugačiji od ostalih uzoraka, što je i analiza difraktograma i asignacija FT-IR

spektra i pokazala. Na 2932 cm^{-1} nalazi se oštra vrpca jakog intenziteta koja pripada CH_2 istezanju. Dvije vrpce slabijeg intenziteta na 1463 cm^{-1} i 1376 cm^{-1} pripadaju CH_2 i CH_3 savijanju. Na 1054 cm^{-1} nalazi se oštra vrpca jakog intenziteta koja pripada C-C savijanju, a oko 593 cm^{-1} nalaze se vrpce vrlo slabog intenziteta koje pripadaju C-C savijanju (Slika 12, 13) (Channa i dr., 2008). Rezultati spomenutih analiza pokazali su da se radi o kolesterolu, žučnom kamencu. Žučni kamenci nastaju u žučnom mjehuru kada je koncentracija kolesterola veća od ukupne koncetracije žučnog soka i fosfolipida. Dijele se u 3 skupine: kolesterolski, mješoviti i pigmentni. Kolesterolski kamenci sadrže 90-100% kolesterola (Slika 11), i čine 80% svih žučnih kamenaca (Sikkandar i dr., 2011). Kolesterolski kamenci su ovalnog oblika, bijelo-sive do smeđe boje (Slika 10) (Sikkandar i dr., 2011). Uzorak K8 nije istraživan daljnim metodama (SEM analiza) jer ovaj kamenac ne pripada bubrežnom kamencu.

Iako je XRD metoda vrlo učinkovita u analizi kemijskog sastava tvari, ukoliko uzorak sadrži manje od 5% neke tvari ona neće biti otkrivena (uzorak OS4 gdje rentgenska analiza nije pokazala brushit). Upravo zbog tog razloga korištena je i FT-IR spektroskpija, koja je pokazala da iako XRD nije otkrio apatitnu komponentu u uzorcima, na FT-IR spektrima ona je vrlo jasno vidljiva.

Morfologija kristala analizirana je sa svjetlosnim mikroskopom i s pretraživajućom elektronskom mikroskopijom (SEM). Rezultati SEM analize otkrili su da neki uzorci sadrže mineralne tvari koje nisu otkrivene rentgenskom analizom i IR spektroskopijom.

Kalcijski oksalati u bubrežnim kamencima pokazuju svoje karakteristične forme. Whewellit dolazi u smeđoj i tamnoj boji čineći sferulaste agregate (Slika 6.c), dok weddellit dolazi u lijepo razvijenim kristalima bijele boje, dipiramidalnih formi koje su vidljive na svjetlosnom mikroskopu (Slika 6.b) (Gibson, 1974). Možemo jasno uočiti da whewellit čini jezgru kamenca na kojoj su se daljnjim rastom kamenca formirali kristali weddellita, međusobnim sraštanjem i proraštanjem (Slika 6.a) (Grases i dr., 1998). S elektronskim mikroskopom slikana je površina kamenaca. Ona se sastoji od malih sraslaca weddellita (Slika 7.a) i velikih dipiramidalni kristala weddellita okruženih manjim sraslacima te sferulastim agregatima whewellita (Slika 7.b). Osim sferulastih agregata uočeni su i pseudomorfni kristali whewellita (Slika 21). Kristali whewellita često nastaju

pseudomorfozm kristala weddellita. Parcijalnom dehidracijom nastaju pseudoforme bijelo žućkaste boje. Sama pseudomorfoza započinje u centru i nastavlja se prema površini. Površina kristala ostaje nepromijenjena (Slika 21.a, b). Iako rjeđe, u bubrežnim kamencima se mogu naći i monoklinski kristali whewellita (Slika 22.a, 16.c) (Gibson, 1974). Kristali whewellita pločastog su oblika i paralelno se slažu (Slika 16.b). Nastanak kamenca ovisan je o povoljnim uvjetima u urinu (visok udio kalcija u urinu, prisutnost citrata i pH veći od šest).

Oksalati vrlo često dolaze u asocijaciji s kalcijskim fosfatima. Najćešći kalcijski fosfati su brushit, hidroksilapatit i whitlockit. Spontanim taloženjem pri pH uvjetima manjim od 5 prvi se taloži brushit, pri pH uvjetima većim od 5 taloži se hidroksilapatit, a whitlockit se taloži ukoliko je urin zasićen magnezijem (Sikirić, 1998). U bubrežnim kamencima kristali brushita dolaze u obliku iglica, prvo kristalizirajući paralelno s površinom kamenca, a daljnjim rastom u svim smjerovima čineći igličaste kristale po cijeloj površini kamenca (Slika 17.a) (Grases i dr., 1998). Brushit nastaje kristalnim rastom a ne sedimentacijom iz urina zbog uređenost strukture. Na kristalima brushita moguć je rast sferulica hidroksiapatita (Slika 17.b) (Grases i dr., 1998). Pomoću SEM analize dokazano je da uzorak OS4 sadrži kristale brushita iako ih rentgenskom analizom nismo otkrili. Hidroksilapatit je kalcijski fosfat koji u bubrežnim kamencima dolazi u bijeloj boji praškastog izgleda (Slike 14.b, 21.b) (Grases i dr., 1998). Povećanjem praškastog hidroskilapatita vidi se da su to zapravo sferulice koje okružuju kristale (Slika 16.d, 22.b). Sferulice hidroksilapatita veličine su 2 do 4 μm i nastaju naknadno u šupljinama kamenca, a u većini slučajeva su šuplje (Slika 17.b, 23.b). Hidroksilapatit u kamencima čini i aspidinsku strukturu, uočenu na rubovima kamenca (Slika 15.a). Aspidinska struktura sastoji se od 3 dijela različita po strukturi. Vanjski rub strukture čine izduženi, planarni kristali whewellita (Slika 15.a, 16.b), na koje se nastavlja središnji svjetliji dio sastavljen se od korice hidroksiapatita (Slika 15.b), koja se sastoji od malih sferulica vidljivih pod većim povećanjem (slika 16.d), u tom se dijelu nalaze i kristali brushita koji se spajaju na hidroksiapatit (Slika 16a). Dio aspidinske strukture koji se nastvalja prema centru kamenca sastavljen je od mješavine kristala whewellita, brushita i hidroksiapatita(Slika 15.a). Kamenci građeni od brushita i hidroksiapatita nastaju pri pH uvjetima manjim od 7 i normalnom koncetracijom magnezija.

Uratni kamenci žućkaste su boje i nepravilo sferoidalnog oblika (Slika 1). Sastoje se od uricita i dihidrata uričnе kiseline. Dihidrat kristalizira iz urina prezasićenog na obje faze, ali s obzirom da je uricit stabilna faza, dihidrat će u roku od par dana prijeći u uricit (Grases i dr., 1998). Ukoliko je dihidrat iskristalizirao u velikoj količini, mali postotak dihidrata će ostati i biti zabilježen rentgenskom analizom (Slika 4). SEM analizom uočeni su kristali uricita u obliku moniklinskih kristala (Slika 3.a) koji čine sferulite obavijenim organskim matriksom (Slika 3.b) (Grases i dr., 1998). Organski matriks predstavljen je ekstracelularnim polisaharidima, no o njihovom porijeklu se ne zna puno, jer nastanak uratnih kamenaca nije povezan s bakteriološkom aktivnošću. Površina uratnih kamenca često je prekrivena kristalima uricita bez određene strukture s naznakam dihidrata koji prelazi u uricit (Slika 2).

9. ZAKLJUČAK

Organski minerali koji izgrađuju bubrežne kamence su kalcijski oksalati, kalcijski fosfati i soli mokraćne kiseline. Kalcijski oksalati dolaze u dvije forme, kao whewellit i weddellit. Whewellit rijetko dolazi u kristalnim formama, u većini slučajeva dolazi kao sferulast agregat tamne boje. Rijetko kad dolazi sam, uvijek u asocijacija s drugim mineralima, najčešće kalcijskim fosfatima. Weddellit dolazi u dipiramidalnim formama uvijek u asocijaciji s whewellitom ili hidroksilapatitom. Kalcijski oksalati čine najveći postotak bubrežnih kamenaca.

Soli mokraćne kiseline su uricit i dihidrat. U većini slučajeva dolaze zajedno u asocijaciji jer dihidrat prelazi u uricit. Čine mali postotak bubrežnih kamenaca te im zbog toga nije pridodana velika pažnja, lako su liječivi.

Za analizu kemijskog sastava bubrežnih kamenaca najčešće korištena metoda je IR spektroskopija. Asignacijom spektara dobivene su vrpce koje ukazuju na karakteristične skupine koje se mogu pripisati određenim mineralima. Uz IR spektorskopiju koristi se i rentgenska analiza pomoću koje možemo odmah saznati mineralne vrste koje izgrađuju kamenac.

Morfologija kamenca od velike je važnosti kao i sastav kamenca. Zbog toga se osim fizikalnih metoda koriste i mikroskopske. Pomoću svjetlosnog mikroskopa može se morfološki opisati bubrežne kamence, a elektronskim mikroskopom može se istražiti površinu i otkriti one mineralne tvari koje su ostalim metodama ostale neotkrivene.

Iako IR spektroskopija i rentgenska analiza daju uvid u sastav kamenca te su samostalno dovoljne za njihovu interpretaciju i liječenje, ne daju uvid u cjelokupnu građu kamenca. Da bi se saznalo od čega su sve bubrežni kamenci građeni i u kojoj mjeri, nužno je osim klasičnih metoda (rentgenska analiza, IR spektroskopija) koristiti nove metode (SEM) koje omogućuju detaljniju analizu kamenaca.

10. LITERATURA

Afaj, A. H. & Sultan, M. A. (2005): Mineralogical Composition of the Urinary Stones from Different Provinces in Iraq. The Scientific World JOURNAL 5, 24-38

Basavaraj, D.R., Biyani, C.S., Browning, A.J. & Cartledge, J.J. (2007): The Role of Urinary Kidney Stone Inhibitors and Promoters in the Pathogenesis of Calcium Containing Renal Stones. European Association of Urology, United Kingdom, 126-136.

Back, M. E. & Mandarino, J. A. (2008): Fleischer's Glossary of Mineral Species 2008. The mineralogical Record Inc., XIV + 345, Tucson.

Bridge, P. J. (1974): Guanine and uricite, two new organic minerals from Peru and Western Australia. Mineralogical Magazine, Perth, 890-890.

Basiri, A., Taheri, M. & Taheri, F. (2012): What is the State of the Stone analysis Techniques in Urolithiasis? Urology Journal, Iran, 445-454.

Coe, F. L. & Favus, J. M. (1991): Nephrolitiasis. In: Harrison's principles of internal medicine, Twelft edition (eds.: Wilson, J. D., Braunwald, E. Isselbacher, K. J., Petersdorf, R. G., Martin, J. B., Fauci, A. S. & Root, R. K.). 1202-1206.

Channa, N. A., Khand, F. D. and Bhanger, M. I. (2008): ANALYSIS OF HUMAN GALLSTONES BY FT-IR. The Malaysian Journal of Analytical Sciences, 12, 552-560

Echigo T., Kimata M., Kyono A., Shimizu M., Hatta T. (2005): Re-investigation of the crystal structure of whewellite ($Ca(C_2O_4)xH_2O$)) and the dehydration mechanism of caoxite ($Ca(C_2O_4)x3H_2O$)), Mineralogical Magazine, 69, 77-88.

Giannossi, M. L. & Summa, V. (2012): A Review of Pathological Biomineral Analysis Techniques and Classification Schemes. In: An Introduction to the Study of Mineralogy (ed.: Aydinalp, C.). InTech, 123-146.

Gibson, R. I. (1974): Descriptive Human Pathological Mineralogy. American Mineralogist, 59, 1177-1182.

Grases, F., Costa Bauza, A. and Garcia Ferragut, L. (1998): Biopathological crystallization: a general view about the mechanisms of renal stone formation. Advances in Colloid and Inerface Science, 74, 169-194.

Grases, F., Millan, A. & Conte, A. (1990): Production of calcium oxalate monohydrate, dihydrate or trihydrate, A comparative study. Urological Resarch, 18, 17-20.

Grases, F., Villacampa, A. I., Costa Bauza, A. & Sohnel, O. (2000): Uric acid calculi: types, etiology and mechanisms of formation. Clinica Chimica Acta 302, 89 – 104.

Grases, F., Costa Bauza, A., Ramis, M., Montesinos, V. and Conte, A. (2002): Simple classification of renal calculi closely related to their micromorphology and etiology. Clinica Chimica Acta, 332, 29-36.

Gray, D., Laing, M., Nel, F., Naudé, J. F. (1982): Composition of urinary calculi collested in the Durban area. Sa medical journal, 121-125.

Khaskheli, M. H., Sherazi, S. T. H., Ujan, M. H., & Mahesar, S. A. (2012): Transmission FT-IR spetroscopic analysis of human kidney stones in the Hyderabadregion of Pakistan. Turk J chem, 477-483.

Kuzmanić, D. (1991): Nefrolitijaza. U: Interna medicina, 2. knjiga (eds.: Vrhovac, B., Bakran, I., Granić, M., Jakšić, B., Labar, B. & Vucelić, B.). 1229-1233, Izdavačka kuća „Naprijed“, Zagreb.

Lužaić, N. (2007): Toplina hidratacije cementnog materijala. Diplomski rad, Fakultet kemijskog inženjerstva i tehnologije Sveučilišta u Zagrebu,1-55.

Medejová, J. & Komadel, P. (2001): BASELINE STUDIES OF THE CLAY MINERALS SOCIETY SOURCECLAYS: INFRARED METHODS. Clays and Clay minerals, 49, 410-432.

Nasir, J. S. (1999): The Mineralogy and Chemistry of Urinary Stones from the United Arab Emirates. Quatar Univ. Sci. J., 18, 189-202.

Plodinec, M. (2014): Fizikalna i kemijska svojstva funkcionaliziranih titanatnih nanostruktura. Doktorski rad, Prirodoslovno-matematički fakultet Sveučilišta u Zagrebu, X+178.

Sikirić, M. (1998): Taloženje mineralnih soli mokraćnih kamenaca. Magistarski rad, Prirodoslovno – matematički fakultet Sveučilišta u Zagrebu, 1 – 109.

Sikkandar, S., Jayakumar, S, Gunasekaran, S., Renugadevi, T. S. & Alwar, B. (2011): Study on the Analysis of Human Gallstones using Fourier Transform Infrared Spectroscopic Technique. International Journal of ChemTech Research, 3, 149-154.

Sekkoum, K., Cheriti , A., Taleb, S., and Belboukhari, N. (2011): FT-IR spectroscopic study of human urinary stones from El Bayadh district (Algeria). Arabian Journal of Chemistry.

Selvaraju, R., Thiruppathi, G. and Raja, A. (2012): FT-IR spectral studies on certain human urinary stones in the patients of rural area. Spectrochimica Acta Part A, 93, 260-265.

Tazzoli, V., Domeneghetti, C. (1980): The crystal structures of whewellite and weddellite: re-examination and comparison. American Mineralogist, 65, 327-334.

INTERNETSKI IZVORI:

Barbara L. Dutrow, Christine M. Clark: X-ray Powder Diffraction (XRD): http://serc.carleton.edu/research_education/geochemsheets/techniques/XRD.html (2014)

Reusch, W.:Infrared Spectroscopy : http://www2.chemistry.msu.edu/faculty/reusch/VirtTxtJml/Spectrpy/InfraRed/infrared.ht (2014)

PRILOG I.

Tablica I. Difrakcijski maksimum uzoraka K2

Pozicija [2Th]	d-međumrežni razmak [A]	Relativni intenzitet [%]
10.0527	8.79928	100.00
13.4855	6.56610	26.83
14.8128	5.98061	7.11
15.5986	5.68105	24.12
17.9549	4.94046	25.17
18.5537	4.78234	4.93
20.9911	4.23221	8.57
22.9510	3.87504	19.98
23.5667	3.77519	4.03
26.0235	3.42410	2.38
27.1459	3.28501	7.40
27.8274	3.20609	71.43
28.2993	3.15369	43.55
28.6987	3.11071	29.64
29.7252	3.00558	1.72
30.9907	2.88567	8.35
31.9788	2.79873	3.11
32.8413	2.72718	1.78
34.8301	2.57587	7.58
35.8613	2.50413	1.46
38.0433	2.36538	2.52
40.1499	2.24600	2.29
41.9505	2.15367	1.54
50.6247	1.80314	1.09

Tablica II. Difrakcijski maksimumi uzorka K4

Pozicija [2Th]	d-međumrežni razmak [A]	Relativni intenzitet [%]
10.1695	8.69847	9.23
14.3737	6.16229	30.28
14.9879	5.91113	100.00
15.3372	5.77726	20.96
20.1210	4.41322	9.72
22.8290	3.89548	3.59
23.6271	3.76568	5.70
24.3619	3.65373	55.64
24.4866	3.63540	58.73
25.9499	3.43363	11.78
28.8948	3.09004	8.08
30.1704	2.96224	63.57
30.7387	2.90875	12.15
31.5561	2.83525	23.81
32.3430	2.76804	45.56
36.0809	2.48940	19.24
37.2554	2.41357	7.16
38.2757	2.35155	35.21
39.9205	2.25837	16.40
40.2360	2.24139	13.62
40.8966	2.20670	8.64
42.6011	2.12227	3.86
43.6796	2.07234	11.84
44.8578	2.02061	1.84
45.9115	1.97666	14.26

46.4292	1.95582	12.99
47.0756	1.93046	13.18
48.1061	1.89149	11.94
49.5671	1.83911	10.71
50.2021	1.81732	8.55
50.9527	1.79230	9.08
52.7691	1.73481	7.45
56.1567	1.63793	1.97
56.8800	1.61881	1.59
59.7233	1.54835	1.73
59.9200	1.54374	2.10
60.7396	1.52360	2.01
61.8194	1.49955	2.71
62.7248	1.48006	2.08
63.9700	1.45423	1.40
64.1100	1.45139	1.21

Tablica III. Difrakcijski maksimumi uzorka K8

Pozicija [2Th]	d-međumrežni razmak [A]	Relativni intenzitet [%]
5.2397	16.86630	58.39
6.2926	14.04617	14.33
7.7427	11.41852	6.76
8.6040	10.27727	2.96
9.5583	9.25325	9.58
10.5689	8.37059	18.69
11.2905	7.83720	11.18
11.7226	7.54926	8.97
12.5495	7.05366	13.07
13.1405	6.73772	17.39
14.1161	6.27418	48.07
15.4914	5.72011	100.00
16.2956	5.43957	39.82
16.8930	5.24854	81.94
17.4422	5.08451	80.70
18.1902	4.87708	88.19
19.3869	4.57865	26.72
21.2914	4.17320	11.91
22.6379	3.92793	7.92
25.1880	3.53574	6.43

Tablica IV Difrakcijski maksimumi uzorka OS4a

Pozicija [2Th]	d-međumrežni razmak [A]	Relativni intenzitet [%]
10.7780	8.20869	0.75
14.9667	5.91945	100.00
15.0830	5.87405	52.90
15.3884	5.75817	5.40
17.0800	5.19150	1.66
19.6543	4.51694	1.25
23.5493	3.77793	1.91
24.4053	3.64733	27.24
25.9622	3.43204	5.02
28.0159	3.18495	1.93
28.7836	3.10172	1.05
30.1429	2.96243	52.44
30.2489	2.95962	39.69
30.8794	2.89342	3.40
31.5815	2.83068	7.54
32.8501	2.72421	3.71
34.1806	2.62114	1.28
34.6852	2.58416	1.98
36.0964	2.48630	5.98
36.8107	2.43968	1.12
37.2241	2.41353	1.32
38.1758	2.35552	8.26
38.3004	2.34814	10.63
39.8938	2.25795	4.28

40.8210	2.20878	2.04
42.4690	2.12681	0.81
43.6528	2.07184	3.12
45.8740	1.97655	10.85
45.9940	1.97657	9.71
46.5955	1.94761	3.34
47.0313	1.93058	3.39
48.1647	1.88776	2.09
49.3388	1.84555	2.06
50.4095	1.80883	2.03
50.9659	1.79038	1.79
52.7025	1.73540	1.66
53.4394	1.71320	1.29
55.9847	1.64119	0.30
58.0660	1.58722	0.64
59.8121	1.54499	0.85
60.7102	1.52427	0.51
62.6582	1.48148	1.66
63.9238	1.45516	0.72

Tablica V. Difrakcijski maksimumi uzorka OS4b

Pozicija [2Th]	d-međumrežni razmak [A]	Relativni intenzitet [%]
10.8584	8.14809	6.88
14.8915	5.94915	87.95
15.0262	5.89612	100.00
17.1201	5.17943	12.68
21.9914	4.04192	6.44
24.4285	3.64392	45.62
25.9692	3.43113	58.39
27.9800	3.18895	24.13
30.2075	2.95868	52.87
31.2854	2.85916	56.92
31.7628	2.81727	78.18
32.2204	2.77830	75.80
34.5843	2.59362	25.44
35.9884	2.49558	14.63
38.2833	2.35110	25.98
40.0118	2.25343	19.29
41.9758	2.15243	6.07
43.6930	2.07174	8.28
45.9185	1.97637	12.79
46.5532	1.95090	19.43
47.2505	1.92372	14.72
48.2219	1.88722	14.32
49.4596	1.84285	22.64
53.3755	1.71652	21.95

55.7664	1.64846	3.35
59.9033	1.54413	5.16
61.7917	1.50140	2.60
63.9300	1.45504	5.52

Tablica VI. Difrakcijski maksimumi uzorka OS9

Pozicija [°2Th.]	d-međumrežni razmak [A]	Relativni intenzitet [%]
10.6320	8.32110	0.61
15.0208	5.89826	100.00
15.3620	5.76799	9.36
17.0719	5.19395	1.04
19.6498	4.51798	2.30
23.5744	3.77397	4.34
24.4282	3.64397	35.55
26.0334	3.42281	7.03
28.0400	3.18226	2.15
28.7500	3.10527	1.91
30.1506	2.96168	60.76
30.7734	2.90315	4.46
31.5300	2.83519	8.50
31.6030	2.82880	8.57
32.2900	2.77017	6.81
32.6100	2.74371	4.75
36.0755	2.48770	12.08
36.7353	2.44452	1.82
37.2474	2.41207	1.79
38.2696	2.34997	18.06
39.9977	2.25233	7.33
40.8756	2.20596	4.57
42.4577	2.12735	1.31
43.2810	2.08876	2.52

43.6701	2.07105	6.30
45.9091	1.97512	12.75
46.5282	1.95027	4.48
47.0571	1.92958	6.33
48.1508	1.88827	4.22
49.3969	1.84352	3.85
50.3322	1.81143	3.36
50.9213	1.79185	3.13
52.6791	1.73612	3.09
53.4800	1.71199	1.83
56.0516	1.63939	0.47
58.0465	1.58771	1.22
59.7119	1.54734	0.88
60.7208	1.52402	1.22
61.7121	1.50190	0.77
62.6206	1.48228	1.78
63.9269	1.45510	1.00

PRILOG II.

Tablica VII. Karakteristične vrpce i valni brojevi FT-IR spektra

Uzorak		Valni broj (cm^{-1})	Asignacija
K2 (uricit, dihidrat urične kiseline)		3438	N-H istezanje
		3007	N-H istezanje
		1668	C=O istezanje
		1434	C=C istezanje
		1119	C-N istezanje
		779	C=O istezanje
		470	N-H istezanje
K4 (whewellit, weddellit)		3326	O-H istezanje
		1620	C=O istezanje
		1316	C-O istezanje
		1034	PO_4^{3-} istezanje
		780	C-C istezanje
		515	O-C-O savijanje
K8 (cholesten)	a	2932	CH_2 istezanje
		1463	CH_2, CH_3 savijanje
		1054	C-C savijanje
		593	C-C istezanje
	b	2932	CH_2 istezanje
		1463	CH_2, CH_3 savijanje
		1053	C-C savijanje
		738	C-C istezanje

OS4 (whewellit, hidroksilapatit, whitlockit)	a	3326	O-H istezanje
		1621	C=O istezanje
		1316	C-O istezanje
		1029	PO_4^{3-} istezanje
		779	C-C istezanje
		515	O-C-O savijanje
	b	3333	O-H istezanje
		1623	C=O istezanje
		1317	C-O istezanje
		1028	PO_4^{3-} istezanje
		519	O-C-O istezanje
OS9 (whewellit, hidroksilapatit)		3427	O-H istezanje
		1619	C=O istezanje
		1315	C-O istezanje
		1032	PO_4^{3-} istezanje
		779	C-C istezanje
		515	O-C-O savijanje