

QUALITATIVE ANALYSIS OF STONE SAMPLES TAKEN FROM SOME PATIENTS WITH THE DISEASES OF URINARY SYSTEM USING X-RAY POWDER DIFFRACTION METHOD

Emine GÜNERİ, Mehmet AKKURT*

Erciyes Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Fizik Bölümü, 38039 Kayseri, TÜRKİYE

ABSTRACT

The analysis of 45 stones, (34 renal, 8 urethral and 3 bladder) taken from 45 patients, were analyzed by using X-ray powder diffraction method. Use was made of PDF files in order to identify the constituents of the samples.

Key Words: Qualitative analysis, X-ray diffraction

BAZI ÜRİNER SİSTEM HASTALARINDAN ALINAN TAŞ ÖRNEKLERİNİN X-IŞINLARI TOZ KIRINIM YÖNTEMİ İLE NİTEL ANALİZİ

ÖZET

45 ayrı hastadan alınan 34 böbrek, 8 üreter ve 3 mesane taşının X- ışınları toz kırınım metodu ile nitel analizleri yapıldı. Numunelerde yer alan maddelerin tayininde PDF kütüklerinden yararlandı.

Anahtar Kelimeler: Nitel Analiz, X-Işınları Difraksiyonu

1. GİRİŞ

X-Işınları difraksiyonu kristal yapıya sahip maddeleri analiz etmek için kullanılan bir yöntemdir ve diğer analiz yöntemlerine göre bazı üstünlüklere sahiptir. Bunların en önemlisi bir cisim ayrı ayrı oluşturan kimyasal elementler cinsinden değil numune içinde bulunduğu şekilde açıklamasıdır (1). Saf fazlı bir materyal için mümkün olan en iyi şartlar altında deneysel olarak ölçülen şiddet (I) ve (2θ) difraksiyon açısından belirlenen mesafe (d) verilerinden oluşur. Bu veri tipi bir insandaki parmak izi gibidir. Çünkü mesafe (d) kristalin geometrisi tarafından sabitlenir. Şiddet de elementlerin kristal yapıdaki düzenlenmelerine bağlıdır. Bu özelliği kullanarak araştırmacılar yaptıkları analiz sonuçlarının d ve I bilgilerini içeren Toz Difraksiyon Dosyasını (PDF) oluşturduklar ve verilerin kullanımını kolaylaştırmak için bilgisayar kütüklerine aktardılar. Böylece bilinmeyen materyalden elde edilen d-I verisi ile kütükteki karşılaştırılarak materyal tespit edilebildi (2).

Bu yöntemin kristal yapıya sahip olan üriner sistem taşlarının analizine uygulanışı ilk kez Prien ve Frondel tarafından 1963'te gerçekleştirildi (3).

Ülkemizde yaygın olarak görülen üriner sistem taş hastalıkları bir nedene bağlanabilecek kadar basit bir olay değildir. Fiziki, kimyevi, diyetik, bakteriyolojik ve endokrinolojik gibi faktörlerle ilgilidir. Bu faktörlerin daima birkaç tanesi birlikte rol alır. Bu sebepten dolayı güvenilir analizler etkili tedavi tanımlanmasında yardımcı olacaktır.

2. MATERYAL VE METODLAR

Ankara Numune Hastanesi, Ankara İbni Sina Devlet Hastanesi, Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi, Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi, Kayseri Devlet Hastanesi, Kayseri Sosyal Sigorta Hastanesi, Mersin Devlet Hastanesi ve SSK Ankara Eğitim

1. INTRODUCTION

X-ray diffraction is a method used to analyze substances with crystal structure, and it has some advantages over other analytical methods. The most important of these is that it identifies the sample not as the chemical elements that constitute an object but as they are found in the sample (1). Quantified experimentally under the best conditions possible for a material with pure phase, intensities (I) and the distances (d) determined from diffraction angles (2θ), constitute our data. This data is just like finger prints, in that the distance d is fixed by the crystal geometry, and the intensity I depends on the arrangement of elements in crystal structure. Using this feature researchers formed Powder Diffraction Files (PDF) containing the d and I data of the analyses they perform and fed them on the computer to facilitate access. Thus d-I derived from the known material was compared with in files and the material was identified (2).

The application of this method to the analysis of urinary system stones with crystal structure was first realized in 1963 by Prien and Frondel (3).

Diseases of urinary system stones occurring commonly in our country are not a simple problem which can be attributed to a single cause. It is connected with factors such as physical, chemical, dietetic, bacteriological and endocronological. Several of these factors always act together. For this reason, reliable analyses will help to define effective medical treatment.

2. MATERIAL AND METHODS

Thirty four renal, 8 urethral, 3 bladder stones taken from hospitalized patients in Ankara Specimen Hospital, Ankara İbni Sina State Hospital, The Medical Faculty Hospital of Erciyes University, The Medical Faculty Hospital of Hacettepe University, Kayseri State Hospital,

Hastanesinde yatan hastalardan alınan 34 böbrek taşı, 8 üreter ve 3 mesane taşı agat havanında öğütüldü. EB1, EB4 ve EB8 kodlu böbrek taşlarının öğütülme sırasında kabuk ve çekirdeği arasında fiziksel olarak bazı farklılıklar görüldüğü için bu kısımlar ayrıca öğütüldü. Toz haline getirilen numunelerin desenleri Erciyes Üniversitesi Teknoloji Araştırma ve Uygulama Merkezi'nde bulunan Bruker AXS D8 Advance marka X-ışınları toz difraktometresinde çekildi. Taşların kırınım desenleri XRD Evaluation Programında analiz edildi. Analiz işlemi yapılırken aşağıdaki sıra takip edildi.

1- Filtre kullanılmasına rağmen hala kırınım deseninde mevcut olan $K\alpha_2$ dalga boyları azaltıldı.

2- Numune içindeki kirlilikten, hazırlanması sırasında oksitlenmesinden veya düzlemlerin kaymasından kaynaklanan fon maddeyi analiz etmeyi güçleştirdiğinden azaltıldı.

3- Programda yüklü olan PDF kütüklerindeki numunelerin kırınım desenleriyle bilinmeyen numunelerin kırınım desenleri karşılaştırılarak numunelerin içerdiği madde veya maddeler tespit edildi. Bu işlem her bir numune için tek tek yapıldı ve her bir numune ile eldeki numunenin en şiddetli üç ışımaya ait olan d değerleri Hanawalt metoduna göre karşılaştırıldı. Numune tek fazlı ise d_1 , d_2 , d_3 çizgileri çakıştı. Bilinmeyen numune çok fazlı olduğunda en şiddetli piklere ait d_1 , d_2 , d_3 değerlerinden her defasında biri çıkarılarak bilinen numune desenleriyle karşılaştırıldı. Doğru numune bulunduktan sonra boşta kalan pikler için işleme tekrar başlandı. Bu tekrar açıkta hiç pik kalmayınca kadar yapıldı (4,5).

4- Yapılan işlemin güvenilirliğini kontrol etmeyi sağlayan Overlap programı için d, % I/I₀ değerleri tespit edildi.

5- Overlap programının özelliğinden dolayı örtüşme katsayısı bulunurken yalnızca on pik karşılaştırılabilir. Örtüşme katsayısı değerinin 1'e yakın olmadığı durumlarda işlemler tekrar edildi (6).

Şekil 1 ve Çizelge 1'de EB2 kodlu böbrek taşının kırınım deseni ve analiz sonuçları verildi. Şekil 1'deki kırınım deseni çekilen ilk desen olmayıp yukarıdaki işlemlerin tamamı yapıldıktan sonra elde edilen desendir.

Kayseri Social Security Hospital, Mersin State Hospital and Social Security, Ankara Education Hospital were grounded in agat mortar. As some differences were observed between the shell and nucleous while grinding the renal stones with EB1, EB4 and EB8 codes, these parts were ground separately. Patterns of the powdered specimens were run in Bruker AXS D8 Advance mark X-ray Powder Diffraction device in the Technological Research and Application Centre of Erciyes University. Diffraction patterns of the stones were analysed on XRD program. During the analysis the following order was followed.

1-Wave lengths of $K\alpha_2$ which still remained in the pattern although filter used was reduced.

2-The background resulting from the impurities in the specimen, its oxidization during preparation, or shifting of the planes was reduced since it made the analyses of the substance difficult.

3-The substance or substances contained in the specimen were identified comparing the diffraction pattern of the substances to be identified with that of the substances listed in the PDF files. This procedure was followed individually for each specimen and the d values of the 3 strongest peaks of the unknown specimen were compared according to Hanawalt method, with in the file. If the specimen had one phase, then d_1 , d_2 and d_3 lines were matched. When unknown specimen had multiple phase, it was compared with the known specimen removing each time one of the d_1 , d_2 , d_3 values, which belong to the most intensive peaks. After correct specimens were found the procedure was began again for the rest of peaks. This procedure was repeated until there was not any peak left isolated (4,5).

4-For overlap program which enables us to check the reliability of the procedure done d, % I/I was determined.

5-While overlap coefficient was determined because of the characteristic the overlap program only ten peaks could be compared. If the coefficient was not close to 1, the procedure was repeated (6).

Diffraction pattern and analyses results of renal stone with EB2 code were shown in Figure 1 and Table 1. The diffraction pattern in Figure 1 is not the first but one obtained only after all the procedures above are repeated.

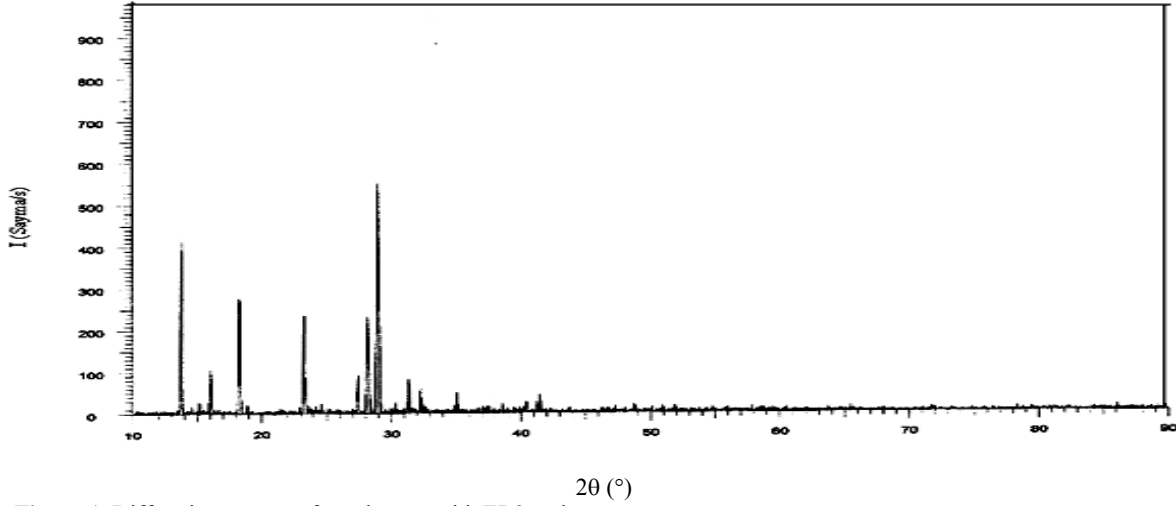


Figure 1. Diffraction pattern of renal stone with EB2 code
Şekil 1. EB2 kodlu böbrek taşının kırınım deseni

Table 1. Analyses Results of Renal Stone with EB2 Code
Çizelge 1. EB2 Kodlu Böbrek Taşının Analiz Sonuçları

JCPDS Card Numbers / JCPDS Kard Numaraları				36-1619		31-1982	
Substances Determined / Saptanan Maddeler				Calcium Urate / Kalsiyum Ürat		Uric Acid / Ürik Asit	
Chemical Formulae / Kimyasal Formüller				$C_{10}H_6CaN_8O_6$		$C_5H_4N_4O_3$	
Diffraction Pattern Data of Sample / Numunenin Kırınım Deseni Verileri				d(Å)	I/I ₀ %	d(Å)	I/I ₀ %
Peak / Pik No	2θ(°)	d(CuK _α) (Å)	I/I ₀ %				
1	13.720	6.44907	100	6.46000	27		
2	28.913	3.08498	96	3.09200	100	3.098800	100
3	18.200	4.87042	58.3	4.88000	45		
4	28.140	3.16853	49.1	3.17900	75	3.18500	50
5	23.212	3.82890	46.2	3.83700	47	3.86000	55
6	27.400	3.25239	30.8			3.27600	17
7	15.942	5.55469	29.0	5.56000	24		
8	15.097	5.86393	25.8	5.86000	64		
9	31.259	2.85914	26.4	2.86600	32	2.86800	25
10	24.562	3.62142	21.1	3.62500	25		
11	35.016	2.56050	14.5	2.56900	15	2.57000	16
12	41.460	2.17621	12.5	2.17900	6		
13	40.380	2.23187	12.2	2.23600	20		
14	18.779	4.72149	10.1	4.73000	8		
15	38.319	2.34708	9.1	2.35000	16		
16	32.160	2.78110	16.1	2.78200	35		
17	36.159	2.48212	6.7	2.49100	8		
18	37.301	2.40876	6.1			2.42100	4
19	50.643	1.80103	6.8			1.79880	6
20	50.862	1.79381	6.4			1.79550	5
21	51.061	1.78728	6.8	1.79600	5		
22	55.308	1.65967	2.7	1.64200	2		
23	59.661	1.54855	5.0	1.55500	6		
24	45.960	1.97306	3.1	1.97200	8		
25	46.981	1.93254	2.5	1.93300	5		
26	57.0971	1.61185	4.2	1.61900	4		
27	43.739	2.06794	3.7	2.07000	4		
28	34.242	2.61660	4.0			2.62300	3
29	56.205	1.63529	3.8	1.64200	2		
30	57.839	1.59291	2.2	1.59500	4		
Overlap Coefficients / Örtüşme Katsayıları				0.990		0.992	

Table 2. Analyses Results and The Overlap Coefficients of The Identified Substances
Çizelge 2. Analiz Sonuçları ve Saptanan Maddelerin Örtüşme Katsayıları

No.	Codes of the Stones / Taşların Kodları	Substances Determined / Saptanan Maddeler				Overlap Coefficients / Örtüşme Katsayıları			
1	EB1	Uric Acid / Ürik Asit	Calcium Urate / Kalsiyum Ürat	Whewellite		0.969	0.959	0.807	
2	EB1-İ	Uric Acid / Ürik Asit	Calcium Urate / Kalsiyum Ürat	Brushite		0.834	0.925	0.866	
3	EB2	Uric Acid / Ürik Asit	Calcium Urate / Kalsiyum Ürat			0.990	0.992		
4	EB3	Weddelite	Calcium Urate / Kalsiyum Ürat			0.964	0.944		
5	EB4	Whewellite	Calcium Oxalate / Kalsiyum Okzalat			0.939	0.903		
6	EB4-İ	Whewellite	Ammonium Acid Urate / Amonyum Asit Ürat			0.854	0.953		
7	EB5	Whewellite	Calcium Phosphate / Kalsiyum Fosfat	Struvite		0.762	0.923	0.957	
8	EB6	Whewellite	Struvite			0.968	0.907		
9	EB7	Calcium Oxalate / Kalsiyum Okzalat	Calcium Urate / Kalsiyum Ürat			0.936	0.839		
10	EB8	Calcium Oxalate / Kalsiyum Okzalat	Calcium Urate / Kalsiyum Ürat	Whewellite		0.971	0.899	0.910	
11	EB8-İ	Calcium Oxalate / Kalsiyum Okzalat	Calcium Urate / Kalsiyum Ürat	Uric Acid Dihydrate / Ürik Asit Dihidrat		0.899	0.834	0.944	
12	EB9	Calcium Urate / Kalsiyum Ürat	Whewellite			0.809	0.984		
13	EB10	Calcium Urate / Kalsiyum Ürat	Uric Acid / Ürik Asit			0.983	0.982		
14	EB11	Struvite	Whitlockite			0.919	0.951		
15	EB12	Calcium Oxalate / Kalsiyum Okzalat	Ammonium Acid Urate / Amonyum Asit Ürat	Uric Acid / Ürik Asit		0.879	0.836	0.827	
16	EB13	Calcium Urate / Kalsiyum Ürat	Whewellite			0.977	0.964		
17	EB14	Struvite	Ammonium Acid Urate / Amonyum Asit Ürat	Whewellite		0.987	0.785	0.831	
18	EB15	Calcium Urate / Kalsiyum Ürat				0.990			
19	EB16	Calcium Urate / Kalsiyum Ürat	Struvite			0.944	0.964		
20	EB17	Calcium Phosphate / Kalsiyum Fosfat	Newberyite	Sodium Phosphate Oxide / Sodyum Fosfat Oksit		0.969	0.931	0.969	
21	EB18	Whewellite	Calcium Urate / Kalsiyum Ürat			0.989	0.977		
22	EB19	Whewellite				0.990			
23	EB20	Whewellite				0.961			
24	EB21	Whewellite	Calcium Urate / Kalsiyum Ürat			0.979	0.979		
25	EB22	Uric Acid / Ürik Asit				0.957			
26	EB23	Whewellite				0.969			
27	EB24	Calcium Urate / Kalsiyum Ürat				0.989			
28	EB25	Whewellite				0.986			
29	EB26	Calcium Phosphate Hydrate / Kalsiyum Fosfat Hidrat	Struvite			0.949	0.949		
30	EB27	Calcium Phosphate Hydrate / Kalsiyum Fosfat Hidrat	Struvite	Uric Acid Dihydrate / Ürik Asit Dihidrat		0.899	0.836	0.945	
31	EB28	Whewellites				0.990			

32	EB30	Whewellite				0.998			
33	EB31	Whewellite	Calcium Urate / Kalsiyum Ürat			0.985	0.810		
34	EB32	Calcium Phosphate Hydrate / Kalsiyum Fosfat Hidrat	Struvite			0.997	0.997		
35	EB33	Calcium Phosphate Hydrate / Kalsiyum Fosfat Hidrat		Calcium Urate / Kalsiyum Ürat		0.987	0.982	0.994	
36	EB34	Struvite				0.992			
37	EB35	Calcium Phosphate Hydrate / Kalsiyum Fosfat Hidrat		Newberyite		0.934	0.932	0.966	
38	EM1	Cholesterol / Kolesterol	Cholesteryl Benzoate	Calcium Oxalate / Kalsiyum Okzalat	Whitlockite	0.945	0.929	0.951	0.961
39	EM2	Calcium Phosphate Hydrate / Kalsiyum Fosfat Hidrat	Struvite	Calcium Phosphate / Kalsiyum Fosfat		0.862	0.961	0.947	
40	EM3	Calcium Urate / Kalsiyum Ürat	Whewellite			0.966	0.960		
41	EU1	Calcium Urate / Kalsiyum Ürat	Whewellite			0.992	0.977		
42	EU2	Calcium Urate / Kalsiyum Ürat	Whewellite			0.989	0.977		
43	EU3	Sodium Phosphate Oxide / Sodyum Fosfat Oksit	Calcium Urate / Kalsiyum Ürat			0.969	0.969		
44	EU4	Sodium Phosphate Oxide / Sodyum Fosfat Oksit	Calcium Urate / Kalsiyum Ürat	Uric Acid / Ürik Asit		0.956	0.900	0.933	
45	EU5	Calcium Urate / Kalsiyum Ürat	Whewellite			0.981	0.952		
46	EU6	Sodium Phosphate Oxide / Sodyum Fosfat Oksit	Calcium Urate / Kalsiyum Ürat	Weddelite		0.942	0.976	0.817	
47	EU7	Calcium Urate / Kalsiyum Ürat	Whewellite			0.934	0.881		
48	EU8	Calcium Urate / Kalsiyum Ürat	Newberyite			0.964	0.931		

3.SONUÇLAR VE TARTIŞMA

Analiz sonunda yirmi iki farklı madde tespit edildi. Belirlenen maddeler ve örtüşme katsayıları Çizelge 2 'de gösterildi. İlgili tabloda EB kodu böbrek taşı, EM kodu mesane taşı, EU kodu üreter taşlarını temsil etmektedir. Analizi yapılan taşların otuz dört tanesi böbrek, sekiz tanesi üreter, üç tanesi mesane taşıdır. EB1, EB4 ve EB8 kodlu böbrek taşlarının öğütülmesi sırasında kabuk ve çekirdek kısımları arasında fiziki farklılıklar görüldüğü için ayrı ayrı analizleri yapıldı ve neticede farklı maddeler tespit edildi. Taşların otuz bir tanesi erkek hastadan, on dört tanesi kadın hastadan alındı. En genç hasta on iki, en yaşlı hasta altmış altı yaşında olup tüm hastaların yaş ortalaması kırk dokuzdur. Analiz sonuçları literatürdeki sonuçlarla uyum içindedir (3,7). Çizelge 3 bulunan bileşiklerin yüzde oranları gösterildi. Taşların yapısında en çok kalsiyumlu bileşiklerin olduğu tespit edildi. Bulunanların ışığında kalsiyum içeren yiyeceklerin taş oluşturma ihtimalinin diğerlerine göre daha yüksek sonucuna varıldı.

3. RESULTS AND DISCUSSION

At the end of the analysis, twenty two different substances were identified. The kind and overlap coefficients of identified substances were shown in Table 2. In table given; EB, EU, EM were represented renal stones, urethral stones, bladder stones, respectively. 34 renal stones, 8 urethral stones and 3 bladder stones were analysed. As physical differences were observed between the shell and nucleous during the grinding of the renal stones with EB1, EB2 and EB8 codes these stones were analyzed separately and as a result, different substances were identified. Thirty one of the stones were taken from male patients, fourteen from female patients. The ages of the patients ranged from 12 to 66 the mean being 49. The results of analyses are in agreement with those in literature (3,7). Percentages of compounds identified were shown in Table 3. It was determined that the stones contained mostly compounds of calcium. In the light of these findings, it was concluded that the probability of calcium-containing food to from stones was greater than that of other foods.

Table 3. The Chemical Formulae of The Substances Identified, JCPDS Card Numbers and Their Frequencies
Çizelge 3. İncelenen Taşların Kimyasal Formülleri, JCPDS Kart Numaraları ve Bulunma Sıklıkları

Substances / Maddeler	Chemical Formulae / Kimyasal Formüller	JCPDS Card Numbers / JCPDS Kart Numaraları	Frequencies % / % Frekanslar
Whewellite	Ca(COO) ₂ ·H ₂ O	77-1160	0.94
Whewellite	CaC ₂ O ₄ (H ₂ O)	75-1313	14.15
Whewellite	C ₂ CaO ₄ ·H ₂ O	20-231	7.55
Struvite	MgNH ₄ PO ₄ ·6 H ₂ O	3-240	10.38
Calcium Oxalate / Kalsiyum Okzalit	C ₂ Ca O ₄	18-296	5.66
Calcium Urate / Kalsiyum Ürat	C ₁₀ H ₆ CaN ₈ O ₆	36-1619	25.47
Uric Acid Dihydrate / Ürik Asit Dihidrat	C ₅ H ₄ N ₄ O ₃ ·2 H ₂ O	19-1996	1.89
Uric Acid / Ürik Asit	C ₅ H ₄ N ₄ O ₃	22-2000	4.72
Brushite	CaHPO ₄ ·2H ₂ O	72-713	0.94
Weddelite	C ₂ CaO ₄ (H ₂ O)	17-541	1.89
Ammonium Acid Urate / Amonyum Asit Ürat	C ₅ H ₇ N ₅ O ₃	21-1518	2.83
Calcium Phosphate / Kalsiyum Fosfat	Ca ₂ P ₂ O ₇	2-647	0.94
Uric Acid / Ürik Asit	C ₅ H ₄ N ₄ O ₃	31-1982	1.89
Whitlockite	Ca ₁₈ Mg ₂ H ₂ (PO ₄) ₁₄	70-2064	0.94
Whitlockite	Ca ₃ (PO ₄) ₂	9-169	0.94
Cholesteryl Benzoate	C ₃₅ H ₅₀ O ₂	39-1583	0.94
Newberyite	MgHPO ₄ ·3H ₂ O	35-780	3.77
Sodium Phosphate Oxide / Sodyum Fosfat Oksit	NaPO ₃	2-436	4.72
Calcium Phosphate Hydrate / Kalsiyum Fosfat Hidrat	Ca ₂ P ₂ O ₇ ·4H ₂ O	22-537	8.07
Calcium Phosphate / Kalsiyum Fosfat	Ca ₄ P ₂ O ₉	11-232	2.41
Cholesterol / Kolesterol	C ₂₇ H ₄₆ O	42-2178	0.94
Struvite	MgNH ₄ PO ₄ ·6 H ₂ O	77-2303	0.94

KAYNAKLAR/ REFERENCES

1. Aydın, A., Soylu, H. ve Akkurt, M., "X-Işınları Difraksiyon Yöntemi İle Üriner Sistem (Böbrek, Üreter, Mesane) Taşlarının Analizi", Kastamonu Eğitim: 106-109 (1995).
2. Smith, D. K. and Jenkins D., "The Powder Diffraction File: Past, Present and Future", 6(2): 3-14 (1989).
3. Kendi, E., "Böbrek Taşları ve İdrar Kristallerinin X-Işınları Toz Difraksiyonu İle İncelenmesi", *TMMOB Fizik Mühendisliği Odası Yayın Organı*, Ekim: 15-18 (1997).

4. Bruker AXS, User's Manual, Diffrac Plus Eva, **Karlsruhe**, 1-117 (1999).
5. Cullity, B. D., Element of X-Ray Diffraction 3rd printing, **Addison-Wesley Publishing Company**, Inc., London, 378-401 (1967).
6. Lawton, S. L. and Bartell, L. S., "Application of the Overlap Integral in X-ray Diffraction Powder Pattern Recognition", **Powder Diffraction**, 9(2): 124-135 (1994).
7. Tanagho, E., Mc Aninch, J., Genel Üroloji, **Nobel Tıp Kitapevleri**, İstanbul, 276-300, (1999).

Received/ Geliş Tarihi: 15.07.2004 Accepted/Kabul Tarihi: 12.01.2005