

# Taurin katkı maddesinin kalsiyum oksalat kristalizasyonuna etkisi

Sevgi POLAT\*

Marmara Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Kimya Mühendisliği Bölümü, 34854 Maltepe/İstanbul

Geliş Tarihi (Received Date): 13.06.2024

Kabul Tarihi (Accepted Date): 02.09.2024

## Öz

Böbrek taşları dünya nüfusunun % 8-15'ini etkileyen yaygın bir hastalık olup, kalsiyum oksalat kristalleri bu taşların temel bileşenini oluşturmaktadır. Yapılan mevcut çalışmalar kalsiyum oksalat kristallerinin oluşumunun değişik türdeki inorganik, organik ve biyolojik katkı maddelerinin kullanılmasıyla engellenebileceğini ortaya koymuştur. Bu çalışmada, kalsiyum oksalat kristallerinin yapı, morfoloji, tane boyutu, aglomerasyon eğilimleri gibi fiziksel özelliklerinin, taurin katkı maddesi kullanılarak değiştirilmesi ve birikiminin engellenmesi amaçlanmaktadır. Bu kapsamda, ilk olarak sulu çözelti ortamında reaktif kristalizasyon yöntemi kullanılarak farklı taurin konsantrasyonunda kalsiyum oksalat kristalleri üretilmiştir. Daha sonra aynı deneyler sentetik üre ortamında gerçekleştirilmiştir. XRD ve FTIR analiz sonuçları, sulu çözelti ortamında üretilen kalsiyum oksalat kristallerinin termodinamik olarak en kararlı form olan monoklinik kalsiyum oksalat monohidrat (COM) yapısında olduğunu, sentetik üre ortamında elde edilen kristallerin ise tetragonal yapıdaki kalsiyum oksalat dihidrat (COD) kristalleri olduğunu göstermiştir. Bu sonuç, termogravimetrik analiz sonuçları ile desteklenmiş ve kristallerinin hidrat yapıları doğrulanmıştır. SEM analiz sonuçları, hem sulu çözelti ortamında elde edilen hekzagonal COM kristallerinin hem de sentetik üre ortamında üretilen bipiramidal COD kristallerinin morfolojilerinin ve aglomerasyon eğilimlerinin taurin varlığında değiştiğini göstermiştir. Ayrıca yapılan tane boyutu analiz sonuçları kristallerin tane boyutlarının taurin konsantrasyonunun artışına bağlı olarak önemli ölçüde küçüldüğünü göstermiştir. Sentetik üre ortamında üretilen COD kristallerinin tane boyutu 29 µm iken, bu değer 100 ppm taurin varlığında 11 µm olarak ölçülmüştür. Ayrıca, COM ve COD kristallerin yüzey yükleri zeta potansiyeli analiz yöntemiyle belirlenmiş ve katkı maddesi kullanımı hem COM hem de COD kristallerinin yüzey yüklerinin daha negatif bir değere ulaşmasını sağlamıştır. Bu çalışmanın, böbrek taşının oluşumunun inhibite edilmesi ve yavaşlatılmasına yönelik yapılacak araştırmalara katkı sağlayacağı düşünülmektedir.

**Anahtar kelimeler:** Kalsiyum oksalat, kristalizasyon, morfoloji, böbrek taşı, taurin.

\* Sevgi POLAT, sevgi.polat@marmara.edu.tr, <https://orcid.org/0000-0002-0934-2125>

## Effect of taurine additive on calcium oxalate crystallization

### Abstract

*Kidney stones are a common disease affecting 8-15% of the world population, and calcium oxalate crystals constitute the main component of these stones. Current studies have shown that the formation of calcium oxalate crystals can be prevented using various types of inorganic, organic and biological additives. This study aims to change the physical properties of calcium oxalate crystals such as structure, morphology, particle size and agglomeration tendency and to prevent their accumulation using taurine as an additive. In this context, calcium oxalate crystals were produced in the absence and presence of three different taurine concentrations using the reactive crystallization method in an aqueous solution media. Then, the same experiments were carried out in synthetic urine. XRD and FTIR analysis results showed that calcium oxalate crystals obtained in aqueous solution were in the form of monoclinic calcium oxalate monohydrate (COM), which is the most thermodynamically stable form, while the crystals obtained in synthetic urine were in the form of tetragonal calcium oxalate dihydrate (COD). This result was supported by thermogravimetric analysis results and the hydrate structures of the crystals were determined. SEM analysis results showed that the morphology and agglomeration tendency of both hexagonal COM crystals obtained in aqueous solution and bipyramidal COD crystals produced in synthetic urine changed in the presence of taurine. The particle size analysis results showed that the size of the crystals decreased significantly depending on the increase in taurine concentration. While the particle size of COD crystals obtained in synthetic urine was 29  $\mu\text{m}$ , this value was 11  $\mu\text{m}$  in the presence of 100 ppm taurine. In addition, the surface charges of COM and COD crystals were determined by zeta potential analysis and it was determined that the use of additive made the surface charges of both COM and COD crystals more negative. In conclusion, we hope this study will contribute to the research to be conducted on inhibiting the formation of kidney stones.*

**Keywords:** *Calcium oxalate, crystallization, morphology, kidney stone, taurine.*

### 1. Giriş

Böbrek taşları, küçük kristal yapılardan oluşan sert maddeler olup, bu taşların oluşumu aşırı doyumluk, nükleasyon, kristal büyümesi ve agregasyon aşamalarını içeren karmaşık ve çok aşamalı bir süreçtir. Belirli durumlarda, normal koşullar altında idrarda çözünen kalsiyum, oksalat ve fosfat gibi maddelerin konsantrasyonları artarak o bölgede aşırı doyumluğun artmasına ve buna bağlı olarak da kristallerin oluşumuna sebep olurlar. Bu kristaller birbirine yapışarak küçük bir kütle veya taş halinde biriktiğinde böbrek taşı oluşumuna neden olurlar [1,2]. Böbrek taşları dünya nüfusunun yaklaşık olarak %12'sini etkilemektedir [3,4]. Böbrek taşlarının temel bileşenini kalsiyum oksalat kristalleri oluşturmakta olup taşın yapısında ~%70-80 oranında bulunmaktadır [5,6]. Ayrıca, böbrek taşları, struvit (~%10-20), ürik asit (~%5), kalsiyum fosfat (~%5) ve sistin (~%1) içermektedir [7,8]. Kalsiyum oksalat kristallerinin üç farklı hidrat formu bulunmaktadır. Bu formlar monoklinik yapıdaki kalsiyum oksalat monohidrat (COM,  $\text{CaC}_2\text{O}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ ) [9,10], tetragonal yapıdaki kalsiyum oksalat dihidrat (COD,  $\text{CaC}_2\text{O}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ) [10,11] ve triklinik yapıdaki kalsiyum oksalat trihidrat (COT,  $\text{CaC}_2\text{O}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ )'dır [12,13]. Böbrek

taşları içerisinde bu üç formda bulunabilir. Ancak bu formlar içerisinde termodinamik açıdan en kararlı form olan kalsiyum oksalat monohidrat patojenik olup böbrek taşının temel bileşenini oluşturmaktadır. Ayrıca monohidrat formunun hücre yüzeyinden uzaklaştırılması oldukça zor olup dihidrat ve trihidrat formu ile karşılaştırıldığında yüzeylere güçlü şekilde tutunabilmektedirler. Kalsiyum oksalatın dihidrat ve trihidrat formları metastabil formlar olup dihidrat yapısı monohidrat formuna göre morfolojik özelliklerinden kaynaklı olarak yüzeylerden uzaklaştırılması daha kolay olabilmektedir. Kalsiyum oksalat trihidrat formu ise termodinamik açıdan kararsız bir form olup nadir olarak böbrek taşı yapısında bulunmaktadır [13-15].

Cerrahi yöntemler, ilaç tedavisi ve ultrasonik tedavi gibi yöntemler kullanılarak böbrek taşı tedavi edilmeye çalışılmaktadır. Kesin ve kalıcı bir çözüm olarak ilaç tedavisi mümkün olamamaktadır. Cerrahi müdahale ile böbrek taşı ortadan kaldırılsa da tekrarlama olasılığı bulunmaktadır. Bu nedenle böbrek taşının oluşumunun engellenmesine yönelik alternatif çözüm önerileri geliştirilmeye çalışılmaktadır [16-19]. Literatürde doğal ve sentetik katkı maddelerinin kullanılması ile böbrek taşının oluşumunun yavaşlatılması ve engellenmesine yönelik çalışmalar bulunmaktadır. Farklı türdeki amino asitler [20-23], proteinler [24,25], karboksilli asitler [26-28], polielektrolitler [29] ve doğal bitki özütleri [30] gibi pek çok katkı maddesinin kalsiyum oksalat kristalleri üzerine etkileri araştırılmıştır. Bu katkı maddelerinden biri de vücutta doğal olarak bulunan sülfür türevli bir amino asit olan taurindir. Yapılan mevcut çalışmalar taurinin hücre içi kalsiyum seviyesini düzenleyerek kas kasılması [31,32] ve sinir iletimi [33-35] gibi fizyolojik süreçlerde önemli rol oynadığını göstermiştir. Kas kasılmasının kontrolü ve sinir hücrelerini destekleyerek iletimin düzgün bir şekilde gerçekleşmesini sağladığı belirlenmiştir. Ayrıca, yapılan çalışmalar taurinin böbrek taşı oluşumunu engellemede koruyucu bir antioksidan olduğunu göstermiş ancak taş oluşumuna etkisi yapısal ve morfolojik olarak açıklanmamıştır [36]. Bu kapsamda, bu çalışmada farklı taurin konsantrasyonlarının kalsiyum oksalat monohidrat ve kalsiyum oksalat dihidrat kristalleri üzerine olan etkileri araştırılmıştır. Çeşitli karakterizasyon teknikleri kullanılarak kristallerin yapısal ve morfolojik özellikleri incelenmiş ve hidrat yapıları termal analiz yöntemi kullanılarak belirlenmiştir.

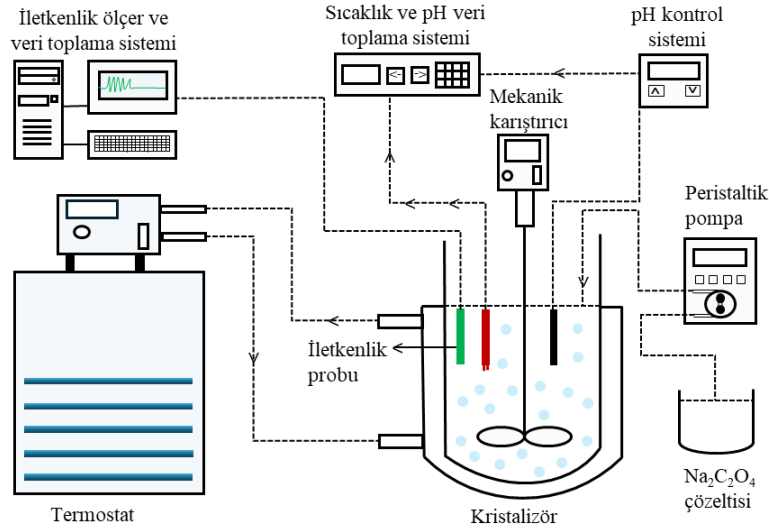
## 2. Deneysel çalışmalar

### 2.1. Deneyin yapılışı

Deneylerde reaktif olarak analitik saflıkta kalsiyum klorür ( $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ) ve sodyum oksalat ( $\text{Na}_2\text{C}_2\text{O}_4$ ) kullanılmıştır. Katkı maddesi olarak taurin, pH değerini ayarlamak için de Merck firmasından temin edilen hidroklorik asit (HCl) ve sodyum hidroksit (NaOH) kullanılmıştır.

Deneyler 500 mL hacme sahip çift ceketli cam bir kristalizörde sabit çalışma koşullarında ( $37^\circ\text{C}$ , 5,5 pH ve 350 rpm karıştırma hızı) gerçekleştirilmiştir. Deney düzeneği Şekil 1'de gösterilmiştir. Kristalizasyon esnasında kristalizör içi sıcaklığı sabit tutabilmek için kristalizör ceketini termostata bağlanmış ve deney süresi boyunca kristalizör içi sıcaklık  $\pm 0,1^\circ\text{C}$  hassasiyetli bir termometre ile kontrol edilerek sürekli olarak kaydedilmiştir. Sulu çözelti ortamında yapılan deneyler için başlangıçta kristalizör içerisine 0,5 M kalsiyum klorür çözeltisi koyulmuş ve çözeltinin termal dengeye erişmesi beklenmiştir. Sodyum oksalat çözeltisi (0,033 M) peristaltik pompa aracılığı ile 5 mL/dakika hızda beslenmiştir. Süspansiyon pH'ı kristalizör içine yerleştirilmiş bir pH elektrodu ile sürekli olarak kontrol edilmiş ve pH'ın 5,5'de sabit kaması için HCl ve NaOH seyreltik

çözeltilerinden yararlanılmıştır. Ayrıca, deneyler süresince çözeltinin iletkenlik değeri sürekli olarak ölçülmüş ve kaydedilmiştir.



Şekil 1. Deney düzeneği.

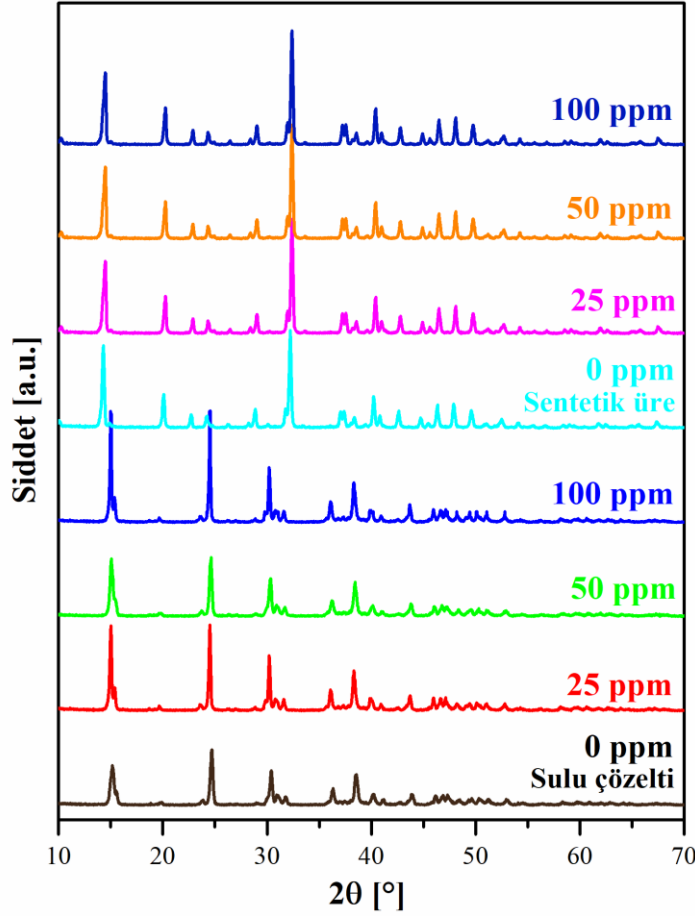
Sentetik üre ortamında yapılan deneylerde ise sentetik üre bileşimi 0,01695 M  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ , 0,00385 M  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ , 0,0455 M  $\text{NH}_4\text{Cl}$ , 0,0637 M  $\text{KCl}$ , 0,1055 M  $\text{NaCl}$ , 0,0323 M  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$  ve 0,00321 M  $\text{Na}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7$  olarak alınmıştır. Bu çalışmada, katkı maddesi olarak önemli bir aminoasit olan taurin kullanılmış ve deneyler 25, 50 ve 100 ppm olmak üzere üç farklı konsantrasyonda sulu çözelti ve sentetik üre ortamında yürütülmüştür. Taurin kullanılan konsantrasyona bağlı olarak deneylerin başlangıcında kalsiyum klorür çözeltisi ile birlikte kristalizöre konulmuştur.

Kristalizöre besleme işlemi tamamlandıktan sonra bir saat boyunca süspansiyon karıştırılmış ve bu sürenin sonunda numune alınarak filtrelenmiştir. Filtrasyon sonunda ana çözeltilerden ayrılan kalsiyum oksalat kristalleri saf su ile yıkanmış ve 30 °C’de etüve kurutulmuştur. Kurutulan bu nihai numune farklı karakterizasyon teknikleri kullanılarak yapısal ve morfolojik olarak XRD (Bruker D2 Phaser Masaüstü X Işını Difraktometresi), FTIR (Shimadzu IR Affinity-1) ve SEM (Zeiss EVO LS 10) analizi kullanılarak karakterize edilmiştir. Ayrıca, elde edilen kalsiyum oksalat kristallerinin hidrat yapıları ve termal olarak bozunması sırasında açığa çıkan uçucu ürünler TGA-FTIR (TA Instruments-Bruker Tensor 27) cihazı kullanılarak belirlenmiştir. Kristallerin yüzey yükleri ve tane boyutları zeta potansiyeli ve tane boyutu analizi kullanılarak tespit edilmiştir.

### 3. Sonuçlar ve tartışma

#### 3.1. XRD ve FTIR analizi

Kristallerin yapısal analizi XRD ve FTIR karakterizasyon teknikleri kullanılarak yapılmıştır. Şekil 2 saf su ve sentetik üre ortamında farklı taurin konsantrasyonlarında elde edilen kristallerin XRD sonuçlarını göstermektedir.

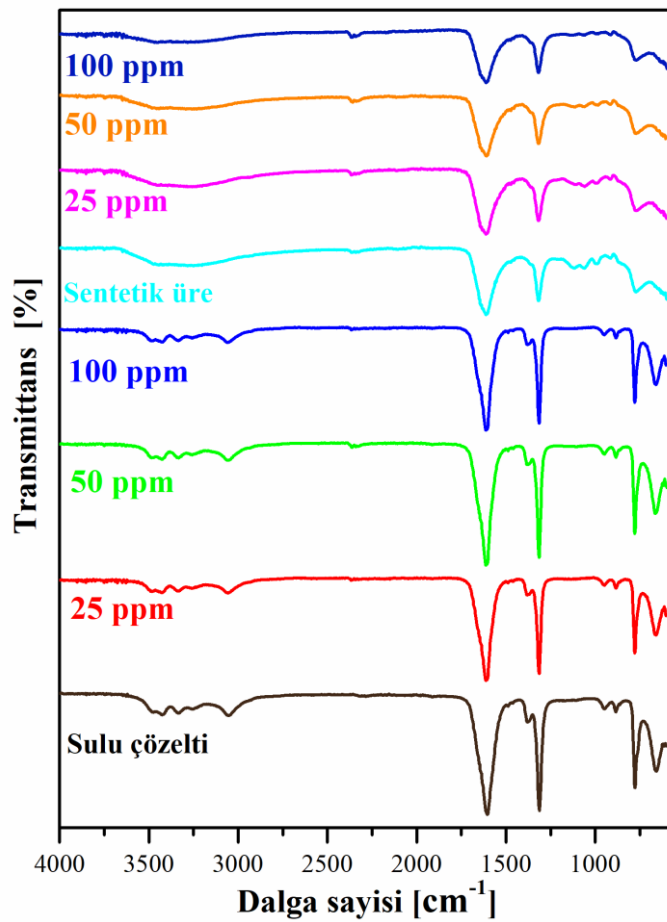


Şekil 2. Sulu çözelti ortamı ve sentetik üre ortamında farklı taurin konsantrasyonlarında elde edilen kristallerin XRD sonuçları.

Saf ortamda ve farklı taurin konsantrasyonlarında sulu çözelti içerisinde üretilen kristallerin XRD sonuçları incelendiğinde, temel pikler  $2\theta=14.9^\circ$  ( $-101$ ),  $24.6^\circ$  ( $020$ ),  $30.1^\circ$  ( $-202$ ),  $36.1^\circ$  ( $112$ ) ve  $38.2^\circ$  ( $130$ )’de tespit edilmiştir. Bu pikler 00-020-023 numaralı JCPDS kartıyla birebir uyumlu olup, elde edilen kristallerin monoklinik yapıdaki kalsiyum oksalat monohidrat (COM) yapısında olduğunu göstermiştir. Hem saf hem de taurin ortamında benzer pikler tespit edilmiş olup farklı bir faza rastlanmamıştır. Sentetik üre ortamında, temel XRD pikleri  $2\theta=14.2^\circ$  ( $200$ ),  $20.1^\circ$  ( $211$ ),  $28.9^\circ$  ( $400$ ),  $32.3^\circ$  ( $411$ ) ve  $40.1^\circ$  ( $213$ ) olarak belirlenmiştir. Bu pikler, 00-017-0541 numaralı JCPDS kartıyla uyumlu olup sentetik üre ortamında üretilen kristallerin kalsiyum oksalat dihidrat (COD) yapısında olduğunu göstermiştir. Ortama taurin katkı maddesinin ilave edilmesi, kristal yapısını etkilememiş olup COD formunda kristaller elde edilmiştir. Saf ortam ile karşılaştırıldığında ise taurin varlığında XRD piklerinin şiddetlerinde ufak değişimler meydana gelmiştir. Bu durumun taurinin kristal yüzeyine adsorplanmasından kaynaklandığı düşünülmektedir. Katkı maddesi ile kristallerin bu etkileşimi, başta morfoloji ve tane boyutu olmak üzere kalsiyum oksalat kristallerinin fiziksel özelliklerini etkileyebileceğini göstermektedir.

XRD analizine ek olarak kristallerin yapısı ve fonksiyonel gruplarının belirlenmesi için FTIR analizi yapılmış ve sonuçlar Şekil 3’de verilmiştir. Saf su ortamında elde edilen

COM kristallerin FTIR spektrumları incelendiğinde, kristallerin temel fonksiyonel grupları O–H ( $3500-2900\text{ cm}^{-1}$ ), C–O ( $\sim 950\text{ cm}^{-1}$ ) ve C–C ( $\sim 880\text{ cm}^{-1}$ ) gerilme titreşimlerinden oluşmaktadır. Elde edilen bu sonuçlar literatürdeki çalışmalar ile uyum içerisinde [30]. Sentetik üre ortamında ise, saf su ortamı ile karşılaştırıldığında en önemli değişiklik biri  $3500-2900\text{ cm}^{-1}$  aralığında tespit edilen irili ufaklı beş pik yerini geniş tek bir O–H gerilme titreşimine bırakmıştır. Ayrıca, saf su ortamında  $1603$  ve  $1308\text{ cm}^{-1}$ 'de tespit edilen pikler sentetik üre ortamında  $1611$  ve  $1315\text{ cm}^{-1}$  dalga boyuna kaymıştır. Bu durum sentetik üre ortamında elde edilen kristallerin COD yapısında olduğunu göstermiştir. Ayrıca, kullanılan taurine katkı maddesini karakterize eden bir fonksiyonel gruba rastlanmamış olup bu durum katkı maddesinin kristal yüzene kimyasal tutunmadan daha ziyade fiziksel olarak adsorlandığını göstermektedir.



Şekil 3. Sulu çözelti ortamı ve sentetik üre ortamında farklı taurin konsantrasyonlarında elde edilen kristallerin FTIR spektrumları.

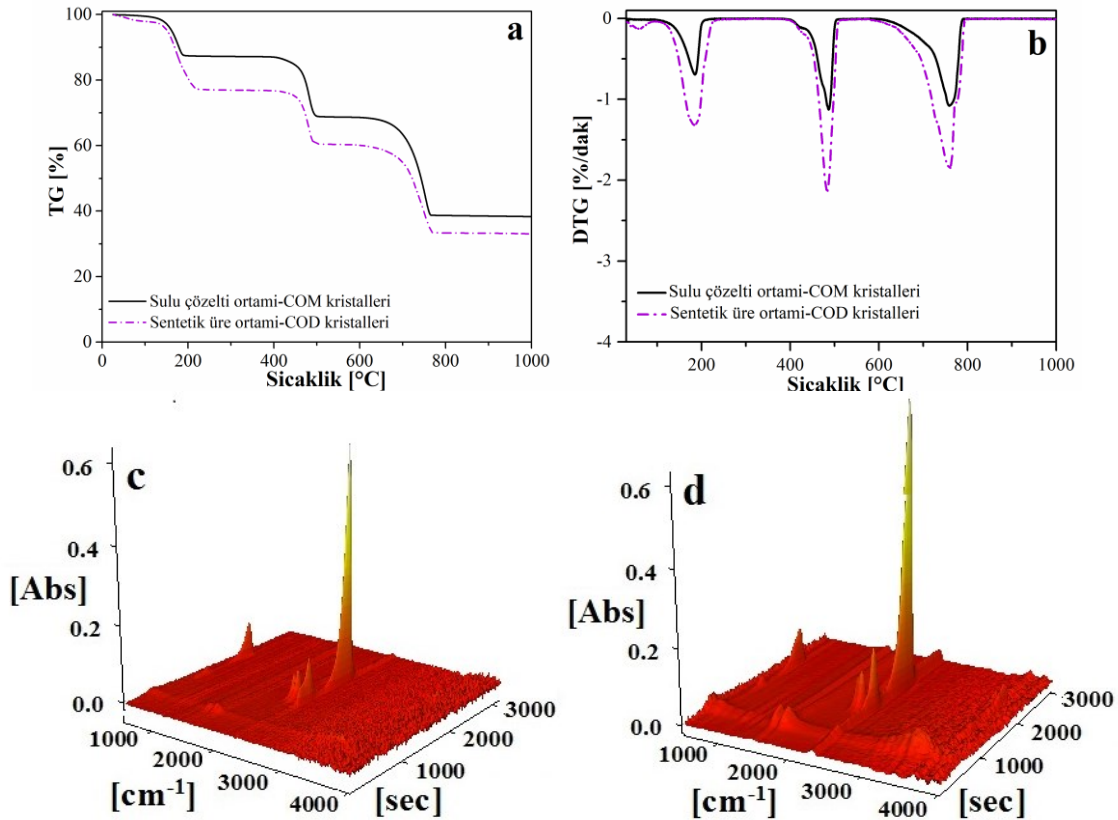
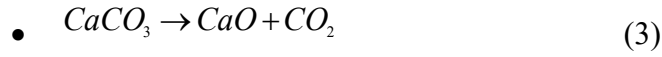
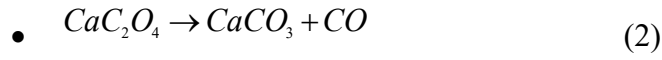
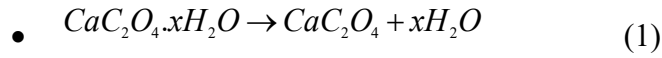
### 3.2. TGA/FTIR analizi

Kalsiyum oksalat kristalleri kalsiyum oksalat monohidrat, dihidrat ve trihidrat olmak üzere üç farklı hidrat yapısında bulunabilir. XRD ve FTIR analiz sonuçları, saf su ortamında üretilen kristallerin COM, sentetik üre ortamında üretilen kristallerin ise COD yapısında olduğunu göstermiştir. Bu sonuçlar dikkate alınarak, termogravimetrik analiz yardımıyla kristallerin termal bozunma davranışları incelenmiş, yapılarındaki hidrat miktarları belirlenmiştir. Şekil 4a ve 4b sulu çözelti ve sentetik üre ortamında elde edilen

kalsiyum oksalat kristallerinin termogravimetrik (TGA) ve diferansiyel termogravimetrik (DTG) analiz eğrilerini göstermektedir. Şekil 4a ve 4b'den de açıkça görüldüğü üzere kalsiyum oksalat kristallerinin termal bozunma mekanizması üç aşamadan oluşmaktadır. Bu aşamalar aşağıdaki şekilde özetlenebilir.

- Yaklaşık 250 °C'ye kadar yapıdaki kristal suyun uzaklaşması,
- 400 °C'den yaklaşık 600 °C ye kadar kalsiyum oksalatın yapısal olarak kalsiyum karbonata parçalanması (karbon monoksit ayrılması),
- 600 °C'den yaklaşık 900 °C'ye kadar kalsiyum karbonatın kalsiyum oksite parçalanmasıdır (karbondioksit ayrılması).

Kısaca, birinci adımda H<sub>2</sub>O, ikinci adımda CO, üçüncü adımda CO<sub>2</sub> bozunması gerçekleşir. Termal bozunma sırasındaki reaksiyonlar aşağıda gösterildiği gibi gerçekleşir:



Şekil 4. Sulu çözelti ortamı ve sentetik üre ortamında elde edilen kristallerin a) TG ve b) DTG eğrileri. c) Sulu çözelti ortamı ve b) sentetik üre ortamında elde edilen kristallerin 3D-FTIR spektrumları.

Sentetik üre ortamında elde edilen kristallerin DTG eğrisi sulu çözelti ortamında elde edilen eğri ile karşılaştırıldığında, termal bozunması sırasında 250 °C'ye kadar olan bölgede iki adet pik tespit edilmiştir. Bu bölgede iki pikin bulunması COD yapısının oluştuğunu göstermektedir. Saf ortamda üretilen kristaller için toplam kütle kaybı % 61,6 iken sentetik üre ortamında elde edilen kristaller için ise bu değer %~ 65 olarak tespit edilmiştir. Bu sonuç XRD ve FTIR analiz sonuçları ile uyumlu olup, sulu çözelti ortamında kristallerin COM, sentetik üre ortamında ise kristallerin COD yapısında olduğunu doğrulamaktadır.

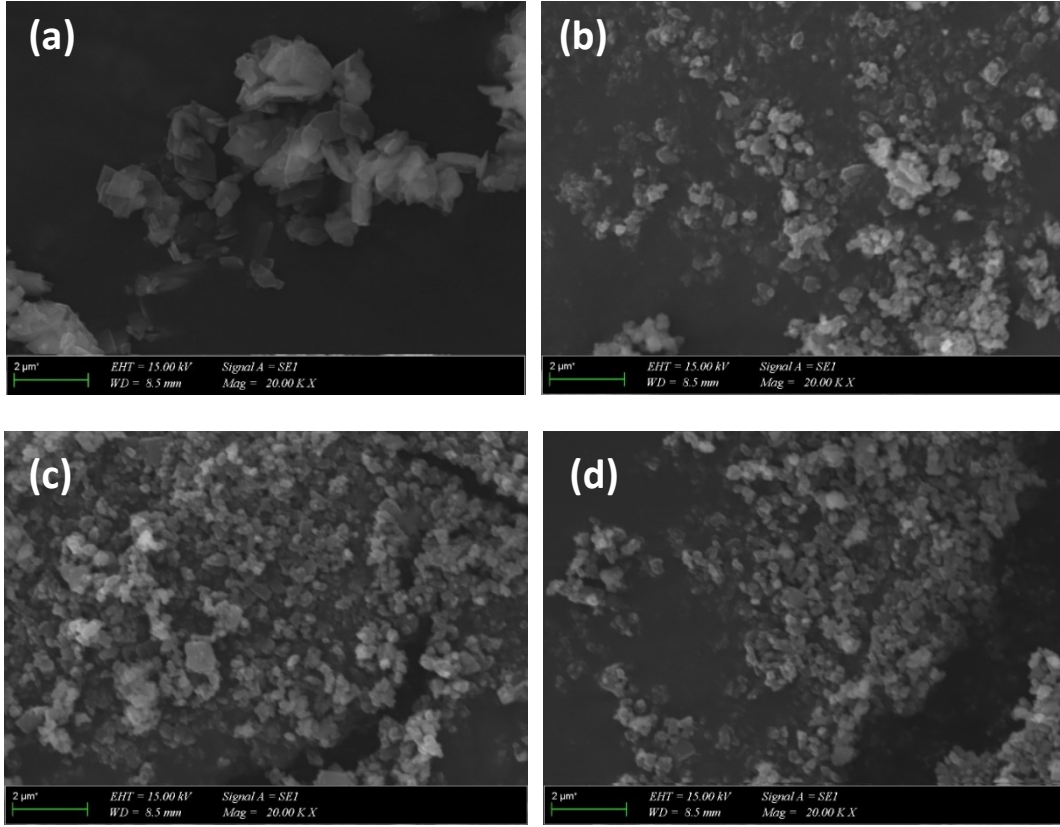
Bu çalışmada termogravimetrik analizin yanı sıra, termal bozunma sırasında açığa çıkan uçucu bileşenlerin tespiti termogravimetrik analiz cihazıyla birleştirilmiş FTIR cihazı vasıtasıyla belirlenmiştir. Sulu çözelti ve sentetik üre ortamında COM ve COD kristalleri için elde edilen 3 boyutlu FTIR spektrumları Şekil 4c ve 4d verilmiştir. Elde edilen piklerin şiddetleri göz önünde bulundurulduğunda, en belirgin değişim kristal yapısında suyun varlığını işaret eden piklerde görülmüştür. 3600-3000  $\text{cm}^{-1}$  dalga boyu aralığında görülen O-H gerilme titreşimlerinin şiddetinin COD kristallerinde daha fazla olduğu tespit edilmiştir. Ayrıca, 2250-2400  $\text{cm}^{-1}$  dalga boyu arasında gözlemlenen C=O grubunun asimetrik gerilim bandı bozunma esnasında karbondioksit çıkışını göstermektedir.

### 3.3. SEM analizi

Bu çalışmada, kalsiyum oksalat kristallerinin morfolojisi ve kullanılan katkı maddesinin kristallerin şekline etkisi SEM analizi kullanılarak belirlenmiştir. Şekil 5'de saf su ortamında üç farklı taurin konsantrasyonunda üretilen kristallerin SEM fotoğrafları verilmiştir. Saf ortamda üretilen kristaller, hegzagonal yapıya ortalama tane boyutları ~1  $\mu\text{m}$  olan COM kristallerinden oluşmaktadır. Bu sonuç literatürde verilen çalışmalarla da benzerlik göstermektedir [26,29].

COM kristallerinin agglomerasyon eğilimleri mevcut olup birbirleri üzerinde büyüme eğilimleri mevcuttur. Kristalizasyon ortamına taurin eklenmesi kristallerin belirgin olan hegzagonal formunu kaybettiğini göstermiş ve tane boyutunda önemli düşümlere neden olmuştur. 25, 50 ve 100 ppm taurin varlığında COM kristallerinin ortalama tane boyutları 16 nm, 28 nm, ve 41 nm olarak ölçülmüştür. Ayrıca, saf ortam ile kıyaslandığında, agglomerasyon eğilimleri de kısmen azalmıştır. Katkı maddesinin konsantrasyonun artmasına bağlı olarak, tane boyutları daha küçük, homojen dağılımlı, belirgin şekilleri olmayan COM kristalleri elde edilmiştir.

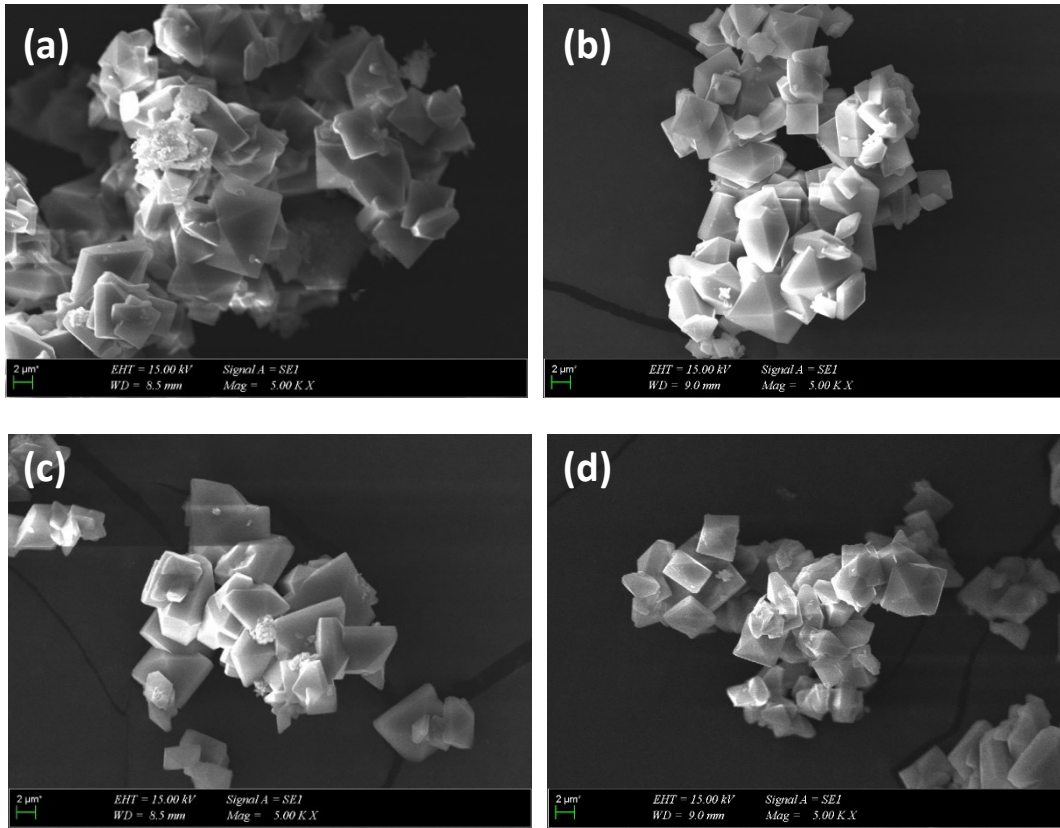




Şekil 5. Sulu çözelti ortamında a) 0 ppm, b) 25 ppm, c) 50 ppm ve d) 100 ppm taurin konsantrasyonunda elde edilen COM kristallerinin SEM görüntüleri.

Şekil 6’da sentetik üre ortamında üretilen kristallerin SEM fotoğrafları verilmiştir. Saf su ortamında elde edilen COM kristalleri ile kıyaslandığında, sentetik üre ortamında elde edilen kristallerin morfolojileri tamamen farklı olup tetragonal formdaki COD kristallerinden oluşmaktadır. Saf ortamda üretilen COD kristallerinin agglomerasyon eğilimleri şiddetli olup, yine COM kristallerine benzer şekilde birbirleri üzerinde büyüme eğilimleri mevcuttur. Saf ortamda kristallerin ortalama boyutu 29 µm olarak ölçülmüştür. 25, 50 ve 100 ppm taurinin ortama eklenmesi kristallerin tane boyutlarını sırasıyla 23, 17 ve 11 µm’ye düşürmüştür. Saf ortam ile karşılaştırıldığında, taurin varlığında daha düzgün büyüyen, yüzey pürüzlülüğü daha az olan ve daha belirgin bipiramidal şekillere sahip COD kristalleri elde edilmiştir.

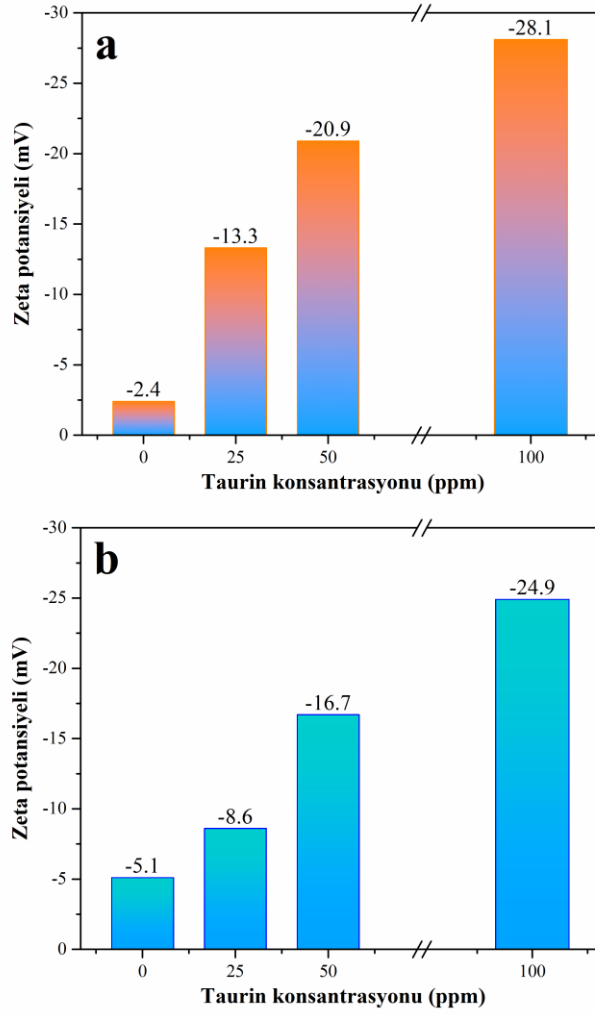
SEM analizi sonuçları genel olarak değerlendirildiğinde hem sulu çözelti hem de sentetik üre ortamında elde edilen kalsiyum oksalat kristallerinin taurin varlığında küçülme etkisi olduğu tespit edilmiştir. Bu durumun kullanılan katkı maddesinin kristal yüzeyine adsorplanarak büyüme merkezlerini inhibite etmesinden kaynaklandığı düşünülmektedir.



Şekil 6. Sentetik üre ortamında a) 0 ppm, b) 25 ppm, c) 50 ppm ve d) 100 ppm taurin konsantrasyonunda elde edilen COD kristallerinin SEM görüntüleri.

### 3.4. Zeta potansiyeli analizi

Kalsiyum oksalat kristallerinin aglomerasyon eğilimleri ve taurinin konsantrasyonuna bağlı olarak yüzey yüklerinde meydana gelen değişimi belirlemek amacıyla zeta potansiyel analizi yapılmış ve sulu çözelti ve sentetik üre ortamı için sonuçlar Şekil 7a ve 7b'de verilmiştir. Sulu çözelti ortamında elde edilen COM kristallerin zeta potansiyeli değeri saf ortamda -2,4 mV olarak ölçülmüştür. Kristalizasyon ortamına taurinin ilave edilmesiyle kristallerin yüzey yükleri daha negatif olmuş ve 100 ppm taurin varlığında bu değer -28,1 mV olarak ölçülmüştür. Bu durum katkı maddesinin kristal yüzeyine adsorplanmasıyla ilişkilidir. Zeta potansiyeli değerinin negatif olması ve -30 mV değerine yaklaşması, kristallerin aglomerasyon eğilimlerinin azaldığını ve stabilitenin arttığını göstermektedir. Zeta potansiyel değerinin mutlak olarak artmasıyla birlikte elektrostatik çekim kuvvetleri artarak kristallerin birbirlerini itmesini sağlamış ve aglomerasyon eğilimlerinin azalmasına sebep olmuşlardır. Bu sonuç, SEM analizi tarafından da desteklemiştir.



Şekil 7. a) Sulu çözelti ve b) sentetik üre ortamında farklı taurin konsantrasyonunda elde edilen kalsiyum oksalat kristallerinin zeta potansiyeli analiz sonuçları.

Sentetik üre ortamında üretilen COD kristallerin zeta potansiyeli, sulu çözeltide hazırlanan kristallere benzer bir eğilim göstermiştir. 25, 50 ve 100 ppm taurin konsantrasyonunda COD kristallerinin zeta potansiyeli değeri -8,6 mV, -16,7 mV ve -24,9 mV olarak ölçülmüştür. Hem sulu çözelti hem de sentetik üre ortamında taurin katkı maddesinin kullanımı kalsiyum oksalat kristallerinin aglomerasyon eğilimini azaltmaktadır. Aynı zamanda zeta potansiyelinde görülen bu belirgin değişim taurinin kristal yüzeyine fiziksel olarak tutunduğunu göstermektedir.

#### 4. Sonuçlar

Böbrek taşının en yaygın formu olan kalsiyum oksalat kristallerinin taurin varlığında yapısal ve morfolojik değişiminin incelendiği bu çalışmada elde edilen genel sonuçlar aşağıda verilmiştir.

- ✚ XRD ve FTIR analiz sonuçları, farklı taurin konsantrasyonlarında sulu çözelti ortamında elde edilen kalsiyum oksalat kristallerinin COM yapısında olduğunu

göstermiştir. Sentetik üre ortamında ise elde edilen kalsiyum oksalat kristallerinin tetragonal COD kristalleri olduğu belirlenmiştir.

- ✚ SEM analiz sonuçları, sulu çözelti ortamında katkı maddesi varlığında elde edilen COM kristallerinin belirgin hegzagonal şekillerini kaybetmeye başladığını göstermiştir. Ayrıca kristallerin tane boyutları da önemli ölçüde küçülmüştür. 100 ppm taurin varlığında COM kristallerinin tane boyutu 41 nm olarak ölçülmüş olup kullanılan katkı maddesinin kristallerin büyümesini inhibe etme eğilimi olduğu ve aglomerasyon eğilimini azalttığı tespit edilmiştir.
- ✚ Sentetik üre ortamında elde edilen COD kristallerinin SEM fotoğrafları, bipiramidal COD kristallerinin katkı maddesi varlığında morfolojilerini koruduğunu ancak tane boyutlarının küçüldüğünü göstermiştir.
- ✚ Zeta potansiyeli analiz sonuçları, kristalizasyon ortamına taurin eklenmesinin, hem COM hem de COD kristallerinin mutlak zeta potansiyeli değerinin artırdığını göstermiştir. Hem sulu çözelti hem de sentetik üre ortamında, taurin varlığının kristallerin aglomerasyon eğilimini azalttığını ve katkı maddesinin fiziksel olarak kristal yüzeyine adsorplandığını göstermiştir.

## Kaynaklar

- [1] Peerapen, P. ve Thongboonkerd, V., Differential bound proteins and adhesive capabilities of calcium oxalate monohydrate crystals with various sizes, **Int. J. Biol. Macromol.**, 163, 2210-2223, (2020).
- [2] Masao, T., Mechanism Of Calcium Oxalate Renal Stone Formation And Renal Tubular Cell Injury, **International Journal of Urology**, 15, 115–120, (2008).
- [3] Chatterjee, P., Chakraborty, A. ve Mukherjee, A.K., Phase Composition and Morphological Characterization of Human Kidney Stones Using IR Spectroscopy, Scanning Electron Microscopy and X-Ray Rietveld Analysis, **Spectrochim. Acta - Part A Mol. Biomol. Spectrosc.**, 200, 33-42, (2018).
- [4] Liu, Y., Chen, S., Liu, J., Jin, Y., Yu, S. ve An, R., Telmisartan Inhibits Oxalate and Calcium Oxalate Crystal-Induced Epithelial-Mesenchymal Transformation via PPAR- $\gamma$ -AKT/STAT3/P38 MAPK-Snail Pathway, **Life Sci.**, 241, 117108, (2020).
- [5] Wang, X., Wang, M., Ruan, J., Zhao, S., Xiao, J. ve Tian, Y., Identification of Urine Biomarkers for Calcium-Oxalate Urolithiasis in Adults Based on UPLC-Q-TOF/MS., **J. Chromatogr. B Anal. Technol. Biomed. Life Sci.**, 1124, 290–297, (2019).
- [6] Smith, L.H., The Many Roles of Oxalate in Nature, **Trans. Am. Clin. Climatol. Assoc.**, 113, 1–20, (2002).
- [7] McMulkin, C.J., Massi, M., Jones, F., Tetrazoles: Calcium Oxalate Crystal Growth Modifiers, **CrystEngComm**, 17, 2675–2681, (2015).
- [8] Ibis, F., Dhand, P., Suleymanli, S., Van Der Heijden, A.E.D.M., Kramer, H.J.M., Eral, H.B., A Combined Experimental and Modelling Study on Solubility of Calcium Oxalate Monohydrate at Physiologically Relevant pH and Temperatures, **Crystals**, 10, 924, (2020).
- [9] Tazzoli, V.; Domeneghetti, C., The Crystal Structures of Whewellite and Weddellite: Re-Examination and Comparison, **Am. Mineral.**, 65, 327-334, (1980).

- [10] Oner, M., Koutsoukos, P.G. ve Robertson, W.G., Kidney Stone Formation-Thermodynamic, Kinetic, And Clinical Aspects, **Water-Formed Deposits Fundamentals and Mitigation Strategies**, 511-541, (2022).
- [11] Wesson, J.A., Ward, M.D., Pathological Biomineralization of Kidney Stones, **Elements**, 3, 415–421, (2007).
- [12] Deganello, S., Kampf, A.R., Moore, P.B., The Crystal Structure of Calcium Oxalate Trihydrate:  $\text{Ca}(\text{H}_2\text{O})_3(\text{C}_2\text{O}_4)$ ., **Am. Mineral.**, 66, 859–865, (1981).
- [13] Conti, C., Casati, M., Colombo, C., Possenti, E., Realini, M., Gatta, G.D., Merlini, M., Brambilla, L. ve Zerbi, G., Synthesis of Calcium Oxalate Trihydrate: New Data by Vibrational Spectroscopy and Synchrotron X-Ray Diffraction. **Spectrochim. Acta - Part A Mol. Biomol. Spectrosc.**, 150, 721-730, (2015).
- [14] Barker, T., Boon, M. ve Jones, F., The Role of Zinc Ions in Calcium Oxalate Monohydrate Crystallization, **Journal of Crystal Growth**, 546, 125777, (2020).
- [15] Zhang, J., Wang, L., Zhang, W. ve Putnis, C.V., Role of Hyperoxaluria/Hypercalciuria in Controlling the Hydrate Phase Selection of Pathological Calcium Oxalate Mineralization, **Crystal Growth Design**, 21, 683–691, (2021).
- [16] Saha, S. ve Mishra, A., A Facile Preparation of Rutin Nanoparticles and Its Effects on Controlled Growth and Morphology of Calcium Oxalate Crystals, **J Journal of Crystal Growth**, 540, 125635, (2020).
- [17] Moe, O.W., Pearle, M.S. ve Sakhaee, K. Pharmacotherapy of Urolithiasis: Evidence from Clinical Trials, **Kidney Int.**, 79, 385-392, (2011).
- [18] Ramaswamy, K., Killilea, D.W., Kapahi, P., Kahn, A.J., Chi, T. ve Stoller, M.L. The Elementome of Calcium-Based Urinary Stones and Its Role in Urolithiasis, **Nat Rev Urol.**, 12, 543–557, (2015).
- [19] Huang, L.S., Sun, X.Y., Gui, Q. ve Ouyang, J.M., Effects of Plant Polysaccharides with Different Carboxyl Group Contents on Calcium Oxalate Crystal Growth, **CrystEngComm**, 19, 4838–4847, (2017).
- [20] Golovanova, O.A. ve Korolkov, V.V., Effect of Amino Acids on the Crystallization Kinetics of Calcium Oxalate Monohydrate, **Chemistry for Sustainable Development**, 21, 381–388, (2013).
- [21] Golovanova, O.A. ve Korolkov, V.V., Thermodynamics and Kinetics of Calcium Oxalate Crystallization in the Presence of Amino Acids, **Crystallogr. Reports**, 62, 787-796, (2017).
- [22] Taranets, Y.V., Bezkrovnaya, O. N. ve Pritula, I.M., Effect of Amino Acids and B-Group Vitamins on Nucleation of Calcium Oxalate Monohydrate Crystals, **Journal of Crystal Growth**, 531, 125368, (2020).
- [23] He, J., Lin, R., Long, H., Liang, Y. ve Chen, Y., Adsorption Characteristics of Amino Acids on to Calcium Oxalate, **J. Colloid Interface Sci**, 454, 144-151, (2015).
- [24] Gul, A. ve Rez, P., Models for Protein Binding to Calcium Oxalate Surfaces, **Urol. Res.**, 35, 63-71, (2007).
- [25] Narula, S., Tandon, S., Singh, S.K. ve Tandon, C., Kidney Stone Matrix Proteins Ameliorate Calcium Oxalate Monohydrate Induced Apoptotic Injury to Renal Epithelial Cells, **Life Sci.**, 164, 23-30, (2016).
- [26] Li, S., Tang, W., Shi, P., Li, M., Sun, J. ve Gong, J., A New Perspective of Gallic Acid on Calcium Oxalate Nucleation, **Crystal Growth Design**, 20, 3173-3181, (2020).

- [27] Li, S., Tang, W., Li, M., Wang, L., Yang, Y. ve Gong, J., Understanding the Role of Citric Acid on the Crystallization Pathways of Calcium Oxalate Hydrates, **Crystal Growth Design**, 19, 3139-3147, (2019).
- [28] Ouyang, J.M., Duan, L. ve Tieke, B., Effects of Carboxylic Acids on the Crystal Growth of Calcium Oxalate Nanoparticles in Lecithin-Water Liposome Systems, **Langmuir**, 19 (21), 8980–8985, (2003).
- [29] Akyol, E. ve Öner, M., Controlling of morphology and polymorph of calcium oxalate crystals by using polyelectrolytes, **Journal of Crystal Growth**, 401, 260-265, (2014).
- [30] Akyol, E., Ongun, K., Kirboga, S. ve Öner, M., A Kinetic Study for Calcium Oxalate Crystallization in the presence of Viburnum Opulus Extract, **Biointerface Research in Applied Chemistry**, 6, 1064-1069, (2016).
- [31] Han, X., Patters, A.B., Jones, D., Zelikovic, I., ve Chesney, R.W., The taurine transporter: mechanisms of regulation, **Acta Physiologica**, 187(1-2), 61-73, (2006).
- [32] Allard, M.L., Jeejeebhoy, K.N., ve Sole, M.J., The management of conditioned nutritional requirements in heart failure, **Heart Failure Reviews**, 11(1), 75-82, (2006).
- [33] Wu, J. ve Prentice, H., Role of taurine in the central nervous system, **Journal of Biomedical Science**, 17(Suppl 1), S1. (2010).
- [34] Chen, W., Ji, H., Nguyen, M.L., Carr, J.A., Lee, Y., Hsu, C. Ve Wu, J. Y. Role of taurine in regulation of intracellular calcium level and neuroprotective function in cultured neurons, **Journal of Neuroscience Research**, 66(4), 612-619. (2001).
- [35] Ren, F., Liu, X., Liu, X., Cao, Y., Liu, L., Li, X., ve Hu, J. In vitro and in vivo study on prevention of myocardial ischemic injury by taurine. **Annals of Translational Medicine**, 9(12), 984-984. (2021).
- [36] Sun, Y., Dai, S., Tao, J., Li, Y., He, Z., Liu, Q., Zhao, J., Deng, Y., Kang, J., Zhang, X., Yang, S. ve Liu, Y., Taurine suppresses ROS-dependent autophagy via activating Akt/mTOR signalling pathway in calcium oxalate crystals-induced renal tubular epithelial cell injury, **Aging (Albany NY)**, 12(17), 17353-17366, (2020).