

Kalsiyum Oksalat Monohidrat Kristal Büyümesine Karahindiba (*Taraxacum Officinale*) Bitkisinin Etkisinin İncelenmesi

Emel AKYOL¹

ÖZET: Böbrek taşları günümüzde önemini koruyan, yaygın bir hastalıktır. Böbrek taşı, aşırı doymun ürün içerisinde kalsiyum oksalat monohidrat kristallerinin renal papillalardaki epitel hücrelerde çekirdeklenme, büyüme ve çökme aşamalarından oluşan bir kristalizasyon prosesidir. İlerleyen teknolojiye rağmen böbrek taşlarının tekrarlanabilirliğinin yüksek olması ile tıbbi ve cerrahi tedavilerin yüksek risk faktörleri taşıması geleneksel yöntemlerde yeni arayışlara sebep olmuştur. Bu çalışmada, biyomineralizasyon açısından oldukça önemli olan kalsiyum oksalat kristalizasyonuna doğal katkı maddesi olarak Karahindiba (*Taraxacum officinale*) bitki ekstraktının in vitro koşullarda etkileri incelenmiştir.

Anahtar Kelimeler: Kalsiyum oksalat, katkı maddesi, karahindiba, kristalizasyon

Investigation of the Effect of Dandelion Plant (*Taraxacum Officinale*) on Calcium Oxalate Monohydrate Crystal Growth

ABSTRACT: The formation of kidney stones is a common disease. It has accepted that the formation of kidney stones is a process that consist of nucleation, growth and aggregation of calcium oxalate monohydrate crystals on epithelial cells at renal papillae in super saturated urine. In spite of the technological developments, the high recurrence rate of kidney stone formation and the risk factors of all available surgical and medical treatments for kidney stone disease cause new researches in traditional methods. In this study, the effects of dandelion (*Taraxacum officinale*) plant extract as a natural additive on crystallization of calcium oxalate, which have great importance in biomineralization, were investigated in vitro.

Keywords: Additive, calcium oxalate, crystallization, dandelion

¹ Yıldız Technical University, Kimya Metalurji Fakültesi, Kimya Mühendisliği, İstanbul, Türkiye
Sorumlu Yazar/Corresponding Author: Emel AKYOL, eakyol@yildiz.edu.tr

GİRİŞ

Kalsiyum oksalat monohidrat kristalleri üriner bölge ve böbrekte oluşan taşların ana bileşenini oluşturduğundan, biyolojik mineralizasyonda ilgi çeken önemli bir araştırma konusudur (Millan et al., 1997; Opalko et al., 1997; Bernard-Michel et al., 1999; Akyol and Oner, 2007; Akyol and Oner, 2014;).

Doğada, kalsiyum oksalat üç farklı hidrat yapıda bulunmaktadır. Monoklinik kalsiyum oksalat monohidrat ($\text{CaC}_2\text{O}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$, COM ya da whewellite) termodinamik açıdan oda sıcaklığında en kararlı olan yapıdır. Tetragonal kalsiyum oksalat dihidrat ($\text{CaC}_2\text{O}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, COD ya da weddellite) ve triklinik kalsiyum oksalat trihidrat ($\text{CaC}_2\text{O}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$, COT ya da caoxite) termodinamik açıdan oda sıcaklığında yarı kararlı yapıdır. Monoklinik COM ve tetragonal COD böbrek taşlarında ana yapı olarak bulunur. COT yapısı ise böbrek taşında çok nadir olarak bulunur (Sheehan, 1981).

Oluşumnedenitamanlaşılammamaklaberaber,coğrafi faktörler, ırk, cinsiyet ve beslenme alışkanlıklarının taş oluşumunda etkili olduğu belirtilmiştir (Miller, 1996). Üriner taş oluşumu kristalizasyon engelleyicilerinin yokluğu, kristalizasyonu artırıcı maddelerin varlığı ve bazı morfolojik faktörlerden etkilenmektedir. Kristalizasyon engelleyiciler üriner taş sistemi için kritik öneme sahiptir. Günümüzde böbrek taşlarının büyük çoğunluğunu ortadan kaldıracak etkin tedavi yolları bulunsa da bu problem pek çok insanı etkilemeye devam etmektedir (Munoz and Valiente, 2005).

COM kristallerinin çökmesi ve büyümesinin engellenmesi ya da COM çekirdeklerinin daha az kararlı bir yapı olan kalsiyum oksalat dihidrat (COD) kristallerine dönüştürülmesi böbrek taşı gelişimini önlemektedir (Jung et al., 2005). Daha önce yapılan birçok çalışmada, COD yapısındaki kristallerin kolaylıkla idrar ile vücuttan dışarı atıldığı belirlenmiştir (Yu et al., 2005). Böbrek taşı tedavisinde kullanılan cerrahi yöntemlerin, ilaç tedavilerinin ağırlı ve yüksek maliyetli olmasının yanında geleneksel olarak kullanılan bitkilerin doğal ve zararsız olduklarının düşünülmesi son yıllarda bitkisel ilaçlara olan ilginin artmasına neden olmuştur (Akyol et al., 2016).

Hindiba, anavatanı Türkiye olan şifalı bir bitkidir. Ülkemiz hindiba üretimi için dünyada en iyi coğrafi ve iklim şartlarına sahip olmasına karşın en çok ekimi ve

tüketimi Avrupa’da özellikle İsviçre’de görülmektedir. İyi bir idrar söktürücü ve bağırsak yumuşatıcı olan bu bitki müzmin romatizma, gut, böbrek ve safrakesesi hastalıklarına da iyi geldiği bilinmektedir. Besleyici değeri oldukça yüksek olan Karahindiba, % 5’e varan yüksek bir oranda potasyum içermesinden dolayı, en iyi doğal potasyum kaynaklarından biridir. A vitamini, C vitamini ve nikotinic asit ile kalsiyum ve türlü mineraller yönünden de zengindir. Ayrıca, torexacin, retinol, levulin, inulin gibi bileşikler içerir (Anonim, 2016). Karahindiba kristalizasyon engelleyici olarak etkili olduğu düşünülen fenolik asit bakımından da zengin bir bitkidir (Oliveira et al., 2013; Ivanov, 2014).

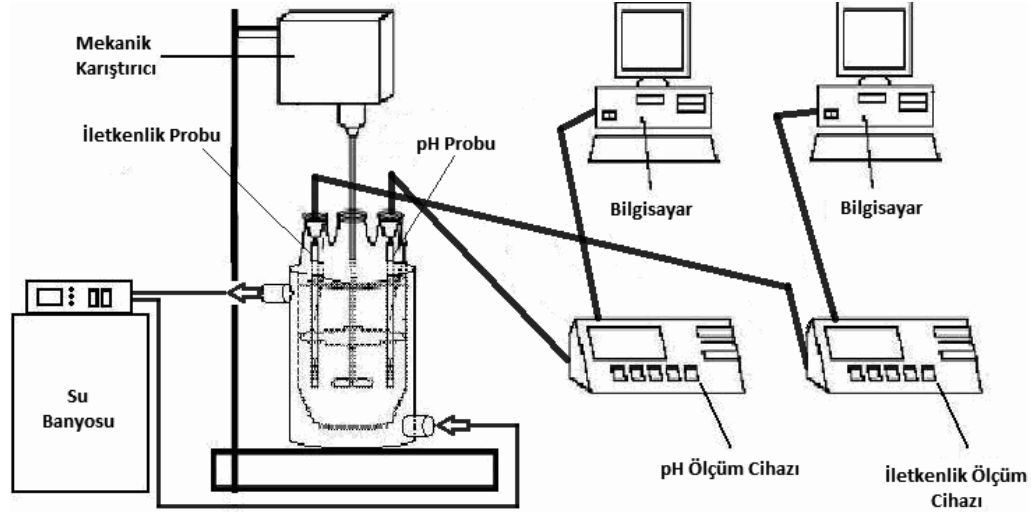
Bu çalışmada, ciddi bir klinik sorun olduğu için biyomineralizasyonda araştırmacıların ilgisini çeken idrar ve böbrek taşı sorununun çözümüne katkı sağlamak amacıyla doğal katkı maddesi olarak karahindiba (*taraxacum officinale*) ekstraktının kalsiyum oksalat monohidrat kristal kinetiği ve morfolojisine etkisi laboratuvar ortamında (in vitro) incelenmiştir.

MATERYAL VE YÖNTEM

Yapılan deneylerde kimyasal olarak kalsiyum klorür ($\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) (J. T. Baker), sodyum oksalat ($\text{Na}_2\text{C}_2\text{O}_4$) (J. T. Baker) kullanılmıştır. Doğal katkı maddesi olarak karahindiba otu kullanılmıştır. Yapılan deneylerde 10 gram Karahindiba otu 100 ml su içerisinde 10 dk. kaynatılıp ekstraktı elde edilmiştir. Kristalizasyon deneyleri sırasında ise 1 L hacimli çift cidarlı cam reaktörde yapılmıştır. Deneylerin gerçekleştirildiği sistemin ısısının sabit tutulması amacıyla otomatik kontrollü su banyosu (Kerman Omron E5CSV) ve kullanılan çözeltilerin istenilen sıcaklığa getirilmesinde ise manyetik karıştırıcı ısıtıcı (IKA RCT Basic) kullanılmıştır. Konsantrasyonun her noktada aynı olması amacıyla deneyler sırasında mekanik karıştırıcı (Yellowline OST 20 Basic) kullanılmıştır. Çözeltiler ultrasonik banyoda (Bandelin Sonorex RK 100 48 H) çözündürülmüştür. Reaktör içindeki sıcaklık ve iletkenlik değerleri iletkenlik ölçer (WTW Series inolab Cond-730) cihazı ile takip edilmiştir. Yapılan kristalizasyon deneyleri süresince veriler belirli aralıklar ile bilgisayar (IBM) üzerinde “Multi-Lab pilot” programı kullanılarak depolanmış ve değişim grafikleri elde edilmiştir. Deneyler süresince sıcaklık insan vücut sıcaklığı temel alınarak $37 \pm 0.1 \text{ }^\circ\text{C}$ da sabit tutulmuştur. Kalsiyum oksalat

kristalleri, kalsiyum klorür ($\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) ve sodyum oksalat ($\text{Na}_2\text{C}_2\text{O}_4$) çözeltilerinin karıştırılması ile elde edilmiştir. Çözeltiler kullanılmadan önce ultrasonik banyoda 3' er dakika bekletilmiştir. Deneyde ilk olarak $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ve $\text{Na}_2\text{C}_2\text{O}_4$ başlangıç çözeltilerinin her birinden 6.5×10^{-4} M hazırlanmıştır. Bu çözeltilerden

300' er ml alınmıştır. Alınan çözeltiler önce ultrasonik banyoda bekletilip sonra 37 ± 0.1 °C' ye kadar ısıtılmıştır. Çözeltilerin karışımına sırasıyla 0.5, 1 ve 5 ml değerlerinde karahindiba otu ekstraktı eklenmiştir. Deney düzeneği Şekil 1' de gösterilmiştir.



Şekil 1. Kristalizasyon deney düzeneği.

Kalsiyum konsantrasyonunun zamanla değişimini incelemek amacıyla farklı konsantrasyonlardaki numune örnekleri Atomik Absorpsiyon Cihazı (PerkinElmer AAnalyst 200) ile ölçüldü. Atomik Absorpsiyon cihazı ile yapılan ölçümler ile bu konsantrasyonlara karşılık gelen iletkenlik değerleri arasında grafik çizilerek iletkenlik ile konsantrasyon arasındaki bağıntı bulunmuştur. Bitki ekstraktının etkinliği R_0/R değerlerine bakılarak değerlendirilmiştir. Kristalizasyon deneyleri üç kere tekrarlanmış ve ortalamaları alınmıştır. R_0/R oranı kalsiyum oksalat kristalizasyon hızının (R_0), katkı maddesi (karahindiba ekstraktı) kullanıldığı zaman ele geçen kristalizasyon hızına (R) oranı olarak alınmıştır. R_0/R oranının büyümesi katkı maddesinin COM büyümesini

engelleyici olarak etkinliğinin arttığını göstermektedir. Ayrıca kristal morfolojisini incelemek için Tarama Elektron Mikroskobu (SEM) JEOL JSMSEM), XRD (PanalyticalX'pertProPW3040/60) ve FT-IR (Bruker Alpha-P) kullanılmıştır.

BULGULAR VE TARTIŞMA

Katkı miktarlarının kristalizasyon hızına etkisi Çizelge 1'de, verilmiştir. Çizelge 1'de görüldüğü gibi katkı maddesi arttıkça R_0/R oranı artmıştır. Bu durum kristalizasyonun yavaşladığını göstermektedir. 5 ml karahindiba ekstraktı kristalizasyonu tamamen durdurmuştur.

Çizelge 1. Karahindiba ekstraktı miktarının kristalizasyon etkisi

Karahindiba ekstrakt miktarı	R_0/R_1
0.1 ml	1.67
0.25 ml	2.41
0.5 ml	6.73
1 ml	19.1
5 ml	Kristalizasyon gözlenmemiştir.

Kalsiyumoksalatkristalizasyonunakatkı maddelerini etkisi çok sayıda araştırmacı tarafından incelenmiştir. Araştırmacılar inhibitörün kristalizasyonu engelleyici etkisini kristal yüzeyindeki aktif büyüme bölgelerine adsorpsiyonu olarak açıklamışlar ve kinetik sonuçların Langmuir adsorpsiyon modeline uygunluğunu göstererek bunu doğrulamışlardır (Sheehan, 1981).

Asidik moleküllerin kalsiyum oksalat kristallerinin çekirdeklenmesi, kristal büyümesi ve topaklanmasını engellediği daha önceki birçok çalışmada belirtilmiştir. (De Oliveira et al., 2013; Akyol et al., 2016). Karahindiba bitkisinde bulunan asidik gruplarının (fenolik asitlerin) kristalin aktif büyüyen yüzeylerine adsorpsiyonunun ve de $-COOH$ grupları ile Ca^{2+} kristalitlerinin etkileşiminin kalsiyum oksalat çökmesini engellediği düşünülmektedir.

Kristal yüzeyine direk temas eden ekstrakt içinde çözünmüş moleküllerin kristal yüzeyine adsorbe oldukları düşünülmektedir. Langmuir adsorpsiyon modelinde yüzeye bitişik çözelti tabakasındaki katkı maddesinin konsantrasyonu yığın fazdan daha yüksektir.

Gazlar için geliştirilen Langmuir izotermi adsorbe olan moleküllerin üniform dağıldıklarını varsaymaktadır. Literatürde farklı adsorpsiyon izotermi bulunmakla beraber teorik olarak az bir öneme sahiptir ve bu izotermilerin çoğu Langmuir izotermine indirgenebilir (Sheehan, 1981).

Katkı maddelerinin kristalin aktif büyüme bölgelerine adsorpsiyonu ile kristalizasyonu engellediğini ifade eden Eşitlik 1. kullanılarak düşük polimer konsantrasyonlarında $R_0/(R_0-R_t)$ ile $1/C_t$ arasında grafik çizilirse aralarında lineer bir bağıntı olduğu görülür.

$$\left(\frac{R_0}{R_0 - R_t}\right)^n \propto \theta_1 \quad (1)$$

Adsorpsiyon aktif sitelerinin θ_1 değeri, Langmuir ve Temkin adsorpsiyon izotermiyle açıklanabilir (Kirboga and Oner, 2010).

Langmuir izotermi homojen adsorpsiyon için kullanılmaktadır. Bu izotermde, adsorpsiyonun adsorplayıcı katının yüzeyindeki tek bir tabaka ile sınırlı olduğu ve adsorplanan maddelerin katı yüzeyinde hareket etmediği varsayılmaktadır. Bu tek tabakadaki bağlayıcı siteler adsorplayıcının yüzeyine homojen olarak dağılmıştır ve hepsi aynı adsorpsiyon enerjisine sahiptirler (İleri ve Çakır, 2006; Çicek et al., 2007).

Adsorpsiyon aktif sitelerinin θ_1 değeri, Temkin adsorpsiyon izotermiyle de açıklanabilir (Kirboga and Oner, 2010). Temkin izoterm modelinde adsorbe olan maddeler arasındaki etkileşim göz önüne alınmaktadır. Çözelti içerisindeki tüm moleküllerin adsorpsiyon entalpisi dikkate alınarak geliştirilmiştir (Elkady et al., 2011).

$$\theta_1 = \frac{KC_t}{1 + KC_t} \quad \text{Langmuir izotermi} \quad (2)$$

$$\theta_1 = Z \ln C_0 + Z \ln C_t \quad \text{Temkin izotermi} \quad \theta_1 = Z \ln C_0 + Z \ln C_t \quad \text{Temkin izotermi} \quad (3)$$

Bu eşitliklerde K , C_0 , Z sabitler olup C_t katkı miktarıdır. K , Langmuir sabiti ise şu şekildedir:

$$K = \frac{\exp Q_{diff}}{RT} \quad (4)$$

Bu eşitlikte Q_{diff} uygun adsorpsiyon sitelerinin θ_1 değerlerinin yerini tutan diferansiyel ısı değeridir. C_0 sabiti ise şu şekilde tanımlanır:

$$C_0 = \frac{\exp Q_{diff}^0}{RT} \quad (5)$$

Burada Q_{diff}^0 , θ_1 değerlerinin yerini tutan ilk ısı adsorpsiyonu değeridir.

Eşitlik 1.'in Langmuir ve Temkin izoterm Eşitlikleri 2. ve 3. ile birlikte kullanımı sonucunda, $n = 1$ için (kink) aşağıdaki denklemler kullanılır:

$$\frac{R_0}{R_0 - R_t} \propto \left(1 + \frac{1}{KC_t}\right) \quad \text{Langmuir Kink} \quad (6)$$

$$\frac{R_0}{R_0 - R_t} \propto (\ln C_0 + \ln C_t) \quad \text{Temkin Kink} \quad (7)$$

n = 2 için ise (terrace),

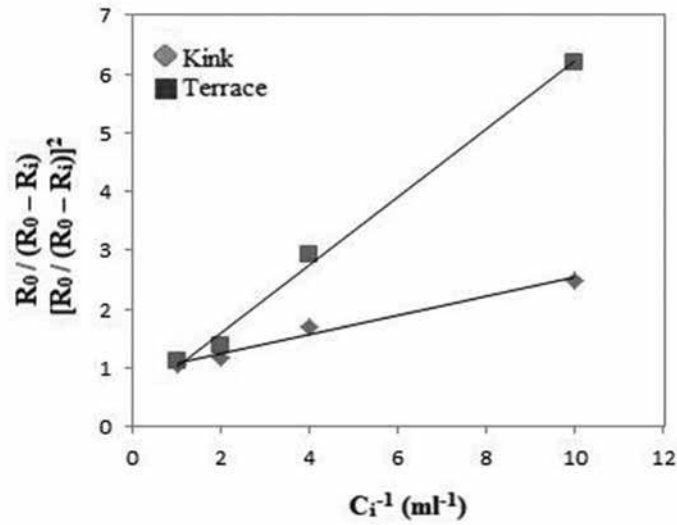
$$\left(\frac{R_0}{R_0 - R_i}\right)^2 \propto 2 \left(1 + \frac{1}{K C_i}\right) \quad \text{Langmuir Terrace} \quad (8)$$

$$\left(\frac{R_0}{R_0 - R_i}\right)^2 \propto 2 (\ln C_0 + \ln C_i) \quad \text{Temkin Terrace} \quad (9)$$

denklemleri kullanılır (Kirboga and Oner, 2010).

Çizelge 1'deki kinetik veriler kullanılarak Langmuir izoterm eşitlikleri için (Eşitlik 6. ve 8.) Kink ve Terrace değerleri hesaplandı.

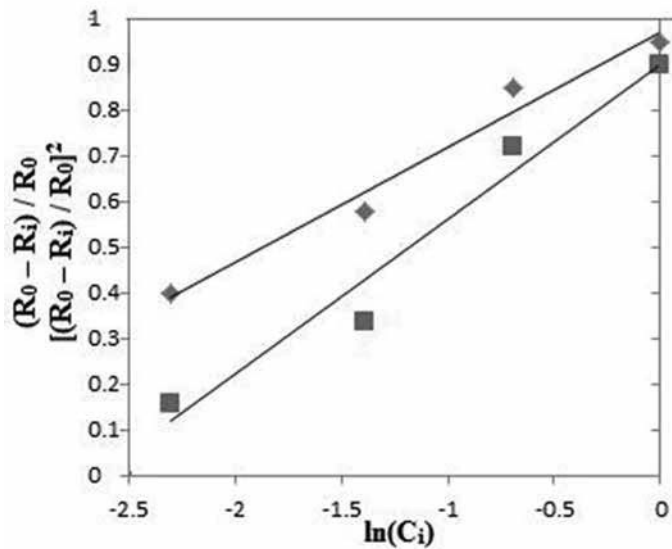
$R_0 / (R_0 - R_i)$ ve $[R_0 / (R_0 - R_i)]^2$ değerlerinin (C_i^{-1}) değerlerine karşı çizilen grafiği Şekil 2'de gösterilmektedir.



Şekil 2. $R_0 / (R_0 - R_i)$ ve $[R_0 / (R_0 - R_i)]^2$ değerlerinin (C_i^{-1}) değerlerine karşı grafiği

Çizelge 1'deki kinetik veriler kullanılarak Temkin izoterm eşitlikleri için (Eşitlik 7. ve 9.) Kink ve Terrace değerleri hesaplandı. $(R_0 - R_i) / R_0$ ve $[(R_0 - R_i) / R_0]^2$

değerlerinin $\ln(C_i)$ değerlerine karşı çizilen grafiği Şekil 3'de gösterilmektedir.



Şekil 3. $(R_0 - R_i) / R_0$ ve $[(R_0 - R_i) / R_0]^2$ değerlerinin $\ln(C_i)$ değerlerine karşı grafiği

Şekil 2 ve 3'deki grafiklerin eğim ve kesim noktalarından hareketle, Langmuir için Eşitlik 4. kullanılmış ve K ile Q_{diff} değerleri hesaplanmıştır. Temkin için ise Eşitlik 5. kullanılmış ve C_0 ile Q_{diff}^0 değerleri hesaplanmıştır. Sonuçlar Çizelge 2'de gösterilmiştir.

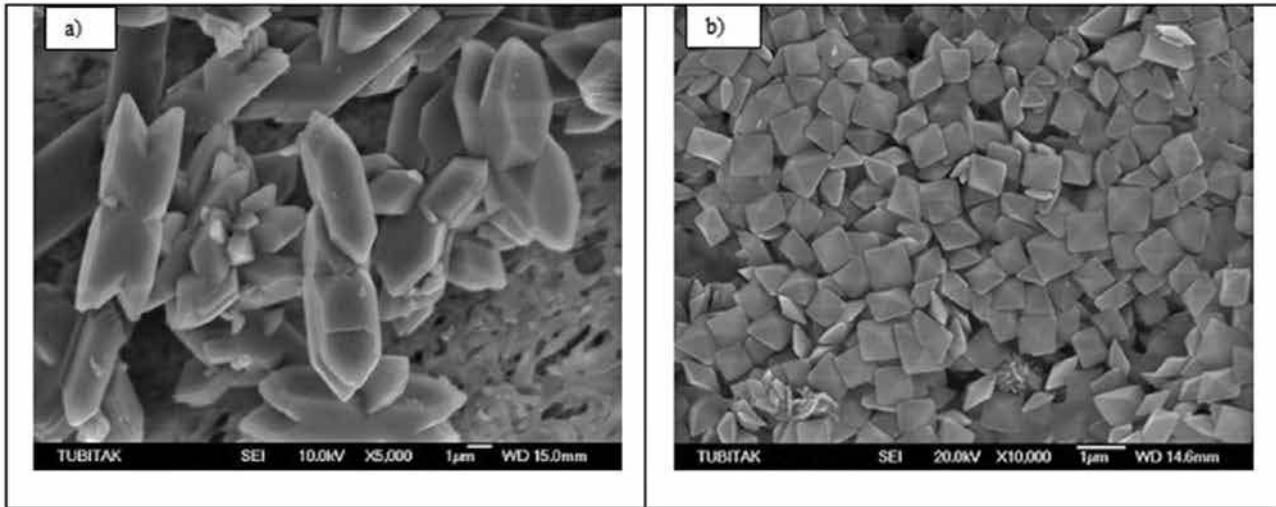
Kinetik verilerimizin kullanılan denklemler için ne derece uygun olduğu R^2 değerleriyle kanıtlanmıştır. Çizelge 2'de görüldüğü gibi Langmuir izoterminin Terrace modelinin R^2 değeri daha yüksek olduğundan bu izoterm modelinin kullanılması daha uygundur.

Çizelge 2. Karahindiba ekstraktı varlığında kalsiyum oksalat kristallerinin 37°C'de büyümesine ait hesaplanan K , Q_{diff} ve Q_{diff}^0 değerleri

Adsorpsiyon Modeli	Langmuir İzotermi			Temkin İzotermi		
	K	Q_{diff}	R^2	C_0	Q_{diff}^0	R^2
Kink	6.1767	4.6928	0.9775	47.1425	9.9309	0.9737
Terrace	1.7250	1.4052	0.9948	14.2662	6.8502	0.9643

Karahindiba ekstraktı ile gerçekleştirilen deneyler sonucunda elde edilen kristallerin morfolojileri ve boyutlarının incelenmesi amacıyla tarama elektron mikroskobu (SEM) kullanılarak fotoğrafları çekilmiştir.

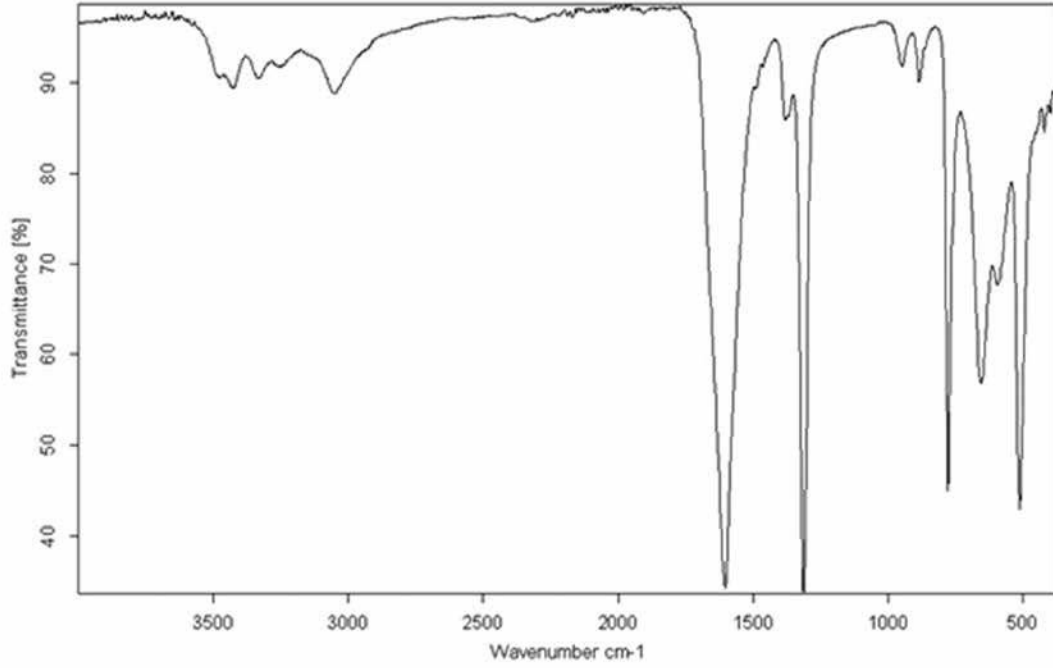
Ölçümler, SEM fotoğraflarından farklı bölgelerinden alınan 50 ile 150 arası kristal örneğinin ortalaması alınarak yapılmıştır.



Şekil 4. Katkısız (a) ve 1 ml karahindiba ekstraktı ile (b) elde edilen kalsiyum oksalat kristallerinin SEM görüntüsü

Katkı maddesi yokluğunda ve varlığında elde edilen kristallerin SEM görüntüsü Şekil 4'de verilmiştir. Katkı maddesi olmadan elde edilen kristallerin COM yapısında olduğu Karahindiba ekstraktı ile gerçekleştirilen deneyler sonucunda elde edilen kristallerin ise COD yapısında olduğu SEM ve FT-IR analizleriyle kanıtlanmıştır. Katkısız elde edilen kristallerin FT-IR görüntüsü

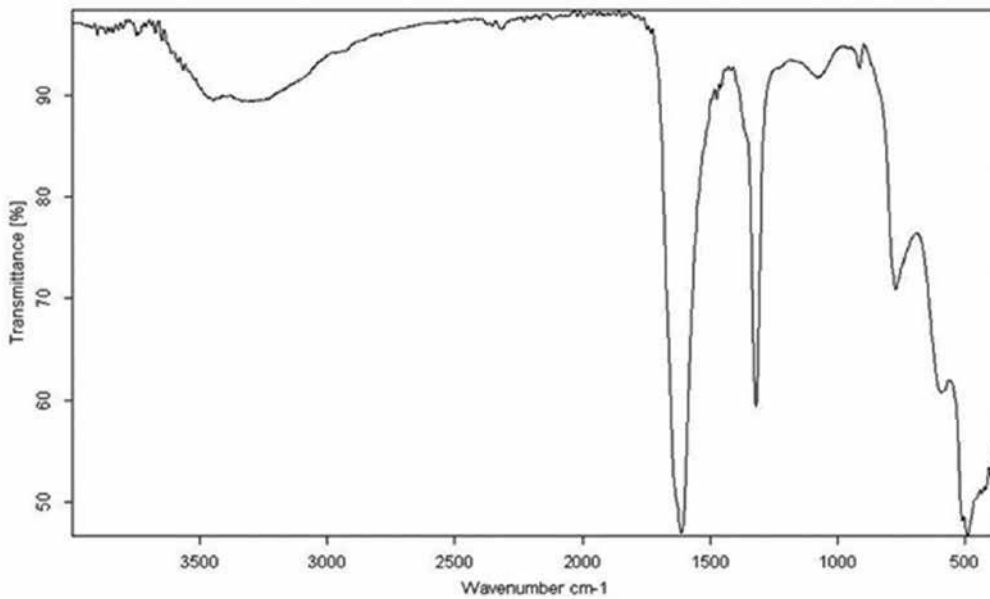
ise Şekil 5'de, 1 ml karahindiba varlığında elde edilen kristallerin FT-IR görüntüsü ise Şekil 6'da verilmiştir. 3000-3500 cm^{-1} bölgesinde COM'da su moleküllerinden kaynaklanan 5 zayıf pik bulunurken COD için yaklaşık 3477 cm^{-1} 'de belirgin tek bir pik bulunmaktadır. 949 cm^{-1} ve 885 cm^{-1} tipik COM pikleridir. 718 cm^{-1} ve 517 cm^{-1} civarındaki pikler O-C-O gruplarını göstermektedir.



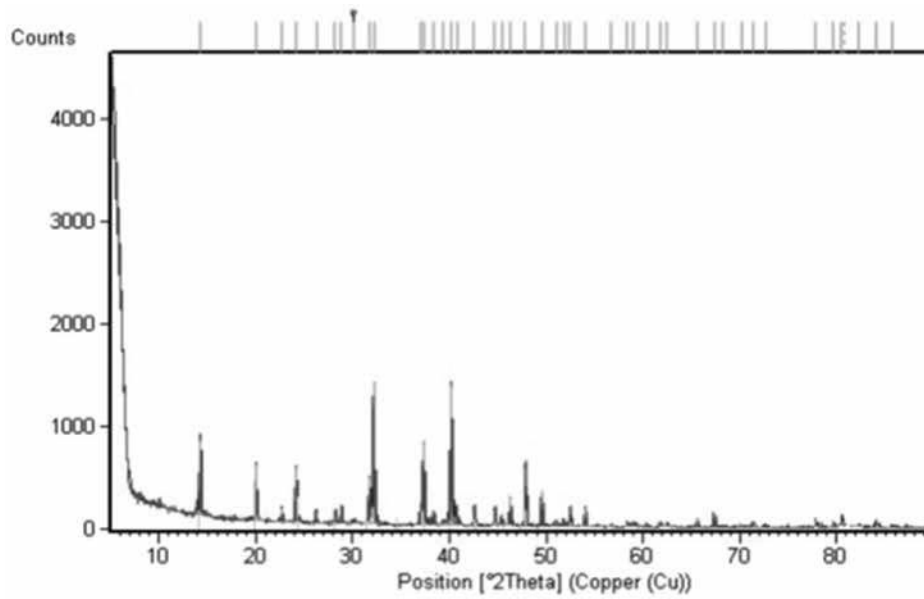
Şekil 5. Katkısız elde edilen COM kristallerinin FT-IR spektrumu

Sabit aşırı doymunluklarda morfoloji değişimlerini incelemek için SEM görüntülerinin yanı sıra 1 ml karahindiba ekstraktı kullanılarak yapılan deneylerden elde edilen numune X-ışını difraktometre analizi (XRD) ile de incelenmiştir. Analiz sonucu Şekil 7’de

görülmektedir. Analiz sonucunda incelenen karahindiba ekstraktı içeren numunenin piklerinin COD pikleri ile eşleştiği ve yapısının değiştiği XRD sonucu ile de ispatlanmış oldu.



Şekil 6. Karahindiba ekstraktı ile elde edilen COD kristallerinin FT-IR spektrumu



Şekil 7. Karahindiba ekstraktı ile elde edilen COD kristallerinin XRD spektrumu

SONUÇ

Bu çalışmada, kalsiyum oksalat monohidrat kristal büyümesinin engellenmesi amacıyla karahindiba ekstraktı ile laboratuvar ortamında çalışma yapılmış ve yapılan bu çalışmalardan olumlu sonuçlar alınmıştır. Sabit başlangıç aşırı doygunluğunda farklı miktarlarda doğal katkı maddesi kullanılarak gerçekleştirilen deneyler sonucunda karahindiba ekstraktı miktarının artmasıyla kristal oluşum hızının azaldığı ve hatta 5 ml ekstrakt miktarı ile kristalizasyonun tamamen durduğu görülmüştür. SEM ve FT-IR incelemesi sonucunda ise karahindiba ekstraktının çok az miktarının bile COM kristal oluşumunu engellediği ve daha az kararlı olan COD kristallerinin oluştuğu gözlemlenmiştir. Kullanılan katkı maddelerinin doğal olması biyomineralizasyon çalışmaları açısından oldukça önem taşımaktadır. Katkı maddelerinin kalsiyum oksalat kristalleri üzerindeki küçültücü etkisi ve COD yapısına dönüşümün gerçekleşmesi kullanılan karahindiba bitkisinin böbrek taşı hastalığının tedavisinde yararlı olabileceği görüşünü desteklemektedir.

KAYNAKLAR

- Akyol E, Oner M, 2007. Inhibition of calcium oxalate monohydrate crystal growth using polyelectrolytes. *Journal of Crystal Growth*, 307: 137-144.
- Akyol E, Oner M, 2014. Controlling of morphology and polymorph of calcium oxalate crystals by using polyelectrolytes. *Journal of Crystal Growth*, 401: 260-265.

- Akyol E, Ongun K, Kirboga S, Oner M, 2016. A kinetic study for calcium oxalate crystallization in the presence of *Viburnum opulus* extract. *Biointerface Research In Applied Chemistry*, 6: 1059-1063.
- Anonim, 2016. <http://www.karahindiba.com/2012/04/karahindiba/> (Erişim tarihi: 06 Mart, 2016).
- Bernard-Michel B, Pons MN, Vivier H, Rohani S, 1999. The study of calcium oxalate precipitation using image analysis. *Chemical Engineering Journal*, 75: 93-103.
- Cicek F, Ozer D, Ozer A, Özer A, 2007. Low cost removal of reactive dyes using wheat bran. *Journal of Hazardous Materials*, 146: 408-416.
- Elkady MF, Ibrahim AM, Abd El-Latif MM, 2011. Assessment of the adsorption kinetics, equilibrium and thermodynamics for the potential removal of reactive red dye using eggshell biocomposite beads. *Desalination*, 278: 412-423.
- Ivanov IG, 2014. Polyphenols Content and antioxidant activities of *Taraxacum officinale* F.H. Wigg (Dandelion) leaves. *International Journal of Pharmacognosy and Phytochemical Research*, 6: 889-893.
- İleri R, Çakır G, 2006. Bakır iyonlarının (Cu²⁺) sıvı ortamdan biyosorpsiyonla gideriminin izoterm sabitlerinin Matlab programı ile belirlenmesi. *Ekoloji*, 59: 8-17.
- Jung T, Kim WS, Choi CK, 2005. Crystal Structure and morphology control of calcium oxalate using biopolymeric additives in crystallization. *Journal of Crystal Growth*, 279: 154-162.
- Kırboğa S, Oner M, 2010. The role of vinyl sulfonic acid homopolymer in calcium oxalate crystallization. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 78: 357-362.
- Millan A, Sohnel O, Grases F, 1997. The influence of crystal morphology on the kinetics of growth of calcium oxalate monohydrate. *Journal of Crystal Growth*, 179: 231-239.
- Miller JD, 1996. Crystallization kinetics of calcium oxalate in simulated urine. The University of Arizona. PhD Thesis, 246p.

- Munoz JA, Valiente M, 2005. Effects of trace metals on the inhibition of calcium oxalate crystallization. Urological Research, 33: 267-272.
- De Oliveira RB, Coelho EB, Rodrigues MR, Costa-Machado ARM, João De Sousa PB, Berretta AA, Bastos JK, 2013. Effect of the copaifera langsdorffii desf. leaf extract on the ethylene glycol-induced nephrolithiasis in rats. Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine, 2013:1-10.
- Opalko FJ, Adair JH, Khan SR, 1997. Heterogeneous nucleation of calcium-oxalate trihydrate in artificial urine by constant composition. Journal of Crystal Growth, 181:410-417.
- Sheehan ME, 1981. The kinetics of crystal growth of calcium oxalate. State University of New York at Buffalo. PhD Thesis, 200p.
- Yu J, Tang H, Cheng B, 2005. Influence of PSSS additive and temperature on morphology and phase structures of calcium oxalate. Journal of Colloid and Interface Science, 288: 407-411.

