

Usporedba dvije klasične analitičke metode za određivanje sadržaja kalcija u dodacima prehrani

Bušljeta, Lucija

Master's thesis / Diplomski rad

2019

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, Faculty of Pharmacy and Biochemistry / Sveučilište u Zagrebu, Farmaceutsko-biokemijski fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:163:436948>

Rights / Prava: [In copyright](#)/[Zaštićeno autorskim pravom.](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2024-07-12**



Repository / Repozitorij:

[Repository of Faculty of Pharmacy and Biochemistry University of Zagreb](#)



Lucija Bušljeta

**Usporedba dvije klasične analitičke metode za
određivanje sadržaja kalcija u dodacima
prehrani**

DIPLOMSKI RAD

Predan Sveučilištu u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskom fakultetu

Zagreb, godina 2019.

Ovaj diplomski rad je prijavljen na kolegiju Analitička kemija Sveučilišta u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta i izrađen na Zavodu za analitičku kemiju pod stručnim vodstvom doc.dr.sc. Jasne Jablan.

Prvenstveno se želim zahvaliti svojoj mentorici doc.dr.sc. Jasni Jablan na velikoj pomoći i strpljenju te stručnom vodstvu pri izradi ovog diplomskog rada. Veliko hvala i mojoj obitelji, prijateljima i kolegama koji su mi pružali potporu i razumijevanje tijekom studija.

SADRŽAJ

1. UVOD	1
1.1. Dodaci prehrani	1
1.2. Kalcij	3
1.2.1. Metabolizam kalcija	3
1.2.2. Homeostaza kalcija.....	4
1.2.3. Nutritivni izvori kalcija i apsorpcija.....	5
1.2.4. Suplementi kalcija	7
1.2.4.1. Sigurnost i nuspojave suplemenata kalcija.....	8
1.3. Titrimetrijske metode	9
1.3.1. Volumetrijske metode	9
1.3.1.1. Kompleksometrijske titracije	10
1.4. Ionska izmjena.....	12
2. OBRAZLOŽENJE TEME	14
3. MATERIJALI I METODE	15
3.1. Materijali	15
3.1.1. Korištene kemikalije za kompleksometrijsku titraciju.....	15
3.1.2. Korištene kemikalije za ionsku izmjenu	15
3.1.3. Korišteni laboratorijski pribor i posuđe za kompleksometrijsku titraciju.....	15
3.1.4. Korišteni laboratorijski pribor i posuđe za ionsku izmjenu	16
3.1.5. Uzorci	16
3.2. Metode.....	17
3.2.1. Princip metoda.....	17
3.2.2. Priprema uzorka kalcija za kompleksometrijsku titraciju	17
3.2.3. Priprema uzorka kalcija za ionsku izmjenu.....	17
3.2.4. Priprema kolone za ionsku izmjenu	18
3.2.5. Priprema 0,025 mol/L EDTA	18
3.2.6. Postupak određivanja sadržaja kalcija.....	18
3.2.7. Statistička obrada podataka	19
4. REZULTATI I RASPRAVA	19
4.1. Rezultati	19
4.1.1. Rezultati dobiveni kompleksometrijskom titracijom	19
4.1.1.1. Određivanje sadržaja kalcija po tableti	21
4.1.2. Rezultati dobiveni ionskom izmjenom.....	24
4.1.2.1. Određivanje sadržaja kalcija po tableti	26
4.1.3. Usporedba rezultata dobivenih dvjema analitičkim metodama	28
4.2. Rasprava	32
5. ZAKLJUČCI	34
6. LITERATURA.....	36
7. SAŽETAK/ SUMMARY	39
8. TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA/ BASIC DOCUMENTATION CARD	

1.UVOD

1.1. Dodaci prehrani

Dodaci prehrani ili suplementi definiraju se kao pripravci koji sadrže koncentriranu hranjivu tvar (NN/126/2013). Hranjive tvari uključuju vitamine, minerale, aminokiseline, vlakna, esencijalne masne kiseline, ljekovite biljke i/ili njihove ekstrakte (www.fda.gov). Upravo navedene hranjive tvari omogućuju da dodaci prehrani ostvare svoju svrhu, što je dodatno obogaćivanje uobičajene prehrane u cilju poboljšanja zdravstvenog stanja. Obogaćivanje uobičajene prehrane dodacima može se ostvariti na različite načine s obzirom da se na tržištu nalaze u različitim oblicima poput kapsula, prašaka, tableta ili tekućina, no zajednička karakteristika je da se svi dodaci prehrani uzimaju oralno, u točno određenim dozama (NN/126/13).

Navedena različitost, i još uvijek neispitana učinkovitost pojedinih dodataka prehrani, očituje se nejasnim zakonskim okvirom pri njihovom reguliranju. Prema Američkoj agenciji za hranu i lijekove (FDA), suplement djeluje samo kao nadopuna prehrani i ne smatra se lijekom (www.nih.gov). U skladu s tim, takvi proizvodi ne mogu se koristiti za dijagnosticiranje ili liječenje bolesti. Za razliku od lijekova, dodaci prehrani ne zahtijevaju posebno odobrenje od strane FDA-a prije stavljanja na tržište. Iako je proizvođač dužan imati dokaze o neškodljivosti proizvoda, dodatak prehrani se i prije provjere kvalitete može naći na tržištu (www.fda.gov). U Hrvatskoj su dodaci prehrani i pitanja vezana uz sastav, označavanje i stavljanje na tržište propisana Pravilnikom o dodacima prehrani, a u nadležnosti je Ministarstva zdravstva (NN/46/11). Prema čl.5. navedenog Pravilnika, prilikom reklamiranja suplemenata nije dozvoljeno isticati primjenu istog u svrhe tretiranja bolesti, kao i to da pravilna prehrana ne može osigurati dovoljne količine potrebnih nutrijenata, što je u skladu i sa smjernicama FDA-a. Dodaci prehrani klasificirani su kao hrana i samim time podliježu manje rigoroznim zahtjevima kvalitete, sigurnosti i učinkovitosti (NN 39/13).

Trenutačna zakonska regulativa omogućava različitim dodacima prehrani jednostavan dolazak na tržište. Uslijed toga, prirodno se nameće pitanje o njihovoj kvaliteti i sigurnosti. Nedosljednost učinka dodataka prehrani može se povezati s varijabilnošću u njihovoj kvaliteti. Brojni dodaci prehrani ne sadržavaju količinu aktivnog sastojka koja je propisana na deklaraciji (Gurley, 2018). Suprotno tome, pojedini suplementi sadržavaju izrazito visoke koncentracije aktivnih tvari koje mogu povećati rizik od toksičnosti. Jedan od takvih primjera je povlačenje preparata za mršavljenje koji su sadržavali aktivne supstance izolirane iz biljke kositrenica (*Ephedra sinica*, Ephedraceae) zbog toksičnog djelovanja (Dwyer i Costello,

2013). Rizik od toksičnog učinka postoji i ukoliko je u proizvodu prisutan lijek koji nije naveden na deklaraciji. U rijetkim slučajevima, dodaci prehrani mogu biti kontaminirani teškim metalima ili patogenim mikrobima, čime se smanjuje sigurnost proizvoda i posljedično izostaje učinak. Implementacijom dobre proizvođačke prakse (GMP) u industriju dodataka prehrani nastoji se riješiti ovaj problem (Sikora, 2015).

Bez obzira na nepostojanje jasno definiranih zahtjeva koje bi kvalitetni dodaci prehrani trebali zadovoljiti, njihova upotreba je široko zastupljena. Prema globalnom istraživanju provedenom 2018. godine o korištenju dodataka prehrani, najveći potrošači bili su odrasli s udjelom od 48,3% ukupne potrošnje. Na drugom mjestu nalazi se gerijatrijska populacija, a potom trudnice te djeca. Rastući trend upotrebe dodataka prehrani može se primijetiti na razini cijelog svijeta. U Europi prednjače Njemačka, Francuska, Italija i Velika Britanija (<http://www.grandviewresearch.com>). Međutim, istraživanje Euromonitora predviđa porast potrošnje i na području istočne Europe, što uključuje i Hrvatsku (Kočevar-Korenjak i sur., 2018).

Navedena široka potrošnja dodataka prehrani ujedno dovodi i do pitanja zbog čega je to tako. Razlozi korištenja dodataka prehrani uistinu su mnogobrojni. Moderan način života donosi sa sobom potrebu za lako dostupnim proizvodima s brzim učinkom, a dodaci prehrani obećavaju upravo to. Primarni razlog korištenja suplemenata svakako je zadovoljavanje fizioloških potreba organizma za specifičnim nutrijentom (Webb, 2006). Uslijed siromašne i neraznovrsne prehrane, moguć je deficit mikro ili makronutrijenta koje je tada potrebno nadomjestiti konzumacijom dijetetskih pripravaka. Uz to, ostali razlozi korištenja suplemenata su smanjivanje rizika od pojave kroničnih bolesti poput dijabetesa tipa dva, osteoporoze, kardiovaskularnih bolesti, jačanje imunskog sustava, osiguravanje dovoljnih količina hranjivih tvari u trudnoći te povećanje izdržljivosti u sportaša. Farmaceutska industrija sve se više usmjerava daljnjem istraživanju dijetetskih pripravaka i otkrivanju njihovih ljekovitih potencijala. Primjerice, danas se dodaci prehrani koriste i u svrhe mršavljenja kako bi se povećala svijest o rastućem problemu pretilosti s kojim se svijet suočava. Osim toga, brojni pripravci usmjereni su na očuvanje ukupnog zdravlja, pospješivanje rada probavnog trakta, ali i borbu protiv različitih karcinogenih oboljenja. (Webb, 2006).

1.2. Kalcij

Kalcij je najzastupljeniji mineral u ljudskom organizmu s udjelom od 2% u ukupnoj tjelesnoj masi (Martínez, 2015). 99% kalcija nalazi se u kostima u obliku fosfatne soli hidroksiapatita $[Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2]$. Kostiju služe kao spremište kalcija iz kojih se on crpi kada koncentracija kalcija u krvnoj plazmi padne. Preostalih 1% kalcija nalazi se u izvanstaničnoj tekućini. Kalcij je potrebno unositi u organizam putem prehrane kako bi se nadoknadio njegov gubitak urinom i fecesom (Peterlik i Stoepler, 2004). Nadomjestak kalcija može se ostvariti i uzimanjem dodataka prehrani, pri čemu treba obratiti pozornost na maksimalno dozvoljene dnevne unose. Razine kalcija u organizmu precizno su regulirane. S obzirom na brojne fiziološke procese u kojima sudjeluje, bilo kakav poremećaj koncentracije kalcija može imati štetne posljedice za zdravlje čovjeka.

1.2.1. Metabolizam kalcija

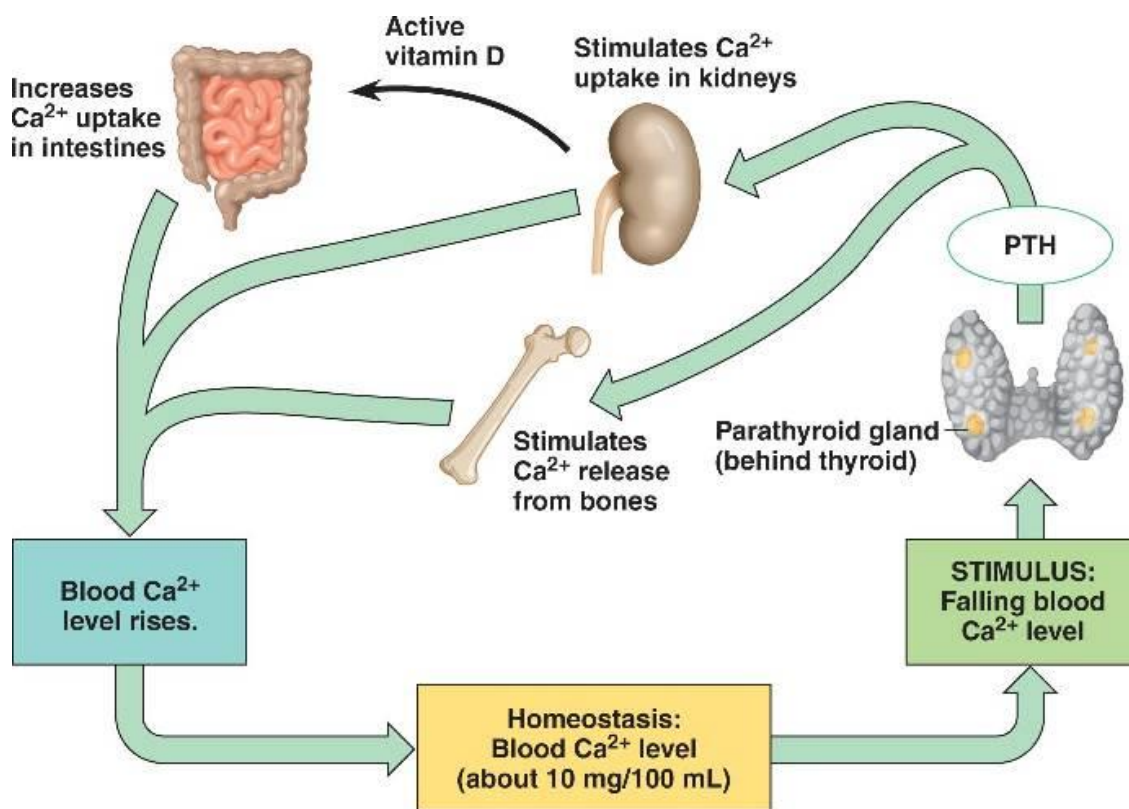
Koncentracija kalcija u tijelu ovisi o njegovom unosu, apsorpciji i izlučivanju. Ekstracelularna koncentracija određena je apsorpcijom kalcija u probavnom traktu, renalnom sekrecijom i otpuštanjem, odnosno skladištenjem kalcija u kostima. Svim tim procesima upravljaju hormoni koji održavaju koncentraciju kalcija u serumu od 2,4 mmol /L. Ta stroga kontrola razine kalcija je nužna kako bi se u organizmu mogli neometano odvijati procesi poput kontrakcije mišića, zgrušavanja krvi ili prijenosa signala (Guyton i Hall, 2011).

Kalcij se može apsorbirati aktivnim putem ili pasivnom difuzijom. Uslijed niskog unosa kalcija u organizam, apsorpcija će se odvijati aktivno, preko prijenosnog proteina kalbindina. S druge strane, pasivna difuzija odvija se pri većim koncentracijama kalcija i to u tankom crijevu (Lovrić Turjak, 2018).

Kalcij se u plazmi nalazi u tri različite forme: 41% vezan za proteine plazme koji ne difundira kroz kapilarne membrane, 9% vezan za anionske komponente plazme (citrati ili fosfati) te najvećim dijelom kao ionizirani oblik koji je sposoban difundirati kroz membrane. Upravo je ova posljednja, ionska forma kalcija odgovorna za ostvarivanje većine bioloških učinaka. Održavanje te slobodne ionske forme kalcija u plazmi u uskom rasponu koncentracija (2,2 – 2,6 mmol /L) preduvjet je homeostaze. Tri su glavna regulatorna mehanizma koja utječu na homeostazu kalcija: paratiroidni hormon, vitamin D i kalcitonin (Guyton i Hall, 2011).

1.2.2. Homeostaza kalcija

Pad razine kalcija u serumu inaktivira receptor za kalcij u paratiroidnim žlijezdama (CaR receptor) i dovodi do povećanog izlučivanja paratiroidnog hormona (PTH). Povećane razine oslobođenog PTH djeluju na paratiroidne receptore u bubrežima (PTHrP) kako bi se povećala tubularna reapsorpcija kalcija. Paratiroidni hormon također djeluje na PTH receptore u kostima gdje pospješuje resorpciju kosti i na taj način povećava razinu kalcija u serumu (Peacock, 2010). Povećanje razine paratiroidnog hormona stimulira bubrege na pojačanu sekreciju 1,25-dihidroksikolekalciferola. Naime, porast vrijednosti PTH signal je za stvaranje aktivnog oblika vitamina D (1,25-dihidroksikolekalciferola) iz 25-hidroksikolekalciferola. Ta aktivna forma vitamina D veže se na vitamin D receptore (VDR) koji su prisutni u većini stanica i locirani u jezgrama. 1,25-dihidroksikolekalciferol promovira intestinalnu apsorpciju kalcija povećavajući ekspresiju kalcij-vezujućeg proteina, kalbindina u epitelnim stanicama crijeva, a ujedno djeluje i na VDR receptore u kostima i tako potpomaže resorpciju (Guyton i Hall, 2011). Opisanim načinom dolazi do porasta razine kalcija u serumu, a mehanizmom negativne povratne sprege zaustavljaju se procesi koji bi doveli do patološkog rasta koncentracije kalcija, a aktiviraju oni koji ju snižavaju. Kalcitonin, kao treći od regulatornih mehanizama u homeostazi kalcija, djeluje suprotno od paratiroidnog hormona i snižava povišene plazmatske koncentracije kalcija. Kalcitonin je peptidni hormon koji luče parafolikularne stanice štitnjače (C stanice) kao odgovor na povećane razine kalcija u krvi. Svoj učinak kalcitonin iskazuje na dva načina. Jedan od njih je da smanjuje apsorptivnu aktivnost osteoklasta i stimulira odlaganje kalcija u kosti. Drugi, a ujedno i dulji učinak kalcitonina je smanjenje stvaranja novih osteoklasta. Sekundarni učinak smanjenja aktivnosti osteoklasta je povećanje aktivnosti osteoblasta i posljedično unos kalcija u kosti (Guyton i Hall, 2011). Zajedničkim djelovanjem, sva tri mehanizma održavaju serumske koncentracije kalcija unutar referentnog intervala i tako preveniraju pojavu patoloških stanja poput hiperkalcemije ili hipokalcemije.



Slika 1. Homeostaza kalcija, preuzeto s <https://bio1152.nicerweb.com>

1.2.3. Nutritivni izvori kalcija i apsorpcija

Kalcij je jedan od esencijalnih nutrijenata za ljudsko zdravlje. S obzirom na njegove mnogobrojne funkcije u organizmu, potrebno je osigurati adekvatan unos tog minerala putem prehrane ili dodataka prehrani. Postoje namirnice koje su vrlo vrijedan izvor kalcija, a pod tim se smatra da sadrže barem 100 miligrama kalcija u standardnoj porciji (Houtkooper i sur., 2017). Mlijeko, sir i jogurt su glavni izvor kalcija u prehrani. Osim njih, zeleno povrće poput kelja, špinata, brokule ili blitve također sadrži visok udio kalcija (National Nutrient Database, 2015). Usprkos visokom udjelu kalcija u navedenim namirnicama, količina kalcija koja je metabolički raspoloživa varira i ovisi o procesu apsorpcije. Većina kalcija, čak 65%, apsorbira se u pH području 6,5-7,5 unutar gastrointestinalnog trakta. Ukupna količina apsorbiranog kalcija u odnosu na njegovu biodostupnost ovisi o količini kalcija u organizmu, vrsti namirnice koja ga sadrži i vremenu provedenom u pojedinim segmentima probavnog trakta (Beto, 2015). Biodostupnost kalcija smanjuju oksalati, fitati, prehrambena vlakna, tanini iz čaja, ali i neki lijekovi poput laksativa, kortikosteroida ili antikonvulziva. Oksalna kiselina prisutna u zelenom povrću veže kalcij i tvori oblik koji nije topljiv u tankom crijevu, a time je onemogućena i njegova apsorpcija. Fitati, prehrambena vlakna i tanini također mogu vezati kalcij i tako negativno utjecati na njegovu apsorpciju. Laksativi djeluju tako da smanjuju

vrijeme zadržavanja nutrijenata u probavnom traktu ne ostavljajući dovoljno vremena za kvalitetnu apsorpciju. S druge strane, dovoljne količine vitamina D pridonose apsorpciji kalcija (Houtkooper i sur., 2017). Apсорpcija kalcija mijenja se s dobi. U novorođenčadi ona iznosi 60% i odvija se uglavnom pasivnom difuzijom. U ranom djetinjstvu postotak apsorpcije kalcija se smanjuje, a ulaskom u pubertet ponovno raste jer je tada proces oblikovanja kostiju na svom vrhuncu. U mlađih odraslih osoba postotak apsorpcije je oko 25%. Kako organizam stari, apсорpcija kalcija se smanjuje, posebice kod osoba starijih od 55 godina i žena u menopauzi (Ross i sur., 2011). Spomenute skupine, zajedno s pojedincima koji su alergični na mlijeko ili laktoza intolerantni, imaju najviše problema u zadovoljavanju dnevnih potreba organizma za kalcijem. Prema smjernicama iz 2011. (Ross i sur., 2011) propisane su dnevne vrijednosti i gornje granice za unos kalcija s obzirom na dob i spol kako bi se osiguralo optimalno funkcioniranje organizma.

Tablica 1. Preporučeni dnevni unos za kalcij (preuzeto i prilagođeno prema Institute of Medicine, National Academy of Science, 2011.)

Dob	mg/dan (RDA)	Najviši prosječni dnevni unos (UL) mg/dan
Dojenčad 0 - 6 mjeseci	200	1000
Dojenčad 6 - 12 mjeseci	260	1500
Djeca 1 - 3 godine	700	2500
Djeca 4 - 8 godine	1000	2500
Adolescenti 9 - 18 godine	1300	3000
Odrasli muškarci i žene 19 – 50 godina	1000	2500
Muškarci 51 -70 godina	1000	2000
Žene 51 – 70 godina	1200	2000
Odrasli > 70 godina	1200	2000
Trudnoća i dojenje		
14 - 18 godina	1300	3000
19 - 50 godina	1000	2500

Nedovoljan unos kalcija tijekom kratkog vremenskog perioda neće dovesti do razvoja uočljivih simptoma jer će se koncentracija u serumu održavati pomoću zaliha kalcija u kostima. Ipak, ako se potrebe za kalcijem ne zadovoljavaju putem prehrane, proces nadoknađivanja kalcija iz kostiju dovodi do smanjenja gustoće kostiju - osteopenije i povećanja rizika od osteoporoze i fraktura. Uslijed dugotrajnog nedostatka kalcija, javljaju se simptomi poput konvulzija, trnci u prstima ili abnormalni srčani ritam s ozbiljnim rizicima po život čovjeka ako se na vrijeme ne prepoznaju (www.nih.gov).

1.2.4. Suplementi kalcija

Osobe koje ne unose dovoljno kalcija u organizam prehranom isti mogu unijeti i dodacima prehrani. Najčešći oblici suplemenata kalcija koji se mogu naći na tržištu su kalcijev karbonat i kalcijev citrat. Iako kalcijev karbonat sadrži dvostruko veću količinu elementarnog kalcija (40%) u usporedbi s citratom (21%), teže se podnosi i uzima se s obrokom. Osim navedenih, kalcij u dodacima prehrani postoji i u obliku laktata, glukonata, glukohettonata i fosfata (Ross i sur., 2011). Potrebno je naglasiti da tijelo apsorbira kalcij manje učinkovito ukoliko je primijenjena doza prevelika. Upravo iz tog razloga preporuka je da se ne unosi više od 500 miligrama kalcija u jednoj dozi i to u intervalima 4-6 sati između pojedinih doza (Houtkooper i sur, 2017).

Jedan od glavnih razloga korištenja suplemenata kalcija je usporavanje gubitka koštane mase i prevencija osteoporoze. Takva upotreba kalcija je posebno učestala među osobama starije životne dobi, čija siromašna prehrana nije u stanju osigurati dnevne potrebe za kalcijem (Peacock, 2010). Provedena su brojna istraživanja kako bi se ispitalo djelovanje suplemenata kalcija na kosti. Randomizirane kontrolne studije dokazale su mali, ali konzistentan pozitivan učinak kalcija na očuvanje integriteta i čvrstoće kostiju. U usporedbi s placebo skupinom, skupina koja je dobivala suplemente imala je za 0,57 – 5,80% bolje denzitometrijske nalaze (Weaver i sur., 2016). Suprotnim tim rezultatima, studija iz 2015.godine provedena na osobama starijim od 50 godina, opovrgava pozitivno djelovanje kalcija na povećanje gustoće kostiju. Naime, rezultati tog istraživanja pokazali su neznan i klinički zanemariv utjecaj suplemenata kalcija na strukturu kostiju, kao i na eventualno smanjenje fraktura (Bolland i sur., 2015).

Suplementi kalcija nisu rezervirani samo za stariju populaciju, već ih nerijetko koriste i trudnice. Danas je poznato da prehrana trudnica ima veliki utjecaj na razvoj ploda, stoga je preporuka da se poveća unos kalcija tijekom trudnoće i laktacije. Provedena je studija koja je uključivala više od 17000 žena kako bi se procijenio učinak kalcija na prijevremeni završetak trudnoće (prije 37.tjedna). Nisu uočene značajnije razlike između grupe koja je uzimala suplemente i one koja nije uzimala dodatke u vidu prijevremenog rođenja djeteta. Ipak, zabilježena je lagano veća masa djece čije su majke uzimale suplemente kalcija (Buppasiri i sur., 2015). Druga studija je dokazala učinkovitost suplemenata kalcija u smanjivanju rizika od preeklampsije - povećani krvni tlak praćen proteinurijom, kao i smanjivanje rizika od prijevremenog poroda. Koristeći visoke doze kalcija (1 gram), rizik od povećanog krvnog tlaka bio je smanjen u odnosu na placebo skupinu. Međutim, taj efekt je bio uočljiv samo kod trudnica koje prehranom nisu unosile dovoljne količine kalcija, a ne i kod onih koje su konzumirale kalcij u dovoljnim količinama (Hofmeyr i Manyame, 2017).

1.2.4.1. Sigurnost i nuspojave suplemenata kalcija

Nedovoljan unos kalcija u organizam nadomješta se putem dodataka prehrani. Međutim, sigurnost primjene takvih pripravaka tema je brojnih rasprava među stručnjacima.

Meta analiza koja se sastojala od 11 studija koje su sveukupno uključivale više od 50000 ispitanika zaključila je da postoji pozitivna korelacija između suplemenata kalcija i povećanog rizika od kardiovaskularnih incidenata poput infarkta miokarda ili moždanog udara (Mao i sur., 2013). Suprotno tome, novija studija poriče vezu između korištenja suplemenata kalcija i povećanog kardiovaskularnog rizika. Istraživanje je trajalo 10 godina, a dobiveni rezultati nisu dokazali štetan učinak suplemenata kalcija na zdravlje čovjeka (Raffield i sur., 2016).

Što se tiče nuspojava, visoke doze kalcija mogu izazvati gastrointestinalne smetnje poput konstipacije ili nadutosti. U rijetkim slučajevima može se razviti mliječno-alkalni sindrom koji rezultira hiperkalcemijom, kalcifikacijom tkiva, hipertenzijom, alkalozom, neurološkim simptomima te oštećenjem bubrega (Webb, 2006). Neke studije su također dokazale da povećani unos kalcija putem suplemenata može pospješiti stvaranje bubrežnih kamenaca, posebno među starijom populacijom. U novije vrijeme postoje i istraživanja koja impliciraju da povećani unos kalcija može potaknuti razvoj karcinoma prostate, no potrebne su dodatne studije kako bi se dokazala ta teza (www.nih.gov). Nema jednoznačnog odgovora po pitanju sigurnosti korištenja dodataka prehrani s kalcijem. Ipak, može se zaključiti da ukoliko se ne nadilaze propisane dnevne doze, nema opasnosti za zdravlje čovjeka.

1.3. Titrimetrijske metode

Titrimetrijske metode su kvantitativni postupci u analitičkoj kemiji za određivanje kiselina, baza, oksidansa, reducensa ili metalnih iona u različitim uzorcima. Sve titrimetrije temelje se na reakciji između analita i standardnog reagensa poznatog kao titrant. Na osnovi te reakcije, a prema utrošenoj količini titranta poznate koncentracije koji je potreban za potpunu reakciju s analitom, jednostavno se može odrediti količina analita (Skoog i sur., 2014).

Razlikuju se tri vrste titrimetrije: volumetrijske, gravimetrijske i kulometrijske. Volumetrijske uključuju mjerenje volumena utrošenog titranta za potpunu reakciju s analitom, dok se kod gravimetrijskih mjeri masa titranta. U kulometrijskim titracijama mjeri se vrijeme potrebno za elektrokemijsku reakciju (Skoog i sur., 2014). Za potrebe ovog rada naglasak je stavljen na volumetrijskim metodama.

1.3.1. Volumetrijske metode

Volumetrijske metode, kao što sam naziv kaže, baziraju se na mjerenju volumena dodanog reagensa u otopinu analita. Osnovni uvjet koji mora biti ispunjen da bi titracija bila uspješna je točno definiran stehiometrijski odnos između standardnog reagensa čiji se volumen mjeri i analita. Ta reakcija mora biti brza, specifična i kvantitativna. Kada je količina dodanog titranta ekvivalentna količini analita reakcija je potpuna i dosegla se točka ekvivalencije. Međutim, kako je točka ekvivalencije teorijski pojam, u praksi se koristi aproksimacija poznata kao završna točka. Završna točka titracije povezana je s naglom promjenom fizikalne veličine poput promjene boje ili pojave taloga, što upućuje na kraj titracije (McPherson, 2015). Za uočavanje završne točke titracije, većina analiza zahtijeva dodatak indikatora – tvar koja će promijeniti boju zbog suviška titranta, odnosno odsustva analita.

Volumetrijske titracije su visoko precizne tehnike s odstupanjima od 0,1%. Upravo se zbog toga često koriste u praksi. Jedan od glavnih izazova prilikom korištenja volumetrijskih analiza je odabir prikladnog standarda za titraciju. Standardi se mogu podijeliti na primarne i sekundarne. Primarni standardi su izrazito visoke čistoće, stabilni, nehigroskopni, velike molarne mase i topljivi u otopini za titraciju, a reagiraju s analitom brzo i potpuno. Takvih spojeva je vrlo malo, stoga se češće koriste sekundarni standardi. To su supstance manjeg stupnja čistoće, a njihova koncentracija se određuje pomoću primarnog standarda, a ne direktnim vaganjem (McPherson, 2015; Skoog i sur., 2014).

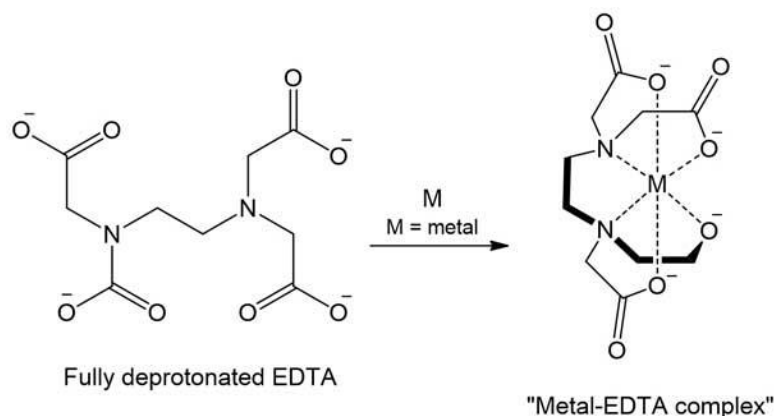
Volumetrijske metode mogu se podijeliti prema vrsti reakcije na kojoj se temelje na: neutralimetrijske titracije (acidimetrija i alkalimetrija), taložne titracije, kompleksometrijske titracije i redoks titracije (Krpan i Vojković, 2010).

1.3.1.1. Kompleksometrijske titracije

Reakcije kompleksacije su od velikog značaja u analitičkoj kemiji. Većina metalnih iona reagira s elektron-donorom i tvori komplekse. Donor elektrona, odnosno ligand, mora imati barem jedan nespareni elektronski par kako bi se mogao oformiti kompleks. Prema broju funkcionalnih skupina koje sadrže, ligandi se mogu podijeliti na: monodentatne s jednom skupinom, bidentatne s dvije ili polidentatne s više skupina. Broj kovalentnih veza koje središnji kation stvara s elektron-donorom je koordinacijski broj tog iona. Dakle, koordinacijski broj se može definirati kao ukupni broj liganada koji su direktno vezani za središnji ion i većinom je to paran broj. Kao rezultat reakcija kompleksacije mogu nastati pozitivno nabijene, negativno nabijene ili neutralne vrste spojeva (Luterotti, 2014; Skoog i sur., 2014).

Primjena kompleksa u analitičkoj kemiji temelji se prvenstveno na stvaranju kelata. Kelati su kompleksni spojevi u kojima je središnji metalni ion koordinativno vezan s dvije ili više donorskih skupina iste molekule formirajući pritenaste strukture. Opisani spojevi su vrlo stabilni i često intenzivno obojeni zbog čega se koriste u praksi u svrhe kvantitativnih i kvalitativnih analiza (Luterotti, 2014; Skoog i sur., 2014).

Titracije koje se temelje na formiranju kompleksa nazivaju se kompleksometrijskim titracijama. Metalni ion reagira s ligandom i tvori kompleks, a točka ekvivalencije određuje se pomoću indikatora ili instrumentalnim metodama. Uobičajena je praksa da je ligand ujedno i titrant, a metalni ion analit, iako ponekad uloge mogu biti obrnute. Kao titranti u pravilu se koriste polidentatni ligandi koji reagiraju potpunije s kationom čime se osigurava oštrija završna točka. Nadalje, oni reagiraju s metalnim ionom obično u jednom koraku, za razliku od monodentatnih liganada s kojima reakcija ide u nekoliko koraka i tako se gubi oštrina završne točke titracije, a i nastaju manje stabilni kompleksi (Skoog i sur., 2014). Jedan od najšire korištenih polidentatnih liganada je etilendiamintetraoctena kiselina (EDTA). EDTA sadrži šest funkcionalnih skupina, četiri karboksilne i dvije amino skupine koje mogu reagirati s metalnim ionom formirajući 1:1 kompleks (neovisno o naboju kationa). S obzirom da se radi o tetraprotonskoj kiselini, oblik koji će dominirati ovisi o pH (Luterotti, 2014).



Slika 2. Stvaranje kompleksa s EDTA, preuzeto s <https://pharmafactz.com>

EDTA ovisno o pH može postojati kao H_4Y , H_3Y^- , H_2Y^{2-} , HY^{3-} i Y^{4-} . U kompleksometrijskim titracijama kao reagensi koriste se slobodna kiselina H_4Y i dihidrat natrijeve soli $Na_2H_2Y \times 2H_2O$, koji je veoma topljiv i primjenjuje se kao primarni standard. Modificirajući pH vrijednost otopine, selektivnost reakcije se može lako kontrolirati. Iz tog razloga titracije s EDTA provode se u puferiranim otopinama. Na taj način se uspješno izbjegnu interferencije s drugim kationima ili se osigurava zadovoljavajući učinak indikatora.

U otopinu koja sadrži analit (metalni kation) dodaje se titrant (EDTA), a prema dodanom volumenu titranta izračuna se količina prisutnog metala. Prije točke ekvivalencije kation se nalazi u suvišku. Dodavanjem EDTA postiže se točka ekvivalencije u kojoj se nalazi kompleks metalnog kationa s EDTA. Nakon točke ekvivalencije, u otopini je prisutan kompleks i suvišak EDTA (McPherson, 2015; Skoog i sur., 2014).

Indikatori koji se koriste u EDTA titracijama su organske boje koje formiraju obojene kelate s metalnim ionima. Jedan od najpoznatijih svakako je Eriokrom crno T. Metalokromni indikatori su kompleksirajuća sredstva koji će s metalnim ionom stvoriti kompleks koji se bojom razlikuje od boje slobodnog indikatora. Stvoreni kompleks metalnog iona i indikatora niže je konstante stabilnosti od kompleksa metalnog iona i EDTA, stoga tijekom titracije dolazi do istiskivanja indikatora iz kompleksa s ionom. Na temelju toga vizualno se može odrediti završna točka titracije. Eriokrom crno T s metalnim ionima stvara crveno obojene komplekse. Tijekom titracije s EDTA nastaju bezbojni kelati i tako se smanjuje količina metalnog kationa u kompleksu s indikatorom. Sve dok se ne postigne točka ekvivalencije otopina će biti crveno obojena. Dodatkom prve suvišne kapi EDTA, oslobađa se indikator i mijenja se boja otopine u plavu što upućuje na kraj titracije. Uspješna titracija s EDTA zahtijeva strogu kontrolu pH kako bi se navedene reakcije mogle odvijati (McPherson, 2015; Skoog i sur., 2014).

1.4. Ionska izmjena

Ionska izmjena može se definirati kao reverzibilna izmjena iona između čvrste faze – ionskog izmjenjivača i topljive faze koja sadrži ion koji se izmjenjuje, pri čemu su ionski izmjenjivači netopljivi u mediju u kojem se proces izmjene odvija. Glavno obilježje ionske izmjene je očuvanje elektroneutralnosti. Naime, proces izmjene je takav da se uvijek izmjenjuju ekvivalentne količine istoimeno nabijenih iona (Harland, 1994). Princip ionske izmjene koristi se u kvalitativnoj i kvantitativnoj analizi, za dokazivanje ili odjeljivanje analita ionsko-izmjenjivačkom kromatografijom. Ionski izmjenjivači široko su upotrebljavani i u farmaciji gdje se koriste za analizu farmaceutskih pripravaka, pripremu deionizirane vode ili uklanjanje interferirajućih tvari iz ljekovitih pripravaka (Luterotti, 2014).

Ravnoteža ionske izmjene može se opisati pomoću zakona masa. Kada otopina koja sadrži odgovarajući kation prolazi kroz kolonu punjenu ionsko-izmjenjivačkom smolom uspostavlja se sljedeća ravnoteža:



Pomoću koeficijenta distribucije može se izraziti ravnotežni odnos koncentracija iona I^{n+} raspodijeljenog između čvrste faze, izmjenjivača i tekuće faze, otopine

$$K_D = \frac{I^{n+}(res)}{I^{n+}(aq)}$$

Upravo taj koeficijent izražava afinitet ionsko-izmjenjivačke smole za pojedinim ionom. Općenito vrijedi da ukoliko je distribucijski koeficijent za određeni ion velik, tada postoji velika tendencija zadržavanja tog iona na ionskom izmjenjivaču. Usporedbom distribucijskih koeficijenta dokazano je da su polivalentni ioni puno jače zadržavani na ionskim izmjenjivačima u odnosu na monovalentne (Skoog i sur., 2014; Helfferich, 1995).

Ionski izmjenjivači su čvrste, netopljive tvari koje sadrže ionizirajuće skupine. Ionizirajuće skupine određuju vrstu ionskog izmjenjivača. Takve skupine čine za izmjenjivač direktno vezani ioni, fiksirani ioni i ioni suprotnog naboja od fiksiranih iona, izmjenljivi protuioni. Prema tome, kada je ionski izmjenjivač u kontaktu s otopinom elektrolita, ovisno o prisutnim skupinama dolazi do izmjene. Kationski izmjenjivači sadrže kisele skupine fiksirane za polimerni matriks i izmjenjuju pozitivno nabijene ione, dok anionski izmjenjivači posjeduju bazične skupine vezane za matriks i izmjenjuju anione. Pojedini izmjenjivači su sposobni izmjenjivati i katione i anione, a nazivaju se amfoternim izmjenjivačima (Luterotti, 2014; Skoog i sur., 2014).

Uspješna ionska izmjena zahtijeva primjenu što kvalitetnijih izmjenjivača. Propisane su karakteristike koje bi idealni ionski izmjenjivač trebao imati, a to su: hidrofilna struktura s konzistentnom veličinom čestica, dobra mehanička svojstva, kontroliran i efektivan kapacitet ionske izmjene te visoka kemijska i termička stabilnost (Strathmann, 2004). Brojni prirodni i sintetski materijali pokazuju svojstva ionske izmjene. Najznačajniji od njih su ionsko-izmjenjivačke smole. Smole su visokomolekularni polimeri koji sadrže velik broj funkcionalnih ionizirajućih skupina, a broj tih skupina određuje kapacitet ionskog izmjenjivača. Njihov matriks sastoji se od ugljikovodičnih lanaca što im daje hidrofoban karakter. Međutim, hidrofilnost mogu zahvaliti prisutnosti ionskih skupina koje osiguravaju topljivost u vodi. Ipak, smole su netopljive u vodi zbog križnog povezivanja između ugljikovodičnih lanaca zbog čega molekule otapala uzrokuju bubrenje i dobiva se gel koji olakšava ionsku izmjenu koja je u osnovi difuzijski proces (Strathmann, 2004; Helfferich, 1995).

2. OBRAZLOŽENJE TEME

Kalcij je makroelement koji u ljudskom organizmu ima više važnih uloga. Sastavni je dio kosti, regulira kontrakciju i relaksaciju mišića, sudjeluje u prijenosu signala i odgovoran je za zgrušavanje krvi (Marjanović-Balaban i sur., 2015). Da bi se ovi procesi neometano odvijali u organizmu, potrebno je svakodnevno unositi odgovarajuće količine ovog esencijalnog minerala putem prehrane ili dodataka prehrani. Svjetska zdravstvena organizacija i FDA propisale su dnevne preporučene vrijednosti (RDA) kalcija za svaku pojedinu dobnu skupinu. Međutim, kako apsorpcija kalcija ovisi o nizu faktora postoje rizične skupine koje ne uspijevaju zadovoljiti dnevne potrebe organizma za ovim makroelementom, stoga se kod njih preporuča nadomjestak kalcija korištenjem suplemenata (Ross i sur., 2011).

Cilj ovog diplomskog rada bila je usporedba dvije analitičke metode za određivanje kalcija u komercijalno dostupnim dodacima prehrani. Uspoređivane metode su kompleksometrijska titracija i ionska izmjena. Kompleksometrijska titracija temelji se na primjeni EDTA kao kompleksirajućeg sredstva, uz odgovarajući indikator za određivanje završne točke titracije. Druga metoda uključuje ionsku izmjenu na granulama ionsko-izmjenjivačke smole, nakon koje se uzorak titrira s NaOH kako bi se odredio sadržaj kalcija.

3.MATERIJALI I METODE

3.1. Materijali

3.1.1. Korištene kemikalije za kompleksometrijsku titraciju

- 0,1 mol/L HCl (Kemika, Zagreb, Hrvatska)
- 2 mol/L NaOH (Kemika, Zagreb, Hrvatska)
- Pufer pH 10 (Kemika, Zagreb, Hrvatska)
- Eriokrom crno T (Kemika, Zagreb, Hrvatska)
- 0,025 mol/L EDTA (Kemika, Zagreb, Hrvatska)
- Ultračista voda (provodljivost $0,55 \mu\text{Scm}^{-1}$)

3.1.2. Korištene kemikalije za ionsku izmjenu

- 1 mol/L HCl (Kemika, Zagreb, Hrvatska)
- 3 mol/L HCl (Kemika, Zagreb, Hrvatska)
- 0,01 mol/L NaOH (Kemika, Zagreb, Hrvatska)
- Fenolftalein (Kemika, Zagreb, Hrvatska)
- Ultračista voda (provodljivost $0,55 \mu\text{Scm}^{-1}$)
- AgNO_3 (Kemika, Zagreb, Hrvatska)

3.1.3. Korišteni laboratorijski pribor i posuđe za kompleksometrijsku titraciju

- Tarionik s tučkom
- Eksikator
- Čaša 50 mL
- Staklena pipeta 25 mL, 10 mL, 1 mL
- Stakleni štapić
- Propipeta
- Odmjerna tikvica 500 mL
- Menzura 50 mL, 10 mL
- Erlenmeyerova tikvica 250 mL
- Bireta
- Željezni stativ
- Analitička vaga

3.1.4. Korišteni laboratorijski pribor i posuđe za ionsku izmjenu

- Tarionik s tučkom
- Eksikator
- Čaša 50 mL
- Staklena pipeta 25 ml, 10 ml
- Propipeta
- Magnetna miješalica
- Satno stakalce
- Odmjerna tikvica 500 mL
- Kolona s ionsko-izmjenjivačkom smolom
- Erlenmeyerova tikvica 250 mL
- Menzura 20 mL

3.1.5. Uzorci

Za određivanje sadržaja kalcija kompleksometrijskom titracijom i ionskom izmjenom korištena su dva dodatka prehrani različitih proizvođača.

- Uzorak brenda 1 - kalcijev citrat: 1 tableta sadrži 200 mg kalcija
Pomoćne tvari: masne kiseline, silicijev dioksid, umrežena natrijeva karboksimetil celuloza, natrijeva karboksimetil celuloza
- Uzorak brenda 2 - kalcijev citrat: 1 tableta sadrži 250 mg kalcija
Pomoćne tvari: mikrokristalinična celuloza, celulozna guma, magnezijeve soli masnih kiselina, silicijev dioksid, hidroksipropil metil celuloza, titanov dioksid, glicerol (iz palminog ulja), vitamin D (kolekalciferol)

3.2. Metode

3.2.1. Princip metoda

Količina kalcija u uzorcima dodataka prehrani određivala se kompleksometrijskom titracijom koristeći EDTA kao titrant. Reakcija se provodila u puferiranom mediju uz Eriokrom crno T kao indikator. Promjena boje indikatora bila je pokazatelj završne točke titracije. Na temelju utrošenog volumena EDTA, iz poznatih stehiometrijskih odnosa, odredi se količina prisutnog kalcija u uzorcima.

Kod ionske izmjene pripremljeni uzorak se propusti kroz kolonu s ionskim izmjenjivačem. Dolazi do izmjene iona kalcija s hidronijevim ionima koji se potom titriraju s NaOH uz primjenu fenolftaleina kao indikatora. Promjena boje indikatora označava kraj titracije. Dio otopine uzorka titrira se direktno s NaOH uz fenolftalein. Iz razlike utrošenog volumena titranta (NaOH) za titraciju uzorka i titraciju HCl u uzorku, prema poznatim stehiometrijskim omjerima izračuna se količina kalcija u uzorcima.

3.2.2. Priprema uzorka kalcija za kompleksometrijsku titraciju

Uzima se uzorak iz komercijalno dostupnog dodatka prehrani s kalcijem. Uzorak je u obliku tableta koje se usitne u tarioniku. Tako usitnjeni uzorak važe se u čašu od 50 mL na analitičkoj vagi do mase od 0,2000 - 0,2100 grama. Uzorak se čuva u eksikatoru da se zaštiti od vanjskih utjecaja. U čašu se zatim doda 10,0 mL 0,1 mol/L HCl i miješa se sve dok se uzorak ne otopi. Otopina se kvantitativno prebaci u odmjernu tikvicu od 500,0 mL preko filter papira s crnom vrpcom. Čaša i filter papir se isperu s ultračistom vodom i u tikvicu se doda 50 mL ultračiste vode. U tikvicu se potom doda 1,0 mL 2 mol/L NaOH i nadopuni ultračistom vodom do oznake. Ovaj postupak se provodi s uzorcima oba brenda.

3.2.3. Priprema uzorka kalcija za ionsku izmjenu

Uzima se uzorak iz komercijalno dostupnog dodatka prehrani s kalcijem. Uzorak tablete usitnjava se u tarioniku. Tabletu je potrebno prije usitnjavanja izvagati na analitičkoj vagi. Uzorak se drži u eksikatoru. Potrebno je izvagati količinu od 0,2000 – 0,2100 grama direktno u čašu od 50 mL. U čašu se potom doda 10,0 mL 1 mol/L HCl, poklopi sa satnim stakalcem i miješa na magnetnoj miješalici sve dok se uzorak ne otopi. Otopina se kvantitativno prebaci u odmjernu tikvicu od 500,0 mL preko filter papira s crnom vrpcom. Čaša i filter papir se isperu s ultračistom vodom i odmjerna tikvica se nadopuni njome do oznake. Ovaj postupak se provodi s uzorcima oba brenda.

3.2.4. Priprema kolone za ionsku izmjenu

Za ionsku izmjenu korištena je AMBERLITE IR 120 H⁺ smola, kapaciteta izmjene $\geq 1,80$ eq/L. Navedena smola je kationsko-izmjenjivačka smola tipa sulfoniranog polistirena u obliku gela. Smola se najprije ostavi da bubri kroz 24 sata u 3 mol/L HCl, a kolona za ionsku izmjenu priprema se u bireti od 50 ml. Prvo se stavi komad 100% pamuka (vata) na dno kolone koja se potom napuni sa smolom i na vrh se opet stavi komad 100% pamuka. Tako pripremljena kolona se ispiru demineraliziranom vodom do negativne reakcije na kloride.

3.2.5. Priprema 0,025 mol/L EDTA

0,025 mol/L EDTA priprema se vaganjem 9,306 g EDTANa₂×2H₂O u odmjerne tikvici od 1000 mL. Pripremljena otopina koristi se kao titrant za kompleksometrijsku titraciju i priređuje se neposredno prije same titracije.

3.2.6. Postupak određivanja sadržaja kalcija

Određivanje koncentracije kalcija kompleksometrijskom titracijom provodi se tako da se iz prethodno pripremljenog uzorka otpipetira 25,00 mL u Erlenmeyerovu tikvicu od 250,00 mL. Potom se doda 10 mL pufera pH 10 i na vrhu žlice Eriokrom crno T koji ima ulogu indikatora. Uzorak se titrira s 0,025 mol/L EDTA i postupak se ponavlja 15 puta za oba brenda. Volumen EDTA koji je utrošen za titraciju uzorka koristi se za određivanje sadržaja kalcija u tableti.

Određivanje koncentracije kalcija ionskom izmjenom provodi se na način da se iz pripremljenog uzorka otpipetira 10,00 mL i propusti kroz kolonu s ionskim izmjenjivačem. Brzina propuštanja treba biti 2-3 mL/min, a efluent se skuplja u Erlenmeyerovu tikvicu od 250,00 mL. Zatim se kroz kolonu propušta 20,0 mL ultračiste vode, a efluent se skuplja u istu Erlenmeyerovu tikvicu od 250,00 mL. Brzina propuštanja vode iznosi 5 mL/min. Skupljeni uzorak se titrira s 0,01 mol/L NaOH uz fenolftalein kao indikator i postupak se ponavlja 15 puta. Nakon svake treće probe kolona se mora regenerirati. Potrebno je propustiti 25,00 mL 3 mol/L HCl i taj postupak ponoviti tri puta. Zatim se kolona ispiru s destiliranom vodom do negativne reakcije na kloride (kloridi se dokazuju u reakciji s AgNO₃ – nastaje bijeli talog). Također se provodi i direktna titracija tako da se 10,0 mL otopine uzorka titrira s 0,01 mol/L NaOH uz fenolftalein. Razlika volumena NaOH potrošenog u direktnoj titraciji i titraciji uzorka s HCl služi za određivanje sadržaja kalcija u tableti.

3.2.7. Statistička obrada podataka

Za statističku obradu dobivenih rezultata korišten je računalni program Microsoft Excel 2016, programskog paketa Microsoft Office (Microsoft, SAD) i Prism GraphPad (Graph pad Software, Inc., San Diego, SAD, www.graphpad.com). Za testiranje statističke razlike između dvije skupine podataka korišten je t-test. Svi doneseni zaključci u radu provedeni su uz razinu pouzdanosti od 95 %.

4. REZULTATI I RASPRAVA

4.1. Rezultati

4.1.1. Rezultati dobiveni kompleksometrijskom titracijom

Za provođenje kompleksometrijske titracije, najprije je potrebno izvagati propisanu količinu uzorka (0,2000 – 0,2100 g). Taj postupak se ponavlja za oba brenda, a podaci dobiveni vaganjem prikazani su u tablici 2.

Tablica 2. Masa uzorka dobivena vaganjem dvaju različitih brendova

	Brend 1	Brend 2
Uzorak	m (tablete)/g	m (tablete)/g
1	0,2066	0,2046
2	0,2035	0,2028
3	0,2003	0,2042
4	0,2070	0,2100
5	0,2101	0,2079
6	0,2033	0,2066
7	0,2005	0,2008
8	0,2069	0,2043
9	0,2101	0,2023
10	0,2026	0,2101
11	0,2004	0,2008
12	0,2068	0,2006
13	0,2026	0,2001
14	0,2009	0,2103
15	0,2122	0,2003

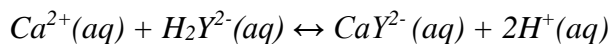
Pripremljeni uzorci se titiraju s 0,025 mol/L EDTA (svaki uzorak se titrira 3 puta), a dobivene vrijednosti utrošenog volumena prikazuje tablica 3.

Tablica 3. Volumen utrošenog titranta (EDTA) za uzorke oba brenda

	Brend 1	Brend 2
Uzorak	Srednja vrijednost volumena EDTA utrošena za titraciju uzorka / L	Srednja vrijednost volumena EDTA utrošena za titraciju uzorka/ L
1	0,0192	0,0159
2	0,0195	0,0160
3	0,0193	0,0159
4	0,0181	0,0159
5	0,0182	0,0153
6	0,0185	0,0149
7	0,0184	0,0153
8	0,0186	0,0152
9	0,0180	0,0153
10	0,0177	0,0149
11	0,0184	0,0152
12	0,0192	0,0159
13	0,0183	0,0154
14	0,0182	0,0159
15	0,0189	0,0149

4.1.1.1. Određivanje sadržaja kalcija po tableti

Koristeći utrošene volumene EDTA za titraciju kalcija u uzorcima, jednostavno se može izračunati masa kalcija u pojedinoj tableti. Na temelju reakcije kalcija i EDTA najprije se odredi masa (sadržaj) kalcija prisutna u titriranom uzorku.



$$n(\text{Ca}^{2+}) : n(\text{H}_2\text{Y}^{2-}) = 1:1$$

$$n(\text{Ca}^{2+}) = c(\text{H}_2\text{Y}^{2-}) \times V_x$$

$$n(\text{Ca}^{2+}) = \frac{m(\text{Ca}^{2+})}{M(\text{Ca}^{2+})} \text{ iz čega slijedi } m(\text{Ca}^{2+}) / \text{mg} = c(\text{H}_2\text{Y}^{2-}) \times V_x \times M(\text{Ca}^{2+}) \times 1000$$

Iz gornje jednadžbe slijedi da je masa kalcija jednaka umnošku poznate koncentracije EDTA, molarne mase kalcija i V_x , srednje vrijednosti volumena EDTA utrošenog za titraciju uzoraka (Tablica 3.).

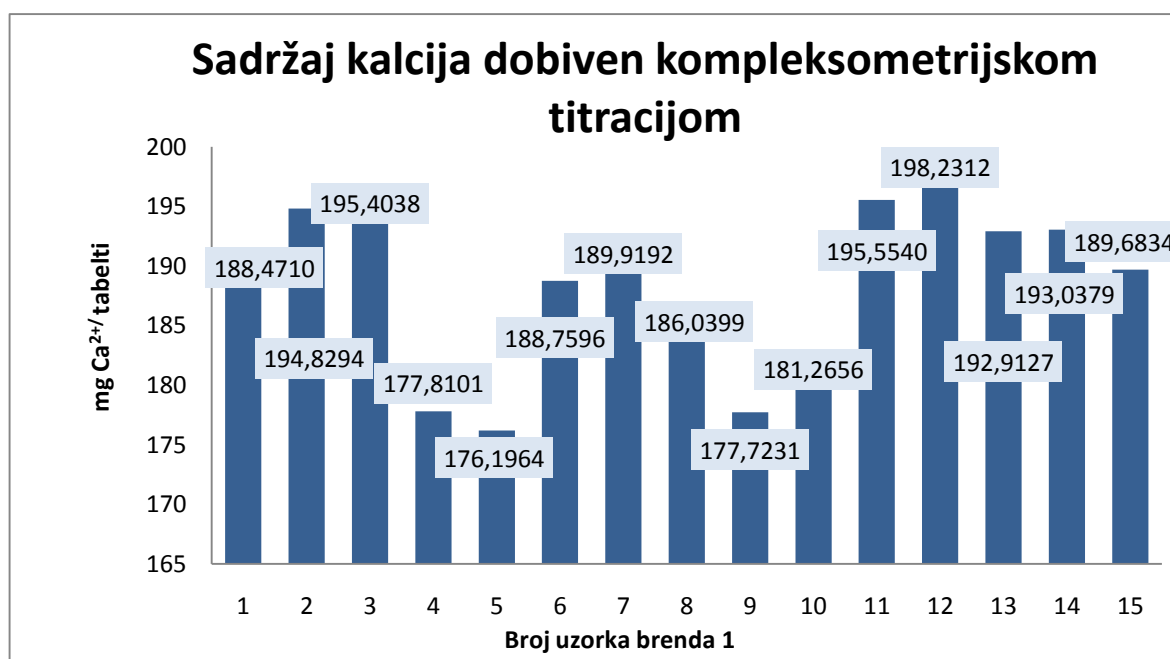
Iz pripreme uzorka se vidi da je uzet alikvot od 25 mL, a početni volumen je iznosio 500 mL. Dakle, ukupni sadržaj kalcija u početnom volumenu od 500 mL je 20 puta veći za mjerene uzorke.

Ukupni sadržaj kalcija izražen u miligramima odgovara njegovoj količini u izvaganim uzorcima (Tablica 2.). Iz omjera masa jednostavno se dobije sadržaj kalcija po tableti.

$$\text{ukupni sadržaj Ca}^{2+}/\text{mg} : m(\text{uzorka prema Tablici 2.}) = x \text{ Ca}^{2+}/\text{mg} : \text{masa tablete/g}$$

Tablica 4. Sadržaj kalcija u uzorcima brenda 1

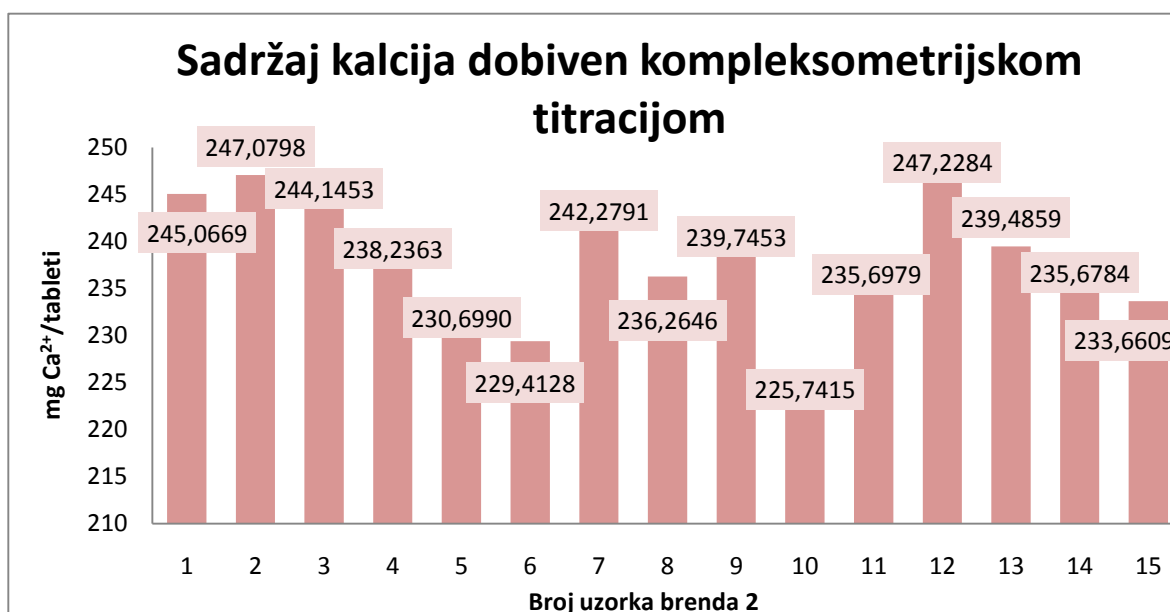
Uzorak	Sadržaj Ca ²⁺ /mg	Ukupni sadržaj Ca ²⁺ /mg	Masa tablete/g
1	1,9188	38,3766	1,0147
2	1,9539	39,0780	1,0147
3	1,9289	38,5770	1,0147
4	1,8136	36,2724	1,0147
5	1,8236	36,4728	1,0147
6	1,8537	37,0740	1,0352
7	1,8387	36,7734	1,0352
8	1,8587	37,1742	1,0352
9	1,8036	36,0720	1,0352
10	1,7735	35,4708	1,0352
11	1,8387	36,7734	1,0655
12	1,9238	38,4768	1,0655
13	1,8337	36,6732	1,0655
14	1,8196	36,3926	1,0655
15	1,8888	37,7754	1,0655



Slika 3. Sadržaj kalcija (mg) u uzorcima brenda 1

Tablica 5. Sadržaj kalcija u uzorcima brenda 2

Uzorak	Sadržaj Ca ²⁺ /mg	Ukupni sadržaj Ca ²⁺ /mg	Masa tablete/g
1	1,6012	32,0239	1,5654
2	1,6007	32,0139	1,5654
3	1,5927	31,8536	1,5654
4	1,5982	31,9638	1,5654
5	1,5319	30,6372	1,5654
6	1,4965	29,9297	1,5832
7	1,5363	30,7253	1,5832
8	1,5245	30,4909	1,5832
9	1,5316	30,6311	1,5832
10	1,4980	29,9598	1,5832
11	1,5195	30,3907	1,5572
12	1,5927	31,8535	1,5572
13	1,5386	30,7714	1,5572
14	1,5917	31,8335	1,5572
15	1,5025	30,0499	1,5572



Slika 4. Sadržaj kalcija (mg) u uzorcima brenda 2

4.1.2. Rezultati dobiveni ionskom izmjenom

Za oba brenda vagani su uzorci (0,2000 - 0,2100 g) i tablete, a dobiveni rezultati su prikazani u tablici 6.

Tablica 6. Mase uzoraka i tableta za oba brenda

Uzorak	Brend 1		Brend 2	
	m uzorka/g	m tablete/g	m uzorka/g	m tablete/g
1	0,2266	1,0847	0,2046	1,5654
2	0,2038	1,0847	0,2028	1,5654
3	0,2141	1,0847	0,2042	1,5654
4	0,2222	1,0847	0,2100	1,5654
5	0,2101	1,0847	0,2079	1,5654
6	0,2033	1,0552	0,2066	1,5832
7	0,2005	1,0552	0,2008	1,5832
8	0,2069	1,0552	0,2043	1,5832
9	0,2055	1,0552	0,2023	1,5832
10	0,2026	1,0552	0,2101	1,5832
11	0,2311	1,0689	0,2008	1,5572
12	0,2068	1,0689	0,2006	1,5572
13	0,2026	1,0689	0,2001	1,5572
14	0,2009	1,0689	0,2103	1,5572
15	0,2122	1,0689	0,2003	1,5572

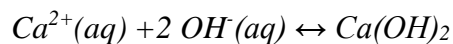
Pripremljeni uzorci titriraju se s 0,01 mol/L NaOH, a iz razlike volumena utrošenog za direktnu titraciju i titraciju nakon ionske izmjene izračuna se koncentracija kalcija prisutna u uzorku.

Tablica 7. Utrošeni volumeni titranta za direktnu titraciju i titraciju nakon ionske izmjene

Uzorak	Brend 1 / mL			Brend 2 / mL		
	V1	V2	ΔV	V1	V2	ΔV
1	24,00	20,25	3,75	23,10	20,25	2,85
2	24,25	20,85	3,40	23,05	20,60	2,45
3	23,85	20,05	3,80	24,80	21,60	3,20
4	23,55	20,00	3,55	23,55	20,95	2,60
5	24,45	21,10	3,35	23,85	20,85	3,00
6	24,90	21,65	3,25	23,60	20,90	2,70
7	25,50	22,10	3,40	24,00	21,00	3,00
8	24,90	21,30	3,60	23,75	20,65	3,10
9	30,75	28,50	2,25	25,20	22,15	3,05
10	23,40	19,85	3,55	26,55	23,55	3,00
11	26,00	22,45	3,55	22,75	19,85	2,90
12	26,80	23,30	3,50	24,10	21,05	3,05
13	26,35	22,80	3,55	22,50	19,80	2,70
14	20,55	17,00	3,55	23,65	20,65	3,00
15	22,10	19,50	2,60	25,50	22,40	3,10

4.1.2.1. Određivanje sadržaja kalcija po tableti

Koristeći dobivenu razliku volumena utrošenog titranta (NaOH), prema poznatim stehiometrijskim omjerima u reakciji s kalcijem, odredi se sadržaj kalcija prisutan u pojedinačnim tabletama.



Iz jednadžbe se vidi da kalcij reagira s hidroksidom u omjeru 1:2.

$$n(\text{Ca}^{2+}) : n(\text{OH}^{-}) = 1:2$$

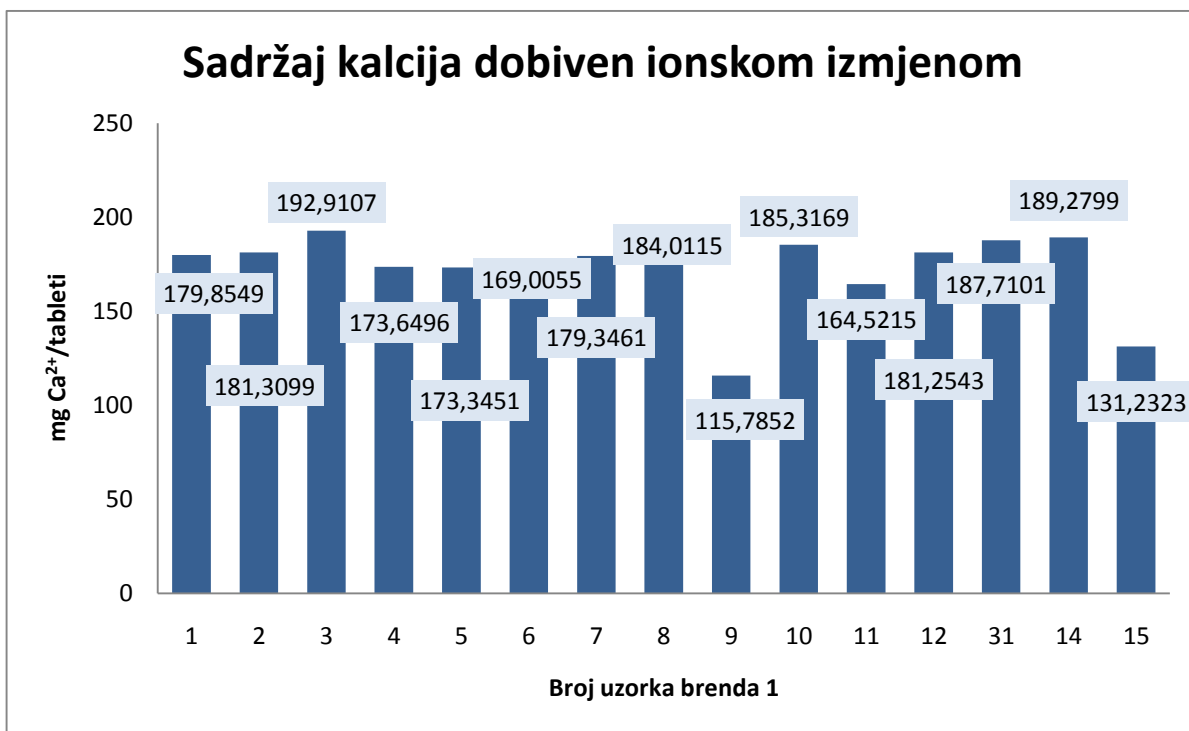
$$n(\text{Ca}^{2+}) = \frac{1}{2} n(\text{OH}^{-}) = \frac{1}{2} \times c(\text{OH}^{-}) \times \Delta V(\text{OH}^{-})$$

Koncentracija kalcija u alikvotu od 10 mL koristi se za određivanje mase u uzetom uzorku. Kako je početni volumen iznosio 500 mL, dobivenu masu u volumenu od 10 mL potrebno je uvećati 50 puta.

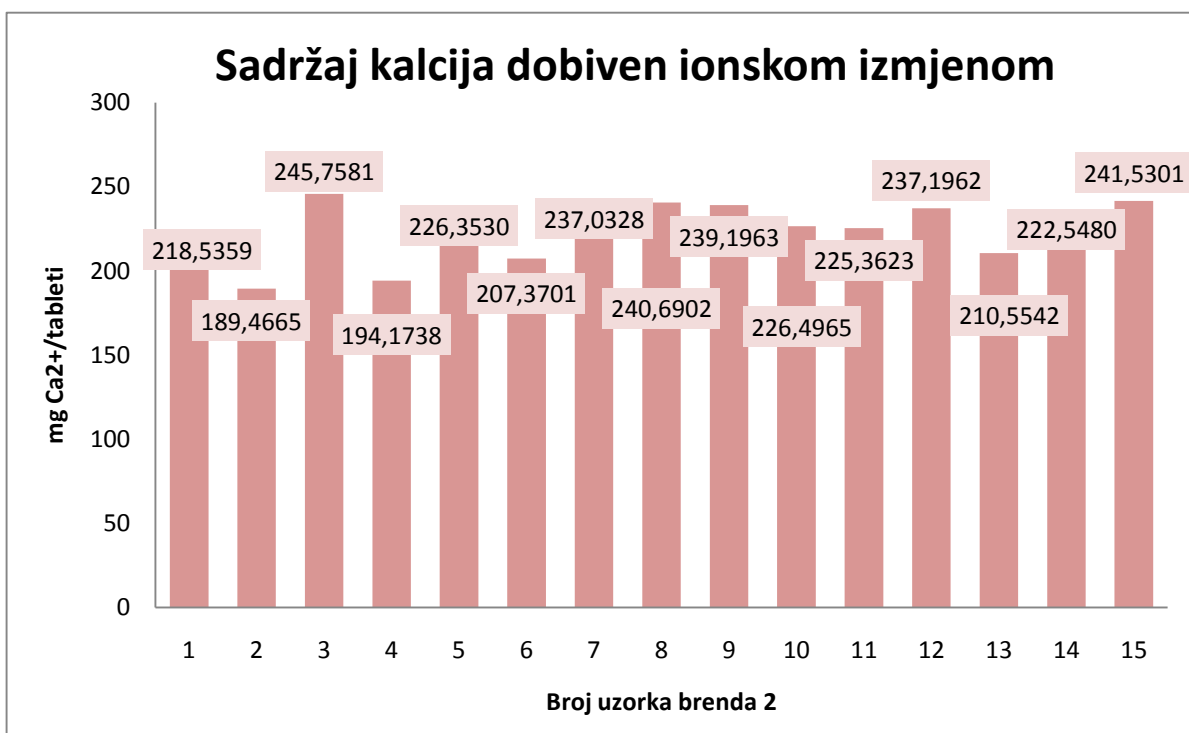
$$m(\text{Ca}^{2+}) = c(\text{Ca}^{2+}) \times V(\text{Ca}^{2+}) \times M(\text{Ca}^{2+}) \times 50$$

Konačno, sadržaj kalcija po pojedinačnoj tableti računa se koristeći omjere masa.

$$\text{sadržaj Ca}^{2+}/\text{mg} : m(\text{uzorka prema Tablici 6.}) = x \text{ Ca}^{2+}/\text{mg} : \text{masa tablete/g}$$

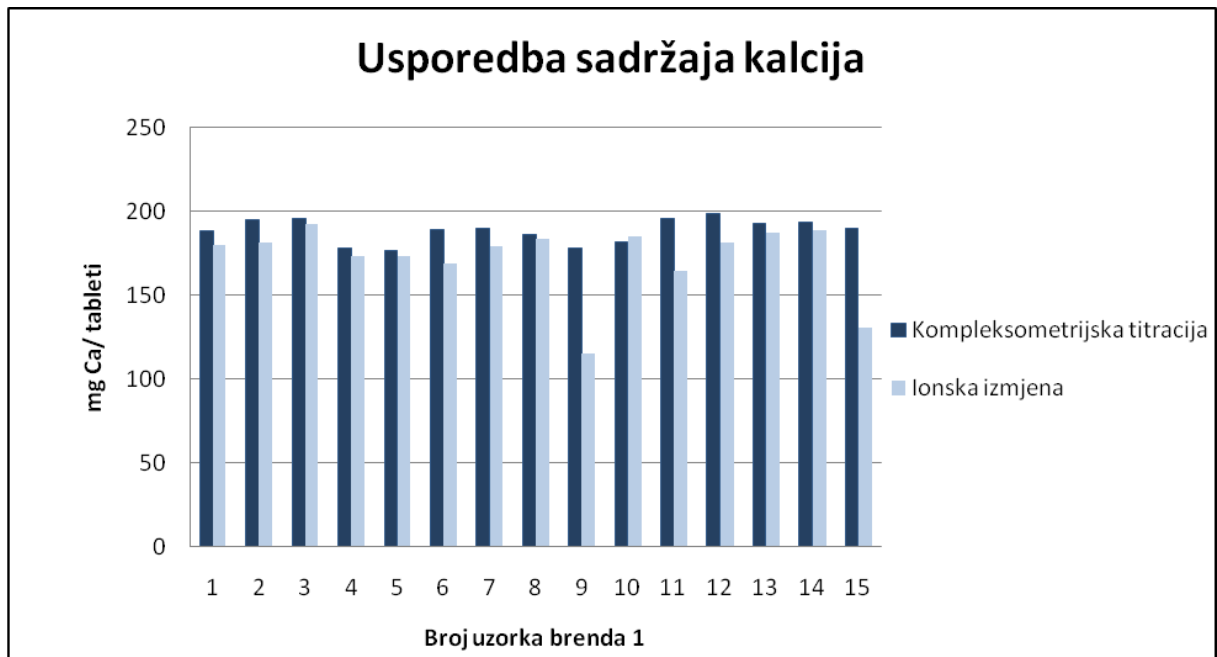


Slika 5. Sadržaj kalcija (mg) u uzorcima brenda 1

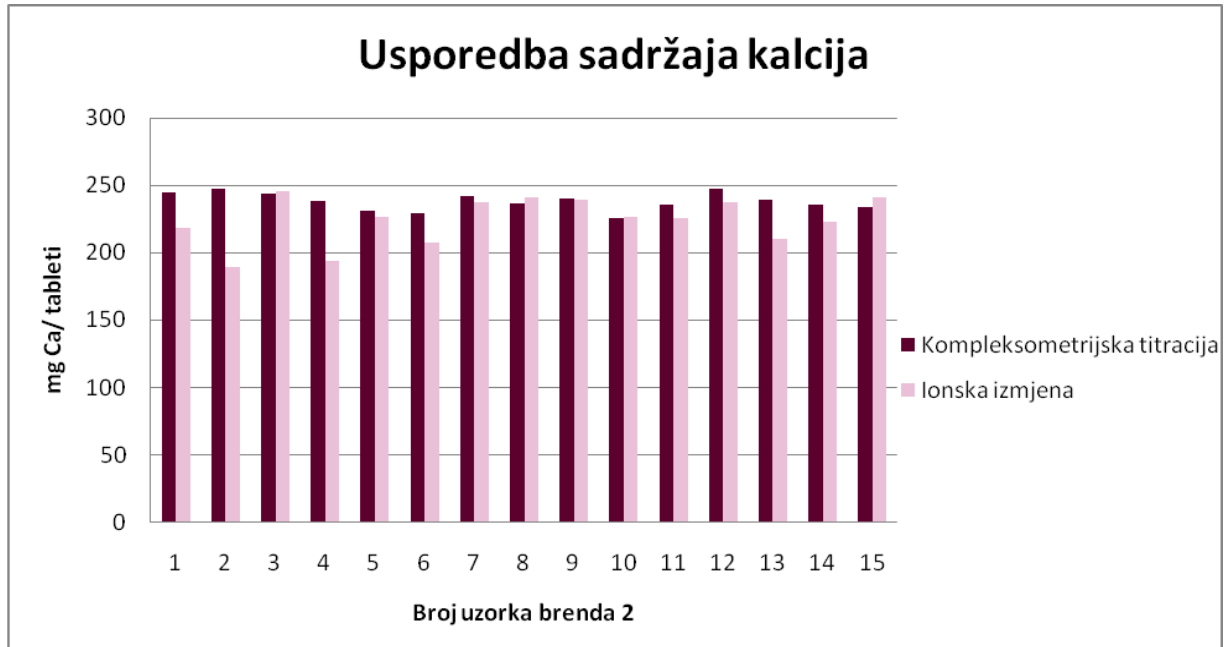


Slika 6. Sadržaj kalcija (mg) u uzorcima brenda 2

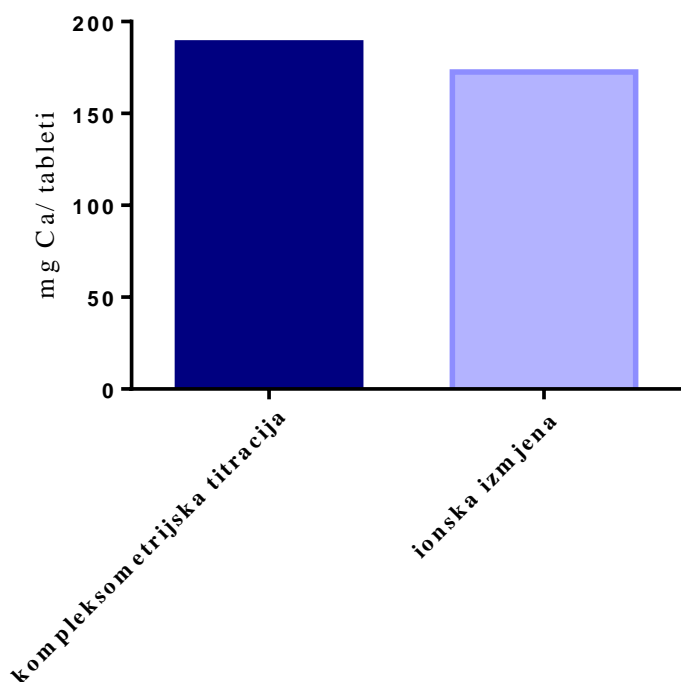
4.1.3. Usporedba rezultata dobivenih dvjema analitičkim metodama



Slika 7. Graf usporedbe rezultata dobivenih kompleksometrijskom titracijom i ionskom izmjenom za uzorke brenda 1



Slika 8. Graf usporedbe rezultata dobivenih kompleksometrijskom titracijom i ionskom izmjenom za uzorke brenda 2



Slika 9. Graf usporedbe prosječnih vrijednosti sadržaja kalcija brenda 1

Na dobivene rezultate primijenjen je Grubbsov test (G) za odbacivanje sumnjivih rezultata koji preporuča International Standards Organization (ISO).

$$G = \frac{|\text{sumnjiva vrijednost} - \bar{x}|}{SD}$$

Tablica 8. Grubbs test za odbacivanje sumnjivih vrijednosti

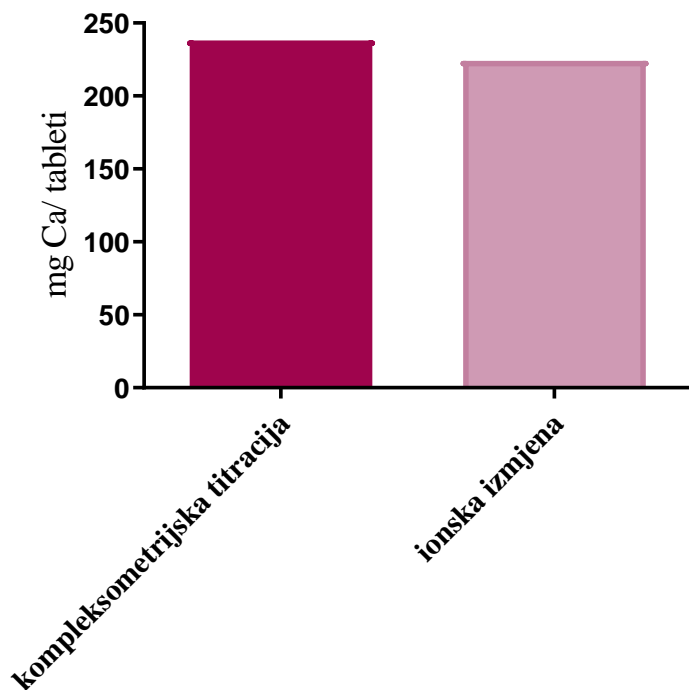
Metoda	Kompleksometrijska titracija Brend 1	Kompleksometrijska titracija Brend 2	Ionska izmjena Brend 1	Ionska izmjena Brend 2
Grubbs (G)	1,377	1,895	2,640	1,998
Gcritical (15) 95 % CI	2,409	2,409	2,409	2,409
	G < Gcritical	G < Gcritical	G > Gcritical	G < Gcritical

U slučaju kad je $G > G_{critical}$ (tablični podatak) vrijednost se odbacuje.

Nakon uklanjanja sumnjive vrijednosti prema G testu, za svako mjerenje različitim metodama izračunate su prosječna vrijednost, standardno odstupanje, relativno standardno odstupanje, interval pouzdanosti na razini 95% i postotak odstupanja u odnosu na deklariranu vrijednost. Zatim se proveo F test za ispitivanje postojanja značajne razlike u preciznosti između dva niza rezultata koji su dobiveni primjenom dvije različite metode. Konačno, primijenio se Studentov t test za procjenu (ne)postojanja statistički značajne razlike između dvije srednje vrijednosti dva niza rezultata.

Tablica 9. Statistički podaci za brend 1

	Kompleksometrijska titracija	Ionska izmjena
PROSJEČNA VRIJEDNOST	188,3892 mg	176,6249 mg
SD	7,1501	15,2523
RSD %	3,7954	8,6354
Interval pouzdanosti 95%	188,389±3,934	176,62±8,39
% odstupanja od deklarirane vrijednosti	-5,81	-13,72



Slika 10. Graf usporedbe prosječnih vrijednosti sadržaja kalcija brenda 2

Tablica 10. Statistički podaci za brend 2

	Kompleksometrijska titracija	Ionska izmjena
PROSJEČNA VRIJEDNOST	238,0281 mg	224,1509 mg
SD	6,4850	17,3595
RSD %	2,7245	7,7446
Interval pouzdanosti 95 %	238,028±3,568	224,15±0,475
% odstupanja od deklarirane vrijednosti	-4,79	-10,34

Rezultati dobiveni F testom pokazali su da je varijanca metode ionske izmjene značajno veća od metode kompleksometrijske titracije na razini vjerojatnosti od 95% što ukazuje na veću preciznost metode kompleksometrijske titracije. Na razini obične statističke usporedbe korištenjem t-testa dobiva se statistički značajna razlika na razini pouzdanosti od 95% što govori u prilog izraženim statistički značajnim razlikama među metodama (Brend 1 - $t_{calculated} 3,06 > t_{table} 2,14$ i Brend 2 - $t_{calculated} 2,87 > t_{table} 2,14$).

4.2. Rasprava

Iz dobivenih rezultata nakon provedene kompleksometrijske titracije i ionske izmjene uočljivo je da je kompleksometrijska titracija uspješnija kao metoda određivanja sadržaja kalcija u odabranim dodacima prehrani.

Naime, kompleksometrijska titracija jednostavna je i točna titrimetrijska metoda. Kao titrant uobičajeno se koristi EDTA koja gotovo trenutačno reagira s metalnim ionom u omjeru 1:1 tvoreći stabilne, bezbojne komplekse (McPherson, 2015). Kod kompleksometrijskog određivanja analita često se upotrebljavaju metalokromni indikatori za vizualnu detekciju završne točke titracije. Tako se za određivanje sadržaja kalcija može koristiti i mureksid kao indikator. Upravo navedeni indikator primijenjen je u istraživanju Marjanović-Balaban i suradnika (2015) u kojem se određivao sadržaj kalcija u dodacima prehrani titracijom s EDTA. Prema dobivenim rezultatima navedene studije, nije zabilježeno značajnije odstupanje eksperimentalno dobivenih vrijednosti sadržaja kalcija naspram vrijednosti navedenih na deklaraciji. Postotak podudaranja rezultata dobivenih kompleksometrijskom titracijom s vrijednostima označenim na proizvodima iznosio je 95.11% - 99.80%. Rezultati te studije potvrđuju da su volumetrijske metode analize vrlo prikladne i precizne metode za određivanje sadržaja kalcija u farmaceutskim pripravcima (Marjanović-Balaban i sur., 2015). Nadalje, prema slikama 7. i 8. može se uočiti razlika u sadržaju kalcija (izraženom u miligramima po tableti) dobivena različitim analitičkim metodama, kompleksometrijskom titracijom i ionskom izmjenom nakon čega je slijedila kiselo-bazna titracija. Obje metode podliježu različitim izvorima pogrešaka. Primjerice, nepravilno očitavanje utrošenog volumena na bireti potencijalni je izvor pogreške u obje metode. U postupku kompleksometrijske titracije, drugi potencijalni izvor pogreške uključuje nemogućnost razaznavanja promjene boje povezane sa završnom točkom titracije.

Kod metode ionske izmjene glavni potencijalni izvori pogrešaka uključuju nedovoljno kondicioniranje stupca i nepravilnu korekciju kiseline. Ionsko-izmjenjivačka smola podložna je zasićenju, stoga i prerijetka regeneracija kolone može za posljedicu imati slabije rezultate.

Dobiveni su rezultati u skladu s gore navedenim istraživanjem prema kojem je kompleksometrijska titracija jedna od ključnih metoda za određivanje sadržaja kalcija. S druge strane, ionsko-izmjenjivačka smola pokazala se manje uspješnom za određivanje sadržaja kalcija u ispitivanim pripravcima. Mogući uzrok tome je i neprimjerena (prevelika) brzina protoka eluenta kroz kolonu. Naime, da bi se uspostavila ravnoteža ionske izmjene, brzina protoka mora biti odgovarajuća kako bi se ostvarila potpuna izmjena iona kalcija s hidronijevim ionima duž cijele kolone.

5. ZAKLJUČCI

Kalcij je esencijalni makronutrijent s višestrukim ulogama u organizmu čovjeka. Deficit kalcija u organizmu može se nadomjestiti s dodacima prehrane. Upravo su dodaci prehrani dvaju različitih brendova poslužili kao uzorci za usporedbu dviju klasičnih analitičkih metoda za određivanje sadržaja kalcija. Uspoređivane su metode kompleksometrijske titracije i ionske izmjene, nakon koje je slijedila acido-bazna titracija. Nakon statističke obrade i interpretacije dobivenih podataka doneseni su sljedeći zaključci:

Točnost: metoda kompleksometrijske titracije je točnija.

Postotak odstupanja od deklarirane vrijednosti sadržaja kalcija kod dva ispitivana brenda nešto je niži kod metode kompleksometrijske titracije nego kod metode ionske izmjene.

Preciznost: metoda kompleksometrijske titracije je preciznija.

Za ispitivane dodatke prehrani, rezultati dobiveni kompleksometrijskom titracijom pokazuju niže relativno standardno odstupanje, odnosno veću preciznost nego što je opaženo metodom ionske izmjene.

Složenost postupka: kompleksometrijske titracije su manje složene.

Titracije s EDTA zahtijevaju manje pripremnog rada i manje koraka od postupka titracije ionske izmjene / kiseline-baze, koji pored potrebnih titracija uključuje i pripremu i uporabu stupca za izmjenu iona.

Duljina trajanja postupka: kompleksometrijska titracija zahtijeva manje vremena za izvođenje postupka.

Zbog pripremnog rada povezanog s kolonom izmjene iona i dodatnih titracija potrebnih za korekciju kiseline, postupak titracije ionske izmjene / kiseline-baze traje duže.

Pogreška mjerenja: Obje metode podliježu različitim izvorima pogrešaka, ali uslijed više koraka pri izvođenju samog mjerenja vjerojatnije je više mogućnosti za pogrešku postupkom titracije izmjene iona.

Dobiveni su rezultati pokazali da je kompleksometrijska titracija točnija metoda za određivanje kalcija u uzorcima oba brenda u odnosu na ionsku izmjenu, koja je dala nešto niže rezultate naspram deklariranih vrijednosti. Upravo zbog svoje preciznosti, jednostavnosti, brzine kao i povoljne cijene može se zaključiti da je kompleksometrijska titracija metoda izbora između ispitane dvije metode za određivanje sadržaja kalcija u suplementima.

6.LITERATURA

- Beto JA, The Role of Calcium in Human Aging, *Clinical Nutrition Research*, 2015, 4, 1-8
- Bolland MJ, Tai V, Leung W, Grey A, Reid I, Calcium intake and bone mineral density: systematic review and meta-analysis, *The BMJ*, 2015, 351, 4183
- Buppasiri P, Lumbiganon P, Thinkhamrop J, Ngamjarus C, Laopaiboon M, Medley N, Calcium supplementation (other than for preventing or treating hypertension) for improving pregnancy and infant outcomes, *Cochrane Database of Systematic Reviews*, 2015, 10, <https://doi.org/10.1002/14651858.CD007079.pub2>, pristupljeno 18.07.2019.
- Calcium, 2019, <https://ods.od.nih.gov/factsheets/Calcium-HealthProfessional/>, pristupljeno 14.07.2019.
- Dietary Supplements Market Size Analysis Report by Ingredient (Botanicals, Vitamins), By Form, By Application (Immunity, Cardiac Health), By End User, By Distribution Channel, And Segment Forecasts, 2019 – 2025, 2019, <https://www.grandviewresearch.com>, pristupljeno 11.07.2019.
- Dietary supplements, 2015, <https://www.fda.gov>, pristupljeno 10.07.2019.
- Dietary Supplements: What You Need to Know, 2011, <https://ods.od.nih.gov>, pristupljeno 10.07.2019.
- Dwyer JT, Costello RB, Assessment of Dietary Supplement Use, u: Nutrition in the Prevention and Treatment of Disease, Coulston AM, Boushey CJ, Ferruzzi MG, Bethesda, Academic Press, 2013, str. 47- 64
- Gurley B, Dietary supplement, Encyclopedia Britannica, 2018, <https://www.britannica.com/science/dietary-supplement>, pristupljeno 17.07.2019.
- Guyton AC, Hall JE, Textbook of Medical Physiology , Philadelphia, Elsevier Saunders, 2011, str. 955, 957-960, 962-965
- Harland CE, Ion Exchange: Theory and Practice, The Royal Society of Chemistry, Cambridge, 1994, str. 1-3
- Helferich FG , Ion Exchange, Dover Publications, New York, 1995, str. 14-16, 93-96
- Hofmeyr GJ, Lawrie TA, Atallah AN, Duley L, Torloni MR, Calcium supplementation during pregnancy for preventing hypertensive disorders and related problems, *Cochrane Database of Systematic Reviews*, 2014, 6, <https://doi.org/10.1002/14651858.CD001059.pub4>, pristupljeno 18.07.2019.
- Houtkooper L, Farrell V, Mullins V, Calcium Supplement Guidelines, Tuscon, College of Agriculture, University of Arizona, 2017, str. 1-4

Kočevar-Korenjak A, Mikačić D, Jardas Z, Espinosa M, Food supplements in Croatia, 2018, str. 15-16

Krpan K, Vojković V, Kvalitativna i kvantitativna kemijska analiza, Prirodoslovno-matematički fakultet Sveučilišta u Zagrebu, 2010, str. 50-52

Lovrić Turjak N, Učinkovitost i sigurnost primjene kalcija i vitamina D u kliničkoj praksi, Sveučilište u Zagrebu, Farmaceutsko-biokemijski fakultet, Zagreb, 2018, str. 5-6

Luterotti, S, Uvod u kemijsku analizu, 7.izd., Zagreb, Farmaceutsko-biokemijski fakultet Sveučilišta u Zagrebu, 2014, str. 72, 103, 106, 156-160

Mao PJ, Zhang C, Tang L, Xian Y, Li Y, Wang W, Zhu X, Qiu H, He J, Zhou Y, Effect of calcium or vitamin D supplementation on vascular outcomes: A meta-analysis of randomized controlled trials, *International Journal of Cardiology*, 2013, 169, 106-111

Marjanović-Balaban Ž, Antunović V, Jelić D, Živković T, Determination of calcium content in dietary supplements, *Hrana u zdravlju i bolesti*, 2015, 4, 28-33

Martínez de Victoria E, Calcium, essential for health, *Nutricion hospitalaria*, 2016, 33, 341

McPherson P, Practical Volumetric Analysis, Royal Society of Chemistry, Cambridge, 2015, str. 55, 57, 66-67, 69

National Nutrient Database, 2015, <https://ods.od.nih.gov/pubs/usdandb/Calcium-Content.pdf>, pristupljeno 15.07.2019.

Peacock M, Calcium Metabolism in Health and Disease, *Clinical Journal of the American Society of Nephrology*, 2010, 5, 23-30

Peterlik M, Stoeppler M, Calcium, u: Elements and their Compounds in the Environment. 2nd Ed., Merian E, Anke M, Ihnhat M, Stoeppler M, Weinheim, Germany: Wiley-VCH; 2004, str. 599-618

Pravilnik o dodacima prehrani, 2011, Zagreb, Narodne novine, broj 46 (NN/46/11)

Pravilnik o dodacima prehrani, 2013, Zagreb, Narodne novine, broj 126 (NN/126/2013)

Pravilnik o dodacima prehrani, 2013, Zagreb, Narodne novine, broj 39 (NN 39/13)

Raffield, LM, Agarwalb S, Hsueh FC, Boerd IH, Ix JH, Siscovick D, Szklo M, Burke GL, Frazier-Wood AC, Herrington DM, The association of calcium supplementation and incident cardiovascular events in the Multi-ethnic Study of Atherosclerosis, *Nutrition, Metabolism and Cardiovascular Diseases*, 2016, 26, 899-907

Ross CA, Taylor C, Yaktine AL, Del Valle HB, Dietary Reference Intakes for Calcium and Vitamin D, 2011, Washington, DC: The National Academies Press, str. 37- 38

Sikora T, Good manufacturing practice (GMP) in the production of dietary supplements, u: Dietary Supplements, Berginc K, Kreft S, Walthman, Woodhead Publishing 2015, str. 25-36

Skoog D, West D, Holler J, Crouch S, Fundamentals of Analytical Chemistry 9th Edition, Belmont, Brooks/Cole, 2014, str. 302-305, 414-417, 857-859

Strathmann H, Ion-Exchange Membrane Separation Processes, Amsterdam, Elsevier, 2004, str. 4-5

Weaver CM, Gordon CM, Janz KF, Kalkwarf HJ, Lappe JM, Lewis R, O'Karma M, Wallace TC, Zemel BS, The National Osteoporosis Foundation's position statement on peak bone mass development and lifestyle factors: a systematic review and implementation recommendations, *Osteoporosis International*, 2016, 4, str. 1281-1386

Webb GP, Dietary Supplements and Functional Foods, London, Blackwell Publishing, 2006, str. 1-3, 8-9, 86-90

7. SAŽETAK/ SUMMARY

Kalcij je najzastupljeniji mineral u tijelu čovjeka. Kao takav, sudjeluje u regulaciji niza biokemijskih procesa i njegova neravnoteža dovodi do ozbiljnih funkcionalnih poremećaja. Narušavanje homeostaze kalcija u organizmu može nastati uslijed nedovoljnog uzimanja kalcija putem prehrane. Deficijenciju kalcija moguće je korigirati korištenjem dodataka prehrani s kalcijem. Cilj ovog rada je usporediti dvije klasične analitičke metode za određivanje sadržaja kalcija u odabranim dodacima prehrani. Korištene metode su kompleksometrijska titracija i ionska izmjena, uz naknadnu titraciju. Dobiveni su rezultati pokazali da je kompleksometrijska titracija bila uspješnija u određivanju kalcija. Naime, usporedbom dobivenih vrijednosti sadržaja kalcija u ispitivanim uzorcima s deklariranim vrijednostima pomoću dvije analitičke metode kompleksometrijska titracija nametnula se kao metoda izbora za određivanje kalcija u dodacima prehrani.

Calcium is one of the most prevalent minerals in a human body. As such, it is an essential element for the regulation of many biochemical processes, which is to say that its imbalance can lead to serious functional disorders. Changes in the homeostasis of calcium in an organism can appear when person does not consume sufficient amount of calcium in food. Aforementioned changes in calcium homeostasis, or a word calcium deficiency, can be balanced again by using food supplements which contain calcium. The aim of this paper is to compare which of two classic analytical methods is better for determining amount of calcium in food supplements. In order to reach the goal, two methods were used: complexometric titration and ion-exchange with titration afterward. Results had shown that complexometric titration is more successful for the determination of calcium. Furthermore, by comparing the values of amount of calcium in both of the used brands with declared amount of the calcium on the products complexometric titration has proved as a method of choice for determination of calcium in food supplements.

**8. TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA/ BASIC DOCUMENTATION
CARD**

Temeljna dokumentacijska kartica

Sveučilište u Zagrebu
Farmaceutsko-biokemijski fakultet
Studij: Farmacija
Zavod za analitičku kemiju,
A. Kovačića 1, 10000 Zagreb, Hrvatska

Diplomski rad

USPOREDBA DVIJE KLASIČNE ANALITIČKE METODE ZA ODREĐIVANJE SADRŽAJA KALCIJA U DODACIMA PREHRANI

Lucija Bušljeta

SAŽETAK

Kalcij je najzastupljeniji mineral u tijelu čovjeka. Kao takav, sudjeluje u regulaciji niza biokemijskih procesa i njegova neravnoteža dovodi do ozbiljnih funkcionalnih poremećaja. Narušavanje homeostaze kalcija u organizmu može nastati uslijed nedovoljnog uzimanja kalcija putem prehrane. Deficijenciju kalcija moguće je korigirati korištenjem dodataka prehrani s kalcijem. Cilj ovog rada je usporediti dvije klasične analitičke metode za određivanje sadržaja kalcija u odabranim dodacima prehrani. Korištene metode su kompleksometrijska titracija i ionska izmjena, uz naknadnu titraciju. Dobiveni su rezultati pokazali da je kompleksometrijska titracija bila uspješnija u određivanju kalcija. Naime, usporedbom dobivenih vrijednosti sadržaja kalcija u ispitivanim uzorcima s deklariranim vrijednostima pomoću dvije analitičke metode kompleksometrijska titracija nametnula se kao metoda izbora za određivanje kalcija u dodacima prehrani.

Rad je pohranjen u Središnjoj knjižnici Sveučilišta u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta.

Rad sadrži: 40 stranica, 10 grafičkih prikaza, 10 tablica i 35 literaturnih navoda. Izvornik je na hrvatskom jeziku.

Ključne riječi: kalcij, dodaci prehrani, titracija, ionska izmjena

Mentor: **Doc. dr. sc. Jasna Jablan**, *docentica Sveučilišta u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta.*

Ocjenjivači: **Doc. dr. sc. Jasna Jablan**, *docentica Sveučilišta u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta.*

Doc. dr. sc. Suzana Inić, *docentica Sveučilišta u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta.*

Prof. dr. sc. Živka Juričić, *redovita profesorica Sveučilišta u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta.*

Rad prihvaćen: rujan 2019.

Basic documentation card

University of Zagreb
Faculty of Pharmacy and Biochemistry
Study: Pharmacy
Department of Analytical Chemistry
A. Kovačića 1, 10000 Zagreb, Croatia

Diploma thesis

COMPARISON OF TWO CLASSIC ANALYTICAL METHODS FOR DETERMINING CALCIUM CONTENT IN FOOD SUPPLEMENTS

Lucija Bušljeta

SUMMARY

Calcium is one of the most prevalent minerals in a human body. As such, it is an essential element for the regulation of many biochemical processes, which is to say that its imbalance can lead to serious functional disorders. Changes in the homeostasis of calcium in an organism can appear when person does not consume sufficient amount of calcium in food. Aforementioned changes in calcium homeostasis, or a word calcium deficiency, can be balanced again by using food supplements which contain calcium. The aim of this paper is to compare which of two classic analytical methods is better for determining amount of calcium in food supplements. In order to reach the goal, two methods were used: complexometric titration and ion-exchange with titration afterward. Results had shown that complexometric titration is more successful for the determination of calcium. Furthermore, by comparing the values of amount of calcium in both of the used brands with declared amount of the calcium on the products complexometric titration has proved as a method of choice for determination of calcium in food supplements.

The thesis is deposited in the Central Library of the University of Zagreb Faculty of Pharmacy and Biochemistry.

Thesis includes: 40 pages, 10 figures, 10 tables and 35 references. Original is in Croatian language.

Keywords: calcium, food supplemets, titration, ion exchange

Mentor: **Jasna Jablan, Ph.D.** *Assistant Professor*, University of Zagreb Faculty of Pharmacy and Biochemistry

Reviewers: **Jasna Jablan, Ph.D.** *Assistant Professor*, University of Zagreb Faculty of Pharmacy and Biochemistry
Suzana Inić, Ph.D. *Assistant Professor*, University of Zagreb Faculty of Pharmacy and Biochemistry
Živka Juričić, Ph.D. *Full Professor*, University of Zagreb Faculty of Pharmacy and Biochemistry

The thesis was accepted: September 2019.