Određivanje koncentracije kalcija i fosfora u uzorcima zuba

Galić, Antonela

Master's thesis / Diplomski rad

2020

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Split, School of Medicine / Sveučilište u Splitu, Medicinski fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:171:886872

Rights / Prava: In copyright / Zaštićeno autorskim pravom.

Download date / Datum preuzimanja: **2024-03-28**

SVEUČILIŠTE U SPLITU
MEDICINSKI FAKULTET
UNIVERSITAS STUDIORUM SPALATENSIS
FACULTAS MEDICA

Repository / Repozitorij:

MEFST Repository

zir.nsk.hr

UNIVERSITY OF SPLIT

dabar
DIGITALNI AKADEMSKI ARHIVI I REPOZITORIJI

SVEUČILIŠTE U SPLITU

KEMIJSKO-TEHNOLOŠKI FAKULTET

I

MEDICINSKI FAKULTET

Antonela Galić

ODREĐIVANJE KONCENTRACIJE KALCIJA I FOSFORA U UZORCIMA ZUBA

Diplomski rad

Akademska godina 2020. / 2021.

Mentor: prof. dr. sc. Davorka Sutlović

Split, prosinac 2020.

SVEUČILIŠTE U SPLITU

KEMIJSKO-TEHNOLOŠKI FAKULTET

I

MEDICINSKI FAKULTET

Antonela Galić

ODREĐIVANJE KONCENTRACIJE KALCIJA I FOSFORA U UZORCIMA ZUBA

Diplomski rad

Akademska godina 2020. / 2021.

Mentor: prof. dr. sc. Davorka Sutlović

Split, prosinac 2020.

TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

DIPLOMSKI RAD

Kemijsko-tehnološki fakultet i Medicinski fakultet
Integrirani preddiplomski i diplomski studij Farmacija
Sveučilište u Splitu, Republika Hrvatska

Znanstveno područje: Biomedicinske znanosti
Znanstveno polje: Farmacija
Tema rada: prihvaćena je na 64. sjednici Vijeća studija Farmacija te potvrđena na 28. sjednici fakultetskog vijeća Kemijsko-tehnološkog fakulteta i 26. sjednici fakultetskog vijeća Medicinskog fakulteta
Mentor: prof. dr. sc. Davorka Sutlović
Neposredni voditelj: doc. dr. sc. Zlatka Knezović

ODREĐIVANJE KONCENTRACIJE KALCIJA I FOSFORA U UZORCIMA ZUBA

Antonela Galić, broj indeksa: 175

Sažetak

Cilj: Cilj istraživanja je odrediti koncentracije kalcija, fosfora i njhov međusobni odnos u uzorcima mliječnih i kariotičnih zubi.

Materijal i metode: Istraživanje je provedeno na zubima prikupljenim u stomatološkoj poliklinici. Prikupljeni zubi su mliječni zubi i trajni zubi zahvaćeni karijesom. Koncentracija kalcija je određena plamenom apsorpcijskom spektrometrijom (FAAS) na atomskom apsorpcijskom spektrometru AnalytikJena AG, model AAS Vario 6. Koncentracija fosfora je određena UV VIS spektrofotometrijom, na UV VIS spektrofotometru Perkin Elmer Lambda 25, double beam.

Rezultati: Istraživanje je provedeno na 20 zubi: 10 mliječnih i 10 trajnih (kariotičnih) zubi. Srednja vrijednost kalcija u mliječnim zubima je 26,372 %, a srednja vrijednost kalcija u uzorcima trajnih zubi je 24,597 %. Srednja vrijednost fosfora u mliječnim zubima je 11,785 %, a srednja vrijednost fosfora u trajnim zubima 14,115 %. Omjer Ca/P je 2,277 u mliječnim zubima, a u trajnim zubima omjer Ca/P je 1,748.

Zaključak: Istraživanjem je utvrđeno da je koncentracija kalcija niža u uzorcima trajnih (kariotičnih) zubi, koncentracija fosfora viša u uzorcima trajnih (kariotičnih) zubi te da je omjer Ca/P niži u uzorcima trajnih (kariotičnih) zubi u odnosu na mliječne zube. Dobiveni rezultati ukazuju na potrebu za daljnim istraživanjem s obzirom da ne postoji velik broj ispitivanja ove tematike.

Ključne riječi: zubi, kalcij, fosfor, plamena apsorpcijska spektrometrija, UV VIS spektrofotometrija

Rad sadrži: 43 stranice, 6 tablica, 10 slika i 51 referencu

Jezik izvornika: hrvatski

Sastav povjerenstva za obranu: doc. dr. sc. Ana Šešelja Perišin - predsjednik
doc. dr. sc. Zlatka Knezović - član
prof.dr.sc. Davorka Sutlović - član - mentor

Datum obrane: 1. 12. 2020.

Rad je u tiskanom i elektroničkom (pdf format) obliku pohranjen u Knjižnici Medicinskog fakulteta Split, Šoltanska

BASIC DOCUMENTATION CARD

GRADUATE THESIS

Faculty of Chemistry and Technology and School of Medicine
Integrated Undergraduate and Graduate Study of Pharmacy
University of Split, Croatia

Scientific area: Biomedical sciences
Scientific field: Pharmacy
Thesis subject was approved by Council Undergraduate and Graduate Study of Pharmacy, no. 64 as well as by Faculty Council of Faculty of Chemistry and Technology, session no. 28 and Faculty Council of School of Medicine, session no. 26
Mentor: Davorka Sutlović, PhD, Professor
Immediate supervisor: Zlatka Knezović, PhD, Assistant professor

DETERMINATION OF CALCIUM AND PHOSPHORUS CONCENTRATION IN TEETH SAMPLES

Antonela Galić, index number: 175

Summary

Objectives: The aim of the research is to determine the concentrations of calcium, phosphorus and their interrelationship in samples of primary and permanent teeth affected by caries.

Material and methods: The study was conducted on teeth collected at a dental clinic. Collected teeth are primary teeth and permanent teeth affected by caries. Calcium concentration was determined by flame absorption spectrometry (FAAS) on an atomic absorption spectrometer AnalytikJena AG, model AAS Vario 6. Phosphorus concentration was determined by UV VIS spectrophotometry, on a UV VIS spectrophotometer Perkin Elmer Lambda 25, double beam.

Results: The study was conducted on 20 teeth: 10 deciduous and 10 permanent (karyotic) teeth. The mean value of calcium in primary teeth is 26,372%, and the mean value of calcium in samples of permanent teeth is 24,597%. The mean value of phosphorus in primary teeth is 11,785% and the mean value of phosphorus in permanent teeth is 14,115%. The Ca / P ratio is 2,277 in primary teeth and the Ca / P ratio in permanent teeth is 1,748.

Conclusion: The study found that the concentration of calcium is lower in samples of permanent (karyotic) teeth, the concentration of phosphorus is higher in samples of permanent (karyotic) teeth and that the Ca / P ratio is lower in samples of permanent (karyotic) teeth compared to primary teeth. The obtained results indicate the need for further research since there is not a large number of studies on this topic.

Key words: teeth, calcium, phosphorus, flame absorption spectrometry, UV VIS spectrophotometry

Thesis contains: 43 pages, 6 tables, 10 figures and 51 references

Original in: Croatian

Defense comittee: Ana Šešelja Perišin, PhD, Assistant professor - chair person

Zlatka Knezović, PhD, Assistant professor - member

Davorka Sutlović, PhD, Professor - supervisor

Defense date: 1st December 2020

Printed and electronic (pdf format) version of thesis is deposed in Library of School of Medicine, Šoltanska 2.

SADRŽAJ

1. UVOD 1

1.1 Ljudski kostur 2

1.2 Kosti glave 2

1.3 Zubi 3

1.3.1 Podjela zubi 3

1.3.2 Mliječni i trajni zubi 3

1.3.3 Morfološka podjela 4

1.3.4 Anatomski dijelovi zuba 5

1.3.5 Građa zuba 6

1.4 Kemijski sastav tvrdih zubnih tkiva 7

1.4.1 Anorganski sastav 7

1.4.2 Organski sastav 8

1.5 Fizikalno – kemijski procesi 8

1.5.1 Demineralizacija 8

1.5.2 Remineralizacija 9

1.6 Zdravlje zubi 9

1.7 Tehnike određivanja kalcija i fosfora 11

1.7.1 Mikrovalna razgradnja 12

1.7.2 Atomska apsorpcijska spektroskopija (AAS) 13

1.7.3 Ultraljubičasta i vidljiva spektroskopija 15

2. CILJ 16

3. MATERIJAL I METODE 18

3.1 Uzorci 19

3.2 Priprema uzoraka 19

3.3 Određivanje masenog udjela kalcija 19

3.4 Određivanje masenog udjela fosfora 21

3.5 Izračun masenog udjela kalcija i fosfora 22

4. REZULTATI 23

5. RASPRAVA 26

6. ZAKLJUČAK 29

7. POPIS CITIRANE LITERATURE 31

8. SAŽETAK 38
9. SUMMARY 40
10. ŽIVOTOPIS 42

ZAHVALA

Zahvaljujem mentorici, prof.dr.sc. Davorki Sutlović, na prihvaćenom mentorstvu, susretljivosti i razumijevanju prilikom izrade diplomskog rada.

Zahvaljujem doc. dr. sc. Zlatki Knezović na strpljenju, pomoći i savjetima tijekom izrade ovog rada.

Hvala mojim prijateljima i kolegama što su mi uljepšali period studiranja i učinili ga nezaboravnim dijelom mog života.

Hvala mom momku što je bio tu u lijepim i manje lijepim trenucima mog studiranja.

I na kraju, posebno hvala mojim roditeljiima, sestri i noni na bezuvjetnoj potpori, ljubavi i što su vjerovali u mene onda kad ja sama nisam.

Popis oznaka i kratica

pH - broj koji služi kao mjera kiselosti (aciditeta), odnosno lužnatosti (alkaliteta) vodenih otopina (lat. *potentia hydrogenii:* snaga vodika)

Ca – kalcij

P – fosfor

Na – natrij

Mg – magnezij

Cl – klor

F – fluor

CO_3^{2-} - karbonat

AAS – atomska apsorpcijska spektroskopija

FAAS – plamena atomska apsorpcijska spektroskopija

ICP – MS – induktivno spregnuta plazma s masenom spektroskopijom

UV VIS spektroskopija – ultraljubičasta i vidljiva spektroskopija

1. UVOD

1.1 Ljudski kostur

Kostur odraslog čovjeka čini 213 kostiju, isključujući sezamske kosti.(1) Kosti imaju raznolike funkcije iako se smatraju „mrtvim“ organima.(2) One pružaju strukturnu potporu tijelu, omogućuju kretanje, štite vitalne unutarnje organe i strukture, omogućavaju održavanje mineralne homeostaze i kiselinsko – bazne ravnoteže, spremnici su čimbenika rasta i citokina te su izvor krvnih stanica.(3) Prema položaju u tijelu kosti razlikujemo kao: kosti trupa, kosti udova i kosti glave.(4)

1.2 Kosti glave

Kosti glave grade lubanju (*cranium*). Lubanja se dijeli na dva dijela: neurokranij i viscerokranij ili splanhnokranij. Neurokranij je stražnji i gornji dio lubanje kojeg čini osam međusobno povezanih kostiju čija je uloga zaštita mozga. To su: čeona kost (*os frontale*), sitasta kost (malenim dijelom), klinasta kost (*os sphenoidale*), dvije tjemene kosti (*os parietale*), dvije sljepoočne kosti (*os temporale*) i zatiljna kost (*os occipitale*). Viscerokranij ili splanhnokranij je prednji donji dio lubanje kojeg čine kosti lica, početni dijelovi dišnog i probavnog sustava i sadržaj očnica (*orbita*). Kosti viscerokranija su: gornja čeljust (*maxilla*), raonik (*vomer*), sitasta kost ili rešetnica (*os ethmoidale*), donja čeljust (*mandibula*), jagodična kost (*os zygomaticum*), suzna kost (*os lacrimale*), nosna kost (*os nasale*), donja nosna kost (*concha nasi inferior*), nepčana kost (*os palatinum*), jezična kost (*os hyoideum*).

Gornja čeljust (*maxilla*) je parna kost smještena u srednjem dijelu lica. Sastoji se od dviju simetričnih polovica, a svaku čini trup i četiri nastavka (frontalni, zigomatični, alveolarni i palatalni nastavak). U alveolarnom nastavku nalazi se osam jamica za zube (*alveoli dentales*), a ostali nastavci se spajaju sa susjednim kostima lica.

Donja čeljust (*mandibula*) je neparna kost lubanje i jedina pokretna kost glave. Sastoji se od glave (*caput*) i trupa (*corpus mandibulae*) s kojeg se nastavljaju grane mandibule (*ramus mandibulae*) s dva nastavka (*processus coronoideus i processus condylaris*). U alveolarnom nastavku (nalazi se na gornjem dijelu trupa) nalazi se 16 jamica za donje zube.

1.3 Zubi

Zubi su kalcificirane strukture ugrađene u zubne jamice gornje čeljusti (maxille) i donje čeljusti (mandibule).(5) Njihova primarna funkcija je žvakanje: rezanje, miješanje i mljevenje unesene hrane. Sudjeluju i u oblikovanju fonacije, disanju, održavanju otvorenog dišnog puta te su temelj za vertikalne dimenzije lica.(6)(7)

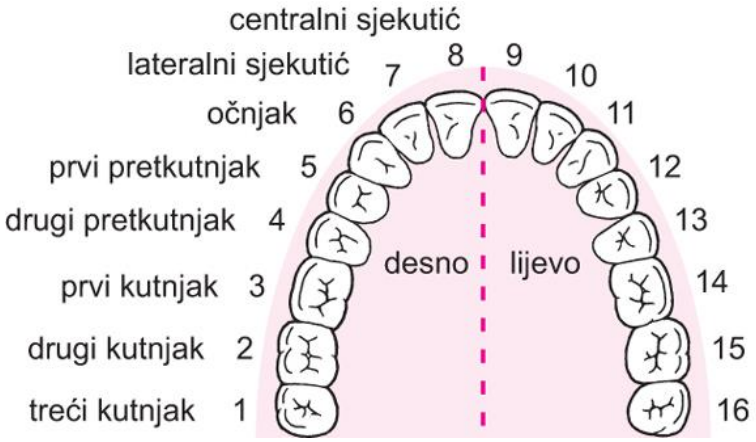
1.3.1 Podjela zubi

Zube dijelimo prema vremenu izbijanja, morfološkom obliku i položaju u dentalnom luku. Najprije izbijaju mliječni zubi koji se tijekom života zamjenjuju trajnim zubima. Prema morfološkim karakteristikama dijelimo ih u četiri skupine: sjekutiće, očnjake, kutnjake i pretkutnjake. Zubi oblikuju gornji i donji luk, a prema mjestu u zubnom luku dijele se na lijeve i desne, gornje i donje.(8)

1.3.2 Mliječni i trajni zubi

Čovjek ima 20 mliječnih zubi koje s vremenom zamjenjuju 32 trajna zuba. Razlikujemo tri denticije: primarnu denticiju (kolokvijalno nazvanu mliječni zubi), prijelaznu denticiju i odraslu ili trajnu denticiju. Krune mliječnih zubi počinju se razvijati u maternici, a prvi zubi (sjekutići donje čeljusti) izbijaju od šestog do osmog mjeseca djetetovog života. Proces izbijanja mliječnih zubi završava izbijanjem drugih gornjih kutnjaka što se najčešće dogodi do treće godine. Trajna denticija započinje oko šeste godine života izbijanjem središnjih sjekutića donje čeljusti i prvim kutnjacima gornje i donje čeljusti, a skoro je u potpunosti dovršena do 12. godine.(9) Trajni treći kutnjaci ili umnjaci izbijaju od 17. do 21. godine života ukoliko za njih ima mjesta.(5)

1.3.3 Morfološka podjela



Slika 1. Morfološka podjela zubi; prikaz gornje čeljusti (10)

Sjekutići

Prednji zubi nazivaju se sjekutići, što je izravan odraz njihove uloge u rezanju hrane na manje komade, bez obavljanja bilo kakve funkcije mljevenja. Sudjeluju i u stvaranju glasa. U odrasloj čeljusti ima ukupno 8 sjekutića, dva središnja i dva bočna na svakom zubnom luku.(11)

Očnjaci

Krećući se straga, sljedeći je zub očnjak. Očnjak je poznat kao kamen temeljac te se, uz prvi kutnjak, smatra najvažnijim zubom. Njihova uloga je trganje čvrste hrane. Najčešće ima najduži korijen što ga čini najčvršće pričvršćenim za kost.(11) U odrasloj čeljusti nalaze se 4 očnjaka, po dva u svakoj čeljusti.(8)

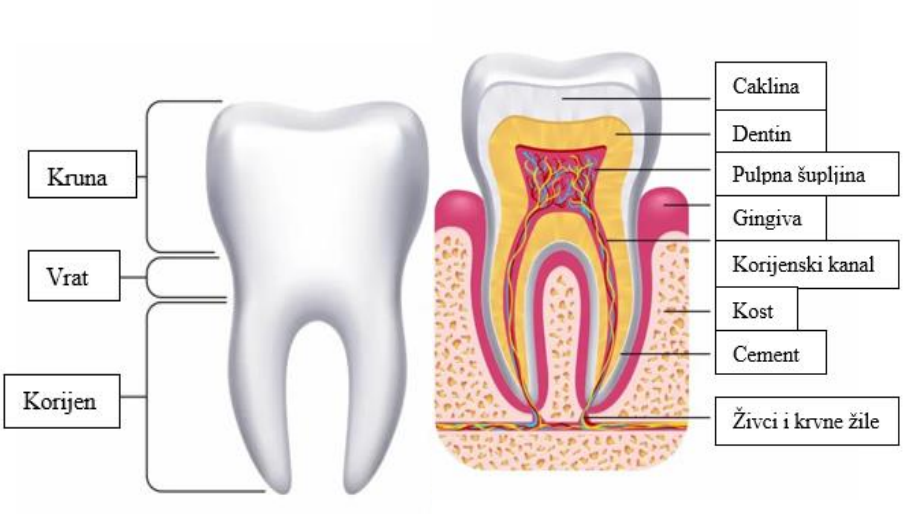
Pretkutnjaci

Između očnjaka i kutnjaka smješteni su pretkutnjaci. Prvi su zubi koji pomažu u mljevenju i miješanju hrane.(12) Odrasli čovjek ima 8 pretkutnjaka, po 4 u svakoj čeljusti.(8)

Kutnjaci

Kutnjaci su zadnji zubi u zubnom luku. Njihova uloga je usitnjavanje i mljevenje hrane potisnute od pretkutnjaka. Razlikujemo prve, druge i treće kutnjake. Prvi i drugi kutnjaci izbijaju kod svih ljudi, dok treći kutnjaci ili umnjaci izbijaju samo kod nekih (ovisno o prostoru u čeljusti). Za razliku od prvih i drugih kutnjaka, treći kutnjaci ili umnjaci rijetko sudjeluju u žvakanju hrane.(11)

1.3.4 Anatomski dijelovi zuba



Slika 2. Anatomija zuba (Preuzeto i prilagođeno prema: The anatomy of tooth in four parts (13))

Kruna zuba

Kruna zuba je vidljivi dio zuba u usnoj šupljini. Ima pet ploha. Ploha okrenuta prema usni ili obrazu naziva se facijalna ploha za sjekutiće i očnjake te bukalna ploha za pretkutnjake i kutnjake. Površina okrenuta prema unutrašnjosti usta naziva se nepčana ploha u gornjoj čeljusti odnosno jezična ploha u donjoj čeljusti. Površine koje se odnose na granice susjednih zubi zovu se mezijalne i distalne. Mezijalna ploha se odnosi na plohu u smjeru središnje linije čeljusti, a distalna na plohu udaljenu od središnje linije čeljusti. Zagrizna ploha naziva se okluzijska.(5)

Vrat zuba

Vrat je suženi dio zuba između krune i korijena zube te predstavlja prijelaz krune u korijen.(8)

Korijen zuba

Korijen zuba je dio zuba ugrađen u zubne jamice gornje i donje čeljusti. Broj korijena ovisi o vrsti zuba. Sukladno tome, donji kutnjaci i prvi gornji pretkutnjak imaju 2 korijena, gornji kutnjaci imaju 3 korijena, s tim da treći gornji kutnjak iznimno može imati i više od 3 korijena. Ostali zubi imaju po jedan korijen.(8)

1.3.5 Građa zuba

Caklina

Caklina je najtvrđe tkivo u ljudskom organizmu.(14) Ona prekriva cijelu kliničku krunu zuba. Omogućuje žvakanje i drobljenje hrane te daje konačan oblik krunama zuba. Caklina je podložna trošenju i habanju. Sve veći broj studija sugerira da otpornost cakline na vanjske agense ovisi o kemijskom sastavu i strukturi cakline koja se formira u procesu odontogeneze. Zrela caklina sastoji se od 95 % minerala, 1 % organske tvari i 4 % vode.(15) Proteini u caklini prvenstveno su prisutni kao tanak pokrivač na pojedinim kristalima i obuhvaćaju otprilike pola organske tvari. Sadržaj vode u caklini dovoljan je da omogući difuziju kiselina i drugih komponenti kroz interprizmatske caklinske pore te difuziju minerala (kalcija i fosfora) iz zubi tijekom procesa demineralizacije i remineralizacije.(14) Zrela caklina sadrži anorganske komponente koje se uglavnom pojavljuju u obliku organiziranih i čvrsto pakiranih kristala koji čine 87 % volumena cakline i 95 % njene težine. Anorganski dio mineralizirane cakline sastoji se od 89 % kalcijevog hidroksiapatita, malih količina kalcijevog karbonata (4 %), kalcijevog fluorida (2 %) i magnezijevog fosfata (1,5 %). Čisti hidroksiapatit čini 57 % fosfora, 40 % kalcija i 2 % hidroksilnih iona. Sadržaj kristala hidroksiapatita u volumenu cakline varira, odnosno smanjuje se od površine prema granici dentina i cakline. Broj, kvaliteta i raspored kristala hidroksiapatita utječu na mehanička svojstva cakline.(16)

Dentin

Dentin tvori najveći dio zuba, a sastoji se od kristala hidroksiapatita, kolagenih vlakana (uglavnom tipa I) i nekolagenih makromolekula.(17) Prekriven je krunom zuba građenom od

visokomineralizirane i zaštitne cakline, dok ga u području korijena prekriva cement. Uspoređujući mase, dentin je manje mineraliziran od cakline, ali više od kosti i cementa.(18)

Cement

Cement je specijalizirano tvrdo tkivo koje pokriva korijen zuba. Povezan je s periodentalnim ligamentom koji je pričvršćen za alveolarnu kost; ovo djeluje kao sustav pričvršćivanja koji drži zub na mjestu pod fiziološkim opterećenjem žvakanja.(5) Cement je žućkaste boje i mekši od dentina i cakline.(19)

1.4 Kemijski sastav tvrdih zubnih tkiva

1.4.1 Anorganski sastav

Anorganski dio tvrdih zubnih tkiva čine biološki kalcij – fosfati i elementi u tragovima. Prevladavaju biološki kalcij – fosfati koji su ujedno i osnovni anorganski sastojak svih tvrdih zubnih tkiva kralješnjaka općenito. Osim što određuju fizikalnokemijska svojstva tkiva, sudjeluju i u njihovoj izgradnji, razgradnji odnosno pregradnji. Pronađeno je pet oblika bioloških kalcij – fosfata, a najzastupljeniji i najstabilniji pri fiziološkom pH je kalcij – hidroksiapatit. Preostale četiri vrste također pronalazimo u zubnim tkivima; neke se pojavljuju u određenim stadijima sazrijevanja nakon čega se gube, dok su ostale stalno prisutne, ali u manjim postocima.

Idealan omjer kalcija i fosfora (Ca:P) u caklinskom hidroksiapatitu je 1,67. Taj omjer može narušiti adsorpcija fosfata na površinu hidroksiapatita, supstitucija kalcija ionima natrija, magnezija ili H_3O^+ te ugradnja kemijskih elemenata u tragovima pa se takvi hidroksiapatiti nazivaju nestehiometrijskim ili "kalcij deficitnim" apatitima.

Pronađeno je 40-ak kemijskih elemenata u tragovima koji mogu narušiti strukturu idealne kristalne rešetke, a među njima najzastupljeniji i stoga najviše istraženi su natrij (Na), magnezij (Mg), klor (Cl), fluor (F), stroncij (Sr) i karbonat (CO_3^{2-}). Za većinu tvari nije poznato utječu li i u kojoj mjeri na kristalizaciju i procese mineralizacije tkiva, no znanstveno je dokazano da njihovo "umetanje" u kristalnu rešetku omogućuje prodor kiselina u kristale. Tako je poznato da karbonati utječu na stabilnost kristala hidroksiapatita smanjujući njihovu topljivost u kiselinama, dok stroncij djeluje suprotno inhibirajući demineralizaciju kristala. Uloga fluora u demineralizacijskom procesu je

također poznata – nanošenje preparata s fluorom na caklinu smanjuje pojavnost karijesa. Ipak, istraživanje kemijskih elemenata u tragovima i dalje je nužno kako bi se u potpunosti razumjela njihova uloga.(20)

1.4.2 Organski sastav

Organski sastav uključuje kolagen i netopljive proteine. Kolagen je najzastupljenija organska tvar u organizmu čovjeka općenito, a sastavni je dio matriksa cakline, dentina i cementa. Kolagen grade brojne aminokiseline, a najviše zastupljene su glicin, alanin, prolin i hidroksiprolin. Organski dio cakline sastoji se od proteina, ugljikohidrata, lipida, citrata i laktata, dok organski dio dentina čine kolagen (93%), nekolageni matriks, lipidi i citrati.(21)

1.5 Fizikalno – kemijski procesi

Procesi demineralizacije i remineralizacije imaju presudan utjecaj na čvrstoću i tvrdoću zubne cakline. Do kojeg će procesa doći, ovisi o omjeru između demineralizacije i remineralizacije.(20) Čimbenici koji utječu na ova dva procesa mogu se podijeliti na vanjske i unutarnje. Vanjski čimbenici uključuju prehranu i lijekove, a unutarnji čimbenici uglavnom su bolesti koje ponekad liječimo lijekovima koje ubrajamo u ekstrinzične faktore. Navike poput redovitog četkanja zubi također imaju utjecaj, no njih možemo svrstati u sociekonomske čimbenike.(22)

1.5.1 Demineralizacija

Demineralizacija je postupak gubitka minerala iz kristala hidroksiapatita tvrdih tkiva, poput cakline, dentina, cementa i kosti.(22) Posljedica je složenog kemizma između bakterija, prehrane i sastojaka sline. Pad pH u usnoj šupljini rezultira demineralizacijom, a slina postaje nezasićena mineralima u odnosu na mineralni sadržaj zuba. Do pada pH dolazi pod utjecajem organskih kiselina (primjerice mliječne kiseline) koje proizvode bakterije plaka u prisutnosti ugljikohidrata. Ako faza demineralizacije potraje, javlja se prekomjerni gubitak minerala što dovodi do narušavanja strukture cakline i kavitacija – tipičnih karakteristika zubnog karijesa. Ovo otapanje nastavlja se sve dok se pH ne vrati na normalnu vrijednost.(23)

Slina, terapija fluoridom, kontrola prehrane i probiotici mjere su prevencije procesa demineralizacije. Mješavine koje sadrže različite oblike kalcijevog fosfata razmatraju se kao

potencijalni ljekoviti režim protiv demineralizacije. Slina se smatra jednim od najvažnijih bioloških čimbenika koji imaju ulogu u neutralizaciji kiselina. Patogeneza zubne erozije izravno je povezana s puferskim kapacitetom i brzinom lučenja sline. Osim što čisti usnu šupljinu i djeluje antibakterijski, slina je i stalan izvor kalcija i fosfata koji pomažu u održavanju prezasićenosti u odnosu na minerale zuba, posljedično inhibirajući demineralizaciju zuba tijekom razdoblja niskog pH, odnosno potiču remineralizaciju zuba kad se pH vrati u normalno stanje. Nadalje, kada se stimulira lučenje sline, dolazi do brzog porasta pH iznad neutralnog. Kao rezultat toga nastaje kompleks kalcijevog fosfata i glikoproteina iz sline. Ovaj se kompleks lako ugrađuje u zubne naslage. Zbog visoke topljivosti kalcijevog fosfata u proteinima sline (osam do deset puta veća od one kalcijevog fosfata u zubu), on služi kao žrtveni mineral jer se otapa prije minerala iz zuba, te tako inhibira demineralizaciju. Djeluje i kao izvor kalcijevih i fosfatnih iona potrebnih za remineralizaciju dekalcificiranog zuba. Slina konstantno doprema i fluor na površinu zuba koji je ključan faktor u sprječavanju demineralizacije i poticanju remineralizacije.(22)

1.5.2 Remineralizacija

Kad se pH poveća, događa se proces suprotan demineralizaciji – remineralizacija. Remineralizacija je proces vraćanja minerala natrag u kristale hidroksiapatita.(22) Kalcijevi, fosfatni i fluoridni ioni talože se u obliku fluoropatita koji su otporniji na otapanje kristala organskim kiselinama. Tijekom remineralizacije, dolazi do rasta novonastalih kristala fluoroapatita koji se naposljetku međusobno stapaju u velike kristale s heksagonalnim obrisima. Na tržištu su dostupna brojna remineralizirajuća sredstva poput fluorida i kazein kalcij fosfopeptida koji pomažu remineralizaciju zuba.(23)

1.6 Zdravlje zubi

Prehrambeni čimbenici uglavnom se povezuju s nekolicinom sistemnih bolesti, gastrointestinalnim poremećajima, većinom karcinoma, kao i s bolestima usne šupljine.(24) Moynihan navodi: “Dobra prehrana bitna je za razvoj i održavanje zdravih zubi, a zdravi zubi važni su kako bi omogućili konzumaciju raznolike i zdrave hrane tijekom života.” naglašavajući tako odnos prehrane i oralnog zdravlja.(25) Najčešća kronična bolest usne šupljine je zubni karijes. Ukoliko se ne liječi može se javiti bol, smanjena mogućnost žvakanja, smanjeno samopoštovanje i probemi s govorom kod djece (pred)školske dobi.(26)

Zubni karijes uzrokuje interakcija bakterija, uglavnom *Streptococcus mutans*, i šećera na površini cakline zuba. Bakterije razgrađuju fermentabilne ugljikohidrate kao što su glukoza, fruktoza i saharoza te tako stvaraju kiselo okruženje koje dovodi do demineralizacije i posljedično karijesnih lezija.(27)(28) Postoji nekoliko teorija o tome kako stječemo oralne bakterije. Poznato je da je usna šupljina po rođenju sterilna, međutim, bakterije se unose hranom, mlijekom, vodom, preko roditelja i tijekom nicanja mliječnih zubi. Najšire prihvaćena hipoteza s obzirom na ulogu bakterija u proizvodnji kiselina i stvaranju karijesa je „ekološka hipoteza“ koja zubni plak definira kao dinamični mikrobni ekosustav u kojem najvažniju ulogu za održavanje dinamičke stabilnosti imaju nemutanske bakterije.(29) Streptococcus mutans, Streptococcus sobrinus i laktobacili glavni su oralni kariogeni patogeni zbog njihove sposobnosti proizvodnje velikih količina mliječne kiseline nakon fermentacije šećera i otpornosti na štetne učinke niskog pH.(30)(31) Neke studije pokazale su da je više od 30% oralne mikroflore nastanjeno sa S. mutans kod djece s karijesom u ranom djetinjstvu.(32) Veća učestalost unosa šećera dovodi do povećanog rizika i osjetljivosti na karijes zbog duljeg izlaganja kiselim uvjetima, neovisno o unesenoj količini.(22)

Ključna pitanja koja treba postaviti prilikom određivanja kariogenog, kariostatskog i antikariogenog svojstva su oblik hrane, učestalost konzumacije šećera i ostalih fermentiranih ugljikohidrata, vrijeme zadržavanja u usnoj šupljini, sastav hrane, potencijal hrane da stimulira slinu i kombinacija hrane.(33)(34) Rizik za razvoj karijesa također ovisi i o individualnim čimbenicima domaćina poput niskog ili visokog pH sline, genetske predispozicije, prethodnog iskustva s karijesom, upotrebe lijekova, učestalosti bolesti koje utječu na imunološki sustav i osobnih higijenskih navika (npr. učestalost pranja zubi, korištenje konca za zube).

Kariogenost hrane procjenjuje se na temelju njene sposobnosti spuštanja pH plaka. Najveći kariogeni potencijal ima hrana bogata fermentabilnim ugljikohidratima. Fermentabilni ugljikohidrati (škrob i šećeri) su oni čija probava započinje u ustima pomoću slinovne amilaze.(35) Veći kariogeni potencijal imaju ugljikohidrati ljepljive strukture (poput karamele) od onih koji to nisu.(36) Masti pokazuju nizak kariogeni potencijal, a djeluju čak i protektivno na razvoj karijesa. Naime, čisti zub obložen mastima otporniji je na djelovanje kiselina, a i na masnu podlogu teže se hvata plak. Ukoliko je plak već formiran, sloj masti sprječava redukciju ugljikohidrata na kiseline.(37) *In vitro* studije pokazale su da mlijeko i miječni proizvodi mogu smanjiti topljivost cakline, potaknuti remineralizaciju te spriječiti adheziju S. mutans na površinu zuba.(38)

Razmatrajući odnos između minerala unesenih hranom i oralnih bolesti, koncentracije kalcija i fosfora u zubnom plaku i slini mogu utjecati na ravnotežu između demineralizacije i remineralizacije cakline.(39) Neke studije otkrile su da ljudi s relativno visokim koncentracijama kalcija i fosfora u plaku rjeđe razvijaju karijes.(40) Otkriveno je, također, da je omjer Ca/P u prehrani direktno povezan s razvojem karijesa kod ljudi i da njihova vrijednost od 1,1 ili 1,2 pokazuje antikariogeni učinak. Stanton je zaključio i da bi omjer Ca/P mogao utjecati na enzimsku aktivnost oralnih bakterija.(41) Ipak, novije studije nisu pronašle značajnu povezanost između razvoja karijesa i omjera Ca/P.(42)

1.7 Tehnike određivanja kalcija i fosfora

Maseni udjeli kalcija i fosfora određuju se spektrometrijskim tehnikama. Spektrometrija obuhvaća veliki broj različitih tehnika kojima je primjenom elektromagnetskog zračenje (emz) moguće dobiti podatke o strukturi i koncentraciji ispitivane tvari. Zajednički princip svih spektrometrijskih tehnika zasniva se na interakciji elektromagnetskog zračenja i komponente koja se određuje pri čemu dolazi do prijelaza energije.

Dostupno je mnogo različitih spektroskopskih metoda, a one se razlikuju s obzirom na:

- vrstu tvari koja se analizira (atomska ili molekulska),
- vrstu interakcije zračenja i tvari koja se analizira (apsorpcijska, emisijska i luminiscencijska)
- područje spektra u kojem se odvija analiza.

Osnovni princip apsorpcijske spektrometrije zasniva se na propuštanju snopa elektromagnetskog zračenja (svjetla) kroz uzorak. Fotoni svjetla (UV i vidljivog) pobuđuju elektrone u vanjskoj ljusci čestice (atoma / molekule) koji prelaze u viši energetski nivo i pri tome apsorbiraju svjetlo.(43)

Prema Lamber-Beerovoj jednadžbi iz omjera početnog i konačnog intenziteta svjetlosti moguće je izračunati koncentraciju elementa koji se određuje.

$$A = \log I_o/I = a \times b \times c$$

A = Apsorbancija

I_o = Početni intenzitet svijetla

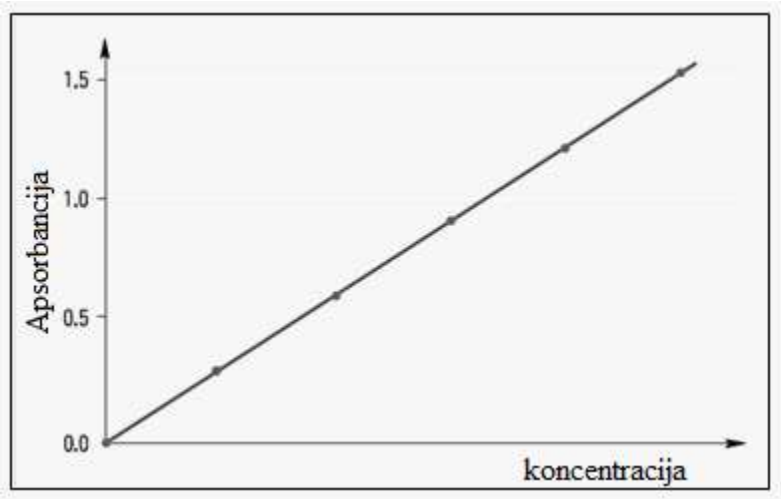
I = Konačni intenzitet svjetla (nakon prolaska kroz uzorak)

a = Konstanta proporcionalnosti

b = Duljina puta zračenja kroz uzorak

c = Koncentracija

Potrebno je izraditi kalibracijsku krivulju pomoću standardnih otopina poznatih koncentracija analita. Iz nje se odredi koncentracija ispitivanog elementa u uzorku.



Slika 3. Kalibracijski pravac

1.7.1 Mikrovalna razgradnja

Za određivanje metala potrebno je pripremiti homogen, tekući uzorak, oslobođen organske tvari. Najčešće se primjenjuje postupak mikrovalne digestije.

Osnovni princip mikrovalne digestije je razaranje organske tvari u prisutnosti oksidirajućih kiselina i prevođenje metala u topljive spojeve dostupne za analizu. Najčešće se kao oksidirajuća kiselina upotrebljava koncentrirana nitratna kiselina. U postupku se primjenjuje i vodikov peroksid koji je oksidirajuće sredstvo, smanjuje pare nitratne kiseline i ubrzava razgradnju organskih uzoraka podizanjem temperature.

Digestija tj. raščinjavanje uzoraka zubi provedeno je u mikrovalnoj peći, model CEM Mars 5, (USA) u teflonskim posudama XP-1500 Plus.



Slika 4. Mikrovalna peć za digestiju uzoraka CEM Mars 5,

sa setom teflonskih posuda za razaranje uzoraka (Izvor: Privatna arhiva)

1.7.2 Atomska apsorpcijska spektroskopija (AAS)

Atomska apsorpcijska spektroskopija (AAS) je jedna od najčešće primjenjivanih instrumentalnih tehnika kod određivanja koncentracije metala i metaloida.

Pripremljeni uzorak se u tekućem obliku unosi u instrument gdje on isparava i razgrađuje se uz nastajanje atomske pare – atomizacija. Kroz atomsku paru u kojoj se nalaze slobodni atomi u osnovnom (nepobuđenom) stanju propušta se snop svjetla određene valne duljine (monokromatska svjetlost) koja odgovara rezonantnoj liniji određenog elementa.

Ovisno o načinu atomizacije uzorka razlikuje se nekoliko tehnika AAS:

- Atomizacija u plamenu – plamena atomska apsorpcijska spektroskopija (FAAS)
- Elektrotermička atomizacija – grafitna elektrotermalna atomska spektroskopija (GFAAS)
- Atomizacija u induktivno spregnutoj plazmi – induktivno spregnuta plazma s masenom spektroskopijom (ICP-MS)

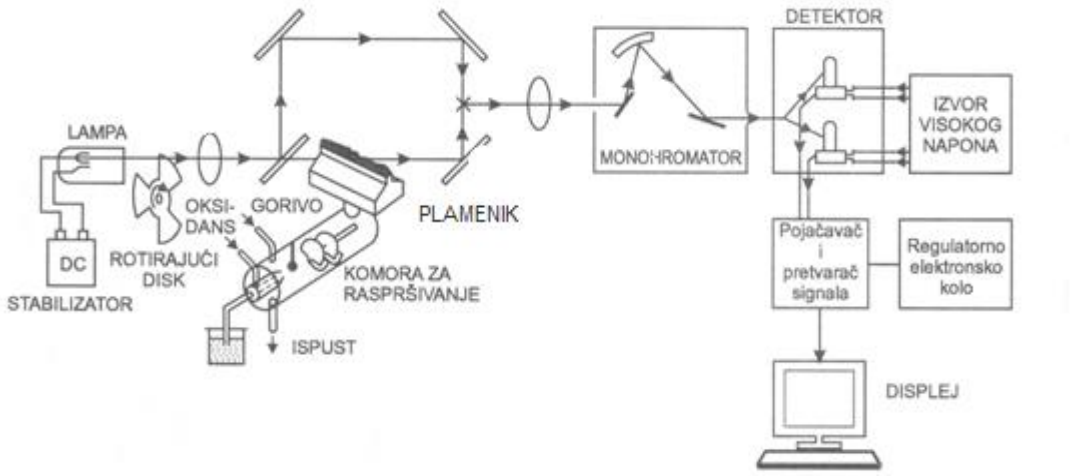
Plamena atomska apsorpcijska spektroskopija (FAAS)

Kod plamene atomske apsorpcijske spektroskopije atomizacija se postiže pomoću plamena. Tekući uzorak raspršuje se u oblik fine vodene pare i miješa se s plinovitim gorivom i oksidansom

koji ga nose u plamen. Otapalo ispari na samom dnu plamena, u takozvanom osnovnom području plamena, a čestice nastale tim isparavanjem nošene su u središnji, najtopliji dio plamena nazvan unutarnji stožac. U tom dijelu plamena prethodno fino raspodjeljene čvrste čestice prelaze u plinovite atome i elementne ione.(43)

Instrumentacijski sustav u atomskoj spektrometriji sastoji se od:

- emisijskog sustava koji emitira spektar karakterističan za element koji se određuje, najčešće žarulja sa šupljom katodom
- atomizera, tj. sustava koji uzorak prevodi u atomsku paru
- sustava spektralne selekcije (monokromatori, filtri)
- fotodetekcijskog i mjernog sustava (detektor, fotomultiplikator i dr.).



Slika 5. Shematski prikaz FAAS (Izvor: Privatna arhiva)

Primjenjuje se nekoliko kombinacija goriva i antioksidansa. Najčešća je kombinacija acetilen-zrak, međutim ona nije pogodna za aluminij, silicij, zemnoalkalijske elemente i vanadij jer oni tvore otporne okside koji se nepotpuno atomiziraju pri temperaturi 2200 - 2400°C. Za prethodno spomenute elemente kao oksidans se primjenjuje dušikov (I) oksid kako bi se postigle više temperature i time potpuna atomizacija uzorka.

1.7.3 Ultraljubičasta i vidljiva spektroskopija

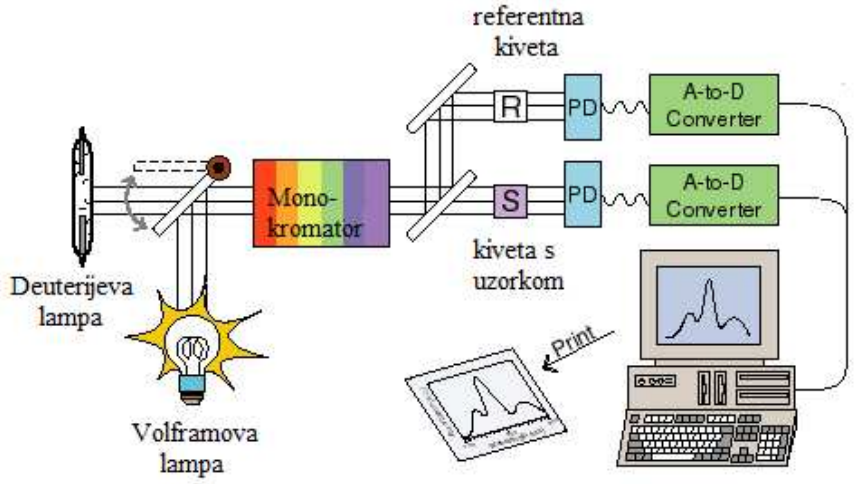
Ultraljubičasta i vidljiva spektroskopija je tehnika koja se zasniva na svojstvu molekula da apsorbiraju elektromagnetsko zračenje pri valnim duljinama ultraljubičastog i vidljivog područja.

Primjenjuje za kvantitativnu analizu, odnosno za utvrđivanje identiteta brojnih organskih i anorganskih vrsta. Za određivanje anorganskih spojeva češće se koristi vidljiva spektrofotometrija, a za ispitivanje organskih spojeva uglavnom se primjenjuje ultraljubičasta spektrofotometrija. UV VIS spektrofotometrija koristi se i za identifikaciju spojeva spojeva pomoću karakterističnih spektralnih linija.

Spektrofotometar je instrument koji mjeri transmisiju ili apsorbanciju uzorka kao funkciju valne duljine elektromagnetskog zračenja.

Glavni dijelovi spektrofotometra su:

- Izvor koji generira široko područje elektomagnetskog zračenja
- Disperzijski uređaj koji od širokog područja elektromagnetskog zračenja izvora odabire točno određene valne duljine (ili točnije valni pojas)
- Dio za uzorak
- Detektor koji mjeri intenzitet zračenja



Slika 6. Shematski prikaz UV VIS spektrofotometra (Izvor: Privatna arhiva)

2. CILJ

Cilj rada je bio odrediti koncentracije kalcija, fosfora i njihov međusobni odnos u uzorcima mliječnih i kariotičnih zubi, te utvrditi postoje li među njima razlike.

3. MATERIJAL I METODE

3.1 Uzorci

Uzorci zubi prikupljeni su u stomatološkoj poliklinici, vađeni radi zdravstvenih razloga (karijes ili mliječni zubi).

3.2 Priprema uzoraka

Uzorci zuba isprani su otopinom natrijeva hipoklorita i sušeni na sobnoj temperaturi. Kasnije su usitnjeni u sitne fragmente i dalje u sitnu prašinu. Uzorci su pohranjeni u sterilnim polipropilenskim epruvetama na 4-8 ° C do analize.

Mikrovalna digestija uzoraka:

U teflonsku posudu je izvagano približno 0,5 g uzorka i postepeno dodano 6 ml 65%-tne nitratne kiseline, a zatim 0,5 ml 30%-tne kloridne kiseline. Nakon sat vremena dodan je 1 ml 30%-tnog vodikova peroksida i uzorak je ostavljen 24 sata da reagira s kiselinom. Posude su hermetički zatvorene, postavljene u mikrovalnu peć gdje se digestija odvijala prema programu prikazanom u Tablici 1.

Tablica 1. Program digestije

Korak	*Snaga, W*	*% snage*	*Vrijeme podizanja tlaka, min*	*Vrijeme zadržavanja tlaka, min*	*Tlak, psi*	*Temp., °C*
1.	1600	75	10	/	100	180
2.	1600	75	/	5	100	180
3.	1600	75	8	/	150	210
4.	1600	75	/	5	150	210

Nakon završetka programa posude su ostavljene otvorene 24 sata kako bi se izgubile pare nitratne kiseline. Uzorci su preneseni u odmjerne tikvice od 50 ml koje su zatim nadopunjene ultračistom vodom do oznake. U pripremljenim uzorcima određena je koncentracija kalcija i fosfora.

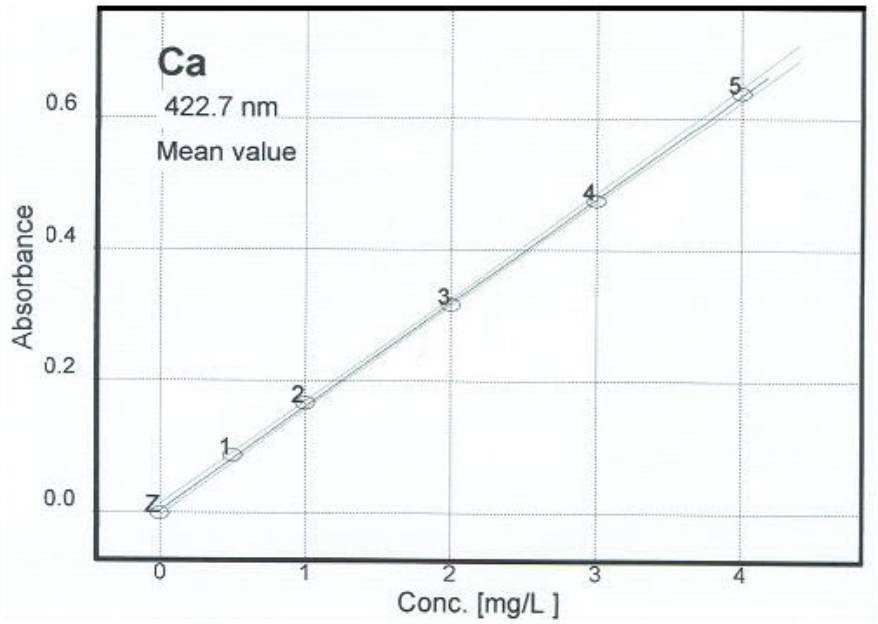
3.3 Određivanje masenog udjela kalcija

Koncentracija kalcija određena je plamenom apsorpcijskom spektrometrijom (FAAS) na atomskom apsorpcijskom spektrometru AnalytikJena AG, model AAS Vario 6.



Slika 7. Atomski apsorpcioni spektrofotometar AAS Vario 6, Analytik Jena.
(Izvor: Privatna arhiva)

Prije početka mjerenja pripremljena je standardna otopina kalcija kao i radne otopine kalcija pomoću kojih je izrađen kalibracijski pravac (slika 8.). Pri izradi kalibracijskog pravca korištene su radne koncentracije standarda kalcija i radni uvjeti prikazani u Tablici 2.



Slika 8. Kalibracijski pravac za kalcij; na apscisi su koncentracije radnih otopina standarda Ca, a na ordinati izmjerena apsorbancija

Tablica 2. Prikaz radnih uvjeta za određivanje masenog udjela kalcija

Izvor zračenja	Ca-HCL, (šuplja katodna lampa)
Valna duljina	422,7 nm
Radna struja lampe	3 Ma
Napon lampe	329 V
Širina pukotine	1,2 nm
Plamenik	50 mm
Visina plamenika	6 mm
Smjesa plinova u plameniku	C_2H_2/N_2O
Protok goriva (acetilen)	215 L/h
Protok oksidanta (N_2O)	400 L/h
Standardna otopina Ca	100 mg/L
Radne otopine za izradu kalibracijske krivulje (mg/L)	1; 2, 3, 4

3.4 Određivanje masenog udjela fosfora

Maseni udio fosfora određen je tehnikom UV VIS spektrofotometrije, metodom sa molibdenskim modrilom. Mjerenja su obavljena na UV VIS spektrofotometru Perkin Elmer Lambda 25, double beam, slika 9.



Slika 9. UV VIS spektrofotometar Perkin Elmer Lambda 25, double beam.
(Izvor: privatna arhiva)

Pri izradi kalibracijskog pravca korištene su radne koncentracije standarda fosfora i radni uvjeti prikazani u Tablici 3.

Tablica 3. Prikaz radnih uvjeta za određivanje koncentracije fosfora

Uređaj	Perkin Elmer Lambda 25, double beam
Izvor zračenja	Volframova lampa
Valna duljina	650 nm
Širina pukotine	1 nm
Duljina svjetlosnog puta kivete	1 cm
Standardna otopina P	0,1 g/L
Radne otopine P za izradu kalibracijske krivulje (mg/50 ml)	0,1; 0,2; 0,3; 0,5; 1,0

3.5 Izračun masenog udjela kalcija i fosfora

Formula prema kojoj je izračunat maseni udio kalcija i fosfora u uzorcima zubi je sljedeća:

$$C = \frac{A \times R}{B};$$

gdje je:

- ✓ C – maseni udio fosfora i kalcija u uzorku, u % (m/m)
- ✓ A – masa fosfora i kalcija očitana s baždarnog pravca, u miligramima (mg)
- ✓ B – masa uzorka za analizu, u gramima (g)
- ✓ R – razrijeđenje.

4. REZULTATI

Rezultati određivanja koncentracija kalcija i fosfora u uzorcima zubi prikazani su u Tablicama 4. i 5.

Tablica 4. Koncentracije kalcija, fosfora i njihov međusobni omjer u uzorcima mliječnih zubi

Oznaka uzorka	Ca (%)	P (%)	Ca/P
1	28,415	13,464	2,110
2	27,851	11,269	2,471
3	22,199	9,774	2,271
4	26,157	11,586	2,258
5	28,545	11,008	2,593
6	29,429	12,781	2,303
7	20,902	14,604	1,431
8	25,176	11,391	2,210
9	29,316	12,988	2,257
10	25,731	8,982	2,865

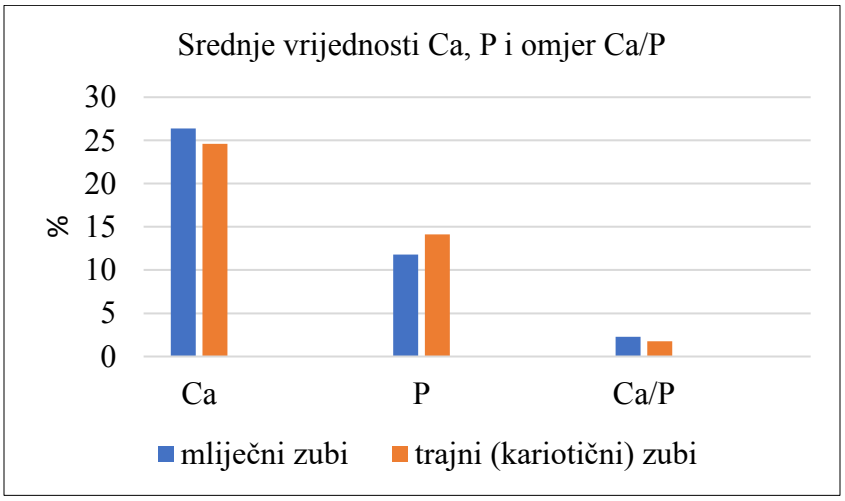
Tablica 5. Koncentracije kalcija, fosfora i njihov međusobni omjer u uzorcima kariotičnih zubi (trajnih zubi)

Oznaka uzorka	Ca (%)	P (%)	Ca/P
1	25,775	15,441	1,669
2	21,423	11,213	1,911
3	25,346	14,710	1,723
4	23,777	13,849	1,717
5	26,851	14,948	1,796
6	24,692	14,715	1,678
7	25,076	14,455	1,735
8	24,884	14,572	1,708
9	23,551	13,135	1,793
10	25,893	13,677	1,893

U tablici 6. prikazani su rezultati statističke obrade dobivenih vrijednosti rezultata za koncentracije kalcija, fosfora i omjer Ca/P. Tablica sadrži izračun sljedećih statističkih podataka: srednja vrijednost, standardna devijacija, medijan, minimum, maksimum.

Tablica 6. Statistički podaci za koncentracije Ca, P i omjere Ca/P u uzorcima zubi

	Mliječni zubi			**Kariotični zubi**		
	Ca	**P**	**Ca/P**	**Ca**	**P**	**Ca/P**
Srednja vrijednost	26,372	11,785	2,277	24,597	14,115	1,748
Standardna devijacija	2,799	1,618	0,351	1,460	1,199	0,071
Medijan	27,004	11,489	2,264	24,884	14,572	1,723
Minimum	20,902	8,982	1,431	21,423	11,213	1,669
Maksimum	29,429	14,604	2,865	26,851	15,441	1,911



Slika 10. Srednje vrijednosti koncentracija Ca, P i omjera Ca/P u uzorcima zubi

5. RASPRAVA

U radu je obrađeno 20 uzoraka zubi od čega je bilo 10 mliječnih zubi i 10 kariotičnih trajnih zubi. Cilj istraživanja je bio odrediti koncentraciju kalcija i fosfora te njihov međusobni odnos u spomenutim uzorcima s pretpostavkom da će kariotični zubi imati manju koncentraciju minerala zbog demineralizacijskog procesa koji se događa uslijed pojave karijesa.

Dobiveni maseni udjeli kalcija u mliječnim zubima kreću se od 20,902 % do 29,429 %, dok se isti u kariotičnim zubima kreće u rasponu od 21,423 % do 26,851 %. Srednja vrijednost kalcija u mliječnim zubima je 26,372 %, a u trajnim zubima je 24,597 % što ukazuje na manji postotak kalcija u uzorcima trajnih zubi (slika 10.). Ovakav rezultat je očekivan s obzirom na to da su ispitivani trajni zubi bili zahvaćeni karijesom (zbog čega su i izvađeni). Naime, poznato je da je propadanje zuba uzrokovano bakterijama koje proizvode kiseline tijekom metabolizma fermentabilnih ugljikohidrata uslijed čega dolazi do otapanja minerala zuba i time njihovog gubitka.(44) Arnold i Gaengler su zaključili da udio kalcija raste ovisno o stupnju mineralizacije, od predentina, preko mineralizirajućeg dentina do mineraliziranog dentina zuba u razvoju. Količina kalcija raste od predentina prema mineraliziranom dentinu.(45)

Dobiveni maseni udjeli fosfora u mliječnim zubima kreću se od 8,982 % do 14,604 %, dok se isti u kariotičnim zubima kreće od 11,213 % do 15,441 %. Srednja vrijednost fosfora u mliječnim zubima je 11,785 % dok je ta vrijednost u trajnim kariotičnim zubima 14,115 %. Naše istraživanje nije obuhvaćalo upitnik o prehrani ispitanika, a poznata je pozitivna korelacija između nezdrave prehrane i razvoja karijesa. Današnja prehrana obuhvaća različite vrste hrane koje sadrže aditive na bazi fosfora koji se značajno i brzo apsorbiraju čine ometaju apsorpciju kalcija. Popriličan udio nezdrave hrane zauzima konzumacija slatkih, gaziranih pića koje rutinski konzumira 20 % stanovništva SAD-a.(46) Spomenuta pića sadrže aromu, šećer (često u obliku kukuruznog sirupa s visokim udjelom fruktoze) i fosfornu kiselinu (daje „prepoznatljiv“ okus i djeluje kao konzervans). Budući da gazirana pića sadrže veliku količinu fosfata (jedan od najvećih izvora fosfora u ispitivanoj populaciji) s gotovo nimalo kalcija, velika količina fosfata vjerojatno će izvući kalcij iz zuba i olakšati eroziju cakline i time širenje kariogeneze.(47) Ispitivana populacija obuhvaćala je 8317 ispitanika dobi 9,99 ± 0,68 godina, a njihov prosječni dnevni unos šećera iznosio je 80 g, a prosječni dnevni unos fosfora 1,8 g. Pokazana je značajna povezanost unosa fosfora i propadanja zubi. Rezultati su također pokazali značajno visok postotak propadanja zubi u djece koja su konzumirala prehranu s malo šećera, ali s puno fosfora, u usporedbi s djecom koja

su konzumirala prehranu s malo šećera i malo fosfora.(48) Istraživanje provedeno u sjeveroistočnom Ohiju 2013. godine pokazalo je da 44 % najprodavanijih proizvoda prehrambenih proizvoda sadrži aditive fosfora. Aditivi su bili posebno česti u pripremljenoj smrznutoj hrani (72 %), mješavinama suhe hrane (70 %), pakiranom mesu (65 %), kruhu i pecivima (57 %), juhi (54 %) i jogurtu (51 %). Također, hrana bogata fosforom jeftinija je od hrane bez dodataka fosfora.(49)

Rezultati ovih istraživanja ne mogu se direktno primijeniti na rezultate u ovom radu, ali u njima se mogu pronaći mogući uzroci rezultata kao takvih. Naime, u razvijenim zemljama (uključujući i Republiku Hrvatsku), preporučeni unos fosfora prehranom je 800 mg dnevno, dok se u stvarnosti unos fosfora kreće od 1 do 1,4 g dnevno.(50)

Dobiveni omjer Ca/P (slika 10.) je niži u uzorcima trajnih kariotičnih zubi nego u uzorcima mliječnih zubi što je bilo i za očekivati s obzirom na proces demineralizacije koji se događa uslijed karijesa.

Zaključno, nedostatak nekih minerala u zubnom tkivu može utjecati na sadržaj drugih minerala i rezultirati većom ranjivošću zuba na karijes i druge patološke agense.(51)

6. ZAKLJUČCI

1. Istraživanjem je utvrđeno da je plamena apsorpcijska spektrometrija selektivna metoda za određivanje kalcija.
2. Istraživanjem je utvrđeno da je UV VIS spektrofotometrija selektivna metoda za određivanje fosfora.
3. Istraživanje je pokazalo da je maseni udio kalcija viši u mliječnom zubima nego u trajnim zubima zahvaćenim karijesom.
4. Istraživanje je pokazalo da je maseni udio fosfora viši u trajnim zubima zahvaćenim karijesom nego u mliječnim zubima.
5. Istraživanje je pokazalo da je omjer Ca/P viši u mliječnim zubima nego u trajnim zubima zahvaćenim karijesom.
6. Dobiveni rezultati ukazuju na moguću povezanost pojave karijesa sa mineralnim sastavom zubi, posebno Ca i P, što otvara mogućnost daljnjeg istraživanja.

7. POPIS CITIRANE LITERATURE

1. Musculoskeletal system. U: Gray's anatomy. 39. izd. New York: Elsevier; 2004. str. 83–135.

2. Bajek S. Koštani sustav. U: Sustavna anatomija. Rijeka: Digital point tiskara d.o.o.; 2007. str. 7-45.

3. Taichman RS. Blood and bone: two tissues whose fates are intertwined to create the hematopoietic stem-cell niche. Blood. 01. travanj 2005.;105(7):2631–9.

4. Keros P, Matković B. Anatomija i fiziologija. Naklada Ljevak; 2006.

5. Morris AL, Tadi P. Anatomy, Head and Neck, Teeth. U: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2020 [citirano 12. listopad 2020.]. Dostupno na: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK557543/

6. Fabbri G, Cannistraro G, Pulcini C, Sorrentino R. The full-mouth mock-up: a dynamic diagnostic approach (DDA) to test function and esthetics in complex rehabilitations with increased vertical dimension of occlusion. Int J Esthet Dent. 2018.;13(4):460–74.

7. Relevance of the Implementation of Teeth in Three-Dimensional Vocal Tract Models | Journal of Speech, Language, and Hearing Research [Internet]. [citirano 12. listopad 2020.]. Dostupno na: https://pubs.asha.org/doi/abs/10.1044/2017_JSLHR-S-16-0395

8. Marić I. Probavni sustav. U: Sustavna anatomija čovjeka. Rijeka: Digital point tiskara d.o.o.; 2007. str. 129-144.

9. Lynch RJM. The primary and mixed dentition, post-eruptive enamel maturation and dental caries: a review. Int Dent J. 2013.;63(s2):3–13.

10. Sve o zubima: Imena, vrste i brojevi zuba - artDENTAL [Internet]. [citirano 16. listopad 2020.]. Dostupno na: https://www.artdental.hr/sve-o-zubima/

11. Zimmerman B, Jenzer AC. Physiology, Tooth. U: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2020 [citirano 16. listopad 2020.]. Dostupno na: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK538475/

12. Ungar PS. Tooth form and function: insights into adaptation through the analysis of dental microwear. Front Oral Biol. 2009.;13:38–43.

13. The Anatomy Of A Tooth In Four Parts [Internet]. Arc Dental. 2018 [citirano 16. listopad 2020.]. Dostupno na: https://arcdentalhouston.com/the-anatomy-of-a-tooth-in-four-parts/

14. Sierpinska T, Orywal K, Kuc J, Golebiewska M, Szmitkowski M. Enamel mineral content in patients with severe tooth wear. Int J Prosthodont. listopad 2013.;26(5):423–8.

15. Simmer JP, Fincham AG. Molecular mechanisms of dental enamel formation. Crit Rev Oral Biol Med Off Publ Am Assoc Oral Biol. 1995.;6(2):84–108.

16. Sa Y, Liang S, Ma X, Lu S, Wang Z, Jiang T, i ostali. Compositional, structural and mechanical comparisons of normal enamel and hypomaturation enamel. Acta Biomater. prosinac 2014.;10(12):5169–77.

17. Bertassoni LE. Dentin on The Nanoscale: Hierarchical Organization, Mechanical Behavior and Bioinspired Engineering. Dent Mater Off Publ Acad Dent Mater. lipanj 2017.;33(6):637–49.

18. Goldberg M, Kulkarni AB, Young M, Boskey A. Dentin: Structure, Composition and Mineralization. Front Biosci Elite Ed. 01. siječanj 2011.;3:711–35.

19. Cementum | tooth [Internet]. Encyclopedia Britannica. [citirano 19. listopad 2020.]. Dostupno na: https://www.britannica.com/science/cementum

20. Sejdini M, Meqa K, Berisha N, Çitaku E, Aliu N, Krasniqi S, i ostali. The Effect of Ca and Mg Concentrations and Quantity and Their Correlation with Caries Intensity in School-Age Children. Int J Dent. 2018.;2018:2759040.

21. Staničić T. Kemijski sastav tvrdih zubnih tkiva. U: Patologija i terapija tvrdih zubnih tkiva. Zagreb: Naklada Zadro; 1994. str. 12-24.

22. Abou Neel EA, Aljabo A, Strange A, Ibrahim S, Coathup M, Young AM, i ostali. Demineralization–remineralization dynamics in teeth and bone. Int J Nanomedicine. 19. rujan 2016.;11:4743–63.

23. Rao A, Malhotra N. The role of remineralizing agents in dentistry: A review. Compend Contin Educ Dent 2011 Jamesburg NJ 1995. 17. travanj 2013.;32:26–33; quiz 34, 36.

24. Lin H-S, Lin J-R, Hu S-W, Kuo H-C, Yang Y-H. Association of dietary calcium, phosphorus, and magnesium intake with caries status among schoolchildren. Kaohsiung J Med Sci. travanj 2014.;30(4):206–12.

25. Moynihan P. The interrelationship between diet and oral health. Proc Nutr Soc. studeni 2005.;64(4):571–80.

26. Marshall TA, Levy SM, Broffitt B, Warren JJ, Eichenberger-Gilmore JM, Burns TL, i ostali. Dental caries and beverage consumption in young children. Pediatrics. rujan 2003.;112(3 Pt 1):e184-191.

27. Caufield PW, Griffen AL. Dental caries. An infectious and transmissible disease. Pediatr Clin North Am. listopad 2000.;47(5):1001–19, v.

28. Douglass JM, Douglass AB, Silk HJ. A practical guide to infant oral health. Am Fam Physician. 01. prosinac 2004.;70(11):2113–20.

29. Shellis RP, Finke M, Eisenburger M, Parker DM, Addy M. Relationship between enamel erosion and liquid flow rate. Eur J Oral Sci. lipanj 2005.;113(3):232–8.

30. Hardie JM. The microbiology of dental caries. Dent Update. svibanj 1982.;9(4):199–200, 202–4, 206–8.

31. Nurelhuda NM, Al-Haroni M, Trovik TA, Bakken V. Caries experience and quantification of Streptococcus mutans and Streptococcus sobrinus in saliva of Sudanese schoolchildren. Caries Res. 2010.;44(4):402–7.

32. Loesche WJ. Nutrition and dental decay in infants. Am J Clin Nutr. 1985.;41(2 Suppl):423–35.

33. König KG. Diet and oral health. Int Dent J. lipanj 2000.;50(3):162–74.

34. Lingström P, van Houte J, Kashket S. Food starches and dental caries. Crit Rev Oral Biol Med Off Publ Am Assoc Oral Biol. 2000.;11(3):366–80.

35. Touger-Decker R, van Loveren C. Sugars and dental caries. Am J Clin Nutr. 2003.;78:881–92.

36. Gustafsson BE, Quensel CE, Lanke LS, Lundqvist C, Grahnen H, Bonow BE, i ostali. The Vipeholm dental caries study; the effect of different levels of carbohydrate intake on caries activity in 436 individuals observed for five years. Acta Odontol Scand. rujan 1954.;11(3–4):232–64.

37. Valentak L, Najžar-Fleger D, Rajić Z. Utjecaj prehrane i prehrambenih navika na karijes. Acta Stomatol Croat. 1995.;29:41–6.

38. Bibby BG, Huang CT, Zero D, Mundorff SA, Little MF. Protective effect of milk against in vitro caries. J Dent Res. listopad 1980.;59(10):1565–70.

39. Yoshihara A, Watanabe R, Hanada N, Miyazaki H. A longitudinal study of the relationship between diet intake and dental caries and periodontal disease in elderly Japanese subjects. Gerodontology. lipanj 2009.;26(2):130–6.

40. Wilson RF, Ashley FP. The relationship between the biochemical composition of dental plaque from both approximal and free smooth surfaces of teeth and subsequent 3-year caries increment in adolescents. Arch Oral Biol. 01. siječanj 1990.;35(12):933–7.

41. Stanton G. Diet and dental caries. The phospate sesquestration hypothesis. N Y State Dent J. 1969.;35:399–407.

42. Rugg-Gunn AJ, Hackett AF, Appleton DR, Eastoe JE, Jenkins GN. Correlations of Dietary Intakes of Calcium, Phosphorus and Ca/P Ratio with Caries Data in Children (Short Communication). Caries Res. 1984.;18(2):149–52.

43. Skoog FJ, Holler FJ, Crouch SR. Principles of Instrumental Analysis. 6th izd. Thomson Brooks/Cole, urednik. 2007. 215-230. str.

44. Featherstone JDB. Dental caries: a dynamic disease process. Aust Dent J. rujan 2008.;53(3):286–91.

45. Arnold WH, Gaengler P. Quantitative analysis of the calcium and phosphorus content of developing and permanent human teeth. Ann Anat Anat Anz Off Organ Anat Ges. 2007.;189(2):183–90.

46. Fakhouri THI, Kit BK, Ogden CL. Consumption of diet drinks in the United States, 2009–2010. NCHS Data Brief. listopad 2012.;(109):1–8.

47. Ehlen LA, Marshall TA, Qian F, Wefel JS, Warren JJ. Acidic beverages increase the risk of in vitro tooth erosion. Nutr Res. 01. svibanj 2008.;28(5):299–303.

48. Goodson J, Shi P, Mumena C, Haq A, Razzaque M. Dietary phosphorus burden increases cariogenesis independent of vitamin D uptake. J Steroid Biochem Mol Biol. 03. studeni 2016.;30289–8.

49. León JB, Sullivan CM, Sehgal AR. The Prevalence of Phosphorus Containing Food Additives in Top Selling Foods in Grocery Stores. J Ren Nutr Off J Counc Ren Nutr Natl Kidney Found. srpanj 2013.;23(4):265-270.e2.

50. Bašić-Jukić N, Pavlović D, Šmalcelj R, Tomić-Brzac H, Orlić L, Radić J, i ostali. SMJERNICE ZA PREVENCIJU, PRAĆENJE I LIJEČENJE POREMEĆAJA KOŠTANO-MINERALNOG METABOLIZMA U BOLESNIKA S KRONIČNOM BUBREŽNOM BOLESTI. Liječnički Vjesn. 30. lipanj 2016.;138(5–6):0–0.

51. Klimuszko E, Orywal K, Sierpinska T, Sidun J, Golebiewska M. Evaluation of calcium and magnesium contents in tooth enamel without any pathological changes: in vitro preliminary study. Odontology. 19. ožujak 2018.;106.

8. SAŽETAK

Naslov: Određivanje koncentracije kalcija i fosfora u uzorcima zuba

Cilj: Cilj istraživanja je odrediti koncentracije kalcija, fosfora i njhov međusobni odnos u uzorcima mliječnih i kariotičnih zubi.

Materijal i metode: Istraživanje je provedeno na zubima prikupljenim u stomatološkoj poliklinici. Prikupljeni zubi su mliječni zubi i trajni zubi zahvaćeni karijesom. Koncentracija kalcija je određena plamenom apsorpcijskom spektrometrijom (FAAS) na atomskom apsorpcijskom spektrometru AnalytikJena AG, model AAS Vario 6. Koncentracija fosfora je određena UV VIS spektrofotometrijom, na UV VIS spektrofotometru Perkin Elmer Lambda 25, double beam.

Rezultati: Istraživanje je provedeno na 20 zubi: 10 mliječnih i 10 trajnih (kariotičnih) zubi. Srednja vrijednost kalcija u mliječnim zubima je 26,372 %, a srednja vrijednost kalcija u uzorcima trajnih zubi je 24,597 %. Srednja vrijednost fosfora u mliječnim zubima je 11,785 % a srednja vrijednost fosfora u trajnim zubima 14,115 %. Omjer Ca/P je 2,277 u mliječnim zubima, a u trajnim zubima omjer Ca/P je 1,748.

Zaključak: Istraživanjem je utvrđeno da je koncentracija kalcija niža u uzorcima trajnih (kariotičnih) zubi, koncentracija fosfora viša u uzorcima trajnih (kariotičnih) zubi te da je omjer Ca/P niži u uzorcima trajnih (kariotičnih) zubi u odnosu na mliječne zube. Dobiveni rezultati ukazuju na potrebu za daljnim istraživanjem s obzirom da ne postoji velik broj ispitivanja ove tematike.

9. SUMMARY

Diploma Thesis Title: Determination of calcium and phosphorus concentration in teeth samples

Objectives: The aim of the research is to determine the concentrations of calcium, phosphorus and their interrelationship in samples of primary and permanent teeth affected by caries.

Material and methods: The study was conducted on teeth collected at a dental clinic. Collected teeth are primary teeth and permanent teeth affected by caries. Calcium concentration was determined by flame absorption spectrometry (FAAS) on an atomic absorption spectrometer AnalytikJena AG, model AAS Vario 6. Phosphorus concentration was determined by UV VIS spectrophotometry, on a UV VIS spectrophotometer Perkin Elmer Lambda 25, double beam.

Results: The study was conducted on 20 teeth: 10 deciduous and 10 permanent (karyotic) teeth. The mean value of calcium in primary teeth is 26.372%, and the mean value of calcium in samples of permanent teeth is 24.597%. The mean value of phosphorus in primary teeth is 11.785% and the mean value of phosphorus in permanent teeth is 14.115%. The Ca / P ratio is 2.277 in primary teeth and the Ca / P ratio in permanent teeth is 1.748.

Conclusion: The study found that the concentration of calcium is lower in samples of permanent (karyotic) teeth, the concentration of phosphorus is higher in samples of permanent (karyotic) teeth and that the Ca / P ratio is lower in samples of permanent (karyotic) teeth compared to primary teeth. The obtained results indicate the need for further research since there is not a large number of studies on this topic.

10. ŽIVOTOPIS

OSOBNI PODACI:

Ime i prezime: Antonela Galić

Datum rođenja: 21. rujna 1996.

Mjesto rođenja: Split

Državljanstvo: hrvatsko

Adresa stanovanja: Omiška 3, 21000 Split

Mobitel: 099 826 0186

E-adresa: antonela.galic123@gmail.com

OBRAZOVANJE:

2003.-2011. Osnovna škola „Lučac“, Split

2011.-2015. III. Gimnazija (MIOC), Split

2015.-2020. Sveučilište u Splitu, Kemijsko-tehnološki fakultet i Medicinski fakultet, smjer Farmacija (fakultet)

STRUČNO OSPOSOBLJAVANJE:

Od svibnja do rujna 2020. Ljekarne Splitsko-dalmatinske županije; ljekarna „Lučac“

POSEBNE VJEŠTINE:

Strani jezici: engleski jezik (aktivno)

Rad na računalu: MS Office, Eskulap 2000

Vozačka dozvola: B kategorija

AKTIVNOSTI:

Stipendistica grada Splita za izvrsnost 2017./2018. i 2019./2020. godine

Članica Udruge studenata farmacije i medicinske biokemije (CPSA) u sklopu koje sam sudjelovala u organizaciji humanitarnih događaja i međunarodnih obilježavanja