Utvrđivanje prisutnosti glutena u različitim sortama riže ELISA metodom

Gulin, Mihaela

Master's thesis / Diplomski rad

2020

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, Faculty of Food Technology and Biotechnology / Sveučilište u Zagrebu, Prehrambeno-biotehnološki fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:159:438954

Rights / Prava: Attribution-NoDerivatives 4.0 International/Imenovanje-Bez prerada 4.0 međunarodna

Download date / Datum preuzimanja: **2024-03-29**

prehrambeno biotehnološki fakultet

Repository / Repozitorij:

Repository of the Faculty of Food Technology and Biotechnology

zir.nsk.hr

DIGITALNI AKADEMSKI ARHIVI I REPOZITORIJI

SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
PREHRAMBENO-BIOTEHNOLOŠKI FAKULTET

DIPLOMSKI RAD

Zagreb, rujan 2020.

Mihaela Gulin
1204/N

UTVRĐIVANJE PRISUTNOSTI GLUTENA U RAZLIČITIM SORTAMA RIŽE ELISA METODOM

Rad je izrađen u Laboratoriju za kemiju i biokemiju hrane na Zavodu za poznavanje i kontrolu sirovina i prehrambenih proizvoda Prehrambeno-biotehnološkog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu pod mentorstvom doc.dr.sc. Martine Bituh, Prehrambeno-biotehnološkog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu.

ZAHVALA

Zahvaljujem svojoj mentorici doc. dr. sc. Martini Bituh koja je svojim znanjem i iskustvom oblikovala ideju i pomogla mi u izradi ovog diplomskog rada. Zahvaljujem joj na susretljivosti, srdačnosti i angažiranosti te pristupačnosti tijekom izrade rada.

Zahvaljujem udruzi CeliVita – Život s celijakijom na stručnoj pomoći tijekom izrade ovog rada te svim njezinim članovima koji su ispunili Upitnike.

Zahvaljujem svojim dragim prijateljima i prijateljima kolegama koji su bili prisutni u svim fakultetskim trenucima i uz koje je svaki trenutak bio poseban. Hvala vam na svim iskustvima i razgovorima.

Zahvaljujem Mariju na svakodnevnoj potpori i strpljenju tijekom učenja i pisanja diplomskog rada.

Zahvaljujem svojim roditeljima na pruženom povjerenju, razumijevanju i ljubavi tijekom studiranja te mlađem bratu Marinu i sestri Mili. Posebno zahvaljujem svojoj mami na svakom motivacijskom razgovoru i podršci tijekom studiranja. Zahvaljujem i članovima šire obitelji koji su mi, kada god je to bilo potrebno, uvijek pomogli.

Veliko hvala svima!

TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

Diplomski rad

Sveučilište u Zagrebu
Prehrambeno-biotehnološki fakultet
Zavod za poznavanje i kontrolu sirovina i prehrambenih proizvoda
Laboratorij za kemiju i biokemiju hrane

Znanstveno podrucje: Biotehničke znanosti
Znanstveno polje: Nutricionizam

UTVRĐIVANJE PRISUTNOSTI GLUTENA U RAZLIČITIM SORTAMA RIŽE ELISA METODOM

Mihaela Gulin, 1204/N

Sažetak: *Pojedinci iz zdravstvenih razloga provode striktno bezglutensku prehranu pri čemu iz prehrane isključuju dio žitarica. Prehranu temelje na žitaricama koje prirodno ne sadrže gluten, poput riže, ali potencijalna mogućnost kontaminacije glutenom predstavlja rizik za njihovo zdravlje. Cilj ovoga rada bio je utvrditi je li riža s hrvatskog tržišta kontaminirana glutenom te odrediti učestalost unosa riže kod pojedinaca koji provode bezglutensku prehranu te njihove stavove, mišljenja i informiranost o glutenu. U istraživanju je sudjelovalo 66 ispitanika koji provode bezglutensku prehranu koji su online putem ispunili Upitnik o učestalosti konzumacije žitarica i proizvoda od žitarica (FFQ) te Upitnik o informiranosti, stavovima i mišljenju o glutenu. ELISA metodom određena je koncentracija glutena u 41 uzorku riže. Rezultati pokazuju kako je riža najčešće konzumirana žitarica među ispitanicima te kako tek 14 % ispitanika smatra rižu na hrvatskom tržištu kontaminiranom. Svi analizirani uzorci riže (n=41) nisu kontaminirani glutenom te su sigurni za konzumaciju oboljelim pojedincima.*

Ključne riječi: *celijakija; gluten; kontaminacija; riža*

Rad sadrži: 61 stranica, 30 slika, 1 tablica, 119 literaturnih navoda

Jezik izvornika: hrvatski

Rad je u tiskanom i elektroničkom (pdf format) obliku pohranjen u: Knjižnica Prehrambeno-biotehnološkog fakulteta, Kačićeva 23, Zagreb

Mentor: *Doc.dr.sc. Martina Bituh*

Stručno povjerenstvo za ocjenu i obranu:
1. Prof.dr.sc. *Nada Vahčić*
2. Doc.dr.sc. *Martina Bituh*
3. Prof.dr.sc. *Ines Panjkota Krbavčić*
4. Prof.dr.sc. *Ksenija Marković*

Datum obrane: 30. rujna 2020.

BASIC DOCUMENTATION CARD

Graduate Thesis

University of Zagreb
Faculty of Food Technology and Biotechnology
Department of Food Quality Control
Laboratory for Food Chemistry and Biochemistry

Scientific area: Biotechnical Sciences
Scientific field: Nutrition

DETERMINATION OF GLUTEN PRESENCE IN DIFFERENT RICE VARIETIES BY ELISA METHOD

Mihaela Gulin, 1204/N

Abstract: *Due to their health, individuals follow a strictly gluten-free diet, excluding a part of cereals from their diet. Their diet is based on grains that do not naturally contain gluten, such as rice, but the potential for gluten contamination poses a risk to their health. The aim of this study was to determine whether rice from the Croatian market is contaminated with gluten and to determine the frequency of rice intake in individuals who follow a gluten-free diet and their attitudes, opinions and information about gluten. The study involved 66 respondents who follow a gluten-free diet who completed the online Food frequency questionnaire for the grains and grain products and the Questionnaire on information, attitudes and opinions about gluten. The concentration of gluten in 41 rice samples was determined by ELISA. The results show that rice is the most commonly consumed grain among respondents, as 14% of respondents consider rice on the Croatian market contaminated. All analyzed rice samples (n = 41) were not gluten contaminated which means they are safe for consumption by diseased individuals.*

Keywords: *celiac disease; contamination; gluten; rice*

Thesis contains: 61 pages, 30 figures, 1 table, 119 references

Original in: Croatian

Graduate Thesis in printed and electronic (pdf format**) version is deposited in:** Library of the Faculty of Food Technology and Biotechnology**,** Kačićeva 23, Zagreb.

Mentor: *PhD. Martina Bituh, Assistant professor*

Reviewers:
1. PhD. *Nada Vahčić,* Full professor
2. PhD. *Martina Bituh,* Assistant professor
3. PhD. *Ines Panjkota Krbavčić,* Full professor
4. PhD. *Ksenija Marković,* Full professor

Thesis defended: 30 September 2020

SADRŽAJ

1. UVOD 1

2. TEORIJSKI DIO 2

2.1. GLUTEN 2
2.1.1. Izvori glutena 3
2.2. POREMEĆAJI POVEZANI S GLUTENOM 3
2.2.1. Autoimuni poremećaji 3
2.2.2. Alergijski poremećaji 4
2.2.3. Ostali poremećaji 4
2.3. BEZGLUTENSKA PREHRANA 4
2.3.1. Direktiva Europske Unije 4
2.3.2. Temeljne odrednice bezglutenske prehrane 5
2.4. BEZGLUTENSKI PROIZVODI 6
2.5. NUTRITIVNI PROFIL BEZGLUTENSKE PREHRANE 7
2.5.1. Makronutrijenti u bezglutenskoj prehrani 9
2.5.2. Mikronutrijenti u bezglutenskoj prehrani 10
2.6. BEZGLUTENSKA PREHRANA I ZDRAVLJE 11
2.7. OSTALI ASPEKTI BEZGLUTENSKE PREHRANE 12
2.8. KONTAMINACIJA GLUTENOM 13
2.9. METODE ODREĐIVANJA GLUTENA U HRANI 16
2.9.1. Metoda ELISA 17

3. EKSPERIMENTALNI DIO 19

3.1. ISPITANICI I MATERIJALI 19
3.1.1. Ispitanici 19
3.1.2. Uzorci 19
3.1.3. Kemikalije 21
3.2. METODE RADA 23
3.2.1. Upitnik o informiranosti, stavovima i mišljenju o glutenu 23
3.2.2. Upitnik o učestalosti konzumiranja hrane (FFQ) 23
3.2.3. ELISA METODA ZA ODREĐIVANJE GLUTENA 24
3.2.4. Statistička obrada rezultata 27

4. REZULTATI I RASPRAVA 27

4.1. UČESTALOST KONZUMACIJE ŽITARICA I PROIZVODA OD ŽITARICA, FFQ 28
4.2. UPITNIK O INFORMIRANOSTI, STAVOVIMA I MIŠLJENJU 38
4.3. PRISUTNOST GLUTENA U RIŽI 42

5. ZAKLJUČAK 49

6. LITERATURA 50

1. UVOD

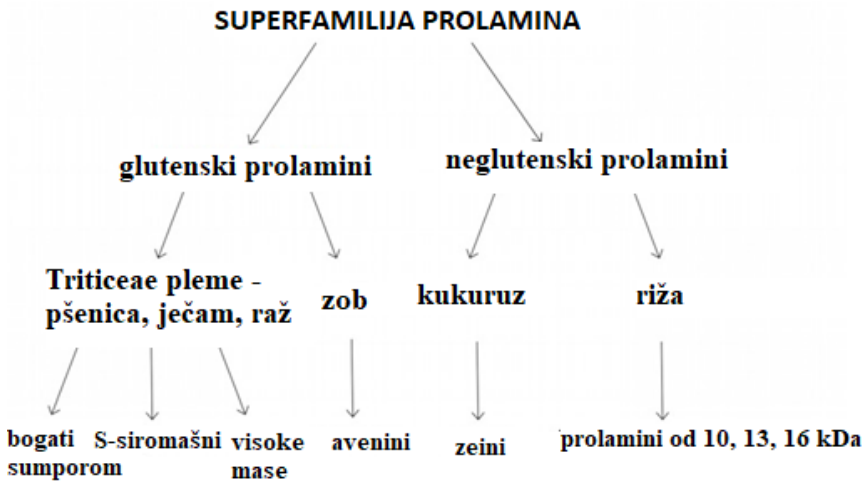
Gluten se prirodno nalazi u žitaricama pšenici, ječmu, raži, piru, kamutu, zobi i pšenoraži te u proizvodima od tih žitarica. Unos glutena kod nekih pojedinaca rezultira zdravstvenim tegobama, stoga moraju provoditi striktno bezglutensku prehranu. Oboljenja povezana s glutenom mogu biti alergijska i autoimuna te necelijakijska osjetljivost na gluten. Bez obzira o kojem obliku oboljenja se radi bezglutenska prehrana je cjeloživotni tretman ovih bolesti i jedini zasada poznat kao takav. Ona isključuje sve ranije navedene proizvode te iako se čini jednostavnom, odbacivanjem jednog broja namirnica može doći do neadekvatnog unosa nutrijenata među pojedincima koji provode ovakvu prehranu (Schuppan i Zimmer, 2013; Missbach i sur., 2015). Također, među pojedincima se javljaju teškoće prepoznavanja bezglutenskih proizvoda, slaba upoznatost s velikim razlikama u cijeni naspram konvencionalnih proizvoda te socijalna izolacija s kojom se susreću (Abu-Janb i Jaana, 2020). Pojedinci koji provode striktno bezglutensku prehranu, unos ugljikohidrata baziraju na žitaricama koje prirodno ne sadrže gluten, poput riže, kukuruza, amaranta i prosa. Ove žitarice su sirovina za proizvode poput brašna, kruha, žitnih pločica, tjestenine i slično (Woomer i Adedeji, 2020). Postoji mogućnost kontaminacije proizvoda od žitarica koje prirodno ne sadrže gluten, a doprinose raznolikosti prehrane oboljelih pojedinaca. Upravo zbog toga, od velike važnosti je otkloniti sumnje na tu mogućnost.

Cilj ovoga istraživanja je pomoću ELISA metode analizirati uzorke riže s hrvatskog tržišta te utvrditi je li riža s hrvatskog tržišta kontaminirana glutenom. Također, u ovom radu će se, putem FFQ-a, odrediti učestalost unosa žitarica i proizvoda od žitarica kod pojedinaca koje provode bezglutensku prehranu. Konačno, pomoću dodatnog Upitnika, analizirat će se informiranost, stavovi i mišljenja pojedinaca koje provode bezglutensku prehranu.

2. TEORIJSKI DIO

2.1. GLUTEN

Gluten je smjesa proteina u kojoj prevladavaju proteini glutenin i glijadin, koji pripadaju skupini prolamina. Glutenini su netopljivi, a glijadini topljivi u etanolu (Biesiekierski, 2017). Prolamin glijadin se nalazi u pšenici dok su u raži, ječmu i zobi prisutni redom prolamini sekalin, hordein, avenin (Elli i sur., 2016). Prolamini se dijele prema sljedećim karakteristikama: skupina prolamina bogatih sumporom, prolamini siromašni sumporom te prolamini visoke molekulske mase. Proteini i polipeptidi koji sadrže navedene grupe, imaju sličnu strukturu koja uključuje signalni peptid, neponavljajuće N - terminalno područje, neponavljajuće C – terminalno područje i dugo središnje ponavljajuće područje. Prolaminima pripadaju i zob, riža i kukuruz (Balakireva i Zamyatnin, 2016) (slika 1).



Slika 1. Sastav superfamilije prolamina (Balakireva i Zamyatnin, 2016)

Glijadini su monomeri klasificirani u četiri grupe, α, β, γ, ω, dok su glutenini polimerni agregirani proteini povezani disulfidnim vezama koje imaju važnu ulogu u definiranju strukture i svojstava glutena (Wieser, 2007). U aminokiselinskom profilu prevladavaju glutamin (30 %) i prolin (15 %) (Schumann i sur., 2017). U gastrointestinalnom sustavu pojedinih osoba je ograničena proteoliza glutena, što za posljedicu donosi razne zdravstvene tegobe. Glijadin i glutenin sadrže područja bogata prolinom koji je visoko otporan na proteolizu u tankom crijevu (Stamnaes i Sollid, 2015). Uslijed deaminacije glutaminskih ostataka transglutaminazom, povećava se njihov afinitet prema humanom leukocitnom antigenu (HLA)-DQ2 (Mejias i sur.,

2014). Važno reološko svojstvo glutena je visoka elastičnost koju daje proizvodima poput tjestenine, kruha, slastičarskih proizvoda i slično (Colgrave i sur., 2017). Prolin, zbog svoje hidrofobnosti i veličine, daje viskoznost tijestu i omogućava mu poželjan rast (Kucek i sur., 2016). Reološka i funkcionalna svojstva glutena ovise o omjeru glutenina i glijadina i njihovoj interakciji. Glijadini će povoljno utjecati više na viskoznost i rastezljivost tijesta, dok će glutenini povoljno utjecati na elastičnost i čvrstoću tijesta (Biesiekierski, 2017).

2.1.1. Izvori glutena

Gluten se nalazi u proizvodima od durum pšenice (*Triticum durum*), obične pšenice (*Triticum aestivum*), raži (*Secale cereale*), ječma (*Hordeum vulgare*), pira, kostanske pšenice, tritikale, hibridu raži i obične pšenice. Osim navedenih, pšenični derivati koji sadrže gluten su bulgur i seitan (Elli i sur., 2016). Primjerice, proizvodi od navedenih sirovina uključuju tjesteninu, kolače, biskvite, kekse (Biesiekierski, 2017).
Gluten je prisutan i u proizvodima kao što su procesirano meso, juhe, vegetarijanski proizvodi, modificirani plodovi mora (Biesikierski, 2017) te u „ready to eat“ proizvodima zbog svojstava glutena koja modificiraju njihovu teksturu. Također, može biti prisutan u proizvodima kao zamjena za proteine animalnog porijekla da bi proizvođači smanjili troškove proizvodnje (Lee i sur., 2014). Uslijed kontaminacije, gluten se može naći i u proizvodima koji ga prirodno ne sadrže, primjerice riži, kvinoji, heljdi, prosu (Bustamante i sur., 2017).

2.2. POREMEĆAJI POVEZANI S GLUTENOM

Poremećaji povezani s glutenom dijele se u tri skupine, a to su autoimuni, alergijski i ostali, tj. niti alergijski niti autoimuni. Autoimuni su celijakija, dermatitis herpetiformis i glutenska ataksija. Alergijski poremećaj uključuje alergiju na pšenicu, a necelijakijska osjetljivost na gluten pripada posljednjoj skupini poremećaja (El Khoury i sur., 2018).

2.2.1. Autoimuni poremećaji

Celijakija je autoimuna kronična bolest tankog crijeva koju potiče gluten i proteini povezani s glutenom. Ova bolest ovisi o genetičkim i okolišnim faktorima (Mustalahti i sur., 2010) te zahvaća sve dobne skupine populacije. Omjer oboljelih žena naspram muškaraca je od 1:3 do 1,5:1. Većina pacijenata (90-95 %) nosi HLA-DQ2.5 heterodimere, koji su moguće naslijeđeni na istom kromosomu (cis konfiguracija) ili odvojeno na dva homologna kromosoma (trans

konfiguracija). Oboljeli od celijakije pate od malapsorpcije uz dijareju, gubitak tjelesne mase, steatoreju, ali i razne simptome poput anemije, iritabilnog sindroma crijeva, refluksa, neuropatije, depresije, osteoporoze i tako dalje. Uzrok malapsorpcije je uništenje stanica tankog crijeva odgovornih za apsorpciju. Frekvencija oboljelih se povećava ukoliko postoji oboljeli u prvom koljenu srodstva. Rizik je najveći u monozigotnih blizanaca, zatim u HLA podudarnih braće i sestara te u braće i sestara koji nisu HLA podudarni (Abdulbaqui i sur., 2019). Dermatitis herpetiformis manifestira se na koži, a karakterističan je po pruritičnim urtikarijalnim papulama i vezikulama na koži te zrnatim naslagama IgA u papilama. Lezije na koži uglavnom se povlače primjenom bezglutenske prehrane (Abdulbaqui i sur., 2019). Glutenska ataksija je idiopatska sporadična ataksija s prisutnošću cirkulirajućih antiglijadinskih protutijela. Oboljeli uglavnom nemaju izražene probavne smetnje (Pozderac i Mijandrušić Sinčić, 2019).

2.2.2. Alergijski poremećaji

Alergiju na pšenicu karakterizira IgE uvjetovan imunološki odgovor na proteine pšenice. U mehanizam reakcije uključeni su T pomoćnički limfociti tipa 2 (Th2) koji uslijed unosa iritirajućih čestica utječu na B stanice koje proizvode i luče IgE antitijela. Kliničke manifestacije su različite, a mogu biti lokalne te blage do teške imunološke reakcije (Cabanillas i sur., 2019).

2.2.3. Ostali poremećaji

Osjetljivost na gluten karakteriziraju simptomi kao što su bol u trbuhu, dijareja, mučnina, natečenost, umor, tjeskobu, glavobolju uslijed unosa namirnica koje sadrže gluten (Roncoroni i sur., 2019). Ne postoji poseban biomarker kojim se utvrđuje necelijakijska osjetljivost na gluten. Meta analizom je utvrđeno kako je prevalencija necelijakijske osjetljivosti na gluten niska te kako je postotak pogoršanja stanja nakon ponovnog izazivanja glutenom ili placebom sličan (Lionetti i sur., 2018).

2.3. BEZGLUTENSKA PREHRANA

2.3.1. Direktiva Europske Unije

Direktivom Komisije 2006/141/EZ, određena su pravila o informiranju potrošača u vidu odsutnosti ili smanjene prisutnosti glutena u hrani, temeljeno na znanstvenim podacima, jasno

i na način koji potrošače neće dovesti u zabludu. Navod „Bez glutena.“ označava sadržaj glutena koji ne prelazi 20 mg kg^{-1}, a navod „vrlo mali sadržaj glutena“ označava sadržaj glutena koji ne prelazi 100 mg kg^{-1}.

Hrana koja sadržava zob, a predstavlja se kao hrana bez glutena ili s vrlo malim sadržajem glutena, mora se proizvoditi, priređivati i/ili prerađivati na način kojim se sprječava kontaminacija pšenicom, raži, ječmom ili njihovim hibridnim vrstama, a količina glutena ne smije biti viša od 20 mg kg^{-1}.

2.3.2. Temeljne odrednice bezglutenske prehrane

Budući da su prehrambeni izvori glutena pšenica, raž, pir, kamut, pšenoraž i ječam, njihova konzumacija nije dopuštena tijekom provođenja bezglutenske prehrane. Zob se nekada smatrala jednako rizičnom namirnicom, ali novijim istraživanjima utvrdilo se kako je zob sigurna za konzumaciju te da je jedini rizik kontaminacija iz okoline (Rubio-Tapia i sur., 2013).
Bezglutenska prehrana je trenutno jedini poznat tretman namijenjen osobama koje boluju od celijakije, a takvih je sve veći broj u svijetu (Xhakollari i sur., 2019; Melini i Melini, 2019). Od 2005. godine, unutar Europske Unije, proizvođač je obvezan na popisu sastojaka proizvoda naznačiti prisutnost pšenice, raži, ječma ili zobi budući da bezglutensku prehranu provode osobe s intolerancijama, alergijama i osjetljivosti na gluten (Rostami i sur., 2017). Osim natpisa „Bez glutena.“, na proizvodima koji ne sadrže gluten može biti i simbol prekriženog klasa pšenice (Marčec i sur., 2018.). Bezglutenska prehrana nerijetko je preporuka i osobama sa sindromom iritabilnog crijeva (Catassi i sur., 2017). Zbog sve veće popularnosti bezglutenske prehrane u javnosti, sve više pojedinaca bez dijagnoze ju prihvaća i provodi s ciljem optimizacije vlastitog zdravlja i promjene stila života. Nije potvrđeno kako bezglutenska prehrana povoljno utječe na zdravlje pojedinca, kada ne postoje medicinske indicije za provođenje iste (Diez-Sampedro i sur., 2019). Iako se čini jednostavnim, provođenje bezglutenske prehrane uvelike utječe na kvalitetu života pojedinca. Unatoč tome, visoka cijena bezglutenskih proizvoda narušava kvalitetu života oboljelih (Missbach i sur., 2015). Hrvatski zavod za zdravstveno osiguranje na listi lijekova sadrži 5 vrsta bezglutenskog brašna različitog proizvođača za posebne medicinske potrebe koje se propisuje, uz nadoplatu, osobama dokazano oboljelima od celijakije (HZZO, 2020) (slika 2).

ATK šifra	Nositelj odobrenja	Proizvodac	Zasticeno ime lijeka	Cijena za 1 kg	HZZO subvencija	Doplata	Lista
V06DX02 366	G-M Pharma Zagreb d.o.o.	Hammermuehle Diaet GmbH	Brašno mix svijetlo	21,79	16,21	5,58	dopunska
V06DX02 367	G-M Pharma Zagreb d.o.o.	Mantler Muhle	Bezglutensko brašno	20,01	16,21	3,80	dopunska
V06DX02 368	Salvia d.o.o.	Dr. Schaer	Mix B prašak	19,95	16,21	3,74	dopunska
V06DX02 369	Sanum grupa d.o.o.	Nutrifree	Nutrifree mix bezglutensko brašno	17,96	16,21	1,74	dopunska
V06DX02 370	A1 d.o.o.	Rue Flambee Italy srl	Bakin Mix bread & pizza	17,05	16,21	0,84	dopunska

Slika 2. Popis vrsta brašna na listi Hrvatskog zavoda za zdravstveno osiguranje (HZZO, 2020)

Kod osoba oboljelih od celijakije, tolerirani dnevni unos glutena procijenjen je na količinu od 0,4 mg glutena dnevno, s obzirom na štetne morfološke učinke te na količinu od 0,015 mg glutena s obzirom na štetne kliničke učinke (Leffler i sur., 2013). Uglavnom prihvaćena razina glutena, koja neće uzrokovati značajne histološke promjene, jest do 10 mg glutena dnevno (Akobeng i Thomas, 2008). Često je provođenje bezglutenske prehrane kod oboljelih pojedinaca neadekvatno pa je potrebno educirati ih i pratiti (Schuppan i Zimmer, 2013). Kvaliteta bezglutenskih proizvoda sve je veća. Ipak, potrebno je povećati nutritivnu vrijednost bezglutenskih proizvoda (Rostami i sur., 2017) zbog često neadekvatnog unosa proteina, vlakana, vitamina i mineralnih tvari (Saturni i sur., 2010).

2.4. BEZGLUTENSKI PROIZVODI

Na tržištu je sve više bezglutenskih proizvoda koji se sastavom razlikuju od proizvoda koji sadrže gluten. Razlika u sastavu proizvoda odražava se i na unos nutrijenata te u konačnici i na zdravlje pojedinca (Staudacher i sur., 2017). Bezglutenski proizvodi uglavnom sadrže nisku razinu vlakana, vitamina B skupine, kalcija, željeza, fosfora i cinka (Pearlman i Casey, 2018). Radi se o proizvodima koji su razne varijacije kruha, peciva, keksa, pizze, a sirovina za njihovu proizvodnju su žitarice koje prirodno ne sadrže gluten - kukuruz, riža, soja, amarant ili pšenični škrob iz kojeg je izdvojen gluten (Haraszi i sur., 2011). Dostupnost bezglutenskih proizvoda sve je veća te se mogu kupiti u supermarketima, trgovinama zdrave hrane i web trgovinama

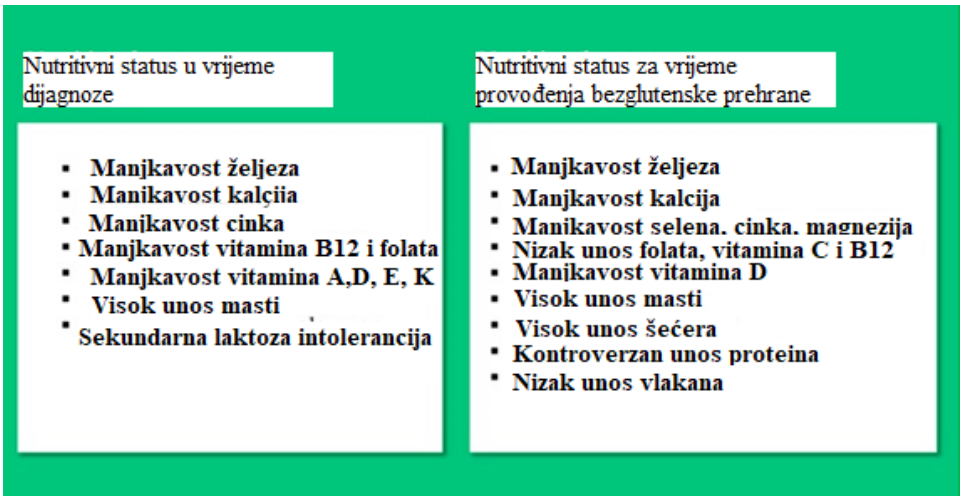
(Melini i Melini, 2019). Ipak, provođenje bezglutenske prehrane može biti izazov zbog lošijeg okusa hrane i smanjenog prihvaćanja te visoke cijene bezglutenskih proizvoda. Oko 30 % ispitanika izrazilo je zadovoljstvo okusom, cijenom, dostupnosti i vrstama bezglutenskih proizvoda. Cijena bezglutenskih proizvoda je prosječno 240 % viša od cijene konvencionalnih proizvoda zbog čega mnogi pojedinci odustaju od pridržavanja striktnog režima. Prema studiji koju su proveli Do Nascimento i sur. (2014), 71 % ispitanika izjavilo je kako se srednje ili teško snalaze u pronalaženju bezglutenskih proizvoda. Osim toga, izbor hrane je puno manji pa prehrana postaje monotona. Kruh je jedan od najvećih izazova budući da se tradicionalno konzumira diljem svijeta te je zahtjevno postići njegova tradicionalna senzorska svojstva. Pokazalo se kako su senzorska svojstva najčešće odlučujući čimbenik u odabiru proizvoda. Ipak, među zdravim pojedincima koji provode bezglutensku prehranu jednaku ocjenu izgleda, okusa i mirisa dobivale su grickalice bez i sa glutenom (Do Nascimento i sur., 2014).
Gutowski i sur. (2020) pokazali su kako oboljeli od celijakije ne mogu ispravno utvrditi sadrži li određeni proizvod gluten na temelju informacija danih na ambalaži. Ispravno čitanje i razumijevanje nutritivnih deklaracija od iznimne je važnosti za oboljelu osobu, budući da postoji mogućnost da ne detektiraju oznaku „Bez glutena.“ kada ona nije jasno vidljiva. U sivoj zoni prepoznavanja je posebice zob koja prirodno ne sadrži gluten, ali uzgoj, transport i proizvodnja često se odvijaju u blizini pšenice pa može doći do kontaminacije. Isto tako, može doći do pogrešnog identificiranja proizvoda, pa pojedinac izbjegava određeni proizvod jer smatra da sadrži gluten. Namirnice kod kojih je pogrešno identificiranje najčešće su pšenični škrob, kukuruzni maltodekstrin, proizvodi od soje, glukozni sirup, zob i ekstrakt kvasca (Gutowski i sur., 2020). Znanstvenici predlažu metode kojima bi se vrijednosti glutena dodale u bazu podataka o hrani i hranjivim tvarima te načine određivanja količine glutena u različitim namirnicama kako bi se mogla procijeniti količina glutena u prehrani pojedinca (Jasthi i sur., 2020).

2.5. NUTRITIVNI PROFIL BEZGLUTENSKE PREHRANE

Bezglutenska prehrana podrazumijeva isključivanje namirnica iz prehrane, što smanjuje njezinu raznolikost. Čak 20 – 38 % pojedinaca koji boluju od celijakije, paralelno imaju i nutritivne deficite makronutrijenata i mikronutrijenata (Theethira i sur., 2014). Prema Svjetskoj zdravstvenoj organizaciji, pravilna prehrana je uravnotežena prehrana koja štiti od malnutricije, a time i od kroničnih nezaraznih bolesti. Pravilna prehrana uključuje cjelovite žitarice, niskomasne mliječne proizvode, ribu, leguminoze, orašaste plodove i nisku razinu rafiniranih

žitarica, soli, dodanog šećera kako bi osigurala dovoljnu razinu unosa vlakana i polinezasićenih masnih kiselina (WHO, 2020). Tijekom provođenja bezglutenske prehrane dolazi do posezanja za procesiranim bezglutenskim proizvodima, iz praktičnih razloga. Procesirani bezglutenski proizvodi sadrže visoke količine soli, masti i dodanog šećera (Welstead, 2015). Većina studija pokazuje kako su u bezglutenskim proizvodima veće količine šećera i smanjene količine vlakana (Staudacher i sur., 2017). U nekoliko studija znanstvenici su pokušali razviti žitarice sa smanjenim patogenim efektom pomoću mutacija na mjestu gdje se ne bi poremetila svojstva pečenja. Taj proces je kompliciran, ali dosad je uspješno provedena transformacija pšenice Triticum aestivum „Butte“ 86 (Balakireva i sur., 2016).

Prehrambeni status pojedinca koji boluje od celijakije ovisi o stupnju upale crijeva, duljini trajanja bolesti, stupnju malapsorpcije i unosu hrane. U pojedinaca oboljelih od celijakije, koji provode bezglutensku prehranu, nerijetko dolazi do deficita mikronutrijenata i vlakana. Kod novodijagnosticiranih pojedinaca (slika 3) najčešći su nedostaci željeza, kalcija, cinka, vitamina B_{12}, vitamina D i folata (Melini i Melini, 2019).



Slika 3. Neadekvatan nutritivni status tijekom dijagnoze i tijekom provođenja bezglutenske prehrane (Melini i Melini, 2019)

Ipak, bezglutenska prehrana može biti adekvatna, odnosno uravnotežena te time povoljno utjecati na zdravlje pojedinca. Pojedince koji provode bezglutensku prehranu potrebno je uputiti na nutritivno bogatu hranu, koja je izvor vitamina i mineralnih tvari što je olakšavajući čimbenik u provođenju uravnotežene bezglutenske prehrane (Welstead, 2015). Uvrštavanjem raznih vrsta žitarica koje prirodno ne sadrže gluten u prehranu može poboljšati nutritivni profil prehrane pojedinca (Kreutz i sur., 2020).

Provođenje bezglutenske prehrane zahtijeva znanje, vještine i spremnost na promjene prehrambenih navika. Za takav proces potreban je fokusiran i motiviran pojedinac i dijetetičar (Muhammad i sur., 2019). Pojedinci, u potrazi za informacijama o bezglutenskoj prehrani, nailaze na netočne informacije što vodi do zbunjenosti, anksioznosti i odustajanja (Welstead, 2015). Izazove tijekom provođenja bezglutenske prehrane najčešće imaju adolescenti, ponajviše radi stigmatizacije i osjećaja izolacije iz okoline. Osobe zrele dobi, kojima je u kasnijoj fazi života dijagnosticirana celijakija, u 77 – 90 % slučajeva se pridržavaju bezglutenske prehrane (Muhammad i sur., 2019).

2.5.1. Makronutrijenti u bezglutenskoj prehrani

Bezglutenske žitarice namijenjene proizvodnji bezglutenskog brašna siromašne su makronutrijentima i mikronutrijentima. Nedovoljan unos vlakana povezuje se sa sastavom bezglutenskih proizvoda, koji sadrže škrob ili rafinirano brašno kojemu se procesom rafinacije uklanja vanjski sloj zrna, a time i većina vlakana (Saturni i sur., 2010). Kao sirovine, koriste i kukuruz i riža koji sadrže male količine proteina, vlakana i folata. Povoljna opcija bila bi korištenje pseudožitarica kao što su kvinoja i heljda koje sadrže veće količine proteina i folata te imaju povoljniji profil masnih kiselina u svome sastavu (Hager i sur., 2012).

Bezglutenski proizvodi u svom sastavu imaju više ugljikohidrata i masti od njihovih ekvivalenata koji sadržavaju gluten. Zabilježen je podatak da se u sastavu bezglutenskog kruha nalaze manje količine proteina i visoke količine masti te da je takav kruh namirnica visokog glikemijskog indeksa (Theethira i Dennis, 2015). Također, pokazalo se kako bezglutenski keksi sadržavaju više količine zasićenih masnih kiselina od njihovih ekvivalenata koji sadržavaju gluten (Caponio i sur., 2008). Sve navedeno posebno pogađa skupinu oboljelih adolescenata, čija prehrana pretežito obuhvaća unos masti i proteina što može doprinijeti razvitku poremećaja u rastu (Mariani i sur., 1998). Zuccotti i sur. (2013) usporedili su unos makronutrijenata kod zdrave djece i djece oboljele od celijakije. Djeca oboljela od celijakije unosila su značajno više razine energije i ugljikohidrata te nižu razinu masti od zdrave djece (Zuccotti i sur., 2013). Bez obzira na prisutnost glutena u namirnicama koje su izvor ugljikohidrata, prehranu bi trebalo optimizirati na način da je unos ugljikohidrata u pojedinca koji provodi bezglutensku prehranu adekvatan. To se može postići konzumacijom proizvoda koji prirodno ne sadrže gluten, a izvor su ugljikohidrata, poput graha, škrobnog povrća, mahunarki te bezglutenskih žitarica (Theethira i Dennis, 2015). Zob je namirnica visoke nutritivne kvalitete, sadrži ß-glukan koji snižava postprandijalnu razinu glukoze u krvnoj plazmi, snižava LDL kolesterol te je dobar izvor

vlakana. U svome sastavu sadrži čak dva puta više razine proteina od riže, a sadrži i nezasićene masne kiseline. U umjerenim količinama, 50 – 70 g dnevno pa čak i do 100 g, zob ne ostavlja nepoželjne posljedice na zdravlje oboljelih, a doprinosi raznolikosti njihove prehrane (Cohen i sur., 2019). Ipak, odluka o unosu zobi treba biti individualna, jer potencijal za štetan učinak postoji te zob može biti kontaminirana tijekom proizvodnje, transporta i skladištenja (Smulders i sur., 2017; Thompson i sur., 2010).

2.5.2. Mikronutrijenti u bezglutenskoj prehrani

Provođenjem bezglutenske prehrane, u osoba oboljelih od celijakije, vrlo brzo dolazi do uspostavljanja normalnih razina vitamina B_{12}, folne kiseline, kalcija i magnezija (Kreutz i sur., 2020). Unos vitamina B_{12} putem hrane u većini slučajeva je dovoljan tijekom provođenja bezglutenske prehrane, uz mogućnost suplementacije (Welstead i sur., 2015). S druge strane, zabilježen je i niži unos vitamina B_{12} i folata kod oboljelih koji provode bezglutensku prehranu u odnosu na kontrolu. Nedostatak ovih vitamina povezan je s povišenjem razine homocisteina i rizika od kardiovaskularnih bolesti (Melini i Melini, 2019). Nedostatak vitamina B_{12} uočen je u osoba koje ne provode bezglutensku prehranu, a boluju od celijakije (Berry i sur., 2018; Schosler i sur., 2016). Folat je izrazito važan ženama prije i za vrijeme trudnoće zbog razvoja fetusa pa bi žene oboljele od celijakije trebale češće pratiti unos folata (Welstead i sur., 2015). Pokazalo se kako bezglutenska prehrana kod oboljelih normalizira razinu folata (Kreutz i sur., 2020). Proizvodi bez glutena često sadrže neznatne količine folata, vitamina B skupine i željeza što se odražava na niži unos tih vitamina i mineralnih tvari u oboljelih osoba. Dio studija tvrdi kako je unos željeza nedostatan da bi zadovoljio potrebe pojedinca koji provodi bezglutensku prehranu. S druge strane, doseg unosa oboljelih je isti ili viši od unosa željeza u zdravih pojedinaca (Wild i sur., 2010). Razine unosa magnezija, cinka i selena niže su kod pojedinaca oboljelih od celijakije nego u zdravih pojedinaca (Melini i Melini, 2019). Missbach i sur. (2015), otkrili su kako je u bezglutenskim grickalicama niža razina kalija u odnosu na njihove ekvivalente. Što se tiče razine natrija, ona je u većoj frekvenciji viša kod bezglutenskih proizvoda (Fry i sur., 2018; Mazzeo i sur., 2015). Opasnost prijeti i od bioakumulacije teških metala. Naime, u pojedinaca koji provode bezglutensku prehranu pronađene su povišene razine arsena u urinu te žive, kadmija i olova u krvnoj plazmi. Ova saznanja potrebno je utvrditi te istražiti njihove dugoročne učinke. Visoke razine metala u urinu i plazmi pripisuju se većoj konzumaciji ribe i riže, vrlo čestim namirnicama u provođenju bezglutenske prehrane (Raehsler

i sur., 2018). Postavljena je i hipoteza da je ova visoka razina metala posljedica deficita proteina koji djeluju kao metal-vezujući proteini i uklanjaju metale (Elli i sur., 2017).

2.6. BEZGLUTENSKA PREHRANA I ZDRAVLJE

Kod zdravih pojedinaca, pokazalo se kako nutritivni profil bezglutenske prehrane nije kvalitetniji u odnosu na prehranu koja uključuje gluten. Unatoč sumnjama, dugogodišnjim praćenjem pokazalo se kako, kod zdravih pojedinaca, ne postoji povezanost unosa glutena i rizika od koronarne bolesti srca i infarkta miokarda (Lebwohl i sur., 2017). Prospektivnom, randomiziranom, dvostruko slijepom, placebo kontroliranom studijom se pokazalo kako 50 mg prolongirano unesenog glutena uzrokuje značajne promjene na sluznici tankog crijeva osoba oboljelih od celijakije (Catassi i sur., 2007). Najčešća pojava kod pojedinaca oboljelih od celijakije je anemija zbog nedostatka željeza, ali i anemija uzrokovana nedostatkom vitamina B_{12} i folata. Do anemije zbog nedostatka željeza dolazi zbog malapsorpcije uslijed uništenja mikrovila na sluznici tankog crijeva. Osim toga, razlog može biti i smanjena ekspresija regulatornih proteina (Martin-Masot i sur., 2019). Tijekom liječenja trebalo bi pratiti razine feritina i opću krvnu sliku te provoditi striktnu bezglutensku prehranu kako bi se degradacija mikrovila ublažila, a apsorpcija željeza povećala (Oxentenko i Murray, 2014). Pojedinci koji boluju od celijakije imaju viši rizik od infarkta miokarda i kardiovaskularnih bolesti pa provođenje bezglutenske prehrana moguće djeluje povoljno na njihovo zdravlje. Međutim, studija pokazuje i kako pojedinci koji boluju od celijakije češće imaju i još okolnosti koje doprinose riziku od bolesti srca, a to su pušenje i viši indeks tjelesne mase u usporedbi s referentnom skupinom ispitanika (Emilsson i sur., 2013). Smanjen je unos cjelovitih žitarica zbog ograničavanja unosa glutena, što se povezuje s nepovoljnim kardiovaskularnim ishodima (Lebwohl i sur., 2017). Pokazalo se kako osobe koje provode bezglutensku prehranu imaju povećan rizik od metaboličkog sindroma i masne jetre te je tijekom provođenja ovog načina prehrane potrebna procjena prehrane i daljnje praćenje (Tortora i sur., 2015). Pozitivan utjecaj bezglutenske prehrane, kod osoba s poremećajima povezanim s glutenom, vidi se i kroz modifikaciju mikrobiote crijeva. Promjene u mikrobioti javljaju se uslijed smanjenog unosa polisaharida. Čak više od jedne godine od uvođenja bezglutenske prehrane je potrebno da bi se mikroflora oboljele djece oporavila (Khoury i sur., 2018.). Ipak, smanjena razina *Lactobacillusa* uočena je kod djece oboljele od celijakije koji provode bezglutensku dijetu. Primjena probiotika se smatra dobrom metodom za ublažavanje upalnih procesa kod oboljelih pojedinaca na način da smanjuju broj gram-negativnih bakterija povezanih s upalnim učinkom

(Pisarello i sur., 2015). Broj *Streptococcus* bakterija u tankom crijevu značajno se razlikuje u zdravih odraslih osoba i osoba oboljelih od celijakije, a postoje i razlike u vrstama bakterija prisutnim u crijevima kod odraslih i djece, s obzirom na dob. Postoje sličnosti i u vrstama bakterija prisutnima u odraslim zdravim i oboljelim pojedincima (Nistal i sur., 2012). Vrste *Lactobacillus i Bifidobacterium* često su iscrpljene kod oboljelih osoba te je povećan broj proupalnih vrsta bakterija. Kod zdravih pojedinaca, bezglutenska prehrana uzrok je smanjivanja razine *Bifidobacterium*, a povećanja patogenih *Escherichia-e coli* i *Enterobacteriaceae* (Caio i sur., 2020). Otprilike 75 % novodijagnosticiranih oboljelih ima smanjenu gustoću kostiju (Corazza i sur., 2005). Kod većine oboljelih na bezglutenskoj prehrani razina kalcija je adekvatna dok je razina vitamina D jako niska, kod do 57 % djece i 50 % odraslih. Kalcij je od iznimne važnosti u razvoju i smanjenju rizika od osteoporoze i fraktura kosti. Za pojedince koji ne unose adekvatnu količinu kalcija, potrebno je osigurati bezglutenske proizvode obogaćene kalcijem (Krupa-Kozak i Drabinska, 2016). Bezglutenska prehrana može biti dobra metoda za tretiranje poremećaja raspoloženja kod pojedinaca koji boluju od bolesti povezane s glutenom, iako je tu tvrdnju potrebno dodatno istražiti (Busby i sur., 2018).

2.7. OSTALI ASPEKTI BEZGLUTENSKE PREHRANE

S aspekta pojedinca, četiri su faktora koja su povezana s pridržavanjem bezglutenske prehrane u osoba oboljelih od celijakije, a to su razina obrazovanja, zdravstveni status, motivacija i znanje. Pojedinci više razine obrazovanja, više motivacije, općeg zdravlja te saznanja o utjecaju glutena u većoj mjeri se pridržavaju bezglutenske prehrane. S organizacijskog gledišta, čimbenici koji su povezani s pridržavanjem bezglutenske prehrane su dostupnost proizvoda bez glutena, jasna nutritivna deklaracija, članstvo u udrugama te kupovna moć pojedinca. S aspekta zajednice, vrlo je važna svjesnost zajednice o poremećajima povezanim s glutenom te prihvaćanje zajednice istoga problema (Abu-Janb i Jaana, 2020).

Percepcija podjele hrane često je na zdravu i nezdravu , a potrošač većinom percipira hranu s natpisom „bez“ zdravijom. Tako će od dva ponuđena jednaka proizvoda, u ovom slučaju krekera, odabrati onaj koji na pakiranju sadrži natpis „Bez glutena.“. Bezglutenske proizvode potrošač percipira kao zdravije, ali i kao niskokalorične (Priven i sur., 2015) i manje procesirane, što se ne podudara s činjenicama. Uglavnom vlada pozitivno mišljenje o bezglutenskoj prehrani među zdravim pojedincima što, unatoč slabom znanju, povećava sklonost ka provođenju takvog načina prehrane. U svrhu pravilnog odabira i povećanja

svjesnosti potrošača, potrebno je omogućiti im jasne informacije o bezglutenskim proizvodima (Prada i sur., 2019).

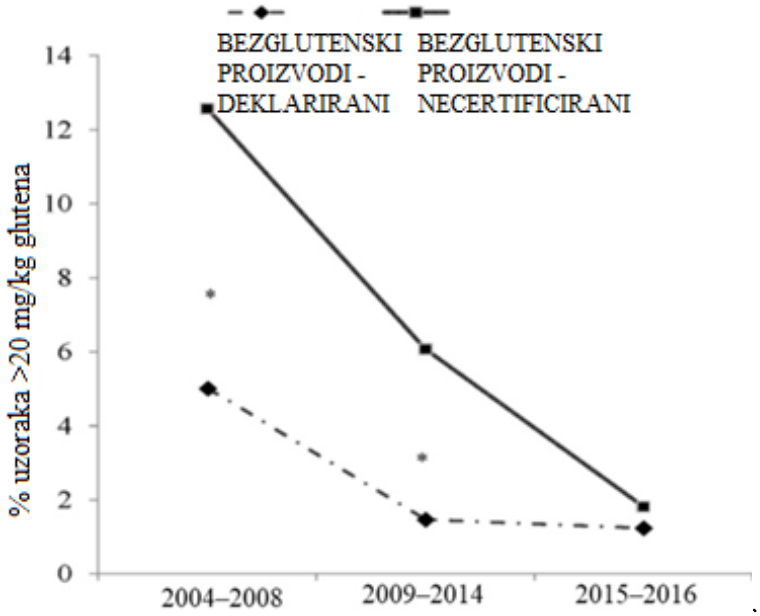
Socijalna izolacija oboljelih pojedinaca također je jedan od prepreka u provođenju striktne bezglutenske prehrane (Bacigalupe i Plocha, 2015). Pojedinci trebaju imati dobru sposobnost samokontrole te pomno birati gdje i kada će jesti što iziskuje dodatnu organizaciju te zbog toga izbjegavaju i mijenjaju društvene aktivnosti. Ukoliko oboljeli pojedinac živi unutar zajednice, dodatna organizacija i oprez je od važnosti u cijeloj obitelji. Upravo zbog toga, postoje mnoge udruge koje daju podršku pojedincima oboljelima od celijakije i članovima njihove obitelji (Muhammad i sur., 2017). Primjerice, pozitivan utjecaj se primjećuje kada se članovi obitelji ili prijatelji oboljelog nastoje shvatiti i prilagoditi zahtjevima njegovog načina prehrane (Bacigalupe i Plocha, 2015).

Ponašanje i mišljenja zdravih pojedinaca i oboljelih pojedinaca koji provode bezglutensku prehranu jako je teško usporediti. Razlog tomu je značajna razlika kod ove dvije populacije u startnoj poziciji tj. motivaciji, znanju o bezglutenskoj prehrani, čitanju nutritivnih deklaracija i kvaliteti zdravlja (Xhakolari i sur., 2019).

2.8. KONTAMINACIJA GLUTENOM

Gluten križnom kontaminacijom može dospjeti do namirnica koje prirodno ne sadrže gluten. Kontaminacija se može dogoditi u bilo kojem dijelu prehrambenog lanca, od uzgoja sirovine preko prerade, transporta, skladištenja, prodaje pa sve do potrošača i njegovog rukovanja s namirnicom. Na polju može doći do kontaminacije zbog rotacije s pšenicom, ječmom ili raži ili ukoliko se uzgajaju blizu. Žitarice koje sadrže gluten mogu zaostati u tlu te tijekom žetve biti prenesene uz žitarice koje ne sadrže gluten (Lee i sur., 2014). Poznato je da pojedinci oboljeli od celijakije prehranu temelje na konzumaciji namirnica koje su prirodno bez glutena poput bijele i smeđe riže, kukuruza, heljde, rižinog brašna, heljdinog brašna, amaranta, brašna od amaranta, kukuruzne krupice, lanenih sjemenki, prosa, brašna od prosa, sojinog brašna te šećerne trske (Thompson i sur., 2010). Također, konzumiraju i namirnice koje su proizvedene tako da ne sadrže gluten. Kako bi istaknuli da gluten nije prisutan, proizvođači na svoje proizvode stavljaju natpis „Bez glutena.“. Međutim, potrošači često nisu sigurni jesu li namirnice koje prirodno ne sadrže gluten i proizvodi s natpisom „Bez glutena.“ kontaminirani glutenom iz pšenice, ječma ili raži (La Vieille i sur., 2014). Gluten je tako pronađen u namirnicama koje uključuju rižu, kukuruz, zob te heljdu bez obzira na prisutnost natpisa „Bez glutena“ (Gelinas i sur., 2008). Akutni unos glutena, u većini slučajeva, neće drastično naštetiti

oboljelom, ali kontinuirani unos kontaminiranih namirnica izazvat će uništenje mukoze tankog crijeva s rizikom od dodatnih komplikacija (Lee i sur., 2014). Pregledna španjolska studija pokazala je kako razina glutena u bezglutenskim proizvodima na bazi žitarica, tijekom razdoblja od 1998. do 2016. godine, pokazuje trend pada (slika 4). Suprotno općenitom trendu pada, količina detektiranih kontaminiranih namirnica s više od 100 mg kg^{-1} glutena porasla je sa 13 % (u periodu od 2003. do 2005. godine) na 58% u periodu od 2013. do 2016 godine. U razdoblju od 2013. do 2016. godine, najrizičnije namirnice bile su brašno, tijesto i kruh (Bustamante i sur., 2017).



Slika 4. Evolucija bezglutenskih proizvoda koji sadrže gluten kroz tri vremenske etape (Bustamante i sur., 2017)

Verma i sur. (2017) pokazuju kako namirnice koje prirodno ne sadrže gluten, poput zobi (4 od 5 namirnica), heljde (5 od 12 namirnica) i leće (4 od 17 namirnica), predstavljaju veći rizik od kontaminacije u usporedbi s proizvodima s natpisom „Bez glutena.“ Ranije provedene studije manje su optimistične te je detektirano 20,5 % (Lee i sur., 2014) i 21,5 % (Farage i sur., 2017) kontaminiranih namirnica s oznakom „Bez glutena.“. U studiji najnovijeg datuma, količina glutena kod proizvoda s natpisom značajno je manja od količine kod namirnica koje prirodno ne sadrže gluten. 5 uzoraka od 51 s natpisom pokazalo je razine glutena više od 20 mg kg^{-1} te su svi u obliku brašna. Čak 85% uzoraka zobi sadržavale su količinu glutena višu od standarda Codexa. Radilo se o proizvodima lokalnih proizvođača, mlinara i popularnim proizvođačima, a među lokalnim proizvođačima i mlinovima 36,7 % proizvoda je kontaminirano glutenom u vrijednostima iznad 100 mg kg^{-1}. Važno je napomenuti i kako su proizvodi popularnih proizvođača držali razinu standarda Codexa (Raju i sur., 2020). U

Turskoj, značajna količina bezglutenskih proizvoda (17,5 %) kontaminirana je glutenom u količini višoj od 20 mg kg^{-1}, a najveću učestalost kontaminacije pokazala je heljda (Atasoy i sur., 2019). U pojedinačnim slučajevima u studijama starijeg datuma pronađena je značajna kontaminacija zobi, poput prisutnosti glutena u zobenoj kaši u vrijednosti od 520 mg kg^{-1} (ppm) od ukupno 8 ispitivanih zobenih kaša kod djece oboljele od celijakije (Storsrud i sur., 2003) te 770 mg kg^{-1} glutena u jednoj od 30 ispitivanih uzoraka zobi i zobenih. Ipak, analizom zobi i proizvoda od zobi koji sadrže natpis „100% čisto“ pokazalo se kako su količine glutena ispod razine detekcije (Storsrud i sur., 2003). 9 od ukupno 22 uzorka žitarica, sjemenki i brašna koje prirodno ne sadrže gluten pokazali su prisutnost glutena, od čega je 7 namirnica sadržavalo više od 100 mg kg^{-1} glutena (Thompson i sur., 2010). Pokazala se i povezanost između kontaminacije glutenom i cijene proizvoda iz čega se može zaključiti kako niža cijena znači manju kvalitetu kontrole proizvoda i veću mogućnost kontaminacije glutenom (Verma i sur., 2017; Thompson i sur., 2010).

Najveći rizik od kontaminacije je zasigurno u restoranima i kafićima zbog čega je adekvatna edukacija zaposlenika ugostiteljskih objekata od izrazite važnosti (Verma i sur., 2017). Križna kontaminacija javlja se uslijed pripreme jela na istom mjestu, neadekvatno očišćenog posuđa i provedenih procedura od strane radnika. Brazilska studija zabilježila je kontaminaciju jela u restoranu u vrijednosti iznad 20 mg kg^{-1} kod 2,8 % uzoraka hrane što je i niže od očekivanog budući da u Brazilu ne postoje Uredbe koje definiraju prihvatljivu količinu glutena i kontroliraju križnu kontaminaciju u restoranima (Farage i sur., 2019). Najrizičnijima smatraju se umaci i preljevi za salate (Simpson i Thompson, 2015). Analizom podataka prijenosnog uređaja (Nima) za detekciju glutena, detektirana je prisutnost kontaminacije glutenom do 20 mg kg^{-1} u 1/3 obroka u restoranima s bezglutenskom hranom. Veće stope kontaminacije uočili su u večeri te to pripisali kumulaciji kontaminacije tijekom dana kroz posuđe i namirnice, a najviše glutena sadržavali su pizza i tjestenina (Lerner i sur., 2019). Uređaj Nima detektira količine glutena do 20 mg kg^{-1} što predstavlja limit kod korištenja u studijama (Taylor i sur., 2018).

Priprema hrane kod kuće za oboljele i njihovu obitelj je izazovna, ali studije su pokazale da ne postoji uvijek visok rizik od kontaminacije. Gluten je prisutan u količini većoj od 20 mg kg^{-1} u bezglutenskoj tjestenini koja je pripremana u vodi prethodno kuhane tjestenine s glutenom. Međutim, ispiranjem tjestenine u vodi, smanjuje se količina glutena na vrijednost ispod 20 mg kg^{-1}. Isto tako, zajedničko korištenje tostera nije uzrokovalo kontaminacije veće od 20 mg kg^{-1} dok je isti nož za rezanje kolača, u 2 od 28 slučajeva, pokazao nepoželjan značajan prijenos glutena iznad 20 mg kg^{-1} (Weisbrod i sur., 2019).

Prema studiji La Vielle i sur. (2014), najviši rizik izloženosti konzumaciji kontaminiranih namirnica, prema spolu, su muškarci od 19 do 30 godina starosti te adolescenti muškog spola od 14 do 18 godina starosti koji učestalo konzumiraju „ready to eat“ proizvode (La Vielle i sur., 2014) budući da se smatra kako je veći rizik od kontaminacije kod proizvoda koji su više procesirani (Storsrud i sur., 2003).

2.9. METODE ODREĐIVANJA GLUTENA U HRANI

Pojam gluten obuhvaća skladišne proteine koji se nalaze u endospermu određenih žitarica. Oni čine kompleksnu strukturu stotina proteina, koji su među najkompleksnijim proteinskim mrežama u prirodi, kako zbog raznolikog sastava i veličine, tako i zbog varijabilnosti uzrokovane genotipom, uvjetima uzgoja i tehnološkim procesima (Miranda-Castro i sur., 2016). Postoji nekoliko metoda detekcije i kvantifikacije glutena koje se dijele na genomske, imunološke i proteomske metode (Scherf i Pomf, 2015). Analitičke metode za kvantifikaciju glutena moraju ispuniti sljedeće zahtjeve: osjetljivost, specifičnost, reproducibilnost, robusnost te validaciju kolaborativnim studijama s nekoliko neovisnih laboratorija (Don i sur., 2014). Većina metoda se temelji na kvantifikaciji prolaminske frakcije glutena topljive u alkoholu. Tri važna faktora prilikom određivanja glutena su uspješna ekstrakcija proteina iz sirove i prerađene hrane, odabir ispravnog standarda proteina glutena za kalibraciju te osjetljivost i selektivnost odabrane metode (Miranda-Castro i sur., 2016). Prvi korak cijelog procesa je ekstrakcija proteina glutena i/ili peptida iz matriksa hrane koja treba biti što cjelovitija. S obzirom da se sadržaj prolamina uzima kao 50% (Codex Standars 118-1979, 2008), utvrđeni sadržaj prolamina obično se množi s faktorom 2 da bi se dobila vrijednost prisutnog glutena. Iako se smatra kako su prolamini ti koji djeluju štetno, postoje dokazi i da glutelini mogu pokrenuti imunološki odgovor (Shan i sur., 2002). Najčešće korišteno otapalo u metodama je alkohol etanol ili propanol koji ektrahiraju prolamin iz neobrađenih namirnica, na primjer brašna (Scherf i Poms, 2015). Ipak, alkohol je nedovoljan da bi otopili prolamin iz procesiranih namirnica jer prolamini i glutelini agregiraju tj. povezuju se disulfidnim vezama (Kieffer i sur., 2007). Zbog toga se koristi 2-merkaptoetanol ili TCEP koji raskidaju disulfidne veze (Scherf i Poms, 2015).

Genomske metode su zasnovane na polimeraznoj lančanoj reakciji (PCR) koja se oslanja na određivanje specifičnih DNA sekvenci. To je visokoosjetljiva metoda, ali nije primjenjiva na hidrolizirane proizvode kao što su pivo i ekstrakti slada (Osorio i sur., 2019). Relativno direktnija i preciznija metoda za detekciju glutena je masena spektrofotometrija

MALDI-TOF kojom se može istovremeno mjeriti protein i hidrolizat protein u veličini od 1000 do 100 000 Daltona bez potrebe za kromatografskim pročišćavanjem. Također, moguće je pouzdano određivanje razine proteina od 0,01 mg mL^{-1} u namirnicama (Meijas i sur., 2014). Nedavno je ispitivana i metoda blisko-infracrvene spektroskopije (NIR) za detekciju glutena u kontaminiranim proizvodima, odnosno riži, rižinom brašnu i kukuruznom brašnu te se pokazala kao dobar izbor za proizvode ili namirnice pripremljene za kuhanje u vodi (Radman i sur., 2018). Metode bazirane na masenoj spektrometriji su relativno skupe i zahtijevaju određene vještine. Jedine komercijalno dostupne metode odobrene od strane FDA i Codex Alimentarius-a za detekciju glutena u namirnicama su imunološki testovi poput ELISA-e (Osorio i sur., 2019).

2.9.1. Metoda ELISA

Imunoenzimski test ELISA služi za određivanje prisutnosti i količine antigena. Temeljni mehanizam reakcije je vezanje antitijela i antigena iz uzorka. Spektrofotometrijski se mjere nastale reakcije budući da tijekom procesa dolazi do promjene boje spravljenog uzorka. Metoda je visokoosjetljiva što znači da je njome moguće odrediti vrlo nisku koncentraciju analita od nekoliko ng kg^{-1} uzorka (Butorac i sur., 2013). Zasada je enzimski vezani imunosorbentni test (ELISA) baziran na R5 i G12 antitijelima preporučena metoda prema Codex Alimentarius-u zbog svoje osjetljivosti i specifičnosti (Scherf i Poms, 2015). Dostupan je velik broj komercijalnih setova i antitijela (monoklonska i poliklonska). Sistem ELISA metode dijeli se na „sandwich“ ELISA-u i kompetitivnu ELISA-u. Kod prve, antigen je „u sendviču“ između dva antitijela, jednog imobiliziranog na stijenci mikrotitarske ploče, a drugi vezan na enzim. Namijenjena je samo za velike antigene jer on treba sadržavati barem dva epitopa da bi vezao oba antigena. Nije pogodna za djelomično hidrolizirane uzorke glutena kao što je to slučaj kod, primjerice, piva. Izmjerena apsorbancija je proporcionalna koncentraciji glutena u uzorku te se koncentracija očitava s baždarnog dijagrama (Scherf i Poms. 2015). Kompetitivna ELISA je namijenjena za manje veličine antigena s jednim epitopom. Označeni i neoznačeni antigen je nanesen na imobilizirano antitijelo. Nakon ispiranja nevezanog antigena, količina označenog antigena se određuje dodatkom enzim-supstrata i mjerenjem intenziteta obojenja. Problem koji se javlja kod obje vrste ELISA metode je određivanje količine glutena u termički procesiranim proizvodima (Osorio i sur., 2019). Izmjerena apsorbancija je obrnuto proporcionalna koncentraciji glutena u uzorku (Scherf i Poms, 2015). Relativno novo monoklonsko antitijelo miša, nazvano R5, razvijeno je za ω - sekalin ekstrakt. Test baziran na ovom antitijelu

prepoznaje glijadine, hordeine i sekaline u jednakom omjeru, ali ne prepoznaje avenine (Harazsi i sur., 2011). Glijadini se smatraju najboljim markerom kada je u pitanju gluten i njegovi tragovi u hrani. R5 koristi se u komercijalnim setovima kao što je RIDASCREEN Gliadin i INGEZIM GLUTEN. Glijadin je detektibilan u R5 ELISA metodi u rasponu od 2-5 mg kg^{-1}, a limit detekcije je 3 ppm glutena. Limit kvantifikacije je 5 ppm-a. Putem ove metode moguće je i detektirati glijadine i hordeine u neprocesiranim i termički procesiranim namirnicama od pšenice i ječma te u hidroliziranim namirnicama (Harazsi i sur., 2011). Pokazalo se kako primjenom ELISA metode antitijelo gubi reaktivnost kod namirnica koje su toplinski obrađene. Noviji način predložen je upotrebom aptamera, oligonukleotida koji nude napredak u odnosu na antitijela. Zbog visokog afiniteta vezanja, jednostavne sinteze, stabilnosti pod nizom okolišnih uvjeta i stabilnosti skladištenja, aptameri su dobar odabir koji će se koristiti u kombinaciji s nanočesticama za detekciju glutena i kvantifikaciju u nenamjerno kontaminiranim bezglutenskim proizvodima (Osorio i sur., 2019).

3. EKSPERIMENTALNI DIO

3.1. ISPITANICI I MATERIJALI

3.1.1. Ispitanici

U istraživanju je sudjelovalo ukupno 66 ispitanika, odnosno 46 ispitanika koji provode bezglutensku prehranu te 20 ispitanika koji su upitnik ispunjavali u ulozi osobe koja brine o prehrani maloljetnog djeteta koji provodi bezglutensku prehranu. Ispitanici su popunjavali, elektroničkim putem u periodu od 28.travnja 2020. do 16. svibnja 2020. godine, Upitnik o informiranosti, stavovima i mišljenju o glutenu te Upitnik o učestalosti konzumacije žitarica i proizvoda od žitarica. Sudjelovanje ispitanika je bilo u potpunosti dobrovoljno i anonimno.

3.1.2. Uzorci

U ovom istraživanju analiziran je četrdeset i jedan uzorak riže od 6 različitih proizvođača (Tablica 1). Odabir uzoraka temeljio se na prethodno provedenom Upitniku među populacijom koja provodi bezglutensku prehranu. Uzorci riže odabirali su se prema najvećoj frekvenciji konzumacije riže određenog proizvođača, a koju su naveli spomenuti pojedinci unutar Upitnika. Riža je kupljena u supermarketima na području grada Zagreba. Svaki uzorak samljeven je u mlincu i analiziran pomoću ELISA metode u dvije paralele kako bi se odredila količina glutena u proizvodu.

Tablica 1. Analizirani uzorci riže (n= 41)

PROIZVOĐAČ	*VRSTA RIŽE*
Proizvođač 1	Arborio bijela srednjezrnata riža
Proizvođač 1	Bijela riža za domaća jela
Proizvođač 1	Parboiled bijela parena dugozrnata riža
Proizvođač 1	Integralna oljuštena parboiled srednjezrnata riža
Proizvođač 1	Bio brušena bijela okruglozrnata riža
Proizvođač 1	Sant' Andrea bijela srednjezrnata riža
Proizvođač 1	Basmati bijela dugozrnata riža
Proizvođač 1	Best buy bijela okruglozrnata riža
Proizvođač 1	Okruglozrnata riža
Proizvođač 1	Dugozrnata riža
Proizvođač 1	3 riže - smeđa, crvena i crna integralna riža
Proizvođač 2	Oro bijela parena dugozrnata riža
Proizvođač 2	Parboiled bijela dugozrnata riža
Proizvođač 2	Bijela dugozrnata riža
Proizvođač 2	Basmati vakumirana oljuštena polirana dugozrnata riža
Proizvođač 2	Polubijela dugozrnata integralna riža
Proizvođač 2	Sant' Andrea bijela dugozrnata riža
Proizvođač 2	Arborio bijela dugozrnata riža
Proizvođač 2	Roma bijela dugozrnata riža
Proizvođač 2	Ribe bijela dugozrnata riža
Proizvođač 3	Integralna riža
Proizvođač 3	Parboiled oljušena dugozrnata riža
Proizvođač 3	Basmati bijela dugozrnata riža
Proizvođač 3	Bijela dugozrnata riža
Proizvođač 4	Arborio bijela dugozrnata riža
Proizvođač 4	Riža za rižota
Proizvođač 4	Roma bijela dugozrnata riža
Proizvođač 4	Originario okruglozrnata riža
Proizvođač 4	Originario dugozrnata riža

Tablica 1. Analizirani uzorci riže (n= 41) - nastavak

PROIZVOĐAČ	*VRSTA RIŽE*
Proizvođač 4	Venere integralna parboiled riža
Proizvođač 4	Carnaroli bijela dugozrnata riža za pripremu rižota
Proizvođač 4	Blond bijela parboiled riža
Proizvođač 4	Integralna crvena riža
Proizvođač 4	Blond integrale dugozrnata parboiled smeđa riža
Proizvođač 4	Basmati bijela dugozrnata riža
Proizvođač 5	Arborio bijela dugozrnata riža
Proizvođač 5	Parboiled dugozrnata riža
Proizvođač 5	Bijela dugozrnata riža
Proizvođač 5	Integralna parena dugozrnata riža
Proizvođač 5	Roma bijela dugozrnata riža
Proizvođač 6	Bijela glazirana, dugozrnata riža

3.1.3. Kemikalije

Tijekom istraživanja korišteni su reagensi iz RIDASCREEN® Gliadin (R7001) kita (R-Biopharm AG, Njemačka), koji sadrži točno onoliko reagensa koliko je potrebno za analizu 96 uzoraka. Reagensi osigurani u kitu:

- pufer (60 mL), koncentriran 5x
- 6 glijadinskih standarada, svaka bočica sadrži 1,3 mL (0 ng mL^{-1}, 5 ng mL^{-1}, 10 ng mL^{-1}, 20 ng mL^{-1}, 40 ng mL^{-1}, 80 ng mL^{-1} glijadina, spremno za upotrebu)
- pufer za ispiranje (100 mL), koncentriran 10x
- konjugat (1,2 mL), koncentriran 11x
- supstrat (7 mL)
- kromogen (7 mL)
- stop otopina (14 mL)

Reagensi koji nisu osigurani u kitu, a potrebni su:

- destilirana voda
- Coktail (patentirana) otopina (R7006, 105 mL)
- 70 %-tni etanol
- 80 %-tni etanol

Laboratorijska oprema i pribor

Korišteni uređaji:

- mlinac (Kompernass Handels GMBH Njemačka)
- analitička vaga (YMC Chyo, tip JK-180 Mikrotehna, Zagreb)
- vodena kupelj (INKO, Zagreb)
- tresilica (Four E's Scientific, tip MI0103002)
- centrifuga (Rotofix 32A, Hettich, Njemačka)
- vortex miješalica (VWR, tip VV3)
- ELISA Microplate reader s računalnim programom RIDA SOFT Win (Z9999)

Posuđe i pribor

- metalna žlica
- staničevina
- mikrotitarska ploča s 96 jažica
- plastične epruvete
- automatska pipeta
- nastavci za pipetu
- staklena čaša od 250 mL
- aluminijska folija
- plastične vrećice

3.2. METODE RADA

3.2.1. Upitnik o informiranosti, stavovima i mišljenju o glutenu

Za potrebe ovog rada osmišljen je Upitnik o informiranosti, stavovima i mišljenju o glutenu osoba koje provode bezglutensku prehranu. Upitnik je sastavljen od 36 pitanja te je podijeljen u 4 sekcije. Pitanja su podijeljena u sljedeće sekcije: Opće informacije o načinu prehrane, Izvor informacija, Stavovi i mišljenja te O vama. Pitanja obuhvaćaju podatke o demografskim čimbenicima kao što su dob, spol, mjesto stanovanja, razina obrazovanja. Zatim, o razlozima i trajanju provođenja bezglutenske prehrane, opisu vlastite prehrane, stavovima i mišljenjima o namirnicama koje ne sadrže gluten i namirnicama koje su deklarirane kao bezglutenske, preprekama u provođenju bezglutenske prehrane te o vrsti riže koju konzumiraju te sigurnosti riže u smislu kontaminacije. Upitnik je osmišljen na temelju validiranog upitnika GF-EAT (Gluten-Free Eating Assessment Tool) u kojem ispitanici samostalno procjenjuju svoju prehranu (Silvester i sur., 2016).

3.2.2. Upitnik o učestalosti konzumiranja hrane (FFQ)

U radu je proveden semikvantitativni Upitnik o učestalosti konzumiranja žitarica i proizvoda od žitarica (FFQ), koji je kreiran na temelju već postojećih podataka iz sedmodnevnih dnevnika prehrane osoba oboljelih od celijakije. Upitnik obuhvaća sedam kategorija namirnica: bezglutenski kruh i peciva, žitarice za zajutrak bez glutena, žitarice i prerađevine, tjestenina i proizvodi od krumpira, pločice od žitarica i snack, slastice bez glutena i proizvodi od tijesta bez glutena te gotova jela bez glutena. Prva kategorija je Kruh i peciva koja sadrži četiri namirnice: bezglutenski kruh, bezglutensko pecivo, toast kruh bez glutena te pecivo od tapioke. Druga kategorija je Žitarice za zajutrak bez glutena koja uključuje musli, kukuruzne pahuljice, rižine pahuljice te čokoladne pahuljice. Treća kategorija je Žitarice i prerađevine koja uključuje rižu, palentu, proso, heljdu, kvinoju, krušne mrvice, kukuruz, bulgur, gris bez glutena. Četvrta kategorija, Bezglutenska tjestenina i proizvodi od krumpira, uključuje bezglutensku tjesteninu i bezglutenske njoke. Peta kategorija, Bezglutenske pločice od žitarica i snack, uključuje energetske pločice bez glutena, kukuruzni kreker, rižin kreker, čips te kokice. Šesta kategorija, Bezglutenske slastice i proizvodi od tijesta bez glutena, uključuje kekse, čokoladu, biskvitne kolače, kremaste kolače, savijaču, pitu i zlevku. Sedma kategorija, Gotova jela bez glutena, uključuje palačinke i pizzu bez glutena. Uz namirnicu,

naznačeno je jedno serviranje te namirnice, na primjer ½ šalice riže ili kriška kruha. Ponuđeni odgovori učestalosti su nikada ili manje od jednom mjesečno, 1-3 puta mjesečno, jednom tjedno, 2-4 puta tjedno, 5-6 puta tjedno, jednom dnevno, 2-3 puta dnevno te 4-5 puta dnevno. Upitnik je proveden *on line* u istom vremenskom razdoblju kao i Upitnik o informiranosti, stavovima i mišljenju o glutenu.

3.2.3. ELISA metoda za određivanje glutena

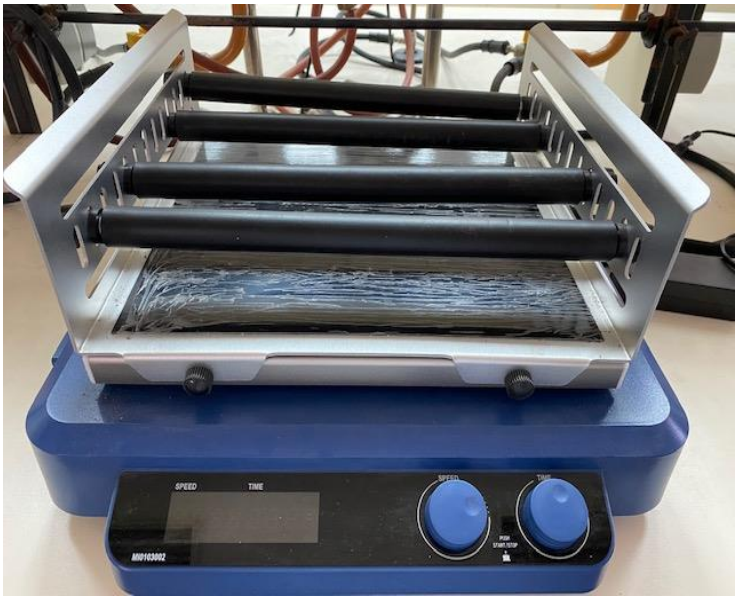
3.2.3.1. Priprema uzoraka

Prije samog procesa pripreme riže, najvažnije je dezinficirati radne površine, mlinac i metalnu žličicu i metalne škare otopinom 70 %-tnog etanola kako ne bi došlo do kontaminacije glutenom. Četrdeset i jedna riža melje se u mlincu te je potrebno nakon svakog uzorka temeljito oprati, dezinficirati i osušiti mlinac, metalnu žličicu i metalne škare. Nakon meljave, uzorci se pospremaju u plastične vrećice te označavaju odgovarajućom slovno-brojčanom oznakom. Slijedi vaganje 0,25 g svakog uzorka na analitičkoj vagi u plastičnim epruvetama s čepom koje se obilježavaju istim oznakama kao uzorci u plastičnim vrećicama. Za svaki uzorak riže, dvije su paralele. Originalni uzorak sačuvati zbog moguće kontaminacije.

3.2.3.2. Ekstrakcija uzoraka

Ekstrakcija glutena iz uzoraka provodi se dodavanjem 2,5 mL Coktail (patentirane) otopine u digestoru te se lagano promiješa. Slijedi *inkubacija* na 50 °C u vodenoj kupelji 40 minuta (slika 5). Nakon inkubacije, uzorke izvaditi se na sobnu temperaturu 10 minuta te nakon toga dodati 7,5 mL 80 %-tnog etanola u svaki uzorak u digestoru, promiješati te staviti na *tresilicu* 60 minuta na sobnoj temperaturi (slika 6).

Slika 5. Vodena kupelj (Vlastita fotografija)



Slika 6. Tresilica (Vlastita fotografija)

Centrifugiranje uzoraka provodi se sljedeće u trajanju od 10 minuta pri 2500 okretaja/minuta na sobnoj temperaturi (slika 7). Nakon centrifugiranja u centrifugi, nastali supernatant se odvaja. 80 µL uzorka se dodaje razrjeđuje s 920 µL pufera te je uzorak spreman za provođenje testa.

Slika 7. Centrifuga (Vlastita fotografija)

3.2.3.3. Priprema testa

Barem 30 minuta prije upotrebe potrebno je izvaditi test na sobnu temperaturu. Prije samog provođenja testa, potrebno je pripremiti otopine koje su dane kao koncentrati.
Pufer je dan kao koncentrat (5x) što znači da ga je potrebno razrijediti destiliranom vodom u omjeru 1:5 (na primjer, 3 mL koncentrata + 12 mL destilirane vode).

Konjugat je dan kao koncentrat (11x) te je nakon razrjeđivanja limitirane stabilnosti te je potrebno razrijediti samo onoliko koliko je potrebno za radni broj uzoraka. Razrjeđuje se destiliranom vodom u omjeru 1:11 (na primjer, 200 µL koncentrata + 2 mL destilirane vode). Potrebno protresti prije uporabe.

Pufer za ispiranje dan je kao koncentrat (10x) što znači da ga je potrebno razrijediti destiliranom vodom u omjeru 1:10 (na primjer, 100 mL pufera za ispiranje + 900 mL destilirane vode). Ukoliko su kristali postojani u otopini, prije korištenja potrebno je bočicu inkubirati na 37 °C u vodenoj kupelji. Razrijeđeni pufer za ispiranje stabilan je na 20-25 °C kroz 4 tjedna.

3.2.3.4. Provođenje testa

Prvi korak je dodati dovoljan broj jažica u mikrotitarsku ploču za standarde i uzorke u duplikatu.

100 µL otopine standarda ili uzorka dodati u zasebnu jažicu u duplikatu te inkubirati 30 minuta na sobnoj temperaturi. Izliti tekućinu iz jažica naglim okretanjem te tri puta snažno tapkati mikrotitarskom pločicom gore-dolje o staničevinu. Zatim ispirati svaku jažicu s 250 µL razrijeđenog pufera za ispiranje te ponovo naglim okretanjem izliti tekućinu iz jažica te tapkati tri puta gore-dolje o staničevinu. Proces s razrijeđenim puferom ponoviti ukupno tri puta. Dodati 100 µL razrijeđenog konjugata u svaku jažicu te inkubirati 30 minuta na sobnoj temperaturi. Nakon 30 minuta, izliti tekućinu iz jažica naglim okretanjem te tri puta snažno tapkati mikrotitarskom pločicom gore-dolje o staničevinu. Ispirati svaku jažicu s 250 µL razrijeđenog pufera za ispiranje te naglim okretanjem izliti tekućinu iz jažica te tapkati tri puta gore-dolje o staničevinu. Proces s razrijeđenim puferom ponoviti ukupno tri puta. Dodati 50 µL supstrata i 50 µL kromogena u svaku jažicu. Lagano protresti te inkubirati 30 minuta na sobnoj temperaturi u mraku (primjerice, pokriti mikrotitarsku pločicu aluminijskom folijom). Razvit će se plavo obojenje koje je posljedica veze s detektorskim antitijelom, a intenzitet obojenja je proporcionalno povezan s količinom glutena u uzorku. Nakon 30 minuta, dodati stop otopinu,

pri čemu će se plavo obojenje promijeniti u žuto, lagano protresti te očitati na čitaču unutar 30 minuta.

3.2.3.5. Očitanje na čitaču i izrada baždarnog dijagrama

Očitavanje na čitaču provodi se unutar 30 minuta od dodavanja stop reagensa na 450 nm. Na temelju apsorbancija dobivenih za standarde, izrađuje se baždarni dijagram koji se prikazuje u obliku polinoma. S baždarne krivulje očitavaju se koncentracije glijadina u ng mL^{-1} (ppb) u uzorku. Očitana vrijednost množi se s faktorom razrjeđenja te rezultat pomnožiti s 2 kako bi došli do koncentracije glutena budući da se glijadin smatra 50 % proteina prisutnih i glutenu. S obzirom da su preporuke dane u jedinici ppm, poželjna je pretvorba ppb u ppm. Za pretvorbu je potrebno rezultat pomnožiti s 1 000. Uzorak se smatra bezglutenskim ako je koncentracija glutena ispod 20 ppm. Uzorci koji pokazuju negativan rezultat i dalje mogu sadržavati alergen ispod limita detekcije ove metode (3 ppm glutena). Limit kvantifikacije je do 5 ppm glutena.

3.2.4. Statistička obrada rezultata

Rezultati Upitnika o učestalosti konzumacije žitarica i proizvoda od žitarica te rezultati Upitnika o informiranosti, stavovima i mišljenju o glutenu prikazani su u obliku udjela. Rezultati dobiveni analizom uzoraka riže ELISA metodom prikazani su kao srednja vrijednost koncentracije izražene u ppm (mg kg^{-1} sirove riže).

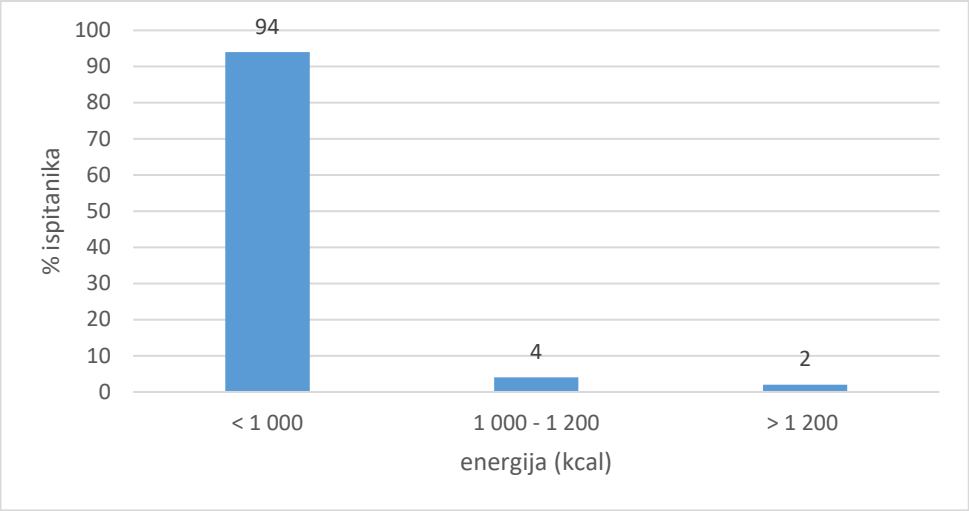
4. REZULTATI I RASPRAVA

Pojedinci koji provode bezglutensku prehranu, iz zdravstvenih razloga, su u riziku zbog moguće kontaminacije bezglutenskih proizvoda i namirnica koje prirodno ne sadrže gluten poput riže. U ovom istraživanju upotrijebljena je dijetetička metoda, FFQ, pomoću koje se ispitala učestalost unosa žitarica i proizvoda od žitarica kod ispitanika budući da bezglutenskom prehranom isključuju unos žitarica pšenice, raži i ječma. Rezultati FFQ-a su prikazani na slikama od 8 do 16. Proveden je i Upitnik pomoću kojeg su dobivene informacije o razlozima provođenja bezglutenske prehrane ispitanika, podrijetlu informacija koje imaju o bezglutenskoj prehrani, percepciji vlastite prehrane te o stavovima i mišljenjima o bezglutenskim namirnica. Prikaz rezultata slijedi u slikama 17 - 22. Konačno, ELISA testom, Ridascreen© Gliadin

(R7001) određena je prisutnost proteina glutena u odabranim rižama s hrvatskog tržišta kako bi se provjerila moguća kontaminacija. Grafički prikaz rezultata ELISA testa slijedi u slikama 23-30.

4.1. UČESTALOST KONZUMACIJE ŽITARICA I PROIZVODA OD ŽITARICA, FFQ

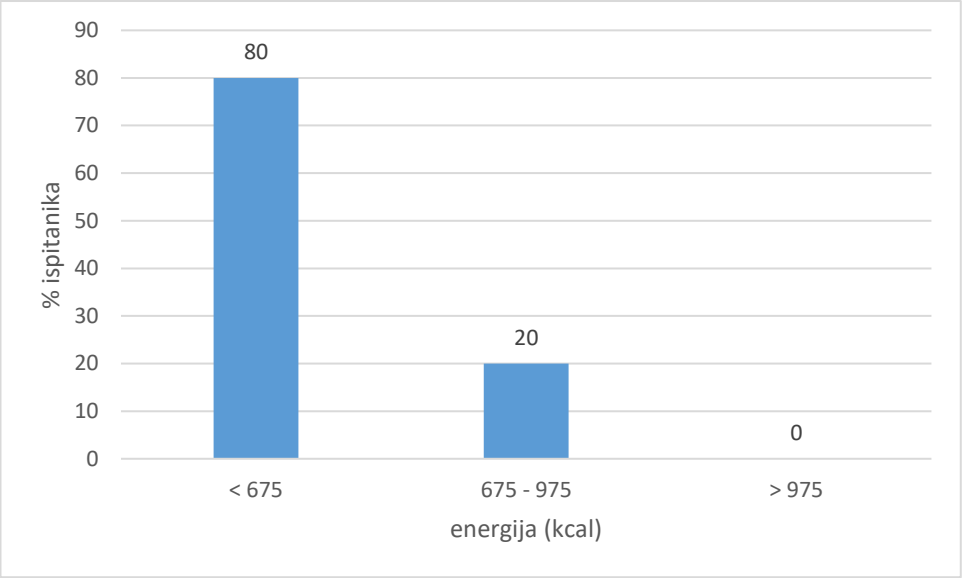
Žitarice i proizvodi od žitarica važan su izvor ugljikohidrata. Budući da pojedinci koji provode bezglutensku prehranu isključuju jedan dio žitarica i proizvoda od žitarica, cilj je bio pomoću FFQ-a utvrditi učestalost konzumacije riže, unose li ispitanici dovoljnu količinu ugljikohidrata te koje namirnice biraju iz te skupine. FFQ je podijeljen u 7 kategorija: Kruh i peciva, Žitarice za zajutrak bez glutena, Žitarice i prerađevine, Tjestenina i proizvodi od krumpira, Pločice od žitarica i snack, Slastice bez glutena i proizvodi od tijesta bez glutena te Gotova jela bez glutena. Preporučeni dnevni unos ugljikohidrata u prehrani osoba s celijakijom je 50 - 60 % ukupnog kalorijskog unosa/dan prema popisu dijeta koje se primjenjuju za prehranu bolesnika u bolnicama (Narodne novine, 2015). Budući da ovim istraživanjem nije detektiran ukupan kalorijski unos ispitanika, za izračun udjela ugljikohidrata korišten je prosječan ukupan unos energije za odraslog pojedinca i djecu. Prosječan ukupan unos energije u odraslog pojedinca iznosi 2 000 kcal, dok kod djece iznosi 1 500 kcal. Obradom odgovora ispitanika, dobiveni rezultati (slika 8) prikazuju kako ispitanici koji pripadaju skupini odraslih (n=46) uglavnom unose manje količine ugljikohidrata nego je to dano preporukama. Ukupan prosječan dnevni unos ugljikohidrata prema provedenom Upitniku o učestalosti konzumacije žitarica i proizvoda od žitarica je 115, 26 ± 64,95 g. Većina ispitanika (94 %) iskazala je kako unosi manju količinu ugljikohidrata nego je to dano preporukama. 4 % ispitanika unosi količinu ugljikohidrata koja odgovara rasponu preporučenih vrijednosti, te 2 % ispitanika koji unose više od preporuka.



Slika 8. Raspodjela odraslih ispitanika (n=46) prema unosu ugljikohidrata u odnosu na preporuke (50 - 60 % ukupnog dnevnog unosa energije)

Bardella i sur. (2000) su 3-dnevnim dnevnikom prehrane na 71 pacijentu s celijakijom u odnosu na 142 kontrolna ispitanika procijenili kako prehrana pojedinaca s celijakijom nije uravnotežena te je unos energije kroz masti značajno viši, dok je unos ugljikohidrata značajno niži u pacijenata s celijakijom. Nordijska studija uključivala je 49 ispitanika oboljelih od celijakije na tretmanu bezglutenske prehrane tijekom 8-12 godina te ukazala na nedovoljan unos ugljikohidrata, 51 % kod žena i 47 % kod muškaraca, u odnosu na nordijske preporuke (55 – 60 %). Također, uočen je viši unos masti kod oba spola, 34 % kod žena i 37 % kod muškaraca, u odnosu na preporuke u vrijednosti od <30 % (Grehn i sur., 2001). Autori navode kako razlog tome nije nedostupnost nutritivno bogatih bezglutenskih namirnica, već sama percepcija ispitanika kod odabira namirnica. Ispitanici s celijakijom su više izbjegavali konzumirati bezglutensku tjesteninu, kruh i pizzu u odnosu na kontrolnu skupinu te konzumirali više jaja, mesa i sira s ciljem zasićenja i sigurnosti od glutena (Bardella i sur., 2000).

Kada se radi o ispitanicima koji pripadaju skupini djece (n=20), rezultati se ne razlikuju značajno (slika 9). 80 % ispitanika unosi manje ugljikohidrata nego je to preporuka, a 20 % ispitanika unosi količinu ugljikohidrata koja odgovara rasponu preporučenih vrijednosti kalorijskog unosa.



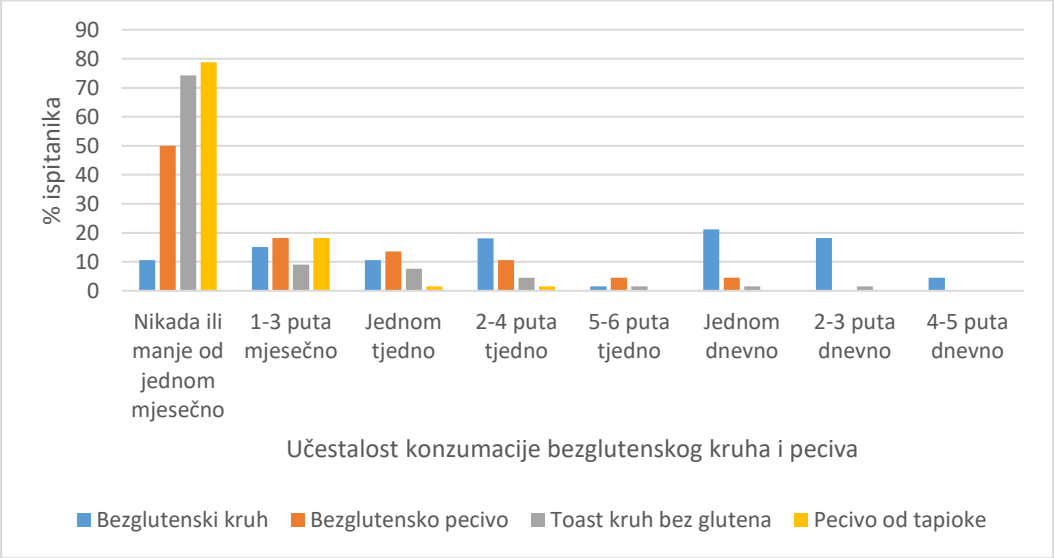
Slika 9. Raspodjela ispitanika iz skupine djece (n=20) prema unosu ugljikohidrata u odnosu na preporuke (50 - 60 % ukupnog dnevnog unosa energije)

Studija koju su proveli Mariani i sur. (1998) na 47 zdravih adolescenata i 47 adolescenata koji provode striktno bezglutensku prehranu, potvrdila je kako prehrana oboljelih od celijakije ima brojne nedostatke. 3-dnevnim dnevnikom prehrane procijenili su kvalitetu ispitanika te su rezultati pokazali kako adolescenti koji boluju od celijakije unose nisku količinu ugljikohidrata, a visoku količinu masti i proteina u odnosu na zdrave pojedince. Uz to, vjerojatno kao posljedica načina prehrane, u ispitanika koji boluju od celijakije češća je pojavnost prekomjerne tjelesne mase i pretilosti (72 %). U studiji autora Zuccotti i sur. (2012), rezultati 24-satnog prisjećanja pokazuju viši unos ugljikohidrata, a niži unos masti i proteina u djece oboljele od celijakije u odnosu na zdravu djecu. Ipak, talijanske nacionalne preporuke za unos ugljikohidrata su 50 – 60 % ukupnog kalorijskog dnevnog unosa, te iako ispitanici s celijakijom unose veću količinu ugljikohidrata u odnosu na zdrave ispitanike, ta vrijednost (53,2 %) je unutar preporučenog raspona. S druge strane, unos masti i proteina i kod oboljelih adolescenata i kontrolne skupine premašuje vrijednosti talijanskih nacionalnih preporuka. Unatoč preporuci za unos masti (25 – 30 %) i proteina (9 – 12 %), oboljeli od celijakije svojom prehranom su unijeli 34,7 % masti te 13,8 % proteina. Od 37 ispitanika u dobi od 13 do 16 godina, oko 45 % unosi zasićene masti u vrijednosti većoj od 125 % RDA (Hopman i sur., 2006). U švedskoj studiji koja je uključivala djecu oboljelu od celijakije, 5-dnevnim dnevnikom prehrane analizirana je prehrana 25 ispitanika pri čemu je unos makronutrijenata bio unutar preporuka uz u prosjeku viši unos (14,5 %) zasićenih masti u odnosu na preporuke (<10 %) (Ohlund i sur., 2010). Oboljeli adolescenti iz prehrane isključuju gluten zbog straha od

obolijevanja od teških bolesti, poput raka. Ipak, osim što je važno isključiti gluten iz prehrane, važno je i educirati oboljele da je nutritivno adekvatna prehrana ključ u održavanju zdravlja (Hopman i sur., 2006). Unatoč tome što Upitnik o učestalosti konzumacije žitarica i proizvoda od žitarica u ovom istraživanju nije validiran, rezultati pokazuju isti obrazac dosadašnjim navedenim studijama te prikazuju kako unos ugljikohidrata kod odraslih i djece oboljele od celijakije često manjkav ili na donjim granicama vrijednosti preporuka.

Potrebno je naglasiti kako je korišteni Upitnik uključivao samo namirnice iz skupine Žitarice i proizvodi od žitarica, a izvor ugljikohidrata su još i namirnice iz skupine Voće i povrće i proizvodi od voća i povrća te razni konditorski proizvodi i slično. Iz tog razloga ne možemo sa sigurnošću utvrditi jesu li ispitanici svojom prehranom zadovoljili unos ugljikohidrata. Osim dovoljne količine ugljikohidrata, od izrazite je važnosti i njihova kvaliteta. Mnogi bezglutenski proizvodi razlikuju se u sastavu od iste vrste proizvoda koji sadrže gluten što onda utječe na njihovu nutritivnu kvalitetu (Hager i sur., 2011). Na tržištu postoji mnogo bezglutenskih proizvoda poput pizze, kruha, tjestenine, žitnih pločica, koji pripadaju skupini Žitarica i proizvoda od žitarica koji su pretežno izvor ugljikohidrata. Međutim, zbog palatabilnosti takvi proizvodi sadrže i veću količinu masti što u konačnici utječe i na zdravlje pojedinaca (Rostami i sur., 2017). Konzumacija u većoj mjeri cjelovitih žitarica umjesto rafiniranih doprinosi kvaliteti i uravnoteženosti prehrane oboljelog pojedinca (Rostami i sur., 2017).

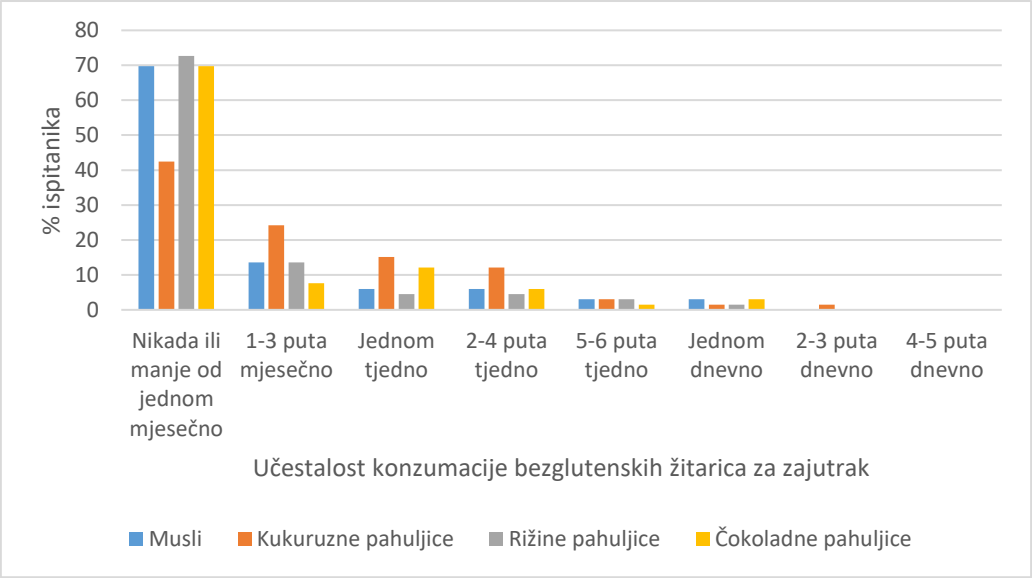
U kategoriji Bezglutenski kruh i peciva ispitanici su naznačili kako od svih ponuđenih namirnica u Upitniku najčešće konzumiraju bezglutenski kruh, prosječno 19,98 ± 23,62 grama/dan (slika 10).



Slika 10. Učestalost konzumacije bezglutenskog kruha i peciva u posljednjih 12 mjeseci među ispitanicima koji slijede bezglutensku prehranu (n=66)

Kruh je značajna namirnica u prehrani pojedinca te se tradicionalno konzumira diljem svijeta (Do Nascimento i sur., 2014). Studijom provedenom u 4 zemlje u Europi (Italija, Španjolska, Norveška, Njemačka), među 1 914 ispitanika utvrđeno je kako ispitanici u svim zemljama svakodnevno konzumiraju kruh te je to najčešće konzumiran bezglutenski proizvod (Gibert i sur., 2006). Proizvodnja zadovoljavajućeg komercijalnog bezglutenskog kruha velik je izazov jer je često ocjenjivan neukusnim te nutritivno neadekvatnim. Zbog toga oboljeli pojedinci često pripremaju kruh samostalno. Uz to, kruh pripremljen korištenjem alternativnih sirovina poput riže ili kukuruza, manjkav je mikronutrijentima (Rybicka i sur., 2019). U opsežnoj studiji, analiza 95 vrsta bezglutenskog kruha rezultirala je saznanjem kako je udio ugljikohidrata u bezglutenskom kruhu uglavnom manji nego u standardnom tradicionalnom kruhu koji sadrži gluten. To su znanstvenici pripisali dodacima poput ulja, mlijeka, sojinog proteina, jaja, sirutke i slično u pripravi kruha kako bi se zamijenio nedostatak glutena. Zbog toga u sastavu bezglutenskog kruha količina jednostavnih šećera varira od šećera u tragovima pa čak i do 8,8 g šećera u pecivu od bijelog brašna te 12,4 g u slatkom kruhu od bijelog brašna. Standardni bijeli kruh s glutenom sadrži 4,3 g šećera u svome sastavu (Hager i sur., 2011). Dodatno, bezglutenski kruh bogat je mastima, posebice trans masnim kiselinama zbog čega postoji mogućnost razvitka metaboličkog poremećaja te višeg rizika od koronarne bolesti srca (Saturni i sur., 2010). Nascimento i sur. (2014) također su utvrdili kako 52,8 % ispitanika (n=91) svakodnevno konzumira kruh bez glutena, ali da i dalje postoje potrebe za unaprjeđenjem sastava bezglutenskog kruha zbog senzorskih i nutritivnih karakteristika. Trenutno, idealna alternativa svemu navedenom su amanarant i kvinoja zbog svog nutritivnog sastava odnosno prisutnosti proteina, esencijalnih aminokiselina i masnih kiselina (Rybicka i sur., 2019).

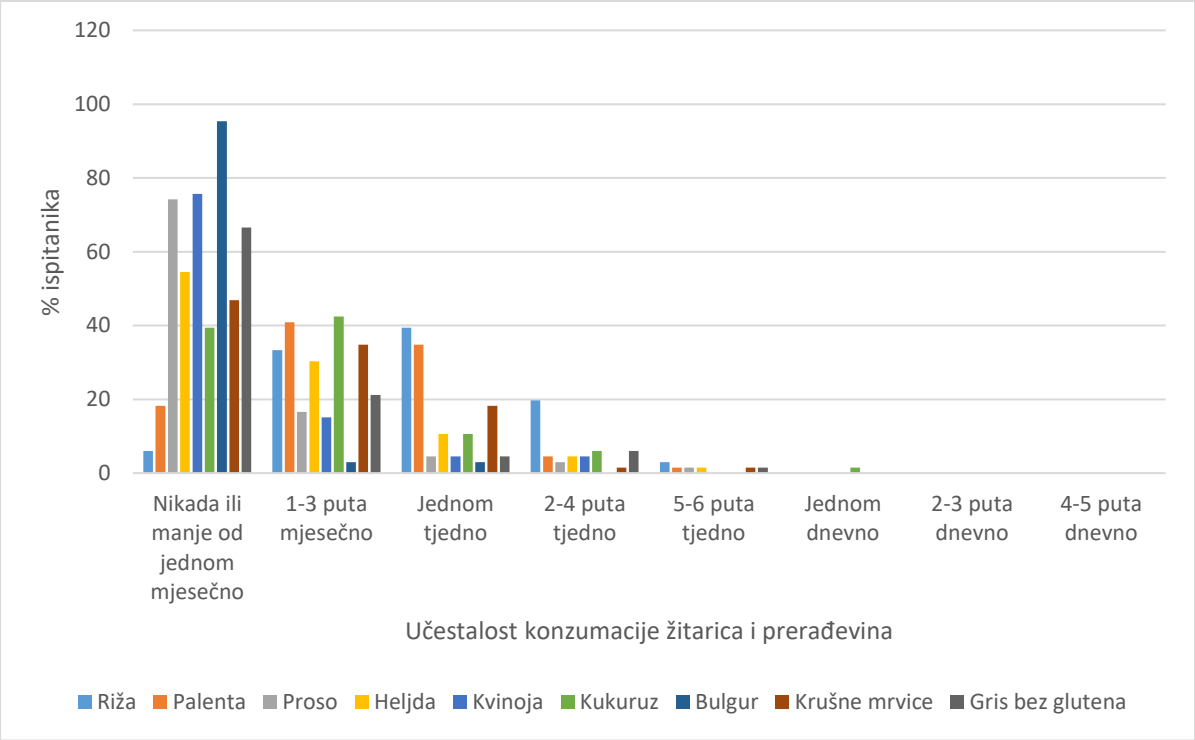
U kategoriji Bezglutenske žitarice za zajutrak, ispitanici navode kako većinom ne konzumiraju ponuđene žitarice za zajutrak te u najvećoj učestalosti konzumiraju kukuruzne pahuljice (slika 11).



Slika 11. Učestalost konzumacije bezglutenskih žitarica za zajutrak u posljednjih 12 mjeseci među ispitanicima koji slijede bezglutensku dijetu (n=66)

Žitarice za zajutrak mogu biti u više različitih formi, kao cjelovite žitarice ili pseudožitarice te kao ekstrudirane žitarice. Žitarice za zajutrak u obliku cjelovitih žitarica su bogat izvor ugljikohidrata, vitamina i vlakana. Ekstrudirane žitarice rastući su trend s naglaskom proizvođača na njihov povoljan učinak na zdravlje kroz zdravstvene i prehrambene tvrdnje, iako još uvijek ne postoje značajni podaci o njihovoj kvaliteti (Kiewlicz i Rybicka, 2019). Ispitanici u ovom radu navode kako najčešće konzumiraju kukuruzne pahuljice što se pokazalo i u studiji iz Srbije, autorice Torović (2017) koja iznosi kako se procesirani proizvodi od kukuruza konzumiraju sve više, a ponajviše zbog odsutnosti glutena, prirodno prisutnog u pšeničnim pahuljicama.

Među ispitanicima u skupini Žitarica i prerađevina od žitarica, najčešće konzumirana prerađevina od žitarica jest palenta (16, 25 ± 20,03 g/dan), a najčešće konzumirana žitarica je riža (10, 88 ± 9,66 g/dan) (slika 12). Suprotno tome, žitarice kvinoju i proso ispitanici gotovo i ne konzumiraju.

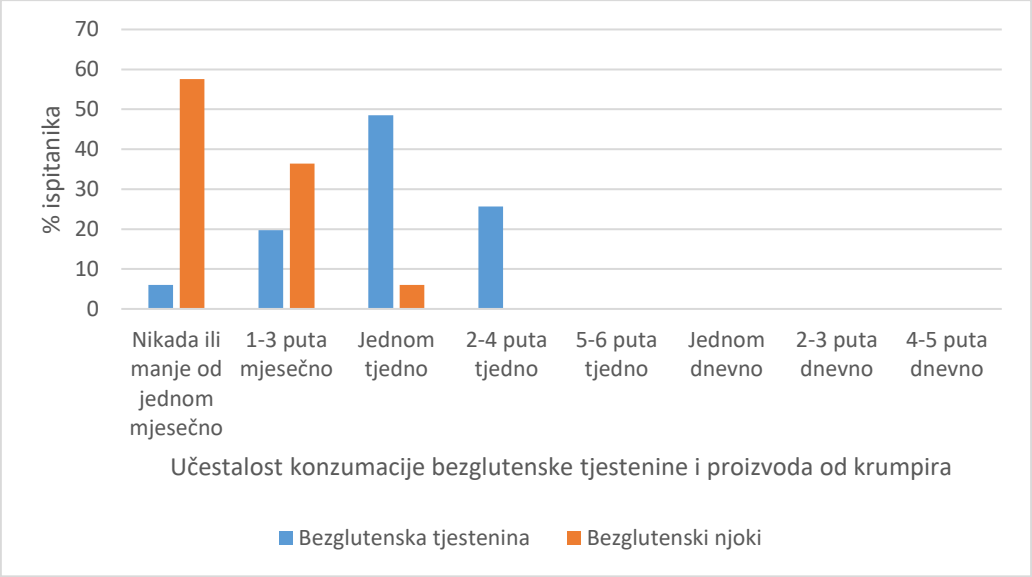


Slika 12. Učestalost konzumacije žitarica i prerađevina u posljednjih 12 mjeseci među ispitanicima koji slijede bezglutensku dijetu (n=66)

Kukuruz i proizvodi od kukuruza te riža dominiraju u prehrani pojedinaca koji boluju od celijakije budući da su to žitarice koje prirodno ne sadrže gluten (Welstead, 2015). Među proizvodima od žitarica najsigurnije sirovine su se pokazale riža, kukuruz i kvinoja u studiji provedenoj s ciljem detekcije glutena u proizvodima od žitaricama koji prirodno ne sadrže gluten i bezglutenskim proizvodima (Gelinas i sur., 2008). U toj studiji 22,5 % proizvoda koji su prirodno bez glutena su bili kontaminirani glutenom (Gelinas i sur., 2008). Međutim, konzumacijom riže i proizvoda od kukuruza u velikoj količini može dovesti do drugih zdravstvenih rizika. Primjerice, pokazalo se kako proizvodi od riže mogu sadržavati toksične doze anorganskog arsena koji je kancerogen pri čemu je Američka Agencija za hranu i lijekove 2016. godine dala preporuku za vrijednost sigurne doze do 100 ppb anorganskog arsena (FDA, 2016). Proizvodi na bazi kukuruza, a posebice palenta, mogu sadržavati visoke razine mikotoksina (Ostry i Ruprich, 1998). Stoga, vrlo je važno poticati pojedince koji boluju od celijakije na uvođenje raznih žitarica u svoju prehranu kako ona ne bi bila jednolična, a time i potencijalno opasna po njihovo zdravlje (Welstead, 2015). Žitarice poput prosa, kvinoje, heljde imaju čak i bolji nutritivni profil od uobičajeno korištenih žitarica pšenice i ječma što je povoljno za osobe koje provode bezglutensku prehranu (Dykes i Rooney, 2007). Pseudožitarica kvinoja, još uvijek zapostavljena u prehrambenim obrascima pojedinaca s celijakijom, zapravo

je odlična alternativa riži. Sadrži sve esencijalne aminokiseline, mnoge vitamine i mineralne tvari, fitokemikalije te se može pripremati na sve načine jednako kao i riža (Woomer i Adedeji, 2020).

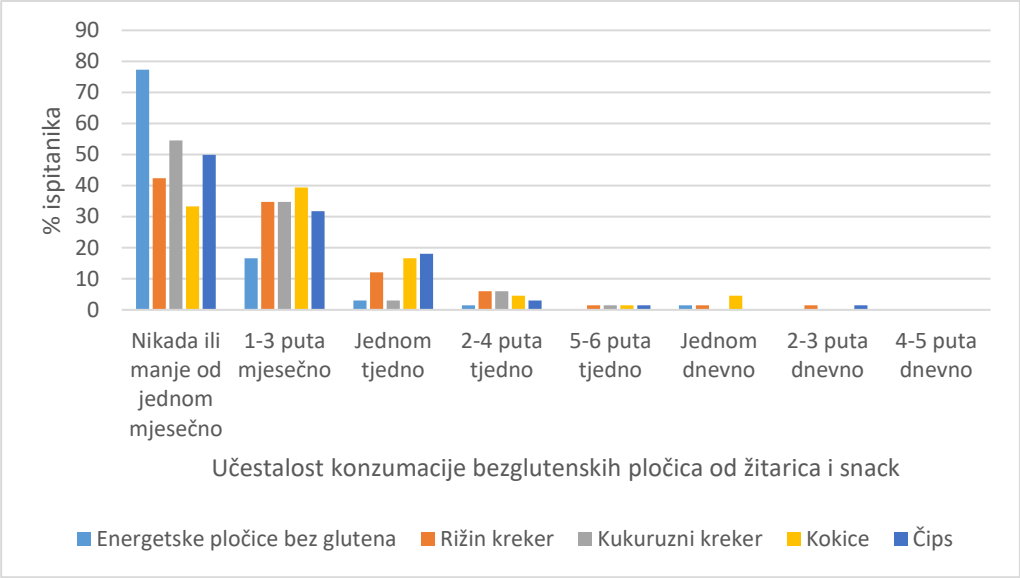
U skupini Bezglutenska tjestenina i proizvodi od krumpira, najviše ispitanika navelo je kako konzumira bezglutensku tjesteninu jednom tjedno, dok bezglutenske njoke većina ispitanika konzumira manje od jednom mjesečno ili nikada (slika 13).



Slika 13. Učestalost konzumacije bezglutenske tjestenine i proizvoda od krumpira u posljednjih 12 mjeseci među ispitanicima koji slijede bezglutensku dijetu (n=66)

Bezglutenska tjestenina na talijanskom tržištu, kao i kruh, u svom sastavu sadrži smanjenu količinu proteina i vlakana, a višu količinu masti odnosno zasićenih masnih kiselina u odnosu na njihove ekvivalente s glutenom (Cornicelli i sur., 2018). Budući da je bezglutenska tjestenina četvrta najčešće konzumirana namirnica među ispitanicima ovog istraživanja, važno je optimizirati sastav bezglutenske tjestenine kako bi ona bila prihvatljivija za učestalu konzumaciju. Cabrera-Chavez i sur. (2012) navode kako tjestenina bazirana na rižinom brašnu proizvedena uz dodatak brašna od amarantha u sastavu ima više proteina, masti, mineralnih tvari i vlakana od tjestenine bazirane samo na rižinom brašnu.

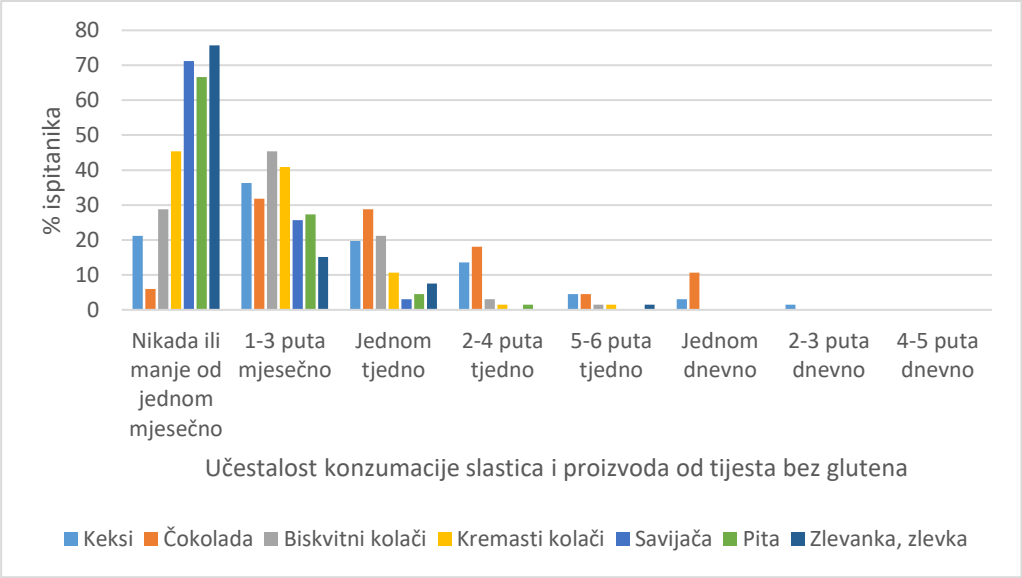
U skupini Bezglutenskih pločica od žitarica i snack-a, dio ispitanika je navelo kako na dnevnoj bazi konzumiraju čips i rižin kreker (slika 14).



Slika 14. Učestalost konzumacije bezglutenskih pločica od žitarica i snack-a u posljednjih 12 mjeseci među ispitanicima koji slijede bezglutensku dijetu (n=66)

Prema Angelino i sur. (2019), od 33 vrste bezglutenskih proizvoda od žitarica, 72 % proizvoda sadržavalo je manje od 30 g šećera u 100 g proizvoda. Ipak, preostalih 28 % žitarica za zajutrak sadržavalo je > 30 g šećera u 100 g proizvoda. 50 % od tih proizvoda bile su energetske pločice bez glutena. Kao kontrast talijanskoj studiji, rezultati studije u Ujedinjenom Kraljevstvu donose saznanja o nižoj razini šećera i soli u bezglutenskim žitaricama za zajutrak u odnosu na glutenske ekvivalente (Fry i sur., 2018). Niži sadržaj soli u energetskim pločicama bez glutena u odnosu na njihov ekvivalent s glutenom utvrđen je i u australskom istraživanju, dok je sadržaj jednostavnog šećera i energije niži u proizvodima koji sadrže gluten (Wu i sur., 2015). Mnogi proizvodi poput energetskih pločica bez glutena sadrže zdravstvene tvrdnje na prednjoj strani ambalaže, što ne garantira visoku nutritivnu kvalitetu proizvoda te oni često sadrže i više količine šećera, masti i soli. Upravo iz tog razloga razumijevanje i pažljivo čitanje nutritivnih deklaracija svih pojedinaca, a posebice oboljelih, je od iznimne važnosti u održavanju bolesti (Angelino i sur., 2019).

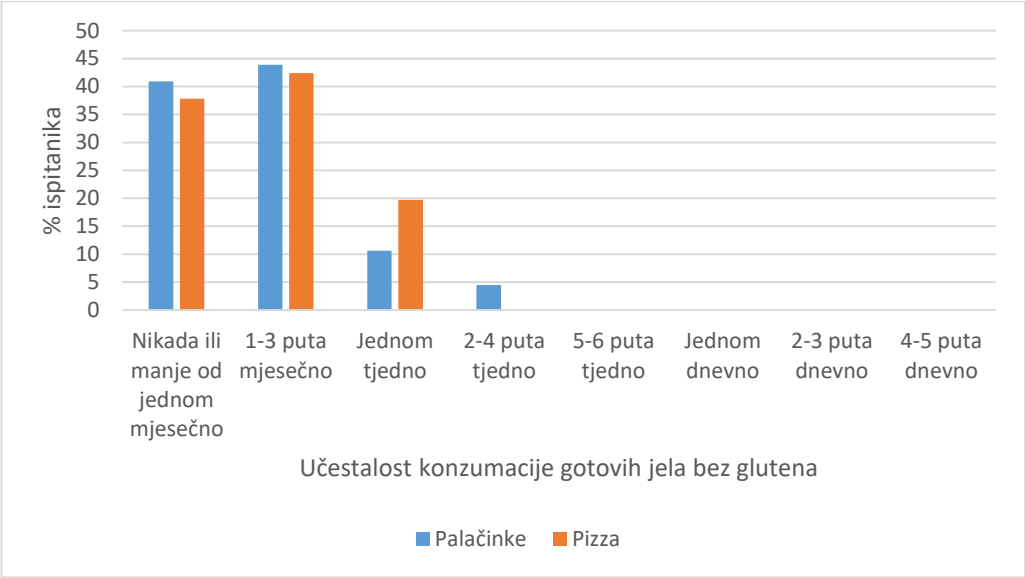
Ispitanici uglavnom rijetko konzumiraju slastice i proizvode od tijesta bez glutena (slika 15). U proizvodnji tijesta za ove vrste proizvoda koriste se razne vrste brašna koje ne sadrže gluten. Kvaliteta i vrsta brašna tako utječe na senzorske i nutritivne karakteristike proizvoda.



Slika 15. Učestalost konzumacije bezglutenskih slastica i proizvoda od tijesta bez glutena u posljednjih 12 mjeseci među ispitanicima koji slijede bezglutensku dijetu (n=66)

Mješavine brašna za pečenje, koje često koriste pojedinci oboljeli od celijakije u pripremi slastica i proizvoda od tijesta uglavnom sadrže manje količine proteina nego njihovi ekvivalenti koji sadrže gluten (Missbach i sur., 2015).

Ispitanici su naveli kako najčešće konzumiraju gotova jela, palačinke i pizzu, jednom do tri puta mjesečno (slika 16). U ovom istraživanju nije rađena razlika između gotovih jela konzumiranih vani i pripremanih kod kuće.

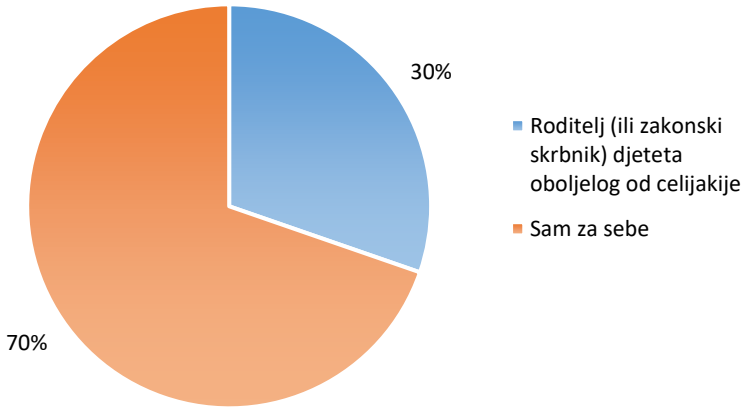


Slika 16. Učestalost konzumacije gotovih jela bez glutena u posljednjih 12 mjeseci među ispitanicima koji slijede bezglutensku dijetu (n=66)

Pojedinci koji boluju od celijakije u više od 25 % slučajeva u SAD-u odlučuju de neće konzumirati hranu izvan svoga doma. Razlog tome je kontaminacija jela u restoranima, a pizza je jelo vrlo podložno kontaminaciji (Bianchi i sur., 2018). Od 70 bezglutenskih pizza pripremanih u pekarskoj školi, od strane visoko educiranog kuhara, samo 1 je uzorak sadržavao gluten u vrijednosti iznad 20 ppm-a. U ranijoj studiji u kojoj je analizirano 84 uzorka bezglutenske pizze iz restorana koji poslužuje i pizzu s glutenom, utvrđeno je kako su sve pizze sadržavale manje od 20 ppm glutena (Vincentini i sur., 2016). Najvažnija pri pripremi pizze, ali i ostalih gotovih jela u restoranima, jest dobra proizvodna praksa kako bi oboljeli stekli povjerenje te konzumirali obroke izvan svoga doma. Primjerice, korištenje posebne pećnice za pizzu te priprema tijesta na različitoj radnoj plohi (Bianchi i sur., 2018).

4.2. UPITNIK O INFORMIRANOSTI, STAVOVIMA I MIŠLJENJU

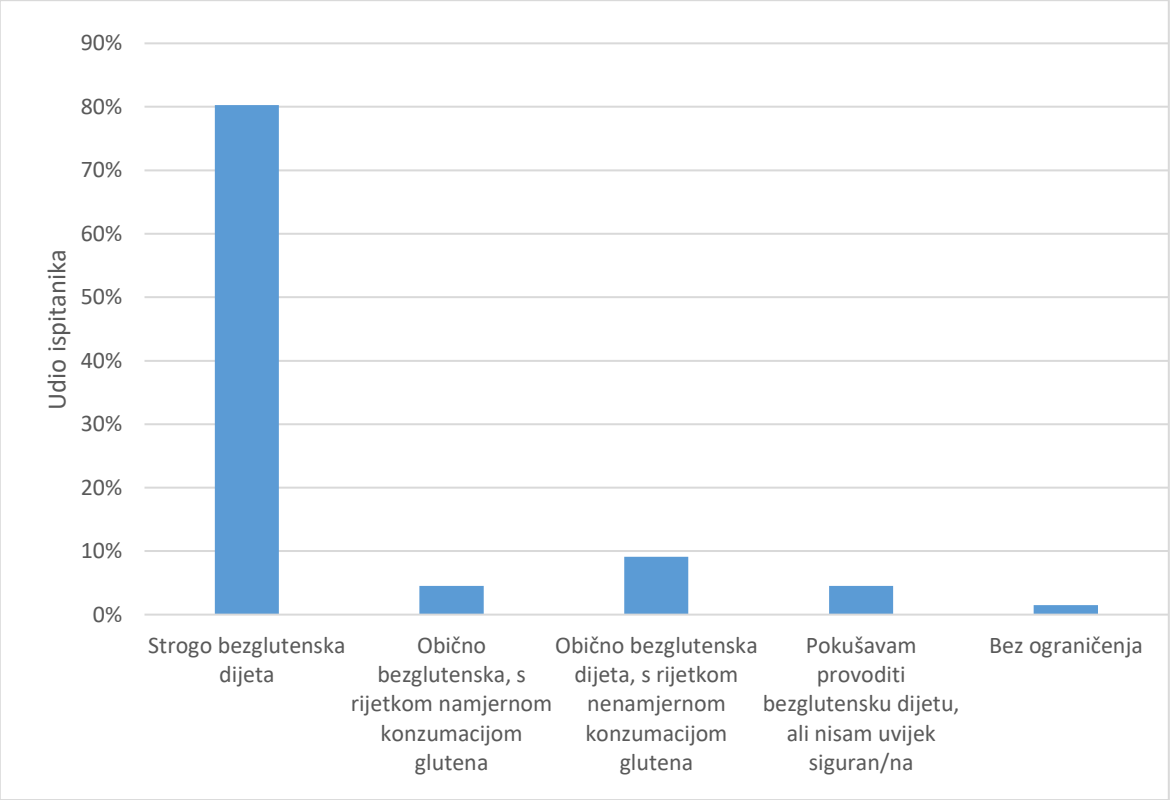
Upitnikom je obuhvaćeno ukupno 66 ispitanika koji provode bezglutensku prehranu, od čega je njih 20 (30 %) upitnik popunjavalo kao roditelj (ili zakonski skrbnik) djeteta koje provodi bezglutensku prehranu budući da oni vode brigu o prehrani djece, dok je njih 46 (70 %) upitnik popunjavalo u svoje ime (slika 17). Među ispitanicima koji su popunjavali upitnik u svoje ime, 13 % (n=6) je muškaraca te 87 % (n=40) žena što se može objasniti dosada spoznatom činjenicom kako je prevalencija celijakije veća u žena nego u muškaraca (Dixit i sur., 2016).



Slika 17. Grafički prikaz odgovora na pitanje u čije ime ispunjavaju upitnik

Većina ispitanika, njih 66 % (n=44) izjasnila se kako provodi bezglutensku prehranu zbog celijakije koja je potvrđena temeljem nalaza biopsije tankog crijeva. Kod 3 ispitanika su

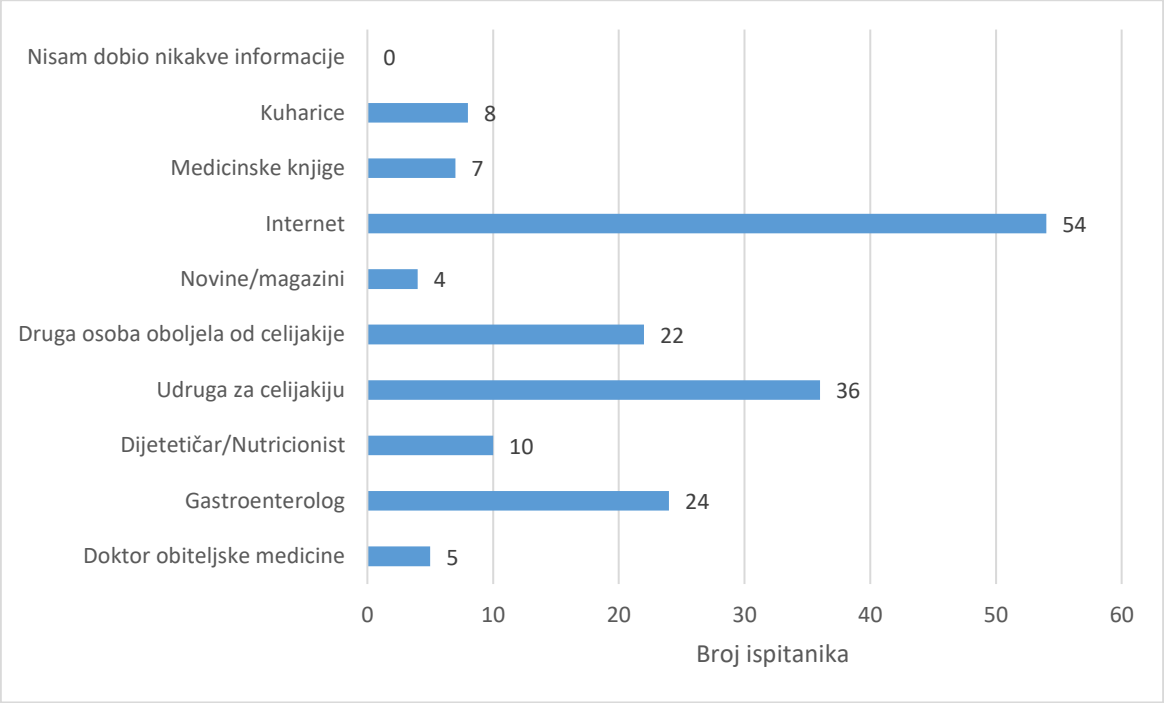
u pitanju pridružene bolesti uz celijakiju: dermatitis herpetiformis, osjetljivost na gluten, sindrom iritabilnog crijeva. Celijakiju slijede alergija ili osjetljivost na gluten (21 %), sindrom iritabilnog crijeva (10 %), provođenje bezglutenske prehrane zbog zdravijeg načina života (9 %), upalna bolest crijeva (1 %), multipla skleroza (1 %) te autoimuna bolest štitnjače (1 %). Pojavnost drugih bolesti nije neobična jer je celijakija sustavna bolest koju prate mnoge druge manifestacije izvan probavnog sustava. Primjerice, celijakija je utvrđena kod osoba koje pate od autoimune bolesti štitnjače s prevalencijom od 2 % do 7 % (Lauret i Rodrigo, 2013). Od ukupnog broja ispitanika, njih 80 % (n=54) navodi kako provodi strogo bezglutensku prehranu (slika 18).



Slika 18. Odgovori na pitanje „Molimo Vas, opišite svoju prehranu.“

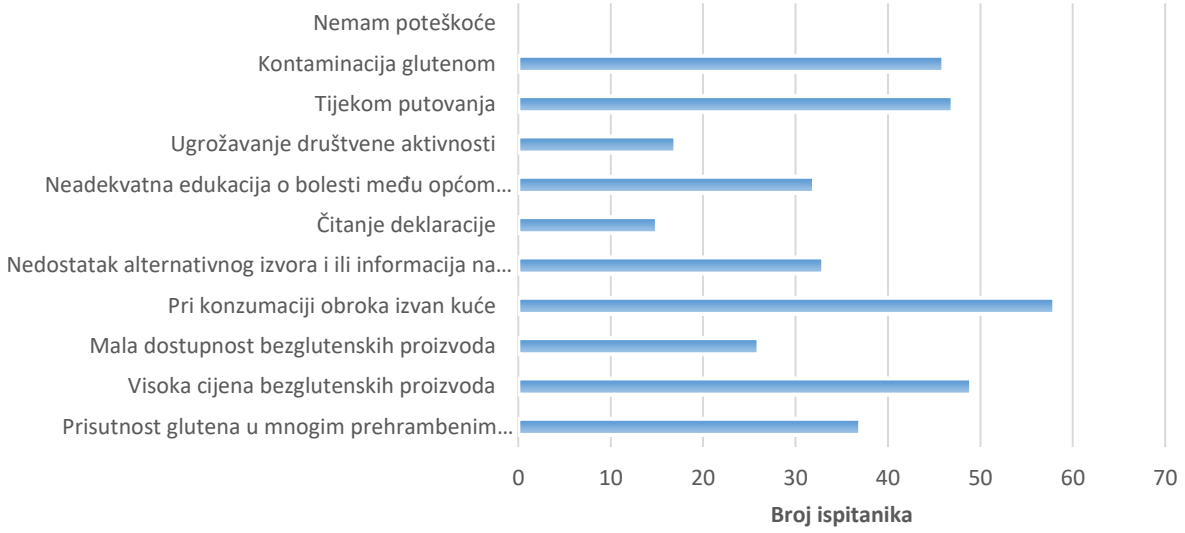
Međutim, iako ispitanici vjeruju kako provode strogo bezglutensku prehranu, do sada se pokazalo kako takvi pojedinci ne mogu sami potpuno ispravno identificirati namirnice koje ne sadrže gluten pa nenamjerno dolazi do unosa glutena (Silvester i sur., 2016). Stoga, vrlo je važno intervenirati kada je u pitanju razumijevanje striktne bezglutenske prehrane, ali i osigurati psihološku podršku oboljelima jer se pokazalo kako je pridržavanje bezglutenske prehrane u većoj mjeri uspješno kada se pojedinac bolje samokontrolira, stekne naviku, osjeti da je efikasan, postavi prioritete i ima podršku (Sainsbury i sur., 2018).

Rezultati pokazuju kako ispitanici uglavnom pronalaze informacije o bezglutenskoj prehrani na internetu (n=54), zatim u udrugama (n=36) te kod gastroenterologa (n=24) (slika 19). Oboljeli uglavnom koriste javno dostupne informacije manje nego profesionalne izvore. Na internetu vrlo često nailaze na dezinformacije što može biti vrlo opasno za njihovo zdravlje (Silvester i sur., 2015). Nedavna studija na 413 ispitanika navodi kako 40 % oboljelih smatra kako je teško naći dijetetičara sa znanjem o bezglutenskoj prehrani (Mahadev i sur., 2013). Prema indeksu CD-QOL (Celiac Disease Quality of Life) i CSI (Celiac Symptom Index), pojedinci koji su se konzultirali s dijetetičarem nemaju veću kvalitetu života od onih koji nisu imali tu priliku prema (Mahadev i sur., 2013). Dobra informiranost je važna za kontrolu celijakije te je znanje o namirnicama i prisutnosti glutena u njima esencijalno za adekvatno provođenje striktne bezglutenske prehrane (Ciacci i sur., 2015).



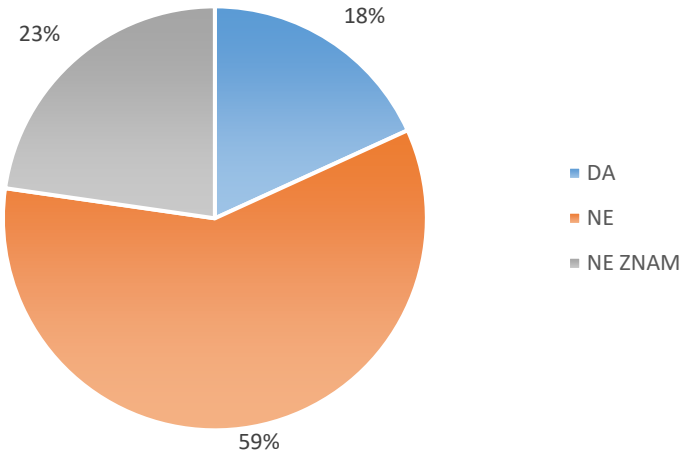
Slika 19. Odgovori na pitanje „Iz kojeg ste izvora dobili najviše informacija o bezglutenskoj dijeti?“

Unatoč informiranju oboljelih, izazov koji je stavljen pred njih je velik te iako je bezglutenska prehrana u svojim postavkama jednostavna, zbog velike raznolikosti namirnica na tržištu nije ju lako provoditi. Svi ispitanici navode kako nailaze na poteškoće prilikom provođenja bezglutenske prehrane, a 69 % ispitanika (n=46) izražava bojazan kada je u pitanju kontaminacija namirnica glutenom (slika 20).



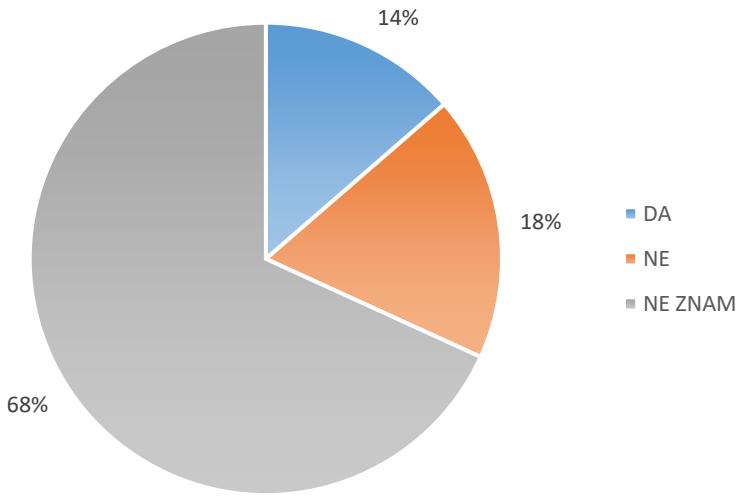
Slika 20. Odgovori na pitanje „Prema Vašem mišljenju, s kojim poteškoćama se susrećete prilikom provođenja bezglutenske dijete?“

Također, 59 % ispitanika smatra kako namirnice koje prirodno ne sadrže gluten, a nisu deklarirane kao bezglutenske, nisu sigurne za pojedince koji provode striktno bezglutensku prehranu (slika 21). Čak 89 % ispitanika odbija konzumirati neku od ponuđenih upakiranih namirnica zbog straha od kontaminacije. Strah od ovakve vrste kontaminacije je potpuno legitiman, a pogotovo kada su u pitanju žitarice, sjemenke i brašno koje prirodno ne sadrže gluten (Thompson i sur., 2010). Osim toga, kontaminacija je moguća i kada su u pitanju bezglutenski proizvodi (Silva i sur., 2010).



Slika 21. Odgovor na pitanje „Smatrate li da su proizvodi koji prirodno ne sadrže gluten (koji nisu deklarirani) sigurni za konzumaciju osobama koje provode striktno bezglutensku dijetu?"

Upakiranu rižu koja nije deklarirana kao bezglutenska ili od provjerenog proizvođača, odbija konzumirati 30 % ispitanika zbog straha od kontaminacije. Većina riža s hrvatskog tržišta nije deklarirana kao bezglutenska. S druge strane, na konkretno pitanje smatraju li rižu na hrvatskom tržištu kontaminiranom, potvrdno je odgovorilo svega 14 % ispitanika te je većina odgovorila na to pitanje da ne zna (slika 22). Thompson i sur. (2010) zabilježili su prisutnost glutena u riži ispod limita kvantifikacije, < 5,00 ppm. Verma i sur. (2017) utvrdili su prisutnost glutena veću od 20 ppm-a u jednom od 24 uzorka riže, a Storsrud i sur. (2003) u 2 od 7 uzoraka riže.

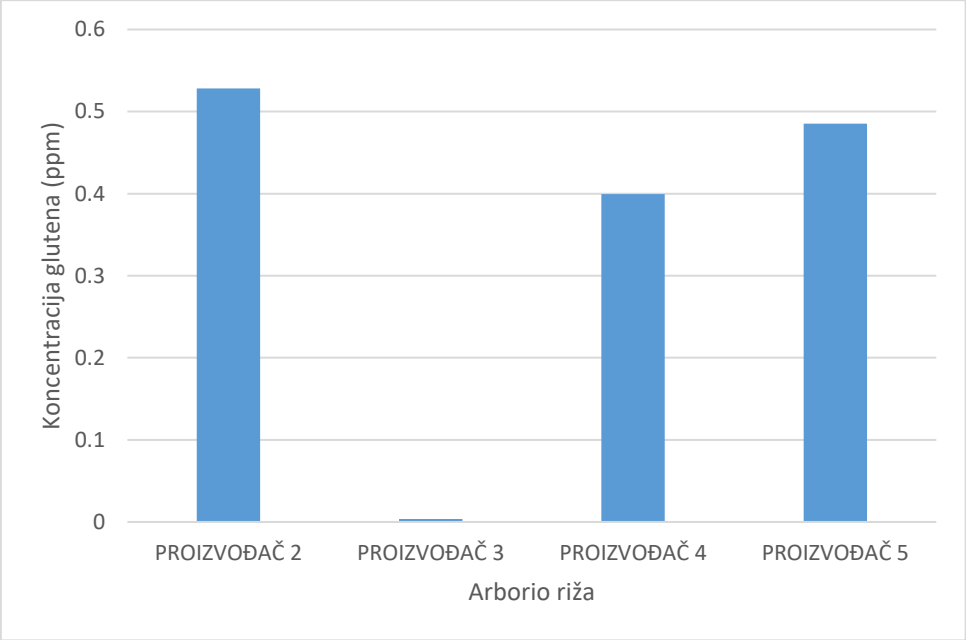


Slika 22. Odgovori na pitanje „Prema Vašem mišljenju, je li riža na našem tržištu kontaminirana glutenom?“

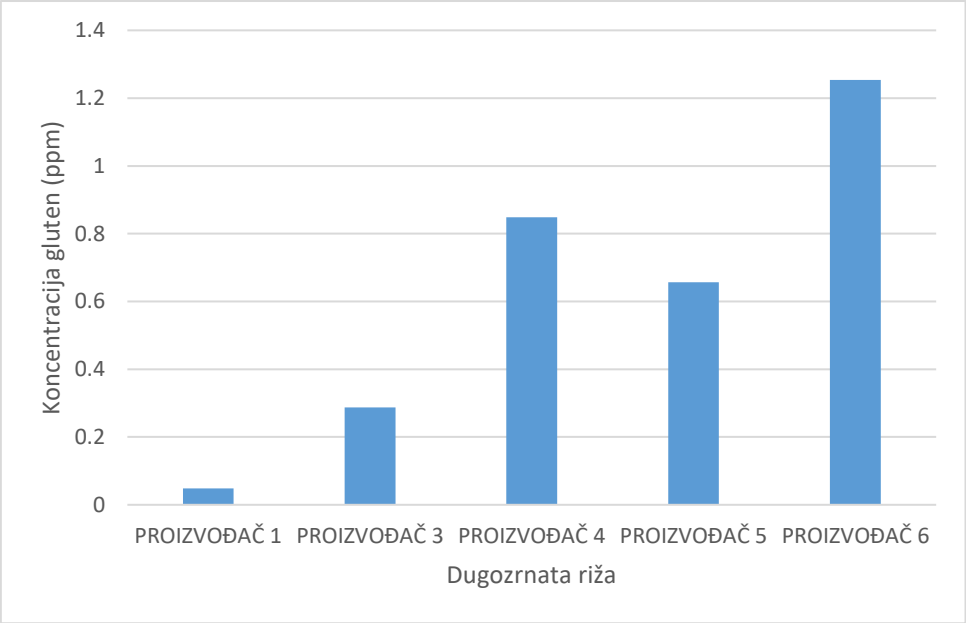
4.3. PRISUTNOST GLUTENA U RIŽI

Postoji više od 110 000 kultiviranih vrsta riže te one međusobno variraju u kvaliteti, načinu obrade nakon žetve te nutritivnoj vrijednosti (Fukagawa i Ziska, 2019). Riža je žitarica koja prirodno ne sadrži gluten, ali može doći do procesa križne kontaminacije pri čemu hrana koja ne sadrži gluten dolazi u direktan ili indirektan kontakt s česticama glutena (Bascunan i sur., 2016). Do kontaminacije dolazi u svim fazama rukovanja s namirnicom, od uzgoja preko proizvodnje, transporta, skladištenja i prodaje (Thompson i sur., 2010). Pojedinci koji boluju od celijakije glavninu svoje prehrane temelje na žitaricama koje prirodno ne sadrže gluten, a najčešće se radi upravo o kukuruzu i riži koje konzumiraju u velikim količinama (Gelinas i sur., 2008; Welstead, 2015). Iako postoji propisana razina glutena (<20 ppm) koja smije biti prisutna

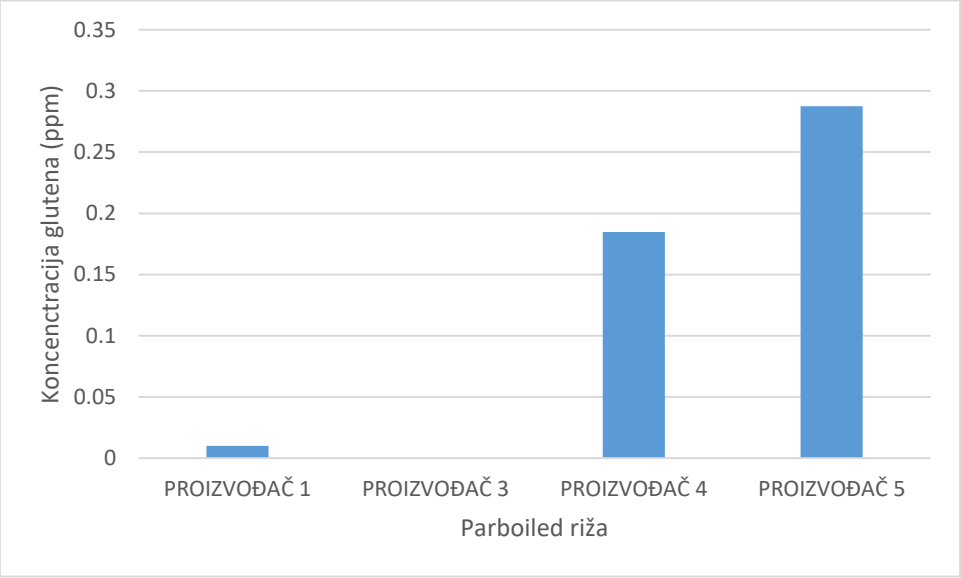
u namirnici da bi ju smatrali bezglutenskom, postavlja se pitanje sigurnosti zdravlja oboljelog pojedinca ukoliko konzumira više namirnica sa sadržajem glutena <20 ppm pri čemu unesena količina glutena prijeđe dozvoljenu vrijednost od 20 ppm (La Vieille i sur., 2014). Zbog sigurnosti zdravlja pojedinaca oboljelih od celijakije na području Republike Hrvatske, u ovom istraživanju je analiziran 41 uzorak riže s hrvatskog tržišta od ukupno 6 proizvođača. Analizom uzoraka riže utvrdilo se kako niti jedan analiziran uzorak ne sadrži gluten te je riža ispitivana u ovom istraživanju sigurna za zdravlje pojedinaca koji provode bezglutensku prehranu.
Zbog preglednosti rezultata analizirani uzorci riže podijeljeni su prema sorti riže te prikazani u nastavku, slikama 23 - 30.



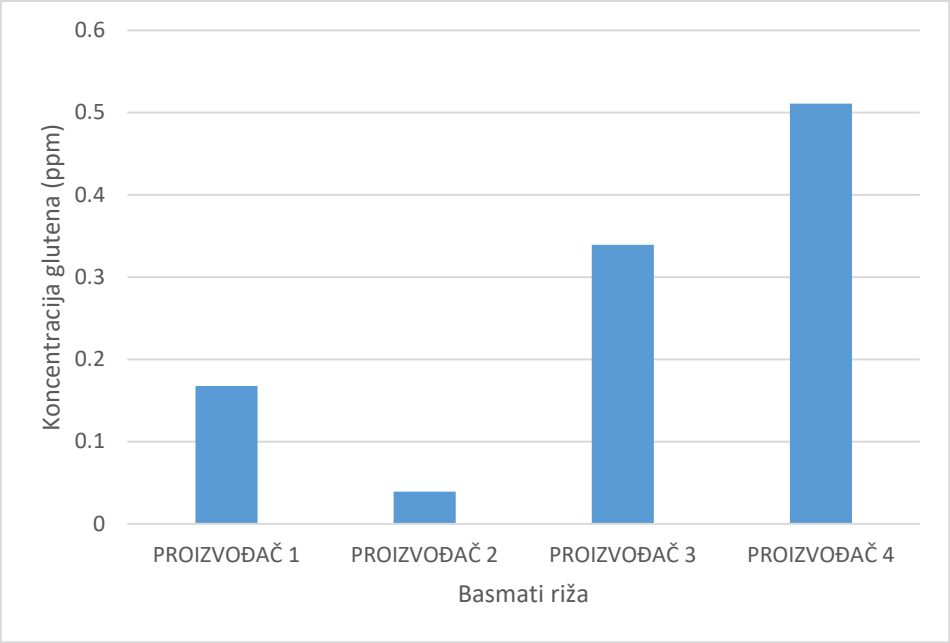
Slika 23. Koncentracija glutena (ppm) u analiziranim uzorcima Arborio riže različitih proizvođača



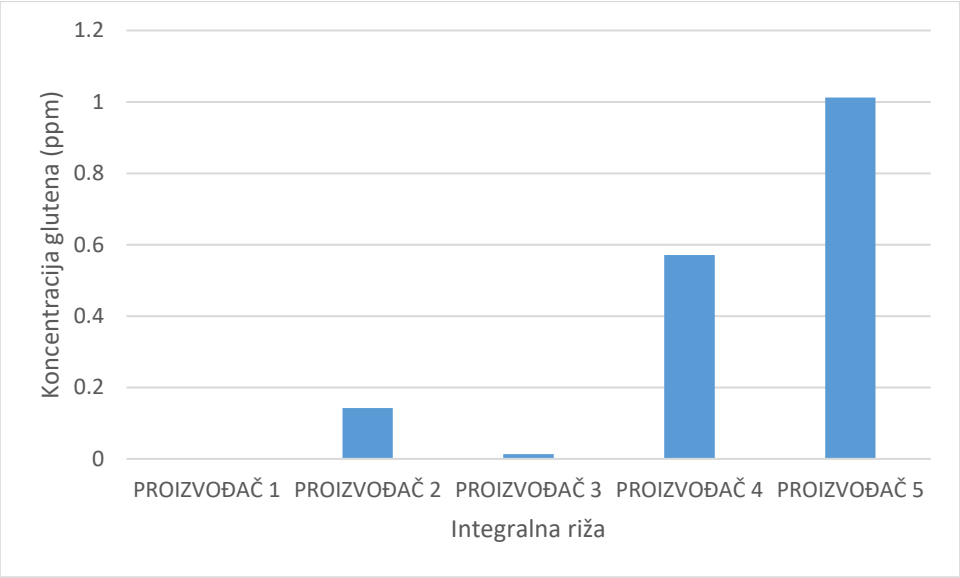
Slika 24. Koncentracija glutena (ppm) u analiziranim uzorcima dugozrnate riže različitih proizvođača



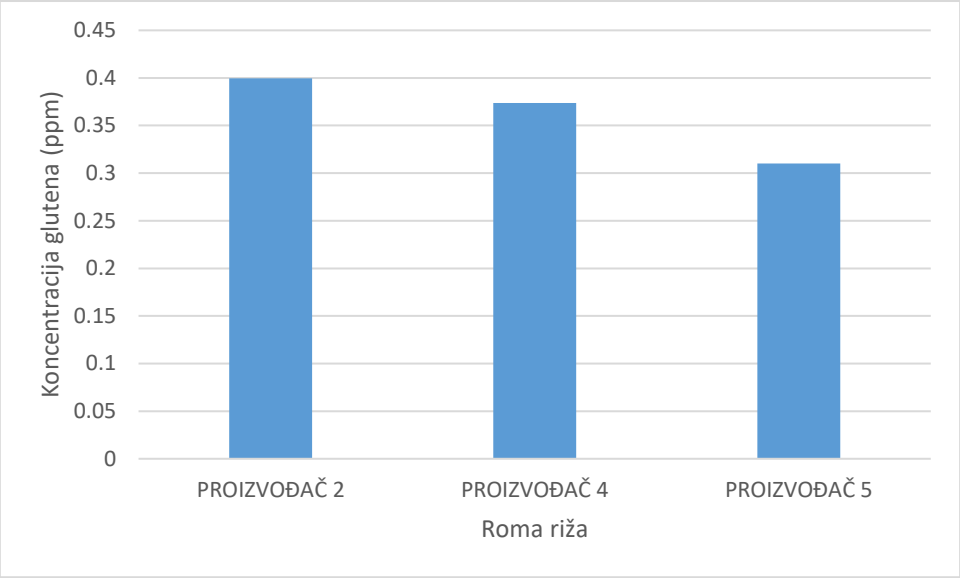
Slika 25. Koncentracija glutena (ppm) u analiziranim uzorcima Parboiled riže različitih proizvođača



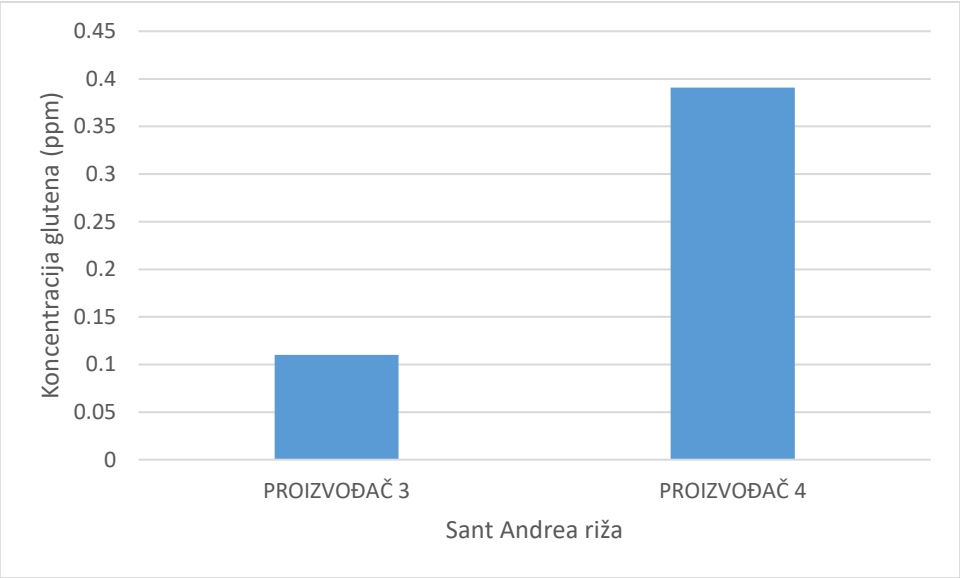
Slika 26. Koncentracija glutena (ppm) u analiziranim uzorcima Basmati riže različitih proizvođača



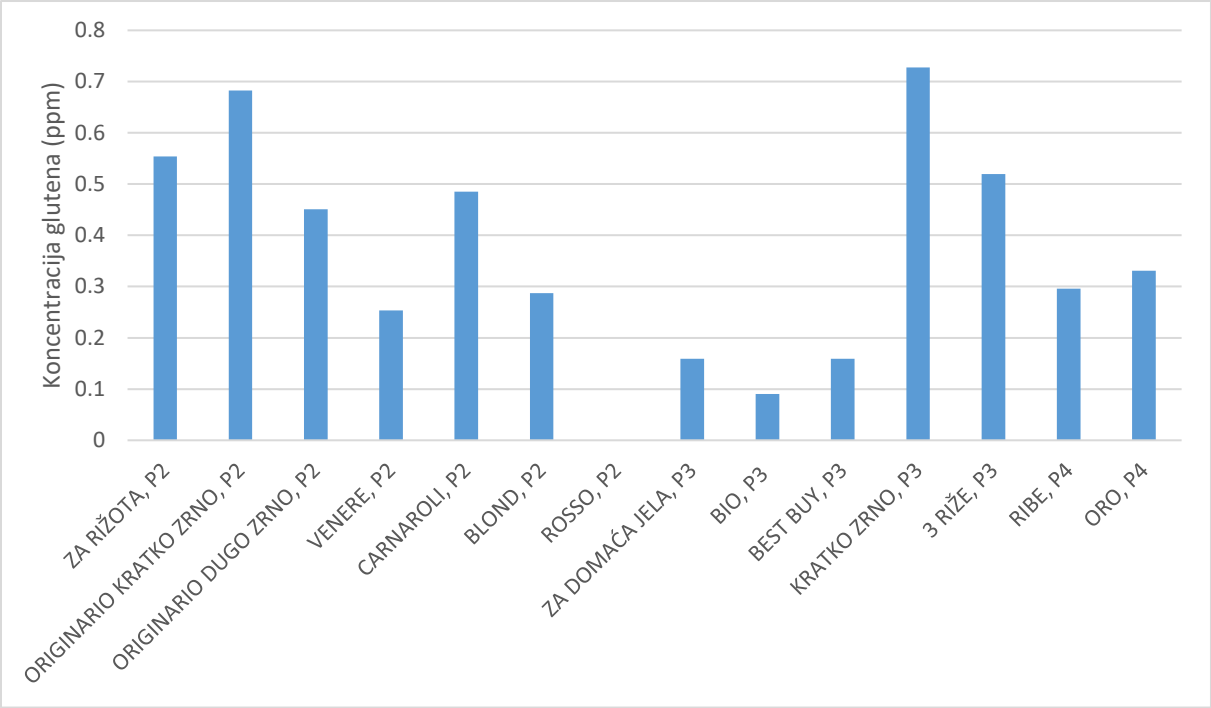
Slika 27. Koncentracija glutena (ppm) u analiziranim uzorcima integralne riže različitih proizvođača



Slika 28. Koncentracija glutena (ppm) u analiziranim Roma uzorcima riže različitih proizvođača



Slika 29. Koncentracija glutena (ppm) u analiziranim Sant Andrea uzorcima riže različitih proizvođača



Slika 30. Koncentracija glutena (ppm) u preostalim analiziranim uzorcima riže različitih proizvođača

Količina glutena je u svim uzorcima ispod limita kvantifikacije koji iznosi 5 ppm odnosno ispod 20 ppm. Rezultate ovog istraživanja podupire i studija autora Thompson i sur. (2010) u kojoj su namirnice analizirane istom ELISA metodom pri čemu je u uzorcima riže prisutnost glutena bila ispod limita kvantifikacije (<5 ppm). Ipak, osim uzoraka riže, Thompson i sur. (2010) analizirali su i druge žitarice koje prirodno ne sadrže gluten te detektirali prisutnost glutena u prosu. Rezultati ove studije te studije koju su proveli Thompson i sur. (2010) ne potvrđuju prisutnost glutena u riži, ali daju naslutiti kako je ipak potreban oprez kada se radi o konzumaciji žitarica koje prirodno ne sadrže gluten. Moguće dobra metoda za pojedince koji moraju provoditi striktno bezglutensku prehranu je deklariranje proizvoda koji prirodno ne sadrže gluten bezglutenskima. Na taj način bi pojedinci stekli povjerenje u proizvođače što bi potaknulo konzumaciju veće količine žitarica. Suprotno rezultatima ovog istraživanja, Verma i sur. (2017) zabilježili su kontaminaciju riže veću od 20 ppm u 12,5 % uzoraka, Storsrud i sur. (2003) u 28,6 % uzoraka te Lee i sur. (2014) u 25 % uzoraka deklarirano bezglutenske riže. Osim riže, analizirali su i proizvode od riže pa je tako glutenom kontaminirano rižino brašno (Thompson i sur., 2010) te kruh i snack od riže koji bi trebali biti prirodno bez glutena (Lee i sur., 2014). Česta kontaminacija prerađenih proizvoda moguća je zbog duljeg zadržavanja sirovine u proizvodnom pogonu (Lee i sur., 2014). Studija autora Lee i sur. (2014) pokazala je kako deklariranje proizvoda bezglutenskima ne garantira sigurnost za oboljele pojedince, ali

ipak bi u većoj mjeri mogla pridonijeti kontroli sigurnosti proizvoda te olakšati pojedincima u odabiru proizvoda.

Ovo istraživanje ima nekoliko ograničenja. Prvo, korištena je dijetetička metoda, Upitnik o učestalosti konzumacije hrane, izrađen na temelju postojećih podataka sedmodnevnog dnevnika prehrane pojedinaca koji boluju od celijakije. Kako bi korišteni FFQ u potpunosti mogli smatrati odgovarajućom dijetetičkom metodom potrebno ga je validirati, međutim validaciju nije bilo moguće provesti s obzirom na pandemiju uzrokovanu korona virusom uslijed koje je moglo doći do promijene prehrambenih navika. Drugo, u istraživanju je sudjelovao mali broj ispitanika (n=66), koji su uslijed navedene pandemije bili voljni sudjelovati u ovom istraživanju. Iz tog razloga učestalost konzumacije riže i vrsta riže koju konzumiraju osobe na bezglutenskoj prehrani nužno ne mora predstavljati ovu populaciju unutar cijele Republike Hrvatske. Završno, analizirani uzorci riže s hrvatskog tržišta ne obuhvaćaju sve proizvođače s tržišta već 6 različitih proizvođača za čije su riže ispitanici naznačili da ih najčešće konzumiraju.

5. ZAKLJUČAK

1. Među ispitanicima ove studije, najčešće konzumirana žitarica je riža (10, 88 ± 9,66 g/dan) što je utvrđeno Upitnikom o učestalosti konzumacije žitarica i proizvoda od žitarica.

2. 59 % ispitanika, u Upitniku o informiranosti, stavovima i mišljenju o glutenu, izjavilo je kako smatra da namirnice koje prirodno ne sadrže gluten, a nisu deklarirane kao bezglutenske, nisu sigurne za pojedince koji provode striktno bezglutensku prehranu. Unatoč tome, na pitanje o kontaminaciji riže na hrvatskom tržištu tek 14 % ispitanika odgovorilo je potvrdno.

3. Svi uzorci riže s hrvatskog tržišta analizirani u ovom istraživanju (n=41) nisu kontaminirani glutenom te su sigurni za konzumaciju osobama koje provode bezglutensku prehranu odnosno sadrže količinu glutena koja je unutar granica prema pravilima o informiranju potrošača u vidu odsutnosti ili smanjene prisutnosti glutena u hrani određenih Direktivom Komisije 2006/141/EZ.

6. LITERATURA

Abu-Janb, N., Jaana, M. (2020) Facilitators and barriers to adherence to gluten-free diet among adults with celiac disease: a systematic review. *J. Hum. Nutr. Diet*. doi: https://doi.org/10.1111/jhn.12754.

Akobeng, A. K., Thomas, A. G. (2008) Systematic review: Tolerable amount of gluten for people with coeliac disease. *Aliment. Pharmacol. Ther*. **27**, 1044–1052.

Al-Toma, A., Volta, U., Auricchio, R., Castillejo, G., Sanders, D. S., Cellier, C., Mulder, C. J., Lundin, K. E. A. (2019) European Society for the Study of Coeliac Disease (ESsCD) guideline for coeliac disease and other gluten-related disorders. *United European Gastroen. J.* (objavljeno *online* 13. travnja 2019.). doi: 10.1177/2050640619844125.

Angelino, D., Rosi, A., Dall' Asta, M., Pellegrini, N., Martini, D. (2019) Evaluation of the Nutritional Quality of Breakfast Cereals Sold on the Italian Market: The Food Labelling of Italian Products (FLIP) Study. *Nutrients*. **11**, 2827.

Atasoy, G., Gokhisar, O. K., Turhan, M. (2019) Gluten contamination in manufactured gluten-free foods in Turkey. *Food Addit. Contam.* (objavljeno *online* 11. prosinca 2019.). doi: 10.1080/19440049.2019.1696021.

Bacigalupe, G., Plocha, A. (2015) Celiac is a social disease: family challenges and strategies. *Fam., Syst. and Health*. (objavljeno *online* 12. siječnja 2015.). doi: 10.1037/fsh0000099.

Balakireva, A. V., Zamyatnin Jr., A. A. (2016) Properties of gluten intolerance: gluten structure, evolution, pathogenicity and detoxification capabilities. *Nutrients*. **8**, 644.

Bardella, M. T., Fredella, C., Prampolini, L., Molteni, N., Giunta, A. M., Bianchi, P. A. (2000) Body composition and dietary intakes in adult celiac diesase patients consuming a strict gluten-free diet. *Am. J. Clin. Nutr.* **72**, 937 – 939.

Berry, N., Basha, J., Varma, N., Varma, S., Prasad, K.K., Vaiphei, K., Dhaka, N., Sinha, S.K., Kochhar, R. (2018) Anemia in celiac disease is multifactorial in etiology: a prospective study from India. *JGH Open* **2**, 196–200.

Bianchi, D. M., Maurella, C., Gallina, S., Gorrasi, I. S. R., Caramelli, M., Decastelli, L. (2018) Analysis of gluten content in gluten-free pizza from certified take-away pizza restaurants. *Foods* (objavljeno *online* 31. listopada 2018.). doi: 10.3390/foods7110180.

Biesiekierski, J. R. (2017) What is gluten? J. Gastroen. Hepatol. **32**, 78-81.

Bustamante, M. A., Fenandez – Gil, M. P., Churruca, I., Miranda, J., Lasa, A., Navarro, V., Simon, E. (2017) Evolution of gluten content in cereal – based gluten – free products: an overview from 1998 to 2016. *Nutrients* **9**, 21. doi: 10.3390/nu9010021.

Butorac, A., Marić, M., Badanjak Sabolović, M., Hruškar, M., Rimac Brnčić, S., Bačun Družina, V. (2013) Analitičke metode u forenzici hrane. *Hrvatski časopis za prehrambenu tehnologiju, biotehnologiju i nutricionizam*. **8**, 90 – 101.

Cabanillas, B. (2019) Gluten-related disorders: Celiac disease, wheat allergy, and nonceliac gluten sensitivity, *Crit. Rev. Food Sci. Nutr* (objavljeno *online* 12. kolovoza 2010). doi: 10.1080/10408398.2019.1651689.

Cabrera – Chavez, F., Calderon de la Barca, A. M., Islas – Rubio, A. R., Marti, A., Marengo, M., Pagani, M. A., Bonomi, F., Iametti, S. (2012) Molecular rearrangements in extrusion processes for the production of amaranth-enriched, gluten-free rice pasta. *LWT - Food Sci. Technol.* **47**, 421 – 426.

Caio, G., Lungaro, L., Segata, N., Guarino, M., Zoli, G., Volta, U., De Giorgio, R. (2020) Effect of gluten-free diet on gut microbiota composition in patients with celiac disease and non-celiac gluten/wheat sensitivity. *Nutrients*. **12**, 1832.

Caponio, F., Summo, C., Clodoveo, M. L., Pasqua-lone, A. (2008) Evaluation of the nutritional quality of the lipid fraction of gluten-free biscuits. *Eur. Food Res. Technol*. **227**, 135-139.

Case, S. (2005) The gluten-free diet: How to provide effective education and resources. *Gastroenterology* **128**, 128-134.

Catassi C., Fabiani, E., Iacono, G., D'Agate, C., Francavilla, R., Biagi, F., Volta, U., Accomando, S., Picarelli, A., De Vitis, I., Pianelli, G., Gesuita, R., Carle, F., Mandolesi, A., Bearzi, I., Fasano, A. (2007) A prospective, double-blind, placebo-controlled trial to establish a safe gluten threshold for patients with celiac disease. *Am. J. Clin. Nutr*. **85**, 160-166.

Catassi, C., Alaedini, A., Bojarski, C., Bonaz, B., Bouma, G., Carroccio, A., Castillejo, G., De Magistris, L., Dieterich, W., Di Liberto, D. (2017) The overlapping area of non-celiac gluten sensitivity (NCGS) and wheat-sensitive irritable bowel syndrome (IBS): an update. *Nutrients* **9**, 1268.

Ciacci, C., Cicilitira, P., Hadjivassiliou, M., Kaukinen, K., Ludvigsson, J. F., McGough, N., Sanders, D. S., Woodward, J., Leonard, J. N., Swift, G. L. (2015) The gluten-free diet and its current application in coeliac disease and dermatitis herpetiformis. *United European Gastroenterol. J.* **3**, 121-135.

Cohen, I. S., Day, A. S., Shaoul, R. (2019) To be oats or not to be? An update on the ongoing debate on oats for patients with celiac disease. *Front. Pediatr.* **7**, 384. doi: 10.3389%2Ffped.2019.00384.

Colgrave, M. L., Byrne. K., Howitt, C. A. (2017) Food for thought: selecting the right enzyme for the digestion of gluten. *Food Chem.* **234**, 389 - 397.doi: 10.1016/j.foodchem.2017.05.008.

Corazza, G. R., di Stefano, M., Maurino, E., Bai, J. C. (2005) Bone sin coeliac disease: diagnosis and treatment. *Best. Pract. Res. Clin. Gastroenterol*. **19**, 453-465.

Cornicelli, M., Saba, M., Machello, N., Silano, M., Neuhold, S. (2018) Nutritional composition of gluten-free food versus regular food sold in the Italian market. *Dig. Liver Dis.* **12**, 1305-1308.

Diez-Sampedro, A., Olenick, M., Maltseva, T., Flowers, M. (2019) A gluten-free diet, not an appropriate choice without a medical diagnosis. *Int. J. Nutr. Metab.* (objavljeno *online* 1. srpnja 2019.). doi: 10.1155/2019/2438934.

Dixit, R., Lebwohl, B., Ludvigsson, J. F., Lewis, S. K., Rizkalla-Reilly, N., Green, P. H. R. (2016) Celiac disease is diagnosed less frequently in young adult males. *Dig. Dis. Sci*. **59**, 1509-1512.

Do Nascimento, A., Fiates, G. M. R., dos Anjos, A., Teixeira, E. (2014) Gluten-free is not enough – perception and suggestions of celiac consumers. *Int. J. Food Nutr*. **65**, 394-398.

Don, C., Halbmayr-Jech, E., Rogers, A., Koehler, P. (2014) AACCI approved methods technical committee report: collaborative study on the immunochemical quantitation of intact gluten in rice flour and rice-based products using G12 sandwich ELISA. *Cereal Food World* **59**, 187-193.

Dykes, L., Rooney, L. W. (2007) Phenolic compounds in cereal grains and their health benefits. *Cereal Food World* **52**, 105 – 111.

Elli, L., Pigatto, P. D., Guzzi, G. (2017) Evaluation of metals exposure in adults on a gluten-free diet, *Clin. Gastroenterol. and Hepatol*. **16**, 152.

Elli, L., Villalta, D., Roncoroni, L., Barisani, D., Ferrero, S., Pellegrini, N., Bardela, M. T., Valiante, F., Tomba, C., Carroccio, A., Bellini, M., Soncini, M., Cannizzaro, R., Leandro, G. (2016) Nomenclature and diagnosis of gluten – related disorders: A position statement by the Italian Association of Hospital Gastroenterologists and Endoscopists (AIGO). *Dig. Liver Dis*. **49**, 138 – 146.

El Khoury, D., Balfour-Ducharme, S., Joye, I. J. (2018) A review on the gluten-free diet: technological and nutritional challenges. *Nutrients*. (objavljeno *online* 2. listopada 2018.). doi: 10.3390/nu10101410.

Emilsson, L., Carlsson, R., Holmqvist, M., James, S., Ludvigsson, J. F. (2013) The characterisation and risk factors of ischaemic heart disease in patients with coeliac disease. *Aliment. Pharmacol. Ther*. **37**, 905-914.

Farage, P., Zandonadi, R. P., Gandolfi, L., Pratesi, R., Falcomer, A. L., Araujo, L. S., Yoshio Nakano, E., Cortez Ginani, V. (2019) Accidental gluten contamination in traditional lunch meals from food services in Brasilia, Brazil. *Nutrients*. **11**, 1924.

Farage, P., de Medeiros Nobrega, Y. K., Pratesi, R., Gandolfi, L., Assuncao, P., Zandonadi, R. P. (2016) Gluten contamination in gluten – free bakery products: a risk for celiac disease patients. *Public Health Nutr.* **20**, 413 – 416.

FDA (2020) Inorganic Arsenic in Rice Cereals for Infants: Action Level Guidance for Industry. FDA – U. S. Food and Drug Administration. <https://www.fda.gov/media/97234/download > Pristupljeno 2. rujna 2020.

Fry, L., Madden, A. M., Fallaize, R. (2018) An investigation into the nutritional composition and cost of gluten-free versus regular food products in the UK. *J. Hum. Nutr. Diet.* **31**, 108–120.

Fukagawa, N. K., Ziska, L. H. (2019) Rice: importance for global nutrition. *J. Nutr. Sci. Vitaminol.* **65**, 2-3.

Gelinas, P., McKinnon, C. M., Mena, M. C., Mendez, E. (2008) Gluten contamination of cereal foods in Canada. *Int. J. Food Sci. Technol*. **43**, 1245-1252.

Gibert, A., Espadaler, M., Canela, M. A., Sanchez, A., Vaque, C., Rafecas, M. (2006) Consumption of gluten-free products: should the threshold value for trace amounts of gluten be at 20, 100 or 200 p.p.m.? *Eur. J. Gastroenterol. Hepatol.* **18**, 1187-1195.

Grehn, S., Fridell, K., Lilliecreutz, M., Hallert, C. (2001) Dietary habits of Swedish adult coeliac patients treated by a gluten-free diet for 10 years. *Scand. J. Food Nutr.g.* (objavljeno *on line* 13. prosinca 2016). doi: 10.3402/fnr.v45i0.1795.

Roncoroni, L., Bascunan, K. A., Vecchi, M., Doneda, L., Bardella, M. T., Lombardo, V., Scricciolo, A., Branchi, F., Elli, L. (2019) Exposure to different amounts of dietary gluten in patients with non-celiac gluten sensitivity (NCGS): An Exploratory Study. *Nutriens*. **11**, 136.

Gutowski, E. D., Weiten, D., Green, K. H., Rigaux, L. N., Bernstein, C. N., Graff, L. A., Walker, J. R., Duerksen, D. R., Silvester, J. A. (2020) Can individuals with celiac disease identify gluten-free foods correctly? *Clin. Nutr.* **36**, 82-90.

Hager, A. S., Axel, C., Arendt, E. K. (2011) Status of carbohydrates and dietary fiber in gluten-free diets. *Cereal Foods World* **56**, 109 – 114.

Haraszi, R., Chassaigne, H., Maquet, A., Ulberth, F. (2011) Analytical methods for detection of gluten in food-method developments in support of food labeling legislation. *J. AOAC INT.* **94**, 1006-1025.

Hopman, E. G. D., la Cessie, S., von Blomberg, M. E., Mearin, M. L. (2006) Nutritional management of the gluten-free diet in young people with celiac disease in The Netherlands. *J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr*. **43**, 102 – 108.

HZZO (2020) Objavljene liste lijekova. HZZO- Hrvatski zavod za zdravstveno osiguranje.<https://www.hzzo.hr/zdravstveni-sustav-rh/trazilica-za-lijekove-s-vazecih-lista/> Pristupljeno 4. srpnja 2020.

Jasthi, B., Pettit, J., Harnack, L. (2020) Addition of gluten values to a food and nutrient database. J. *Food Compos. Anal*. **85**.

Kieffer, R., Schurer, F., Koehler, P., Wieser, H., (2007) Effect of hydrostatic pressure and temperature on the chemical and functional properties of wheat gluten: studies on gluten, gliadin and glutenin. *J. Cereal Sci.* **45**, 285-292.

Kiewlicz, J., Rybicka, I. (2020) Minerals and their bioavailability in relation to dietary fiber, phytates and tannins from gluten and gluten-free flakes. *Food Chem.* **305**, 125452.

Kreutz, J. M., Adriaanse, M. P. M., van der Ploeg, E. M. C., Vreugdenhill, A. C. E. (2020) Narrative review: nutrient deficiencies in adults and children with treated and untreated celiac disease. *Nutrients* **12**, 500.

Krupa-Kozak, U., Drabinska, N. (2016) Calcium in gluten-free life: health-related and nutritional implications. *Foods*. **5**, 51.

Kucek, L. K., Veenstra, L. D., Amnuaycheewa, P., Sorrells, M. E. (2015) A grounded guide to gluten: how modern genotypes and processing impact wheat sensitivity. *Compr. Rev. Food Sci. Food Saf*. **14**, 285 - 302.

Lauret, E., Rodrigo, L. (2013) Celiac Disease and Autoimmune-Associated Conditions. *Biomed. Res. Int.* (objavljeno *on line* 24. srpnja 2013.). doi: 10.1155/2013/127589.

La Vieille, S., Dubois, S., Hayward, S., Koerner, T. B. (2014) Estimated levels of gluten incidentally present in a canadian gluten-free diet. *Nutrients.* **6**, 881-896.

Lee, H. J., Anderson, Z., Ryu, D. (2014) Gluten contamination in foods labeled as gluten free in the United States. *J. Food Prot.* **77**, 1830-1833.

Leffler, D., Schuppan, D., Pallav, K., Najarian, R.., Goldsmith, J. D., Hansen, J., Kabbani, T., Dennis, M., Kelly, C. P. (2013) Kinetics of the histological, serological and symptomatic responses to gluten challenge in adults with coeliac disease. *Gut* **62**, 996– 1004.

Lerner, B. A., Phan Vo, L., Yates, S., Rundle, A. G., Green, P. H. R., Lebwohl, B. (2019) Gluten contamination of restaurant food: analysis of crowd-sourced data lawlor resident award. *Am. J. Gastroenterol*. **113**, 658.

Lionetti, E., Catassi, C. (2015) The role of environmental factors in the development of celiac disease: What is new?. *Diseases*. **3**, 282-293.

Lionetti, E., Pulvirenti, A., Vallorani, M., Catassi, G., Verma, A. K., Gatti, S., Catassi, C. (2017) Re-challenge studies in non-celiac gluten sensitivity: a systematic review and meta-analysis. *Front. Psychol*. **8**, 621.

Mahadev, S., Simpson, S., Lebwhol, B., Lewis, S. K., Tennyson, C. A., Green, P. H. R. (2013) Is dietitian use associated with celiac disease outcomes? *Nutrients.* (objavljeno *online* 15.svibnja 2013). doi: 10.3390%2Fnu5051585.

Mariani P., Viti, M. G., Montuori, M. (1998) The gluten-free diet: a nutritional risk factor for adolescents with celiac disease? *J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr.* **27**, 519–523.

Mazzeo, T., Cauzzi, S., Brighenti, F., Pellegrini, N. (2015) The development of a composition database of gluten-free products. *Public Health Nutr*. **18**, 1353–1357.

Mejias, J. H., Xiaoqiao, L., Osorio, C., Ullman, J. L., von Wettstein, D., Rustgi, S. (2014) Analysis of wheat prolamins, the causative agents of celiac sprue, using reversed phase high performance liquid chromatography (RP-HPLC) and matrix-assisted laser desorption ionization time of flight mass spectrometry (MALDI-TOF-MS). *Nutrients.* **6**, 1578-1597.

Melini, V., Melini, F. (2019) Gluten-free diet: gaps and needs for a healthier diet. *Nutrients* **11**, 170.

Miranda, J., Lasa, A., Bustamante, M.A., Churruca, I., Simon, E. (2014) Nutritional differences between a gluten-free diet and a diet containing equivalent products with gluten. *Plant Foods Hum. Nutr*. **69**, 182–187.

Missbach, B., Schwingshackl, L., Billmann, A., Mystek, A., Hickelsberger, M., Bauer, G., König, J. (2015) Gluten-free food database: The nutritional quality and cost of packaged gluten-free foods. *PeerJ.* (objavljeno *online* 22. listopada 2015). doi: 10.7717/peerj.1337.

Miranda-Castro, R., de los Santos-Alvarez, N., Miranda-Ordieres, A., Jesus Lobo-Castanon, M., Marazza, G. (2016) Harnessing aptamers to overcome challenges in gluten detection. *Biosensors*. (objavljeno *online* 20. travnja 2016). doi: 10.3390/bios6020016.

Muhammad, H., Jeanes, Y., Reeves, S. (2019) Identifying and improving adherence to the gluten-free diet in people with coeliac disease. *Proc Nutr Soc*. **78**, 1-8.

Mustalahti, K., Catassi, C., Reunanen, A., Fabiani, E., Heier, M., McMillan, S., Murray, L., Metzger, M. H., Gasparin, M., Bravi, E., Maki, M. (2010) The prevalence of celiac disease in Europe: results of a centralized, international mass screening project. *Ann. Med*. **42**, 587 – 595.

Nistal, E., Caminero, A., Herran, A., R., Arias, L., Vivas, S., Ruiz de Morales, J., M., Calleja, S., Saenz de Miera, L., E, Arroyo, P., Casqueiro, J (2012) Differences of small intestinal bacteria populations in adults and children with/without celiac disease: effect of age, gluten diet, and disease. *Inflamm. Bowel. Dis.* **18**, 649-656.

Odluka o standardu prehrane bolesnika u bolnicama (2015) *Narodne novine* **59**, Zagreb.

Ohlund, K., Olsson, C., Hernell, O., Ohlund, I. (2010) Dietary shortcomings in children on a gluten-free diet. *J. Hum. Nutr. Diet* **23**, 294 – 300.

Osorio, C. E., Mejias, J. H., Rustgi, S. (2019) Gluten detection methods and their critical role in assuring safe diets for celiac patients. *Nutrients*. **11**, 2920.

Ostry, V., Ruprich, J. (1998) Determination of the mycotoxin fumonisins in the gluten-free diet (corn-based commodity) in the Czech Republic. *Cent. Eur. J. Public Health* **6**, 57-60.

Oxentenko, A. S., Murray, J. A. (2014) Ten things that every gastroenterologist should know. *Clin. Gastroenterol. Hepatol.* **13**, 1396-1404.

Pearlman, M., Casey, L. (2018) Who should be gluten-free? A review for the general practitioner. *Med. Clin. N. Am*. (objavljeno *online* 1. studenog 2018.). doi: 10.1016/j.mcna.2018.08.011.

Pisarello, M. J. L., Vintini, E., O., Gonzales, S. N., Pagani, F., Medina, M. S. (2015) Decrease in lactobacilli in the intestinal microbiota of celiac children with a gluten-free diet, and selection of potentially probiotic strains. *Can. J. Microbiol*. **61**, 32-37.

Plaza-Silva, R., Lacava Lordello, M. L., Nishitokukado, I., Ortiz-Agostinho, C. L., Santos, F. M., Leite, A. Z., Sipahi, A. M. (2010) Detection and quantification of gluten in processed food by ELISA in Brazil. *AGA Abstracts* **138**, 306.

Poms, R. E. (2016) Recent developments in analytical methods for tracing gluten. *J. Cereal Sci*. **67**, 112 – 122.

Pozderac, I., Mijandrušić Sinčić, B. (2019) Poremećaji povezani s glutenom. *Medicina fluminensis*. **55**, 53-58.

Prada, M., Godinho, C., Rodrigues, D. L., Lopes, C., Garrido, M. V. (2019). The impact of gluten-free claim on the perceived healthfulness, calories, level of processing and expected taste of food products. *Food Qual. Prefer.* **73**, 284-287.

Raju, N., Joshi, A. K. R., Vahini, R., Deepika, T., Bhaskarachari, K., Devindra, S. (2020) Gluten contamination in labelled and naturally gluten-free grain products in southern India. *Food Addit. Contam.* ***37***, 531-538.

Radman, M., Jurina, T., Benković, M., Tušek, A. J., Valinger, D., Gajdoš Kljusurić, J. (2018) Application of NIR spectroscopy in gluten detection as a cross-contaminant in food. *Croatian Journal of Food Technology, Biotechnology and Nutrition.* **13**, 120-127.

Raehsler, S. L., Choung, R. S., Marietta, E. V., Murray, J. A. (2018) Accumulation of heavy metals in people on a gluten-free diet. *Clin. Gastroenterol. Hepatol*. **16**, 244-251.

Rostami, K., Bold, J., Parr, A., Johnson, M. W. (2017) Gluten-Free Diet Indications, Safety, quality, labels, and challenges. *Nutrients.* (objavljeno *on line* 8. kolovoza 2017.). doi: 10.3390/nu9080846.

Rubio-Tapia, A., Hill, I., D., Kelly, C. P., Calderwood, A. H., Murray, J. A. (2013) ACG clinical guidelines: diagnosis and management of celiac disease. *Am. J. Gastroenterol.* **5**, 656-676.

Rybicka, I., Doba, K., Binczak, O. (2019) Improving the sensory and nutritional value of gluten-free bread. *Int. J. Food Sci. Tech.* (objavljeno *online* 14. travnja 2019.). doi: doi:10.1111/ijfs.14190.

Sainsbury, K., Halmos, E. P., Knowles, S., Mullan, B., Tye-Din, J. (2018) Maintenance of a gluten free diet in coeliac disease: the roles of self-regulation, habit, psychological resources, motivation, support, and goal priority. *Appetite* **125**, 356-366.

Scherf, K. A., Satturni, L., Ferretti, G., Bacchetti, T. (2010) The gluten-free diet: safety and nutritional quality. *Nutrients* **2**, 16-34.

Silvester, J. A., Weiten, D., Graff, L. A., Walker, J. R., Duerksen, D. R. (2015) Living gluten-free: adherence, knowledge, lifestyle adaptations and feelings towards a gluten-free diet. *J. Hum. Nutr. Diet* **29**, 374-382.

Schosler, L., Christensen, L.A., Hvas, C.L. (2016) Symptoms and findings in adult-onset celiac disease in a historical Danish patient cohort. *Scand. J. Gastroenterol*. **51**, 288–294.

Schuppan, D., Zimmer, K. P. (2013) the diagnosis and treatment of celiac disease. *Dtsch. Arztebl. Int.* (objavljeno *online* 6. prosinca 2013). doi: 10.3238/arztebl.2013.0835.

Shan, L., Molberg, Ø**.,** Parrot, I., Hausch, F., Filiz, F., Gray, G. M., Sollid, L. M., Khosla, C. (2002) Structural basis for gluten intolerance in celiac sprue. *Science*. **297**, 2275–2279.

Silvester, J. A., Weiten, D., Graff, L. A., Walker, J. (2016) Is it gluten-free? Relationship between self-reported gluten-free diet adherence and knowledge of gluten content of foods. *Nutrition* (objavljeno *online* 13. veljače 2016). doi: 10.1016/j.nut.2016.01.021.

Smudlers, M. J. M., van de Wiel C., C., M., van den Broeck, H., C., van der Meer, I., M., Israel-Hoevelaken, T. P. M., Timeer, R. D., van Dinter, B. J., Braun, S., Gilissen, L., J. W. J. (2017) Oats in healthy gluten-free and regular diets: A perspective. *J. Food Res.* **110**, 3-10.

Stamnaes, J., Sollid, L. M. (2015) Celiac disease: Autoimmunity in response to food antigen. *Semin. Immunol.* (objavljeno *online* 18. studenog 2015). doi: 10.1016/j.smim.2015.11.001.

Staudacherm H., M., Kurien, M., Whelan, K. (2017) Nutritional implications of dietary interventions for managing gastrointestinal disorders. *Curr. Opin. Gastroenterol.* **33**, 105-111.

Storsrud, S., Yman, I., M., Lenner, R. A. (2003) Gluten contamination i oat products and products naturally free from gluten. *Eur. Food Res. Technol*. **217**, 481-485.

Taylor, S. L., Nordlee, J. A., Jayasena, S., Baumert, J. L. (2018) Evaluation of a handheld gluten detection device. *J. Food Prot*. **81**, 1723-1728.

Theethira, T., G., Dennis, M. (2015) Celiac disease and the gluten-free diet: consequences and recommendations for improvement. *Dig. Dis*. **33**, 175-182.

Theethira, T. G., Dennis, M., Leffler, D. A. (2014) Nutritional consequences of celiac disease and the gluten-free diet, *Expert Rev. of Gastroenterol. Hepatol.* **8**, 123-129 .

Thompson, T., Roland Lee, A., Grace, T. (2010) Gluten contamination of grains, seeds, and flours in the United States: a pilot study. *J. Am. Diet Assoc.* **110**, 937-940.

Thompson, T., Simpson, S. (2015) A comparison of gluten levels in labeled gluten-free and certified gluten-free foods sold in the United States. *Eur. J. Clin. Nutr.* **69**, 143-146.

Torović, LJ. (2017) Fusarium toxins in corn food products: a survey of the Serbian retail market. *Food Addit. Contam. Part A* (objavljeno *online* 26. prosinca 2017). doi: 10.1080/19440049.2017.1419581.

Tortora, R., Capone, P., De Stefano, G., Imperatore, N., Gerbino, N., Donetto, N., Monaco, N., Caporaso, N., Rispo, A. (2015) Metabolic syndrome in patients with coeliac disease on a gluten-free diet. *Aliment. Pharmacol. Ther.* (objavljeno *online* 8. siječnja 2015). doi: 10.1111/apt.13062.

Valitutti, F., Iorfida, D., Anania, C., Trovato, C. M., Montuori, M., Cucchiara, S., Catassi, C. (2017) Cereal consumption among subjects with celiac disease: a snapshot for nutritional considerations. *Nutrients* (objavljeno *online* 18. travnja 2017). doi: 10.3390/nu9040396.

Verma, A. K., Gatti, S., Galeazzi, T., Monachesi, C., Padella, L., Del Baldo, G., Annibali, R., Lionetti, E., Catassi, C. (2017) Gluten contamination in naturally or labeled gluten-free products marketed in Italy. *Nutrients*. **9**, 115.

Vincentini, O., Izzo, M., Maialetti, F., Gonnelli, E., Neuhold, S., Silano, M. (2016) Risk of cross-contact for gluten-free pizzas in shared-production restaurants in relation to oven cooking procedures. *J. Food Prot*. **79**, 1642–1646.

Welstead, L. (2015) The Gluten – Free in the 3rd millennium: rules, risks and opportunities. *Diseases* **3**, 136 – 149.

Weisbrod, V. M., Silvester, J. A., Raber, C., McMahon, J., Coburn, S. S., Kerzner, B. (2019) Preparation of gluten-free foods alongside gluten-containing food may not always be as risky for celiac patients as diet guides suggest. *Gastroenterology* **158**, 273-275.

WHO (2020) Healthy diet. WHO – World Health Organization, Geneva, < https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/healthy-diet >. Pristupljeno 4. srpnja 2020.

Wieser, H. (2007) Chemistry of gluten protein. *Food Microbiol*. **24**, 115 – 119.

Wild, D., Robins, G. G., Burley, V. J., Howdle, P. D. (2010) Evidence of high sugar intake, and low fibre and mineral intake, in the gluten-free diet. *Aliment. Pharmacol. Ther*. **32**, 573–581.

Woomer, J. S., Adedeji, A. A. (2020) Current applications of gluten-free grains - a review. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* (objavljeno *on line* 22. siječnja 2020). doi: 10.1080/10408398.2020.1713724.

Wu, J. H. Y. Y., Neal, B., Trevena, H., Crino, M., Stuart-Smith, W., Faulkner-Hogg, K., Yu Louie, J.C., Dunford, E. (2015) Are gluten-free foods healthier than non-gluten-free foods? An evaluation of supermarket products in Australia. *Br. J. Nutr*. **114**, 448–454.

Xhakollari, V., Canavari, M., Osman, M. (2019) Factors affecting consumers adherence to gluten-free diet, a systematic review. *Trends Food Sci. Technol.* **85**, 23-33.

Zuccotti, G., Fabiano, V., Dilillo, D., Picca, M., Cravidi, C., Brambilla, P. (2012) Intakes of nutrients in Italian children with celiac disease and the role of commercially available gluten-free products. *J. Hum. Nutr. Diet* **26**, 436 – 444.

Izjava o izvornosti

Izjavljujem da je ovaj diplomski rad izvorni rezultat mojeg rada te da se u njegovoj izradi nisam koristila drugim izvorima, osim onih koji su u njemu navedeni.

Mihaela Gulin

_____