



Fundação Educacional do Município de Assis
Instituto Municipal de Ensino Superior de Assis
Campus "José Santilli Sobrinho"

RUTH PEREIRA SALOMÃO

**DETERMINAÇÃO QUALITATIVA E QUANTITATIVA DE GLÚTEN EM
FARINHA DE TRIGO, AVEIA E ARROZ**

Assis
2012

RUTH PEREIRA SALOMÃO

DETERMINAÇÃO QUALITATIVA E QUANTITATIVA DE GLÚTEN EM
FARINHA DE TRIGO, AVEIA E ARROZ

Trabalho de conclusão de curso de Curso apresentado ao Instituto Municipal de Ensino Superior de Assis, como requisito do Curso de Graduação Química

Orientador: Ms. Gilcelene Bruzon

Área de Concentração: Química

Assis
2012

FICHA CATALOGRÁFICA

SALOMÃO, Ruth Pereira

Determinação Qualitativa e Quantitativa de Glúten em Farinha de Trigo, Aveia e Arroz / Ruth Pereira Salomão. Fundação Educacional do Município de Assis - FEMA -- Assis, 2012.

45 p.

Orientador: Ms. Gilcelene Bruzon.

Trabalho de Conclusão de Curso – Instituto Municipal de Ensino Superior de Assis – IMESA.

1.Glúten. 2.Química de alimentos.

CDD:660

Biblioteca da FEMA

DETERMINAÇÃO QUALITATIVA E QUANTITATIVA DE GLÚTEN EM FARINHA DE TRIGO, AVEIA E ARROZ

RUTH PEREIRA SALOMÃO

Trabalho de Conclusão de Curso
apresentado ao Instituto Municipal
de Ensino Superior de Assis, como
requisito do Curso de Graduação,
analisado pela seguinte comissão
examinadora:

Orientador: Ms. Gilcelene Bruzon

Analisador: Ms. Patrícia Cavani Martins de Mello

Assis
2012

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho aos meus pais, que sempre estiveram ao meu lado me apoiando em todas as decisões que tomei.

AGRADECIMENTOS

A professora, Gilcelene Bruzon, pela dedicação, pelo comprometimento, pelo apoio e pelo constante estímulo transmitido durante o trabalho.

Aos amigos, que durante todos esses anos sempre que precisei estiveram ao meu lado para me ajudar e me apoiar e a todos que colaboraram direta ou indiretamente, na execução deste trabalho.

Aos familiares, principalmente aos meus pais, que me apoiaram, me deram forças, me incentivaram, que estiveram ao meu lado sempre que precisei, que fizeram e fazem de tudo para que eu tenha um futuro brilhando.

Tudo posso naquele que me fortalece.

Filipenses 4:13

RESUMO

A doença celíaca é a intolerância permanente ao glúten que afeta o intestino delgado. Os sintomas da doença celíaca são: emagrecimento, parada do crescimento, vômitos, diarreia crônica ou prisão de ventre, mudança de humor e até mesmo anemia. O tratamento se faz com a exclusão total do glúten, que é uma proteína que está presente no trigo (99%), aveia (94%), centeio (92%), cevada (94%) e seus derivados. As leis 8543/1992 e a 10.674/2003 obrigam os fabricantes de alimentos a descreverem em seu rótulo se o alimento “Contêm” ou “Não Contêm” glúten. Para determinar o glúten contido nos alimentos são usados alguns métodos, tais como: ELISA (*enzyme-linked immunosorbent assay*), cromatografia líquida de alta resolução (HPLC), eletroforese em gel de poliacrilamida (SDS-PAGE), espectrometria de massa, *Western Blotting*, reação em cadeia de polimerase (PCR) e método gravimétrico. Este trabalho teve como objetivo analisar, através do método gravimétrico, se as informações contidas nos rótulos da farinha de trigo, aveia e arroz são verdadeiras. A quantidade de glúten seco encontrada na farinha de trigo foi de 8,7%, na farinha de aveia foi de 22,8% e na farinha de arroz foi de 50,7%. Das três farinhas analisadas apenas a farinha de arroz dizia em sua rotulagem que não continha glúten, porém notou-se que a farinha de arroz possui um elevado teor de glúten. Portanto a constante inspeção das informações contidas nos rótulos das embalagens é de extrema importância para a garantia na qualidade de vida do celíaco.

Palavras-chave: Glúten, Método Gravimétrico.

ABSTRACT

Celiac disease is a permanent intolerance to gluten that affects the small intestine. The symptoms of celiac disease are weight loss, stunted growth, vomiting, chronic diarrhea or constipation, mood swings and even anemia. The treatment is done with the complete exclusion of the gluten, which is a protein that is present in wheat (99%), oat (94%), barley (92%), barley (94%) and its derivatives. Laws 8543/1992 and 10.674/2003 require food manufacturers to describe its label if the food "contain" or "do not contain" gluten. To determine the gluten contained in the foodstuffs are used some methods such as ELISA (enzyme-linked immunosorbent assay), high performance liquid chromatography (HPLC), electrophoresis on polyacrylamide gel (SDS-PAGE), mass spectrometry, Western Blotting , polymerase chain reaction (PCR) and gravimetric method. This study aimed to examine, through the gravimetric method, if the information on the labels of wheat flour, oats and rice are true. The amount of dry gluten found in wheat flour was 8.7%, the oatmeal was 22.8% and rice flour was 50.7%. Flour analyzed only three of the rice flour in their labeling said containing no gluten, however noted that rice flour has a high gluten content. Therefore the constant inspection of the information contained on the labels is extremely important for ensuring the quality of life of celiac.

Keywords: Gluten, Gravimetric Method.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 – Estrutura primária das proteínas.....	16
Figura 2 – Estrutura secundária das proteínas.....	16
Figura 3 – Estrutura terciária das proteínas.....	17
Figura 4 – Estrutura quaternária das proteínas.....	18
Figura 5 – Mucosa do intestino delgado normal e atrofiado.....	32
Figura 6 – Pesagem da amostra.....	36
Figura 7 – Diluição da amostra.....	36
Figura 8 – Massa de glúten.....	37
Figura 9 – Massa de glúten seco.....	38

SUMÁRIO

1.	INTRODUÇÃO.....	13
2.	PROTEÍNAS.....	15
2.1	ESTRUTURA PRIMÁRIA DAS PROTEÍNAS.....	15
2.2	ESTRUTURA SECUNDÁRIA DAS PROTEÍNAS.....	16
2.3	ESTRUTURA TERCIÁRIA DAS PROTEÍNAS.....	17
2.4	ESTRUTURA QUATERNÁRIA DAS PROTEÍNAS.....	17
3.	GLÚTEN.....	19
3.1	IMPORTÂNCIA DO GLÚTEN.....	19
3.2	MALEFÍCIOS CAUSADOS PELO GLÚTEN.....	20
3.3	LEGISLAÇÃO E LIMITES DE TOLERÂNCIA AO GLÚTEN.....	20
4.	MÉTODOS PARA DETERMINAÇÃO DE GLÚTEN.....	24
4.1	MÉTODO ELISA.....	25
4.1.1	Método ELISA R-5.....	26
4.1.2	Método ELISA “Sanduiche”.....	26
4.2	CROMATOGRAFIA LÍQUIDA DE ALTA RESOLUÇÃO (HPLC).	27
4.3	ELETROFORESE EM GEL DE POLIACRILAMIDA (SDS- PAGE).....	28
4.4	ESPECTROMETRIA DE MASSA.....	29
4.5	<i>WESTERN BLOTTING</i>	29
4.6	REAÇÃO EM CADEIA DE POLIMERASE (PCR).....	30
4.7	MÉTODO GRAVIMÉTRICO.....	30
5.	DOENÇA CELÍACA.....	31
5.1	AÇÕES PARA A MELHORIA DA QUALIDADE DE VIDA DO CELÍACO.....	32
6.	APLICAÇÃO NO ENSINO MÉDIO.....	33
6.1	EXPERIMENTO.....	33
7.	MATERIAIS E MÉTODOS.....	35

7.1	MATERIAIS E REAGENTES.....	35
7.2	MÉTODOS.....	35
7.2.1	Seleção das amostras.....	35
7.2.2	Determinação de glúten.....	35
8.	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	39
9.	CONCLUSÃO.....	40
	REFERÊNCIAS.....	41

1. INTRODUÇÃO

A doença celíaca consiste na intolerância permanente ao glúten que afeta o intestino delgado (MEDEIROS, 1996). A doença manifesta-se mais facilmente na infância, mas pode surgir em adultos ou pessoas de qualquer idade. Os sintomas da doença celíaca são: emagrecimento, parada do crescimento, vômitos, diarreia crônica ou prisão de ventre, mudança de humor e até mesmo anemia (ARAUJO, 2008). O tratamento da doença celíaca se faz com a exclusão total do glúten, que é uma proteína presente no trigo (99%), aveia (94%), centeio (92%), cevada (94%) e seus derivados (ARAUJO, 2008).

A Comissão do *Codex Alimentarius* diz que o limite que um celíaco pode ingerir de glúten é de 20 ppm para produtos naturalmente sem glúten e de 200 ppm para produtos derivados de ingredientes não fonte de glúten (BARBOSA; ABREU; ZENEBON, 2007).

O consumo de produtos industrializados pelos celíacos requer muito cuidado, pois 84% desses produtos possuem glúten em sua composição (PICCOLOTO, 2002). A Comissão do *Codex Alimentarius* diz que um alimento é totalmente isento de glúten quando o conteúdo total de prolaminas (gliadinas) presentes no trigo, aveia, centeio e na cevada não ultrapassam 1mg/100g em base seca. Sabe-se que a fração mais tóxica do glúten é a gliadina (CAPERUTO, 1999). O trigo, aveia, centeio e a cevada pertencem à família da *Gramineae* (SDEPANIAN, 1999).

É importante que o celíaco coma um alimento sem medo de estar ingerindo algo com glúten, por isto torna-se importante à verificação da veracidade das informações contidas nos rótulos dos alimentos (SILVA, 2010).

Para saber se um alimento é realmente isento de glúten ou não, são usados alguns métodos, tais como: análise de DNA, espectrometria de massa, cromatografia líquida de alta resolução, métodos imunológicos e o método Elisa (BICUDO, 2010). Estes métodos nem sempre são acessíveis, uma alternativa de custo reduzido é a análise de glúten pelo método gravimétrico.

Este trabalho tem como objetivo fazer a análise, utilizando método de baixo custo, de três tipos de farinha (farinha de trigo, farinha de arroz e aveia) para verificar se a informação de “contêm” e “não contêm” glúten são verdadeiras.

2. PROTEÍNAS

São polímeros com alto peso molecular constituído por cadeias de aminoácidos ligados entre si por ligações peptídicas (BOBBIO; BOBBIO, 2003).

As proteínas constituem mais da metade do peso seco das nossas células, por isso são o componente celular mais abundante e possuem forma e função bem diversificadas. As funções desempenhadas pelas proteínas são estruturais, dinâmicas, proteção do organismo, são reguladoras, além de realizar reações e transportar moléculas (NASCIMENTO, 2010; UCKO, 1992).

A classificação das proteínas se faz de acordo com o número e espécie dos resíduos de aminoácidos, e também pela seqüência desses compostos na molécula (BOBBIO; BOBBIO, 2003). As proteínas simples ou homoproteínas são aquelas substâncias que por hidrólise total resultam em um único produto os aminoácidos (BOBBIO; BOBBIO, 2003). As proteínas conjugadas são aquelas que por hidrólise originam um aminoácido e outro composto orgânico chamado de grupo prostético (MACHADO, 2001). As proteínas derivadas são compostos não encontrados na natureza, são obtidas através da transformação de proteínas simples ou conjugadas pela ação de ácidos, bases ou enzimas (MACHADO, 2001). As proteínas globulares ou fibrosas são classificadas de acordo com sua estrutura, geralmente são solúveis em água, soluções salinas ou ácidas (BOBBIO; BOBBIO, 2003).

2.1 ESTRUTURA PRIMÁRIA

A estrutura primária é a seqüência de aminoácidos unidos por ligações peptídicas. A estrutura primária é escrita na direção amino terminal para carboxila terminal (figura 1) (BOBBIO, 2003; MARZZOCO; TORRES, 1999).

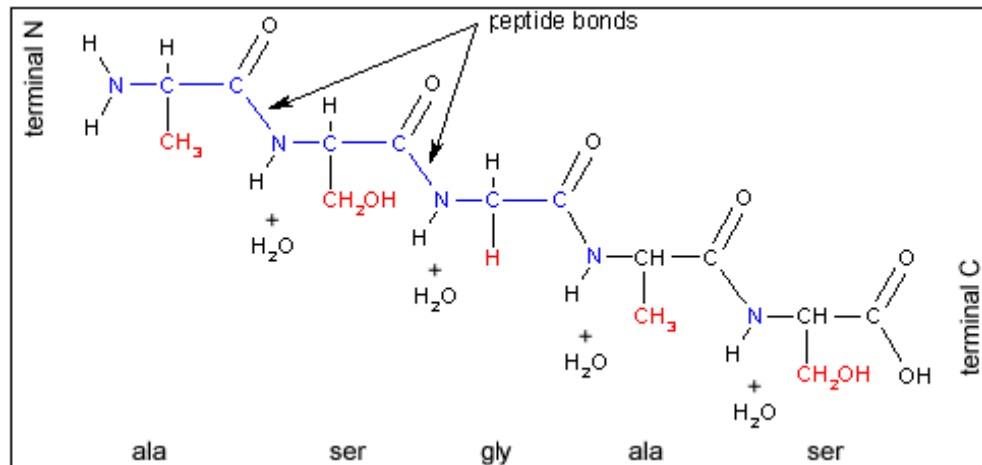


Figura 1 – Estrutura primária das proteínas (In: SILVEIRA, 2003).

2.2 ESTRUTURA SECUNDÁRIA

Na estrutura secundária as cadeias peptídicas são torcidas, dobradas ou enroladas entre si, podendo estar na forma alfa-hélice ou beta-preguiada (figura 2) (BOBBIO; BOBBIO, 2003).

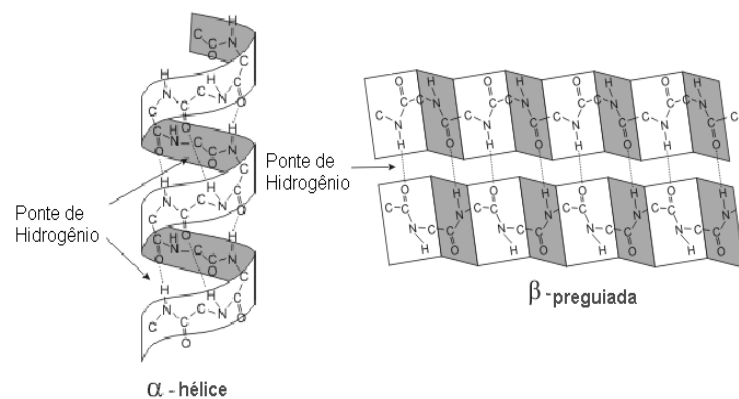


Figura 2 – Estrutura secundária das proteínas α -hélice e β -preguiada (In: SANTOS; EFFTING; MENDONÇA, 2005).

2.3 ESTRUTURA TERCIÁRIA

A estrutura terciária é o resultado de ligações especiais, resultando em uma estrutura complexa e mais compacta para as proteínas (figura 3) (NASCIMENTO, 2010).

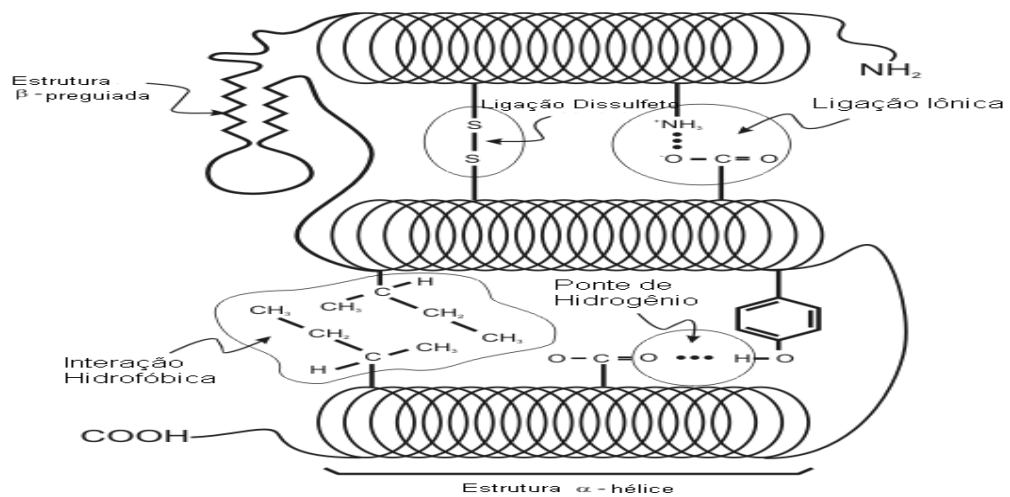


Figura 3 – Estrutura terciária das proteínas (In: PATRICIA, 2008)

2.4 ESTRUTURA QUATERNÁRIA

A estrutura quaternária é a harmonização de várias estruturas terciárias (figura 4) (NASCIMENTO, 2010).

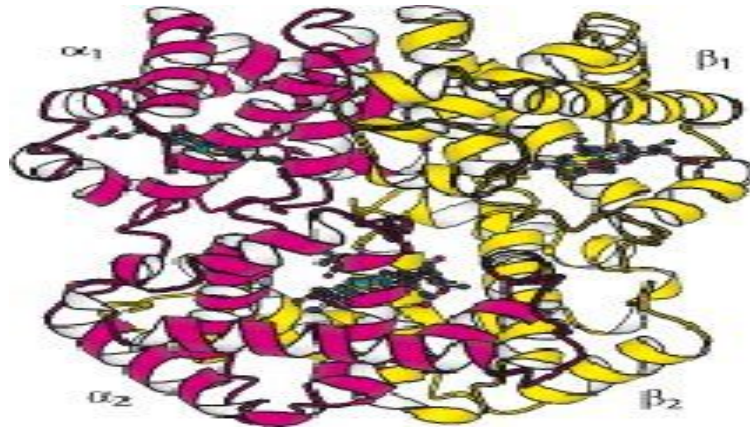


Figura 4 – Estrutura quaternária das proteínas (In: PATRICIA, 2008)

As proteínas constituem cerca de 50% do peso seco dos tecidos, tornando-se assim o composto orgânico em maior abundância no organismo. Possui papel fundamental, pois não existe função biológica que não dependa da proteína (NASCIMENTO, 2010).

3. GLÚTEN

O glúten é uma substância elástica, aderente, insolúvel em água e responsável pela formação da estrutura das massas dos alimentos. O glúten é formado por um complexo de proteína-lipídio-carboidrato, onde 75% é proteína, 15% é carboidrato e 6% é lipídio. As proteínas do glúten equivalem a 80% das proteínas totais dos grãos e pertencem a duas classes: a gliadina, que pertence à classe das prolaminas, e a glutenina, que pertence a classe das glutelinas (SGARBIERI, 1996). A fração protéica é formada pela hidratação da gliadina e glutenina que são ligadas entre si e a outros componentes macromoleculares, através de vários tipos de ligações químicas (ARAUJO, 2008). Para os celíacos a porção tóxica do glúten está relacionada às prolaminas (SILVA, 2010).

O glúten é uma proteína muito importante para o preparo de alimentos que precisam de crescimento, pois as finas membranas que são formadas retêm as bolhas de gás produzidas pelos agentes do crescimento. O glúten se desnatura em contato com o calor formando uma casca que limita as entradas produzidas pela expansão do gás no interior da massa dando característica crocante aos produtos (ARAUJO, 2008).

3.1 IMPORTÂNCIA DO GLÚTEN

Como já foi falado anteriormente, o glúten é uma proteína muito importante no preparo de alimentos que necessitam de crescimento. Na tecnologia do trigo, o glúten tem importância quanto às propriedades de coesividade-elasticidade da massa panificável (SGARBIERI, 1996).

A elasticidade do glúten hidratado é devida principalmente à glutenina por sua resistência a ruptura, que por sua vez se dá devido à sua estrutura e peso molecular (SGARBIERI, 1996).

O glúten possui a capacidade de formar uma massa viscoelástica que retém o gás que é produzido na fermentação e nas primeiras etapas de cozimento do pão, sendo assim origina-se um produto leve (TEDRUS et al., 2001).

3.2 MALEFÍCIOS CAUSADOS PELO GLÚTEN

Há algum tempo os médicos e nutricionistas descobriram que o glúten ao chegar no intestino converte-se em uma cola grudando assim nas paredes do intestino e aos poucos provoca uma saturação do aparelho digestivo, aumento da gordura na região do abdômen, dores articulares, alergias cutâneas, enxaqueca e depressão (CALDAS, 2012).

Além disso, o glúten para uma pessoa que tenha a doença celíaca ela danifica e agride as vilosidades do intestino delgado, causando assim uma má absorção dos nutrientes presentes no alimento (PICCOLOTO, 2002).

Como malefício o glúten causa o emagrecimento, diarreia ou prisão de ventre, baixa estatura, desnutrição, mudança de humor, anemia, esteatorréia (fezes gordurosas), defeito do esmalte dentário, osteoporose, fadiga, fraqueza e falta de energia, deficiência da vitamina K com risco de hemorragia, insuficiência pancreática, deficiências vitamínicas e minerais, mau funcionamento da vesícula biliar, nervoso central e periférico doenças do sistema - geralmente devido a deficiências nutricionais insuspeitas e linfomas intestinais e outros cânceres (tumores malignos GI) (PICCOLOTO, 2002).

3.3 LEGISLAÇÃO E LIMITES DE TOLERÂNCIA AO GLÚTEN

A informação que diz respeito ao limite de tolerância ao glúten para pessoas com doença celíaca é muito importante para a sua dieta e para a elaboração da legislação de alimentos isentos de glúten. Para que um celíaco possa consumir um alimento isento de glúten, este alimento deve obedecer aos limites estabelecidos

pela Comissão do *Codex Alimentarius*, não sendo necessária a sua total ausência no produto analisado (BICUDO, 2010).

No Brasil, ainda não existe uma lei que determine os limites adequados para a quantidade de glúten adequado em alimentos, sendo assim apenas as indicações internacionais do *Codex Alimentarius* são seguidas. Existem apenas duas Leis Federais que dizem respeito a esse assunto, a Lei 8543/1992 e a 10.674/2003 que somente obrigam os fabricantes de produtos alimentícios a expor em sua rotulagem se o alimento “Contêm” ou “Não Contêm Glúten” (QUINTANA, 2011).

A Lei 8543 de dezembro de 1992, obrigava os fabricantes de alimentos industrializados a colocarem advertências em sua rotulagem caso em sua composição obtivesse o glúten (QUINTANA, 2011).

Desta forma a Lei 8543 estabelece:

Art. 1º Todos os alimentos industrializados que contenham glúten, como trigo, aveia, cevada, malte e centeio e/ou seus derivados, deverão conter, obrigatoriamente, advertência indicando essa composição.

§ 2º A advertência deve ser impressa nos rótulos e embalagens dos produtos industrializados em caracteres com destaque, nítidos e de fácil leitura.

Já a Lei 10.674 de 16 de maio de 2003, foi mais específica e obrigava que os fabricantes em seus rótulos, bulas e em materiais de publicidade fossem escritos: “Contêm Glúten” ou “Não Contêm Glúten” (QUINTANA, 2011).

Deste modo a Lei 10.674 estabelece:

Art. 1º Todos os alimentos industrializados deverão conter em seu rótulo e bula, obrigatoriamente, as inscrições "contêm Glúten" ou "não contém Glúten", conforme o caso.

§ 1º A advertência deve ser impressa nos rótulos e embalagens dos produtos respectivos assim como em cartazes e materiais de divulgação em caracteres com destaque, nítidos e de fácil leitura.

§ 2º As indústrias alimentícias ligadas ao setor terão o prazo de um ano, a contar da publicação desta Lei, para tomar as medidas necessárias ao seu cumprimento.

Art. 4º A Lei no 8.543, de 23 de dezembro de 1992, continuará a produzir efeitos até o término do prazo de que trata o § 2º do art. 1º desta Lei. (Incluído pela Lei nº 10.700, de 9 de julho de 2003).

Como podemos observar as Leis 8.543 e a 10.674 não são muito objetivas quando se diz respeito à quantidade de proteína glúten nos alimentos (QUINTANA, 2011).

Apesar de não se ter uma legislação específica para o caso, o Brasil põe em prática as orientações do *Codex Alimentarius* que estabelece a quantidade máxima de glúten em um alimento considerado “Sem Glúten”. Essas orientações podem ser seguidas pelas indústrias, mas não são obrigatórias (QUINTANA, 2011).

No ano de 1976 a Comissão do *Codex Alimentarius* aprovou a norma para alimentos isentos de glúten. Segundo Meirinho (2009) em 1981 e 2000 houve a revisão no projeto de normas e os alimentos denominados sem glúten foram descritos como:

- 1- Alimentos feitos somente de ingredientes que não contenham qualquer tipo de prolamina, onde seu nível de glúten não ultrapasse 20 ppm.
- 2- Alimentos elaborados com ingredientes provenientes do trigo, aveia, centeio e cevada, que foram tornados sem glúten onde seu nível de glúten não ultrapasse 200 ppm.
- 3- Alimentos feitos através da mistura de ingredientes que contenham trigo, aveia, centeio e cevada com ingredientes que não contenham nenhum tipo de prolamina, onde seu nível de glúten não ultrapasse 200 ppm.

De acordo com a Comissão *Codex Alimentarius* diz que um alimento livre de glúten é aquele que contenha até 20 ppm de glúten quando não tiver nenhum ingrediente proveniente de qualquer tipo de prolamina, e de 100 ppm de glúten quando tiverem qualquer ingrediente proveniente de qualquer tipo de prolamina (QUINTANA, 2011).

Segundo a Comissão do *Codex Alimentarius* para que um alimento seja considerado isento de glúten a quantidade máxima de gliadinas presente no alimento deve ser de 100 ppm (10 mg de gliadinas/ 100 g de alimento). Este nível é considerado muito alto para pessoas que tenham tendência a ter a doença celíaca, por isso segundo a Comissão do *Codex* a ingestão de 10 mg de gliadina/dia não deve ser ultrapassada por essas pessoas (MEIRINHO, 2009).

A falta de um método adequado para análise de alimentos com nível de glúten aceitável para considerá-lo um alimento “sem glúten” tem dificultado o desenvolvimento da legislação (MEIRINHO, 2009).

No ano de 2008 a Comissão do *Codex Alimentarius* aprovou novas normas para os alimentos sem glúten, deste modo o glúten é definido como: “fração protéica do trigo, cevada, centeio e aveia, suas variedades cruzadas e derivados, a que algumas pessoas são intolerantes e que é insolúvel em água e em solução de 0,5 M de cloreto de sódio” (MEIRINHO, 2009).

De acordo com o Regulamento CE nº. 41/2009 da Comissão de 20 de janeiro de 2009 relacionado à composição e rotulagem dos produtos alimentícios destinados as pessoas com doença celíaca, para que possa vir escrito em sua rotulagem “isento de glúten” o alimento necessita possuir teor de glúten inferior a 20 mg/ kg de alimento e os alimentos com teor entre 20 e 100 mg/ kg de alimento necessitam vir escrito que possuem “teor muito baixo de glúten”. Essas especificações precisam ser escritas próximas a denominação de venda do alimento (MEIRINHO, 2009).

4. MÉTODOS PARA DETERMINAÇÃO DE GLÚTEN

O glúten pode estar presente em diversos produtos elaborados a partir de farinhas de trigo, centeio, cevada e aveia, podendo também ser adicionado a um produto como ingrediente, aditivo ou por causa das razões tecnológicas do processo de fabricação (MEIRINHO, 2009).

É de extrema importância, para os celíacos, garantir que um alimento é isento de glúten sendo necessário novos métodos analíticos de glúten com sensibilidade, seletividade, precisão, baixo custo, análises rápidas e validados (MEIRINHO, 2009).

Para realizar a análise de glúten podemos utilizar métodos variados, tais como: ELISA (*enzyme-linked immunosorbent assay*), cromatografia líquida de alta resolução (HPLC), eletroforese em gel de poliacrilamida (SDS-PAGE), espectrometria de massa, *Western Blotting*, reação em cadeia de polimerase (PCR), (SILVA, 2010).

Cada método possui uma determinada função, como por exemplo, o método de reação em cadeia da polimerase (PCR) que serve para fazer a detecção do DNA do trigo para a confirmação da análise do alimento quando o método ELISA não for conclusivo. A espectrometria de massa é usada para triagem e a cromatografia líquida de alta resolução é altamente específica (BICUDO, 2010).

Os métodos de análise de glúten deparam-se com diferentes problemas, tais como: natureza heterogênea dos alimentos, variantes polimórficas dos cereais trigo/centeio/cevada, processamento térmico do alimento, quando o glúten está parcialmente hidrolisado e há reação cruzada com outras prolaminas do arroz ou milho (BICUDO, 2010; SILVA, 2010).

Devido às variações nas faixas de leitura e nas metodologias, a Comissão Alimentar Codex indicou um tipo específico de teste. Assim, foi recomendada a técnica ELISA, que usa o anticorpo monoclonal para ω -gliadina que são estáveis ao calor. (SILVA, 2010).

Embora existam diversos métodos para detecção de glúten, estes nem sempre são acessíveis a todos os pesquisadores. Neste caso, pode-se usar o método gravimétrico, um método simples e de fácil execução.

4.1 MÉTODO ELISA

O método ELISA é um método imunológico onde uma enzima reage com um substrato incolor para produzir um produto colorido, ligando-se covalentemente a um anticorpo específico que reconhece o antígeno alvo. Caso haja a presença do antígeno o complexo anticorpo-enzima irá ligar-se a ele e a enzima catalisará a reação (BICUDO, 2010).

Trata-se de um método eficiente que usa o anticorpo monoclonal para ω -gliadina que são estáveis ao calor. O seu limite de detecção é de 160 ppm de gliadina, sendo que possui uma baixa sensibilidade para a aveia e a cevada, e não identifica as prolaminas do arroz e do milho (MEIRINHO, 2009).

Outras vantagens do método ELISA são: a estabilidade e o baixo volume de reagentes, resultados de carácter quantitativo, rápido diagnóstico, baixo nível de risco biológico, podendo ser usado para estudos epidemiológicos (DANTAS, 2004).

As desvantagens deste método são que detecta apenas uma pequena percentagem da totalidade das gliadinas, sendo variada a proporção da fração ω , entre 6 e 20% das gliadinas totais, dependendo do tipo de cereal e pode sobrestimar as secalinas e subestimar as hordeínas. Sendo assim, o risco de subestimar ou sobrestimar o teor total de gliadinas é muito alto (PITÉ, 2007).

No método ELISA os antígenos se adsorvem na superfície plástica dos poços das placas de microtitulação. No caso das gliadinas o antígeno deposita-se na superfície do poço através da evaporação de uma solução de etanol (CAPERUTO, 1999).

4.1.1 Método ELISA R-5

O método ELISA R-5 é a técnica mais sensível e abrangente do que os métodos baseados apenas na detecção de ω -gliadina (SILVA, 2010).

No ELISA R-5 é usado um anticorpo monoclonal específico contra o pentapeptídeo tóxico glutamina-glutamina-prolina-fenilalanina-prolina (GGPFP) presentes nas subunidades α , β , γ e ω -gliadinas, em hordeínas e em secalinas. Este método possui uma baixa sensibilidade para a avenina e não detecta as prolaminas do arroz e do milho. O ensaio é realizado usando gliadina padrão (IRM-480) e revela glúten em alimentos que contenham transglutaminase utilizados para o enriquecimento da farinha (BARBOSA; ABREU; ZENEON, 2007).

Os grandes pontos fracos deste método é que podem ocorrer falsos negativos quando as proteínas são desnaturadas por variações nas concentrações de temperatura, pressão ou de sal e também a possibilidade de reações cruzadas entre as proteínas relacionadas (GONZÁLEZ et. al., 2007).

O método ELISA R-5 pode também ser empregado para a triagem das prolaminas hidrolisadas da cevada e do trigo, além de possuir uma sensibilidade de 1,5 ppm de gliadina para alimentos livre de glúten (BARBOSA; ABREU; ZENEON, 2007).

Neste método o anticorpo R-5 detecta γ e ω -gliadinas com uma grande eficiência e detecta α -gliadina com uma menor eficiência (VELA, 2010).

O método ELISA R-5 têm sido muito utilizado, pois se trata de uma técnica simples e de fácil aplicação (SIPAHI, 2010).

4.1.2 Método ELISA “Sanduíche”

Nesta técnica o anticorpo de um antígeno particular é adsorvido no poço da placa, logo após adiciona-se o antígeno (gliadina) que se liga ao anticorpo. Por último um segundo e diferente anticorpo ligado a uma enzima é adicionado (BICUDO, 2010).

Este método pode identificar exatamente a gliadina, tendo uma alta sensibilidade, além de ser um método rápido, confiável, específico para identificação do glúten e é de baixo custo (AMADO).

No método ELISA sanduíche a gliadina pode ser identificada em alimentos crus e em misturas de cereais, além do tempo de análise ser de aproximadamente 30 minutos (CAPERUTO, 1999).

O método ELISA sanduíche tem como desvantagem detectar apenas as prolaminas ω -gliadinas e o efeito desnaturante do aquecimento da amostra faz com que as frações de gliadina sejam pouco extraídas, fazendo com que o antígeno (gliadina) não reaja com o anticorpo influenciando no resultado (BARBOSA; ABREU; ZENEON, 2007).

4.2 CROMATOGRAFIA LÍQUIDA DE ALTA RESOLUÇÃO (HPLC)

A HPLC foi introduzida para a análise de produtos alimentares no início dos anos 70 (FERNANDES, 2007).

A cromatografia é um método físico de separação, onde os seus compostos são divididos em duas fases, fase móvel (líquido) e fase estacionária. Os componentes da amostra devem ser solúveis no líquido (GONZÁLEZ et. al., 2007).

A cromatografia líquida de alta eficiência é usada para quantificar as proporções relativas das principais proteínas do grão de trigo (DELLAVALLE et. al., 2005).

O método de análise por cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC) permite quantificar os diferentes tipos de proteínas do glúten (MEIRINHO, 2009).

É considerado um método preciso e específico para determinação de gliadinas e gluteninas em farinhas de trigo de produtos processados termicamente, tendo uma ótima recuperação da gliadina (MEIRINHO, 2009).

Acaba sendo um método altamente específico, uma vez que as prolaminas dos cereais são conhecidas (BARBOSA; ABREU; ZENEON, 2007).

A vantagem deste método para a análise de glúten é que ele possui uma grande capacidade de separar diferentes tipos de peptídeos, mas exige muito tempo para análise e uma grande dificuldade para realizar várias amostras (GONZÁLEZ et. al., 2007).

As desvantagens deste método são: possuem um custo muito elevado, tempo de execução muito alto, quando os alimentos são processados ou aquecidos podem possuir um resultado não confiável e são menos específicos do que os métodos imunológicos (BARBOZA; ABREU; ZENEON, 2007).

4.3 ELETROFORESE EM GEL DE POLIACRILAMIDA (SDS-PAGE)

A eletroforese separa as moléculas conforme o seu peso molecular. As cargas das moléculas analisadas podem ser anuladas quando se adiciona SDS (dodecil-sulfato de sódio), que é um agente tensoativo que transmite carga negativa a todas as moléculas. O alimento então é submetido à eletroforese vertical, indo do pólo negativo para o positivo. Logo após o alimento é colocado sobre o gel polimerizado e aplica-se uma corrente elétrica com a finalidade das moléculas migrarem de acordo com o seu peso molecular (DAGUER, 2009).

A eletroforese em gel de poliacrilamida baseia-se na separação de proteínas em um substrato em gel pela sua massa molecular, através de um campo elétrico. Este método possui uma abordagem muito versátil, o que permite a análise de uma grande diversidade, tanto no tipo como no tamanho da proteína, sendo que a proteína pode estar na sua forma nativa ou reduzida, pode ser feita em condições ácidas, básicas ou neutras e usando diferentes mecanismos de separação (PITÉ, 2007).

Este método tem a vantagem de ser simples e de baixo custo, mas possui como desvantagem a demora em se concretizar uma sessão e as diversas etapas envolvidas (DAGUER, 2009).

4.4 ESPECTROMETRIA DE MASSA

A espectrometria de massa trata-se de um método analítico usado para medir massas químicas ou moleculares. No caso da análise de glúten tem sido utilizada a espectrometria de massa MALDI-TOF7 (dissorção/ionização mediante laser por uma matriz assistida acoplada a um detector de tempo de voo) (GONZALÉZ et. al., 2007).

Na ionização MALDI os analitos misturam-se com uma matriz orgânica transformando-se em íons através da ação de um laser. Já no analisador de tempo de voo (TOF) os íons após terem sido acelerados no vácuo de campo elétrico, eles são separados de acordo com sua massa e carga (GONZALÉZ et. al., 2007).

A espectrometria de massa permite fornecer o padrão de massa das prolaminas do trigo, cevada, centeio, aveia e identifica a prolamina do trigo complexo (GONZALÉZ et. al., 2007).

Esta técnica é usada para fazer a triagem dos alimentos (BARBOSA; ABREU; ZENEON, 2007).

Como todo método possui pontos positivos e negativos. Como pontos positivos o fato de ser uma análise rápida (alguns segundos), manuseia uma única amostra, determina a massa de prolamina com exatidão, possui uma interpretação de rotina relativamente simples e ideal para fazer a tipificação das proteínas. Os pontos negativos deste método são: possui instrumentação complexa, equipamentos são caros, trata-se de uma técnica não quantitativa, necessita de uma grande instalação, precisa de uma prévia elaboração de livreria de espectro (PITÉ, 2007).

4.5 WESTERN BLOTTING

O método *Western blotting* é um dos métodos de eletroforese em gel mais comum. Trata-se de um método imunológico qualitativo usado para confirmar os resultados obtidos no método ELISA, é bastante sensível podendo assim detectar pequenos componentes da amostra em misturas complexas (PITÉ, 2007; SDEPANIAN, 1999).

Outra vantagem desta técnica é poder detectar falsos positivos e negativos obtidos nos métodos de ELISA, podendo identificar também amostras que contenham prolaminas hidrolisadas, mas é necessário quantificá-las usando o método competitivo (PITÉ, 2007).

4.6 REAÇÃO EM CADEIA DE POLIMERASE (PCR)

Este método foi desenvolvido no ano de 1987 por Mullis. Trata-se de um método enzimático sofisticado que pode ampliar no mínimo um milhão de vezes a seqüência de DNA alvo presente na amostra (CORRÊA et. al., 2009).

Esta técnica é muito específica e sensível para detectar as pequenas quantidades de DNA alvo, sendo assim torná-se um método confiável para a identificação do glúten (FERREIRA; BRANQUINHO; CARDARELLI-LEITE, 2009).

A reação em cadeia da polimerase (PCR) é um método alternativo adequado para a análise do DNA do cereal para a detecção da proteína tóxica em uma amostra. Este método supera os métodos ELISA na questão da sensibilidade, mas torna-se deficiente, devido a sua capacidade de detectar a toxicidade de um único cereal (BICUDO, 2010).

4.7 MÉTODO GRAVIMÉTRICO

O método gravimétrico baseia-se na obtenção do glúten a partir da lavagem da farinha com solução salina, pesagem em balança analítica, secagem em estufa e posterior pesagem, obtendo o peso seco de glúten e sua porcentagem (INSTITUTO ADOLFO LUTZ, 1985). Este método é interessante devido ao seu baixo custo e fácil manuseio.

5. DOENÇA CELÍACA

Há milhares de anos atrás, os povos perceberam que seria possível semear a terra e conseguir colheita de diversos cereais, entre eles o trigo. Esta descoberta trouxe duas conseqüências: a civilização e o risco de se ter a doença celíaca (ACELBRA, 1997).

Apesar da Doença Celíaca ter sido reconhecida desde o século XI, somente em 1888 Samuel Gee a descreveu detalhadamente e achou que as farinhas poderiam ser a causa da doença (MEDEIROS, 1996).

Foi no ano de 1950 que um pediatra holandês chamado Dicke, observou que durante a guerra, quando o pão esteve escasso, os casos de Doença Celíaca haviam diminuído. Após três anos ele conseguiu provar sua teoria, deixando claro o papel do glúten na provocação da doença (MEDEIROS, 1996).

Charlotte Anderson, de Birmingham, mostrou finalmente mais tarde, através de trabalhos laboratoriais, que o trigo e o centeio continham a substância que provoca a doença: o Glúten (ACELBRA, 1997).

A Doença Celíaca é a intolerância permanente ao glúten, e pode ser manifestada tanto em adultos quanto em crianças. Essa doença danifica e agride as vilosidades do intestino delgado (figura 5), fazendo com que haja uma má absorção dos nutrientes dos alimentos. As principais conseqüências dessa doença são: emagrecimento, diarreia, baixa estatura, desnutrição, mudança de humor e anemia (PICCOLOTO, 2002).

O único tratamento para os celíacos é uma dieta livre de glúten, ou seja, uma dieta livre das prolaminas: gliadina (trigo), hordeína (centeio), secalina (cevada) e a avenina (aveia) (BARBOSA; ABREU; ZENEBON, 2007).



Figura 5 – Mucosa do intestino delgado normal e atrofiado (In: RAMOS, 2011)

5.1 AÇÕES PARA MELHORIA DA QUALIDADE DE VIDA DO CELÍACO

A alimentação ocidental inclui muitos alimentos a base de trigo. Aderir e seguir corretamente uma dieta isenta de glúten exige do celíaco e de seus familiares uma determinação muito grande (ARAÚJO et. al., 2010).

Situações do cotidiano como viajar, relacionar-se com amigos e familiares e fazer uma refeição fora de casa podem representar problemas para os celíacos, podendo até prejudicar a sua vida social (ARAÚJO et. al., 2010).

Devido a grande dificuldade em encontrar produtos livres de glúten muitos celíacos acabavam não aderindo ao tratamento. Em fevereiro de 1994, com o intuito de diminuir as dificuldades da adesão ao tratamento, alguns pais de celíacos fundaram a ACELBRA (Associação dos Celíacos do Brasil) com o objetivo de ajudar os pacientes quanto à doença e a sua dieta, assim como divulgar a doença (ARAÚJO et. al., 2010).

A elaboração das leis nº. 8543/1992 e a 10.674/2003, que obriga os fabricantes de alimentos a colocarem em sua rotulagem os dizeres “Contém Glúten” ou “Não Contém Glúten”, contribuíram para uma melhor qualidade de vida do celíaco (QUINTANA, 2011).

Além da fundação da ACELBRA e da elaboração das leis muitas outras coisas vem contribuindo com a melhoria na qualidade de vida dos celíacos, tais como: uma maior variedade de produtos no mercado, a elaboração de alimentos alternativos e o avanço nos exames que detectam a doença celíaca.

6. APLICAÇÃO NO ENSINO MÉDIO

É do conhecimento de todos que os alunos têm uma grande dificuldade em absorver conceitos passados em sala de aula, dificultando assim a relação desses conceitos com o dia-a-dia. A aula prática é uma sugestão de ensino que pode ajudar na aprendizagem de química (MARQUES et al., 2008).

O ensino de química com aulas práticas no ensino médio é uma ferramenta a mais para o professor. O professor, para facilitar a aprendizagem do aluno, pode colocar em prática os conceitos aprendidos em sala de aula através das aulas práticas fazendo com que as dúvidas dos alunos sejam mais bem esclarecidas (NASCIMENTO, 2010).

A abordagem do tema no ensino de química poderia ser aproveitada nas discussões sobre proteínas, já que o glúten é a fração protéica presente no trigo, na aveia, no centeio e na cevada (ARAUJO, 2008). Através do glúten pode ser ensinado para os alunos do ensino médio o que é uma proteína, quais as suas estruturas, qual a importância da proteína na alimentação e quais os alimentos que possuem ou não proteína.

O ensino sobre proteína pode ser feito através de aulas práticas com alimentos do cotidiano deles, para que os alunos consigam visualizar melhor a presença de proteína nesses alimentos.

6.1 EXPERIMENTO

Para a realização deste experimento devem ser preparadas uma solução de cobre (2 colheres de sulfato de cobre e 30 mL de água destilada) e uma solução de hidróxido de sódio (2 colheres de hidróxido de sódio e 30 mL de água destilada).

Após preparar as soluções deve-se escolher os alimentos que você quer analisar, depois de ter escolhido os alimentos acrescentar 3 gotas de solução de cobre,

misturar bem. Acrescente também 2,5 mL de solução de hidróxido de sódio. Observe o que acontece por 5 minutos.

Logo depois de observar durante os 5 minutos se o alimento obtiver uma coloração violeta significa que há a presença de proteína no alimento.

7. MATERIAIS E MÉTODOS

7.1 MATERIAIS E REAGENTES

- Balança analítica
- Estufa
- Tamis de malha 150
- Dessecador
- Béquer de 100mL
- Proveta de 50mL
- Vidro Relógio
- Bastão de vidro
- Solução saturada de iodo
- Solução de cloreto de sódio 5% m/v

7.2 MÉTODOS

7.2.1 Seleção das amostras

Foram escolhidos três tipos de amostras: farinha de trigo, farinha de arroz e aveia. Essas amostras foram adquiridas em um supermercado na cidade de Paraguaçu Paulista/SP.

7.2.2 Determinação de glúten

Foram pesadas aproximadamente 5 g da amostra em um béquer de 100 mL (figura 6).

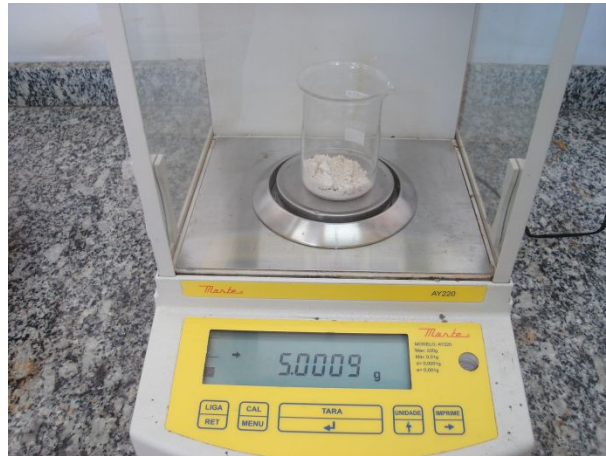


Figura 6 – Pesagem da amostra

Logo em seguida adicionou-se 10 mL de solução aquosa de cloreto de sódio a 5%. Obteve-se uma massa. Misturou-se a massa com auxílio de um bastão de vidro, até formar adquirir consistência compacta. Deixou-se em repouso por 30 minutos. Após o repouso foi adicionada água até cobri-la permanecendo em repouso por mais 30 minutos (figura 7).

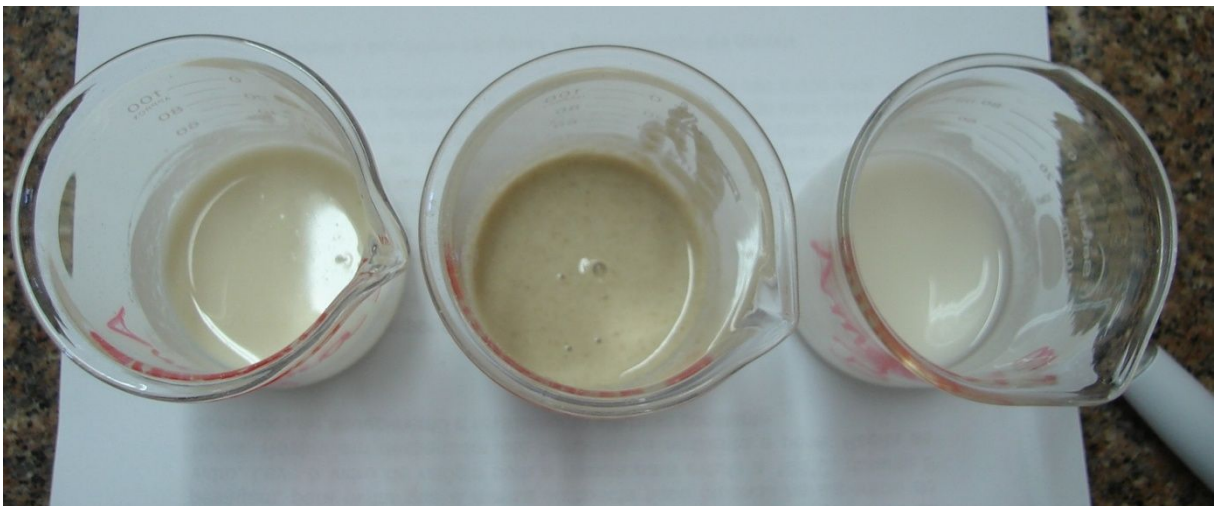


Figura 7 – Diluição da amostra

Após o repouso o aglomerado foi lavado com água corrente sobre um tamis de malha 100, apertando e amassando levemente com as mãos. Este aglomerado foi lavado até que a água não mais apresentasse coloração azul, ao se adicionar uma gota da solução de iodo saturada. A massa e os fragmentos, que eventualmente tenham passado pelo tamis, foram reunidos. A massa então obtida foi transferida para um vidro de relógio (figura 8), previamente aquecido em estufa a 105°C, por uma hora e resfriado em dessecador até a temperatura ambiente e pesado. Foi passada uma fina camada de vaselina sobre o vidro de relógio antes da pesagem, para evitar que a massa compacta ficasse grudada na superfície do vidro.



Figura 8 – Massa de glúten

O vidro de relógio com a massa foi levado para estufa a 105°C, durante 5 horas. Após retirar da estufa foi resfriado em dessecador até temperatura ambiente e em seguida foi novamente pesado (figura 9).

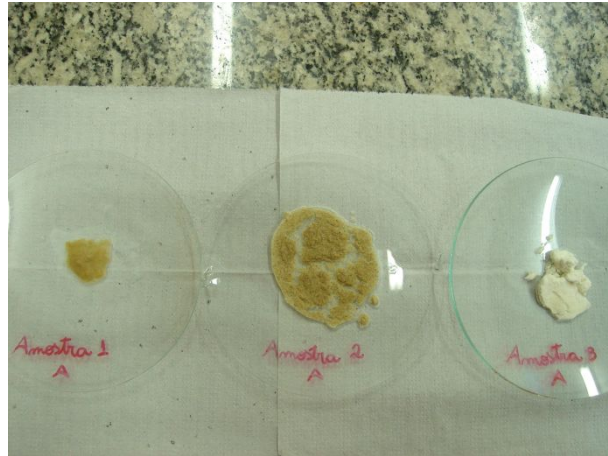


Figura 9 – Massa de glúten seco

8. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os valores de glúten encontrados nas farinhas de trigo, aveia e arroz estão indicados na tabela 1, assim como a porcentagem de glúten seco presente na amostra.

AMOSTRAS DE FARINHA			
	TRIGO	AVEIA	ARROZ
Peso do glúten seco (g)	0,4368	1,1438	2,5395
Peso da amostra (g)	5,0003	5,0004	5,0006
% glúten seco (m/m)	8,7355	22,8742	50,7839

Tabela 1 – quantidade de glúten presente em farinha de trigo, aveia e arroz.

Considerando as porcentagens de glúten presentes nos grãos que compõe estas farinhas (trigo 99% e aveia 94%) a quantidade de glúten encontrada (8,7; 22,8 e 50,7 respectivamente), pode ser considerada relativamente pequena.

Segundo Bicudo (2010) a informação que diz respeito ao limite de tolerância ao glúten é fundamental para a preservação da saúde de pessoas portadoras de doença celíaca, portanto na embalagem deve constar “contem glúten” ou “não contem glúten”.

As amostras analisadas, tanto a farinha de trigo como a farinha de aveia constavam na embalagem que continham glúten. Na embalagem de farinha de arroz, constava o não contem glúten. Os resultados obtidos nos mostram que todas as farinhas analisadas continham glúten.

Para que o alimento seja considerado isento de glúten o *Codex Alimentarium* determina que a concentração não deve estar acima de 20mg/Kg do alimento. Como os cálculos da tabela 1 estão em mg, vamos considerar 0,02g/Kg. Assim, a farinha de arroz que constava não conter glúten, está com uma grande quantidade desta proteína.

O fato da amostra de arroz ter dado que “contêm glúten” pode ser devido a uma contaminação no manuseio da amostra durante o experimento ou até mesmo a contaminação da farinha durante o processo industrial.

9. CONCLUSÃO

Nota-se que a utilização do método gravimétrico pode ser considerado de baixo custo quando comparado com os demais métodos.

Das 3 farinhas analisadas, apenas no rótulo da farinha de arroz estava escrito que não continha glúten, porém foi observado que esta amostra apresentou elevada concentração de glúten.

Existem diversas marcas de produtos que são colocadas no mercado com o indicativo que não contem glúten, porém é fundamental que as informações indicadas no rótulo sejam inspecionadas constantemente para garantia da qualidade de vida do celíaco.

REFERÊNCIAS

ACELBRA. **Histórico da Doença Celíaca**. Disponível em: <www.acebra.org.br>. Acessado em: 18 mai. 2012.

AMADO, Maria Amélia. **Métodos imunológicos na detecção e determinação de aflatoxinas em alimentos: vantagens e desvantagens**.

ARAUJO, Halina Mayer Chaves. **Impacto da doença celíaca na saúde, nas práticas alimentares e na qualidade de vida de celíacos**. 2008. 95p. Dissertação (mestrado) – Pós-graduação em nutrição humana da universidade de Brasília – Distrito Federal, Brasília, 2008.

ARAÚJO, Halina Mayer Chaves; ARAÚJO, Wilma Maria Coelho; BOTELHO, Raquel Braz Assunção; ZANDONADI, Renata Puppim. Doença Celíaca, hábitos e práticas alimentares e qualidade de vida. **Revista de Nutrição**, vol. 23, n. 3, maio/jun., 2010, 467-474.

BARBOSA, Sônia França Correia; ABREU, Rejane Weissheimer de; ZENEON, Odair. **Métodos analíticos para detecção de glúten em alimentos**. Instituto Adolfo Lutz. Divisão de Bromatologia e Química. São Paulo. 2007.

BICUDO, Milene Oliveira Pereira. **Avaliação da presença de glúten em produtos pacificados para celíacos – estudo de caso**. 2010. 87p. Dissertação (mestrado) – Tecnologia de Alimentos – Universidade Federal do Paraná, Paraná, Curitiba, 2010.

BOBBIO, Florinda O.; BOBBIO, Paulo A. **Introdução à química de alimentos**, 3ª ed. Campinas: Editora Varela, 2003.

CALDAS, Ton. **Males causados pelo consumo excessivo de glúten**. Disponível em: <<http://permaculturabr.ning.com/profiles/blogs/males-causados-pelo-consumo-excessivo-de-gl-ten>>. Acessado em: 27 de jul. 2012.

CAPERUTO, Luciana Chagas. **Desenvolvimento e avaliação de massa de macarrão à base de milho e quinoa para celíacos**. 1999. 116p. Dissertação (mestrado) – Faculdade de Engenharia de Alimentos da Universidade Estadual de Campinas, São Paulo, Campinas, 1999.

CORREA, Christine Miranda; MELO, Victor Hugo; CASTILLO, Dora Mendez Del; CARVALHO, Nara de Oliveira. Coinfecção HIV-HPV: prevalência e multiplicidade de genótipos do HPV no colo uterino. **FEMINA**, vol. 37, n.6, junho, 2009, 319-323.

DAGUER, Heitor. **Efeitos da Ingestão de Alimentos não Cárneos nas Características Físico-Químicas e Sensoriais do Lombo Suíno**. 2009. 187p. Dissertação (doutorado) – Tecnologia de Alimentos – Universidade Federal do Paraná, Paraná, Curitiba, 2009.

DANTAS, Tânia Valeska Medeiros. **Desenvolvimento e Padronização de ELISA Indireto para Diagnóstico de Maedi-Visna Vírus de Ovinos**. 2004. 77p. Dissertação (pós-graduação) – Universidade Estadual do Ceará, Fortaleza, Ceará, 2004.

DELLAVALLE, Paola Diaz; RIZZA, Marco Dalla; VAZQUEZ, Daniel; CASTRO, Marina. **Elementos de análisis cuantitativo y cualitativo de las proteínas del gluten del trigo**. v. 66, nº 4, out./dez., 2005.

FERNANDES, Rui Rafael Góis. **MICOTOXINAS: a situação atual da legislação e metodologias analíticas**. 2007. 246 p. Dissertação (mestrado) – Química e Qualidade dos Alimentos – Universidade de Aveiro, Portugal, Aveiro, 2007.

FERREIRA, Renata Trotta Barroso; BRANQUINHO, Maria Regina; CARDARELLI-LEITE, Paola. Soja geneticamente modificada em alimentos contendo farinha e preparados à base de farinha de trigo. Detecção e adequação à legislação de rotulagem. **Brazilian Journal: Of Food Technology**, jul./set. 2009. V. 12, n. 3, p. 241-248.

GONZÁLEZ, José Manuel; GARCÍA, Esther; FERNÁNDEZ, José Luis; GAGO, Lara; BENITO, Javier. **Técnicas analíticas para la detección de gluten en alimentos**. 2007. 81p. Universidad Autonoma de Madrid, Madrid, 2007.

INSTITUTO, Adolfo Lutz. Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz. **Métodos químicos e físicos para análise de alimentos**. São Paulo, IMESP, 3 ed., 1985. p.132-133. São Paulo.

MACHADO, Irineu Cândido. **Sibrac – Sistema brasileiro de consultas**. São Paulo: Editora Nova Central, 2001.

MARQUES, André L.; ALVES, Aline J. V.; SILVA, Ana Flavia G.M. da; MORAIS, Lorraine M.; GUIMARÃES, Pamella G.; LIMA, Joças ta M.; RIBEIRO, Fernanda B.; SANTOS, Leidimar A.M.; MEDEIROS, Eliziane S.; FRANCO, Vânia A. **A importância de aulas práticas no ensino de química para melhor compreensão e abstração de conceitos químicos.** 2008. Instituto Luterano de Ensino Superior – ULBRA. Goiás. Itumbiara. 2008.

MARZZOCO, Anita; TORRES, Bayardo Baptista. **Bioquímica Básica.** 2. ed. Rio de Janeiro: Editora Guanabara Koogan S.A., 1999.

MEDEIROS, Elide H.G.R. **Doença Celíaca – Guia prático para orientação alimentar.** São Paulo, 1996.

MEIRINHO, Sofia Gabriel. **Aplicação de um sistema de multi-sensores para a detecção de gliadinas: discriminação semi-quantitativa entre alimentos com glúten e sem glúten.** 2009. 62p. Dissertação (mestrado) – Qualidade e Segurança alimentar – Escola Superior Agrária, São Paulo, Bragança, 2009.

NASCIMENTO, Thiago Mailho. **Importância das proteínas na nutrição humana – teoria e prática para ensino médio.** 2010. 63p. Trabalho de Conclusão de Curso – Química Industrial – FEMA/ Instituto Municipal de Ensino Superior de Assis – IMESA, São Paulo, Assis, 2010.

PATRICIA. **A estrutura de uma proteína.** 2008. Disponível em: <<http://www.jornallivre.com.br/263913/a-estrutura-de-uma-proteina.html>>. Acessado em: 01 set. 2012.

PICCOLOTO, Fabiana M. Bertoni Bonetti. **Determinação do teor de glúten por ensaio imunoenzimático em alimentos industrializados.** 2002. Tese (doutorado) – Departamento de ciências de alimentos – Unicamp, São Paulo, Campinas, 2002.

PITÉ, Marina Rocha. **Validação de um método alternativo de análise de glúten em gêneros alimentícios, o ELISA-R5: comparação com o atual método oficial de análise.** 2007. 76p. Dissertação (mestrado) – Controle da Qualidade e Toxicologia dos Alimentos – Universidade de Lisboa, Portugal, Lisboa, 2007.

QUINTANA, Ana Paula Pereira. **Uma análise sistemática das legislações vigentes no Brasil e no exterior referente a alimentos considerados isentos de glúten.** 2011. Disponível em: <<http://www.pucrs.br>>. Acesso em: 15 jun. 2012.

RAMOS, Mariana Chamma. **Doença Celiaca**. 2011. Disponível em: <http://pt-br.infomedica.wikia.com/wiki/Doen%C3%A7a_Cel%C3%ADaca>. Acessado em: 12 mar. 2012.

SANTOS, Felipe Pereira dos; EFFTING, Marcel; MENDONÇA, Vinicius Pontes de. **Constituintes dos microorganismos**. 2005. Trabalho de conclusão de curso (Engenharia Química) – Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2005

SANTOS, Felipe Pereira dos; EFFTING, Marcel; MENDONÇA, Vinicius Pontes de. **Constituintes dos microorganismos**. 2005. Trabalho de conclusão de curso (Engenharia Química) – Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2005.

SDEPANIAN, Vera Lucia. **Gazeta Celíaca**, São Paulo, nº. 21, nov./dez. 1999.

SGARBIERI, Valdomiro C. **Proteínas em alimentos protéicos**. São Paulo: Editora livraria Varela, 1996.

SILVA, Rafael Plaza. **Detecção e quantificação de glúten em alimentos industrializados por técnica de ELISA**. 2010. 73p. Dissertação (mestrado) – Gastroenterologia clínica – Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, São Paulo, São Paulo, 2010.

SILVEIRA, Paulo Sérgio Panse. **Herança (introdução à genética quantitativa)**. Disponível em: <<http://www.fm.usp.br/dim/genquant/index.php>>. Acessado em: 19 jun. 2012.

TEDRUS, Guilherme de A. S.; ORMENESE, Rita de Cássia S. Celeste; SPERANZA, Sandra Maria; CHANG, Yoon K.; BUSTOS, Fernando M. **Estudo da adição vital glúten à farinha de arroz, farinha de aveia e amido de trigo na qualidade de pães**. 2001. 25p. Ciências Tecnológicas de Alimentos – Universidade de Campinas, Campinas, 2001.

VELA, Juan Ignacio Serrano. **24ª Reunión del grupo de trabajo sobre toxicidad y análisis de las prolaminas**. 2010. Ancona. Itália. 2010.