



CARACTERIZAÇÃO DE PROTEÍNAS RELACIONADAS AO GLÚTEN EM MATRIZES ALIMENTARES: CONTRIBUIÇÕES PARA A SEGURANÇA DOS ALIMENTOS

Amanda Sganzerla¹; Luana C. Crocoli²; Tainara Guizolfi²; Sidnei M. e Silva²; Wendel P. Silvestre¹; Camila Baldasso¹.

¹Universidade de Caxias do Sul (UCS), Programa de Pós-graduação em Engenharia de Processos e Tecnologias – PGEPROTEC.

²Laboratório de Biotecnologia de Produtos Naturais e Sintéticos/Central de Análises do Instituto de Biotecnologia da Universidade de Caxias do Sul (UCS).

asganzerla2@ucs.br

Palavras-Chave: prolaminas, controle de qualidade, espectrometria de massas.

Introdução

O glúten corresponde ao principal conjunto de proteínas de reserva do trigo, sendo constituído predominantemente pelas frações gliadina e glutenina. Proteínas estruturalmente relacionadas, como as secalinas do centeio, as hordeínas da cevada e as aveninas da aveia, compartilham características estruturais e funcionais, sendo frequentemente denominadas prolaminas dos cereais (Biesiekierski, 2017; Roszkowska et al., 2019; Kłosok et al., 2021; Xhaferaj; Scherf, 2024). Essas proteínas apresentam elevado teor de prolina e glutamina, característica esta que dificulta sua completa digestão no trato gastrointestinal e favorece a formação de peptídeos parcialmente hidrolisados, capazes de desencadear respostas imunológicas em indivíduos geneticamente predispostos (Biesiekierski, 2017; Xhaferaj; Scherf, 2024).

A ingestão de proteínas relacionadas ao glúten está associada a diferentes condições clínicas, incluindo doença celíaca, sensibilidade ao glúten/trigo não celíaca, dermatite herpetiforme, alergia ao trigo e ataxia ao glúten. A doença celíaca, em particular, consiste em uma enteropatia autoimune desencadeada pela exposição ao glúten em indivíduos geneticamente predispostos, sendo a exclusão dessas proteínas da dieta a principal estratégia de tratamento desta doença (Biesiekierski, 2017; Crucinsky; Damião; Castro, 2021).

Sob a perspectiva da segurança dos alimentos, a presença não intencional de proteínas relacionadas ao glúten representa um desafio relevante, especialmente para os indivíduos que dependem de dietas restritivas. O contato cruzado ao longo das etapas da cadeia produtiva pode resultar na presença dessas proteínas em alimentos, reforçando a necessidade de abordagens capazes de contribuir para sua caracterização e controle (Osorio; Mejías; Rustgi, 2019; Vargas et al., 2024). O *Codex Alimentarius* estabelece o limite de 20 mg·kg⁻¹ de glúten para que um produto seja considerado apto à rotulagem como "sem glúten". Esse parâmetro é amplamente utilizado como referência regulatória internacional (Codex Alimentarius Commission, 2008). No Brasil, a legislação estabelece a obrigatoriedade da declaração de presença ou ausência de glúten em alimentos comercializados, reforçando a necessidade de métodos analíticos confiáveis para o monitoramento desses produtos (Brasil, 2003).



A elevada heterogeneidade estrutural das prolaminas e glutelinas, associada às diferenças entre cereais e às alterações decorrentes do processamento dos alimentos, torna complexa a identificação específica desses componentes proteicos em matrizes alimentares. Assim, além da detecção de proteínas relacionadas ao glúten, torna-se relevante compreender a composição proteica e os perfis moleculares associados a diferentes fontes alimentares (Scherf; Poms, 2015; New et al., 2018; Lexhaller et al., 2019).

Métodos imunológicos, como o ensaio imunoenzimático *Enzyme-Linked Immunosorbent Assay* (ELISA), são amplamente empregados para análises relacionadas ao glúten devido à aplicabilidade em rotina analítica. Entretanto, fatores como reatividade cruzada, alterações estruturais decorrentes do processamento e diferenças entre matrizes podem influenciar a resposta obtida, comprometendo a sensibilidade e robustez desta técnica (Scherf; Poms, 2015; New et al., 2018).

Nesse contexto, abordagens proteômicas associadas à espectrometria de massas têm sido exploradas para a caracterização molecular de proteínas presentes em alimentos, permitindo a investigação de sequências peptídicas específicas e contribuindo para a diferenciação de proteínas estruturalmente semelhantes entre diferentes fontes alimentares (Colgrave et al., 2014; Lexhaller et al., 2019; Bianco et al., 2023; Mamone et al., 2023; Xhaferaj; Scherf, 2024). Além disso, essas abordagens fornecem informações que podem subsidiar estudos voltados ao monitoramento analítico, ao controle de qualidade e à segurança dos alimentos.

Diante desse cenário, este estudo teve como objetivo caracterizar proteínas relacionadas ao glúten em matrizes alimentares de interesse por meio de uma abordagem proteômica, comparando os perfis proteicos das diferentes matrizes avaliadas e discutindo o potencial dessa estratégia para aplicações relacionadas à segurança dos alimentos e ao controle de qualidade.

Material e Métodos

Este estudo foi conduzido no Laboratório de Biotecnologia de Produtos Naturais e Sintéticos/Central de Análises do Instituto de Biotecnologia da Universidade de Caxias do Sul (UCS), envolvendo a caracterização de proteínas e peptídeos relacionados ao glúten em matrizes alimentares por meio de uma abordagem proteômica baseada em cromatografia líquida acoplada à espectrometria de massas de alta resolução em tandem (CLAE-EMAR/EM). A estratégia experimental foi baseada em protocolos descritos na literatura para a caracterização proteômica de proteínas relacionadas ao glúten, com adaptações conforme as condições experimentais empregadas neste estudo (Lock, 2014; Schalk; Koehler; Scherf, 2018).

Foram avaliadas três matrizes alimentares: farinha de trigo, glúten vital comercial e farinha de arroz. As amostras foram analisadas em triplicata técnica, totalizando nove unidades experimentais, o que permitiu avaliar a consistência dos perfis proteicos obtidos. As três matrizes foram selecionadas de modo a representar diferentes situações de interesse para a segurança dos alimentos: a farinha de trigo como fonte natural de proteínas do glúten, o glúten vital comercial como ingrediente concentrado amplamente empregado como aditivo tecnológico em produtos de panificação, e a farinha de arroz como matriz naturalmente isenta de proteínas relacionadas ao glúten, utilizada como referência comparativa para produtos destinados a dietas livres de glúten.

As amostras foram submetidas a etapas de extração proteica, redução e alquilação, seguidas de digestão enzimática, de modo a obter peptídeos adequados à análise instrumental.



Os extratos peptídicos resultantes foram analisados em CLAE-EMAR/EM, permitindo a obtenção dos dados espectrais utilizados na caracterização proteômica das amostras.

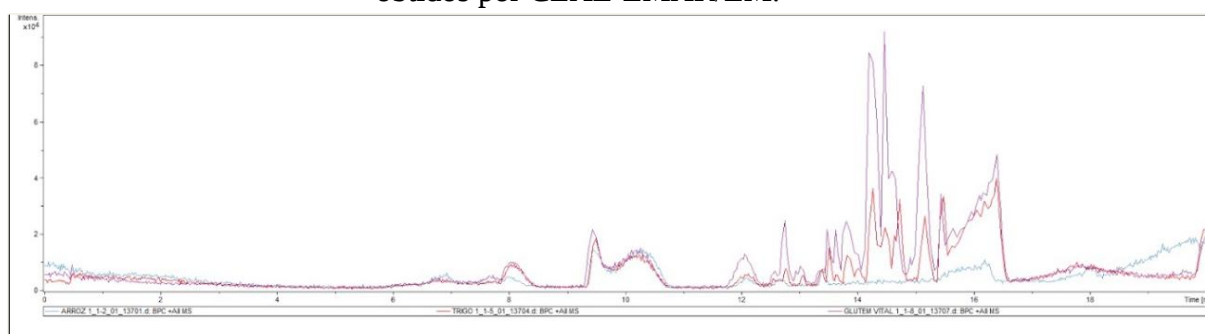
Os dados espectrais obtidos foram processados por ferramentas de busca em bancos de dados proteicos apropriados para identificação de proteínas de cereais, conforme descrito na literatura (Lock, 2014; Schalk; Koehler; Scherf, 2018). A interpretação dos resultados foi realizada por análise descritiva qualitativa, considerando a recorrência dos peptídeos identificados entre as replicatas, a consistência dos espectros obtidos e a comparação dos perfis proteicos entre as matrizes avaliadas. Em razão do caráter exploratório da caracterização realizada, não foram aplicados testes estatísticos inferenciais.

Resultados e Discussão

Neste estudo, a caracterização das proteínas presentes na farinha de trigo, no glúten vital comercial e na farinha de arroz permitiu comparar o perfil proteico de matrizes com composições distintas, contribuindo para a compreensão da distribuição de proteínas associadas ao glúten em diferentes materiais alimentares.

A análise dos perfis cromatográficos (Figura 1) evidenciou diferenças consistentes entre as matrizes avaliadas. A farinha de arroz apresentou menor intensidade relativa e menor número de sinais, o que é compatível com a ausência das proteínas encontradas no trigo, enquanto a farinha de trigo e o glúten vital exibiram maior número de sinais, sobretudo na faixa de tempo de retenção de 8 – 16 min. Entre as matrizes contendo trigo, o glúten vital apresentou um perfil mais intenso, comportamento este associado ao processo industrial de concentração proteica, que remove componentes não proteicos e amplia a proporção relativa das proteínas do glúten (Kaemper et al., 2025; Hu et al., 2024). A similaridade entre as replicatas de cada grupo indica consistência experimental nas condições avaliadas, permitindo uma comparação qualitativa entre as matrizes. Considerando o caráter exploratório do estudo, os resultados devem ser interpretados como uma caracterização proteica das amostras, e não como uma validação quantitativa do método.

FIGURA 1 — Cromatogramas sobrepostos das triplicatas de arroz, trigo e glúten vital obtidos por CLAE-EMAR/EM.



Fonte: Elaborado pelos autores (2026).

A identificação das proteínas foi realizada a partir da comparação dos espectros obtidos com bancos de dados específicos, associando sequências peptídicas a diferentes classes de proteínas relacionadas ao trigo. Entre as proteínas identificadas destacaram-se as gluteninas de baixo peso molecular (LMW-GS), gama-prolaminas e os inibidores de alfa-amilase/tripsina (ATIs), componentes já descritos na literatura com alta relevância no trigo (Tabela 1).



Tabela 1 – Principais proteínas relacionadas ao glúten identificadas nas matrizes avaliadas.

Matriz	Principais proteínas identificadas
Farinha de trigo	LMW-GS e ATIs
Glúten vital	LMW-GS, γ -prolaminas e ATIs
Farinha de arroz	Não foram identificadas proteínas relacionadas ao glúten

LMW-GS: gluteninas de baixo peso molecular; ATI: inibidores de alfa-amilase/tripsina. Fonte: Elaborada pelos autores (2026).

A presença destas proteínas na farinha de trigo e no glúten vital está de acordo com a composição esperada para estas matrizes. As gluteninas de baixo peso molecular desempenham um papel importante na formação da rede de glúten, associada a propriedades tecnológicas como elasticidade e resistência de massas (Wieser; Koehler; Scherf, 2023). As γ -prolaminas foram identificadas principalmente no glúten vital, o que é compatível com o processo industrial de remoção do amido e concentração da fração proteica, favorecendo uma maior cobertura de identificação nesse ingrediente (Bromilow et al., 2017b; Fallahbaghery et al., 2017). Os ATIs, por sua vez, constituíram uma das classes identificadas com maior frequência nas amostras contendo trigo, sendo descritos na literatura como componentes de reconhecido interesse tecnológico e biológico (Schuppan; Zevallos, 2015). O presente resumo, no entanto, mantém um caráter exclusivamente analítico, sem avaliação de efeitos fisiológicos.

A ausência de identificação de proteínas relacionadas ao glúten na farinha de arroz reforça a seletividade da abordagem empregada, demonstrando sua capacidade de diferenciar matrizes contendo proteínas do trigo de matrizes naturalmente isentas dessas proteínas. Tal aspecto é considerado importante para estudos de caracterização proteica aplicados à segurança dos alimentos (Lexhaller et al., 2019; Xhaferaj; Scherf, 2024).

Do ponto de vista aplicado, esses resultados demonstram o potencial da espectrometria de massas de alta resolução como ferramenta complementar aos métodos imunológicos tradicionalmente empregados no controle de rotina de alimentos, especialmente em cenários que exigem confirmação estrutural adicional (Scherf; Poms, 2015; Colgrave et al., 2015). A capacidade de discriminar, de forma consistente, matrizes contendo e isentas de glúten é particularmente interessante para a indústria de alimentos, tanto na verificação de ingredientes destinados a produtos convencionais quanto na checagem de matérias-primas empregadas em produtos rotulados como "sem glúten". Segundo Tissen et al. (2026), essa abordagem é especialmente relevante para alimentos processados, nos quais modificações estruturais podem reduzir o desempenho de métodos baseados exclusivamente no reconhecimento imunológico.

A capacidade de diferenciar perfis proteicos entre matrizes distintas pode contribuir futuramente para estudos de monitoramento de ingredientes, investigação de contato cruzado e aprimoramento de estratégias analíticas voltadas à segurança dos alimentos, incluindo a avaliação de ingredientes utilizados em produtos rotulados como isentos de glúten. Estudos adicionais, envolvendo um maior número de amostras e etapas de validação quantitativa, são necessários para ampliar a aplicação dessa abordagem e serão detalhados em publicação científica futura decorrente deste estudo.



Conclusões

Os resultados obtidos demonstraram que a abordagem baseada em CLAE-EMAR/EM permitiu caracterizar proteínas relacionadas ao glúten em diferentes matrizes alimentares, atendendo ao objetivo proposto neste estudo. Foram observadas proteínas pertencentes às classes das LMW-GS, gama-prolaminas e ATIs nas amostras contendo trigo, enquanto não foram observadas proteínas relacionadas ao glúten na farinha de arroz, evidenciando a diferenciação entre as matrizes analisadas.

A caracterização molecular obtida reforça o potencial da espectrometria de massas como ferramenta analítica para estudos proteômicos de alimentos, fornecendo informações complementares sobre proteínas e peptídeos associados ao glúten. Nesse contexto, a metodologia apresenta potencial de aplicação em monitoramento analítico, controle de qualidade e segurança alimentar, especialmente em investigações envolvendo ingredientes e produtos derivados do trigo.

Embora sejam necessários estudos adicionais para validação quantitativa e ampliação da aplicação da metodologia em diferentes matrizes alimentares, os resultados obtidos contribuem para o avanço do conhecimento sobre a caracterização proteômica de proteínas relacionadas ao glúten e demonstram o potencial da CLAE-EMAR/EM como abordagem complementar em pesquisas voltadas à detecção dessas proteínas em alimentos.

Agradecimentos

Agradecemos à UCS, ao Laboratório de Biotecnologia de Produtos Naturais e Sintéticos/Central de Análises, às técnicas e ao professor responsável, e à CAPES e ao CNPq pelo apoio financeiro.

Referências

- BIANCO, M. et al. Food allergen detection by mass spectrometry: from common to novel protein ingredients. *Proteomics*, 23, e2200427, 2023.
- BIESIEKIERSKI, J. R. What is gluten? *Journal of Gastroenterology and Hepatology*, 32, 78-81, 2017.
- BRASIL. Lei nº 10.674, de 16 de maio de 2003. Obriga a que os produtos alimentícios comercializados informem sobre a presença de glúten, como medida preventiva e de controle da doença celíaca. *Diário Oficial da União*: Brasília, DF, 19 maio 2003.
- BROMILOW, S. et al. Comprehensive proteomic profiling of wheat gluten using a combination of data-independent and data-dependent acquisition. *Frontiers in Plant Science*, 7, 2020, 2017.
- CODEX ALIMENTARIUS COMMISSION. **Standard for Foods for Special Dietary Use for Persons Intolerant to Gluten**. CXS 118-1979. Roma: FAO/WHO, 2008.
- COLGRAVE, M. L. et al. Using mass spectrometry to detect hydrolysed gluten in beer that is responsible for false negatives by ELISA. *Journal of Chromatography A*, 1370, 105-114, 2014.
- COLGRAVE, M. L. et al. Proteomic profiling of 16 cereal grains and the application of targeted proteomics to detect wheat contamination. *Journal of Proteome Research*, 14(6), 2659-2668, 2015.
- CRUCINSKY, J.; DAMIÃO, J. J.; CASTRO, I. R. R. Fragilidades no cuidado em saúde às pessoas com desordens relacionadas ao glúten. *Cadernos de Saúde Pública*, 37(2), e00244219, 2021.
- FALLAHBAGHERY, A. et al. Comparison of gluten extraction protocols assessed by LC-MS/MS analysis. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 65(13), 2857-2866, 2017.



- HU, W. et al. Quantifying allergenic proteins using antibody-based methods or liquid chromatography–mass spectrometry/mass spectrometry. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, 23, e70029, 2024.
- KAEMPER, C. et al. Comparative shotgun proteomics analysis of wheat gluten proteins digested by various peptidases. **Current Research in Food Science**, 11, 101095, 2025.
- KŁOSOK, K. et al. Effects of physical and chemical factors on the structure of gluten, gliadins and glutenins as studied with spectroscopic methods. **Molecules**, 26(2), 508, 2021.
- LEXHALLER, B.; COLGRAVE, M. L.; SCHERF, K. A. Characterization and relative quantitation of wheat, rye, and barley gluten protein types by liquid chromatography–tandem mass spectrometry. **Frontiers in Plant Science**, 10, 1530, 2019.
- LOCK, S. Gluten detection and speciation by liquid chromatography mass spectrometry (LC-MS/MS). **Foods**, 3(1), 13-29, 2014.
- MAMONE, G. et al. Analytical and functional approaches to assess the immunogenicity of gluten proteins. **Frontiers in Nutrition**, 9, 1049623, 2023.
- NEW, L. S. et al. Simultaneous analysis of multiple allergens in food products by LC-MS/MS. **Journal of AOAC International**, 101(1), 132-145, 2018.
- OSORIO, C. E.; MEJÍAS, J. H.; RUSTGI, S. Gluten detection methods and their critical role in assuring safe diets for celiac patients. **Nutrients**, 11(12), 2920, 2019.
- ROSZKOWSKA, A. et al. Non-celiac gluten sensitivity: a review. **Medicina**, 55(6), 222, 2019.
- SCHALK, K.; KOEHLER, P.; SCHERF, K. A. Targeted liquid chromatography tandem mass spectrometry to quantitate wheat gluten using well-defined reference proteins. **PLoS One**, 13(2), e0192804, 2018.
- SCHERF, K. A.; POMES, R. E. Recent developments in analytical methods for tracing gluten. **Journal of Cereal Science**, 67, 112-122, 2015.
- SCHUPPAN, D.; ZEVALLOS, V. Wheat amylase trypsin inhibitors as nutritional activators of innate immunity. **Digestive Diseases**, 33(2), 260-263, 2015.
- TISSSEN, E. et al. Proteomics Analysis of Celiac Disease-Active Peptides in Food Products with Partially Hydrolyzed Gluten. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 74(3), 3013-3027, 2026.
- VARGAS, F. M. et al. Celiac disease: risks of cross-contamination and strategies for gluten removal in food environments. **International Journal of Environmental Research and Public Health**, 21(2), 124, 2024.
- WIESER, H.; KOEHLER, P.; SCHERF, K. A. Chemistry of wheat gluten proteins: quantitative composition. **Cereal Chemistry**, 100(1), 36-55, 2023.
- XHAFAERAJ, M.; SCHERF, K. A. Gluten is not gluten. **Nutrients**, 16(16), 2745, 2024.