

UNIVERSIDADE DE SOROCABA
PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO, PESQUISA, EXTENSÃO E INOVAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

Maria Aparecida Culik

**AVALIAÇÃO DA TINTURA DA INFLORESCÊNCIA DA BANANEIRA (*Musa spp*)
NA DESNATURAÇÃO DAS PROTEÍNAS FORMADORAS DO GLÚTEN**

Sorocaba/SP

2019

Maria Aparecida Culik

**AVALIAÇÃO DA TINTURA DA INFLORESCÊNCIA DA BANANEIRA (*Musa spp*)
NA DESNATURAÇÃO DAS PROTEÍNAS FORMADORAS DO GLÚTEN**

Dissertação apresentada à Banca Examinadora do Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas da Universidade de Sorocaba, como exigência parcial para obtenção do título de Mestre em Ciências Farmacêuticas.

Orientador: Profa. Dra. Denise Grotto

Sorocaba/SP

2019

Ficha Catalográfica

Culik, Maria Aparecida
C974a Avaliação da tintura da inflorescência da bananeira (*Musa spp*)
na desnaturação das proteínas formadoras do glúten / Maria
Aparecida Culik. – 2019.
72 f.: il.

Orientadora: Profa. Dra. Denise Grotto
Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) –
Universidade de Sorocaba, Sorocaba, SP, 2019.

1. Glúten. 2. Banana. 3. Plantas medicinais. 4. Doença celíaca. I.
Grotto, Denise, orient. II. Universidade de Sorocaba. III. Título.
Grotto, Denise, orient. II. Universidade de Sorocaba. III. Título.

Maria Aparecida Culik

**AVALIAÇÃO DA TINTURA DA INFLORESCÊNCIA DA BANANEIRA (*Musa spp*)
NA DESNATURAÇÃO DAS PROTEÍNAS FORMADORAS DO GLÚTEN**

Dissertação apresentada à Banca Examinadora do Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas da Universidade de Sorocaba, como exigência parcial para obtenção do título de Mestre em Ciências Farmacêuticas.

Aprovada em 07/03/2019

BANCA EXAMINADORA:

Prof.(a) Dr.(a) Denise Grotto
Universidade de Sorocaba

Prof. Dr. Marco Vinícius Chaud
Universidade de Sorocaba

Prof.(a) Dr.(a) Maria Fernanda Hornos Carneiro
Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto
Universidade de São Paulo

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho ao meu esposo e grande companheiro Luiz, pela paciência e apoio, aos meus filhos Andria, Andrey e Hamilton, ao meu neto Joao Matheus, e a grande amiga Vivian Contijo que em muito contribuíram para o desenvolvimento deste projeto.

AGRADECIMENTOS

A Deus, por confiar-me um projeto tão grandioso, por me conduzir, orientar e ter me dado as forças necessárias para os momentos difíceis.

Ao meu esposo Luiz, pela paciência, por todo amor dedicado, e por me incentivar desde o começo dos meus estudos.

Aos filhos Andria, Andrey e Hamilton, ao neto Joao Matheus, agradeço a Deus por vocês fazerem parte do meu pequeno mundo, acreditando e dando forças para eu nunca desistir. Que Deus permita que os seus caminhos sejam sempre de luz e paz!

Aos demais familiares, que sempre apoiaram e deram forças, em especial aos sobrinhos Ricardo e Andreia, Mauricio e Eliane.

Às amigas Vivian e Sirlei, sem palavras para agradecer. Vocês são demais!!!!

A todos os demais amigos, não vou citar nomes, posso esquecer de alguém, vocês conhecem minha memória (rsrsrsrsr), meu muito obrigada de coração, que Deus abençoe a todos!

E finalmente agradeço a minha orientadora, Prof.^a Dr.^a Denise Grotto, por acreditar que eu era capaz e pela orientação. Mesmo chegando sem me conhecer, acreditou no meu projeto. Só tenho a agradecer aos seus ensinamentos, orientações, puxões de orelha, paciência e dedicação.

Ao Prof. Dr. Marco Vinicius Chaud, muito obrigada pela ajuda, ensinamentos, orientações e contribuições. Por me receber em seu laboratório de portas abertas e sempre estar à disposição, respondendo minhas dúvidas e me incentivando a acreditar que tudo daria certo. Realmente, deu certo, e você é parte essencial desse trabalho.

Aos amigos dos laboratórios Lapetox e Labnus: Thaisa Borin Pickler, Denicezar Baldo, Alessandra Rios e Thais Alves, a ajuda de vocês foi essencial para esse trabalho. E a Sara Spim e Marcia Rebelo por ajudar nos meus primeiros passos.

À Andreia Cristiane Souza Azevedo, representante do Laboratório Ridascreen, por não medir esforços em ajudar nesta grande conquista.

À Universidade de Sorocaba, pelo acolhimento no curso de mestrado.

À brilhante equipe de docentes que contribuíram para a minha formação.

Com entendimento, grandes planos podem ser traçados e objetivos alcançados. Com a bússola da vida apontando o caminho e o mapa da persistência, chegamos aos lugares imagináveis que Deus tem preparado para nós!

Nívia Rodrigues

RESUMO

O trigo faz parte da alimentação humana; no entanto, suas proteínas não são totalmente digeridas por algumas pessoas, causando grandes desconfortos e a única forma de prevenir esses efeitos é sua total exclusão da alimentação. Uma tintura-mãe produzida com a inflorescência da bananeira (*Musa spp*) vem dando resultados em pessoas diagnosticadas e em outras que apresentam sintomas de sensibilidade ao glúten. Desta forma, o objetivo desse trabalho foi avaliar o potencial desta tintura-mãe, na desnaturação das proteínas formadoras do glúten. A tintura-mãe foi produzida, seguindo protocolo da Farmacopeia Homeopática Brasileira. Foram realizados experimentos com a farinha de trigo em contato com solução de cloreto de sódio à 5%, tintura-mãe e etanol obtido de cereais. Essas amostras, juntamente com amostras de pão + tintura-mãe, foram avaliadas quanto aos seus grupamentos químicos por Espectroscopia de Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR). Para quantificação de gliadina e de glúten total, o kit comercial ELISA-R5 (Ridascreen Gliadin) foi utilizado. Por fim, a atividade antioxidante da tintura-mãe recém preparada e após 30 dias de armazenamento também foi avaliada através do método DPPH. A tintura-mãe produzida com a inflorescência da bananeira mostrou-se eficiente clivando o glúten quando colocada em contato com a farinha de trigo e com alimentos (pão) contendo glúten. Os espectros de FTIR mostraram a ação da tintura-mãe, clivando as moléculas do glúten, enquanto as análises com o ELISA confirmaram os resultados. A tintura-mãe mostrou capacidade antioxidante de 59% no pós-preparo, mas decaiu para 34% aos 30 dias. Embora existam alguns medicamentos em fase de estudo pré-clínicos, a literatura científica não relaciona o uso da bananeira na desnaturação do glúten. Neste contexto, a pesquisa translacional concentra seus esforços em testar a segurança e a eficácia de produtos usados tradicionalmente, por meio da pesquisa laboratorial básica, com a finalidade de melhorar a saúde das populações do mundo. Desta forma, este estudo piloto vem com a oportunidade de novos direcionamentos nas pesquisas científicas, com um produto de origem natural, de baixo custo, além de contribuir com o reaproveitamento de material descartado nos bananais.

Palavras-Chave: Doença celíaca. Glúten. Sensibilidade ao glúten. Inflorescência da bananeira. Coração de banana.

ABSTRACT

Wheat is part of human food; however, their proteins are not fully digested by some people, causing major discomforts and the only way to prevent these effects is to totally exclude it from the diet. A mother tincture produced with the inflorescence of the banana tree (*Musa spp*) has been shown to improve symptoms of sensitivity to gluten. In this way, the objective of this work was to evaluate the potential of this mother tincture, in the denaturation of gluten-forming proteins. The mother tincture was produced, following the protocol of the Brazilian Homeopathic Pharmacopoeia. The experiments were carried out with wheat flour in contact with 5% sodium chloride solution, mother tincture, ethanol obtained from cereals and sap from the inflorescence. These samples, together with samples of bread + mother tincture, were evaluated for their chemical groups by Infrared Spectroscopy with Fourier Transform (FTIR). For quantification of gliadin and total gluten, commercial ELISA-R5 kit (Ridascreen Gliadin) was used. Finally, the antioxidant activity of freshly prepared mother tincture and after 30 days storage was also evaluated using the DPPH method. The mother tincture produced with the inflorescence of the banana tree was efficient when placed in contact with wheat flour and with food (bread) containing gluten. FTIR spectra showed the action of the mother tincture, cleaving the gluten molecules, while the ELISA confirmed the results. The mother tincture showed antioxidant capacity of 59% in the post-preparation but declined to 34% after 30 days. Although there are some drugs under study, the scientific literature does not relate the use of any part banana in denaturation of gluten. In this context, translational research focuses its efforts on testing the safety and efficacy of traditionally used products through basic laboratory research to improve the health of the world's populations. In this way, this pilot study comes with the opportunity of new directions in scientific research, with a product of natural origin, low cost, besides contributing with the reuse of material discarded by banana producer.

Key words: Celiac disease. Sensitivity to gluten. Gluten. inflorescence of banana tree. Heart of banana.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1- Moléculas de proteína que formam o glúten	17
Figura 2 - Inflorescência da bananeira.....	38
Figura 3- Tintura da inflorescência de bananeira filtrada.....	44
Figura 4- Ação antioxidante da tintura, pelo método de DPPH. Em (A), solução de DPPH; (B) Tintura em solução DPPH.....	45
Figura 5-Atividade antioxidante da tintura, pelo método de DPPH.....	45
Figura 6 - Propriedades mecânicas do glúten puro e glúten + tintura.....	47
Figura 7- Obtenção do glúten (A), do glúten + tintura etanólica (B)	48
Figura 8- Amostras depois de secas. Em (A), glúten; em (B), glúten + tintura.....	49
Figura 9- Aspecto interno das amostras após secagem. Em (A), amostra de glúten, em (B), glúten + tintura.....	49
Figura 10- Espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier (FTIR) da tintura da inflorescência da banana.....	50
Figura 11- Espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier (FTIR) de amostra de pão integral.....	51
Figura 12- Espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier (FTIR) de amostra de pão integral com tintura 50%, a 37 °C, em tempo 0 (A) e após 90 minutos (B).....	51
Figura 13- Em A, espectro do pão francês embebido em água. Em B, pão francês embebido em tintura.....	52
Figura 14- Espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier (FTIR) de amostras de glúten + tintura, glúten + etanol e glúten puro.....	53

LISTA DE TABELAS

Tabela 1- Tempo de retenção dos picos encontrados por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência, da amostra da tintura-mãe de inflorescência de bananeira	46
Tabela 2- Resultado de análise com texturometro.....	47
Tabela 2- Análise da gliadina, com anticorpos anti-gliadina, realizada por ELISA, e resultado do glúten total	54

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

3T3-L1	Linhagem celular
ALP	Fosfatase alcalina
ALT	Alanina transaminase
ANA	Anticorpo antinuclear
AST	Aspartato transaminase
ATR	Técnica de reflectância atenuada
CCl4	Tetracloroeto de carbono
CD4	Linfócitos T
DC	Doença Celíaca
DQ2	Genes associados à doença celíaca
DQ8	Genes associados à doença celíaca
EMA	Anticorpos endomisial
FT-IR	Espectroscopia de Infravermelho com Transformada de Fourier
HLA	Antígeno leucocitário humano
IELs	Linfócitos intra-epiteliais
IgA	Imunoglobulina A
IgE	Imunoglobulina E
IgY	Imunoglobulinas
MTT	Ensaio de citotoxicidade
PEPs	Profil endopeptidases
PPM	Parte por milhão
TTG	Transglutaminase tecidual

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	14
2 REVISÃO DA LITERATURA.....	16
2.1 Histórico do trigo.....	16
2.2 Glúten.....	17
2.2.1 Gliadinas e gluteninas.....	18
2.3 Intolerância ao glúten.....	19
2.3.1 Alergia ao trigo	20
2.3.2 Sensibilidade ao glúten não celíaca	21
2.3.3 Doença Celíaca	22
2.3.3.1 Diagnóstico da Doença Celíaca.....	23
2.3.3.2 Tratamento.....	24
2.3.4 Interação do glúten com outras doenças	25
2.4 Plantas medicinais	26
2.4.1 Extração de princípios ativos.....	27
2.4.2 Tintura-Mãe.....	27
2.4.3 Fitoterapia.....	28
2.5 Bananeira.....	29
2.5.1 Compostos Fenólicos.....	30
2.5.2 Usos nutricionais	30
2.5.3 Estudos medicinais com a bananeira.....	31
2.5.4 Estudo de toxicidade da banana.....	34
3 OBJETIVOS.....	36
3.1 Geral.....	36
3.2 Específicos	36
4 MATERIAIS E MÉTODOS.....	37
4.1 Material	37
4.2 Preparação da tintura.....	37
4.3 Atividade antioxidante da tintura.....	38
4.4 Avaliação dos compostos fenólicos por HPLC.....	39
4.5 Separação do glúten da farinha de trigo.....	40
4.5.1 Desnaturação do glúten com ensaios de adição de tintura.....	40
4.5.2 Propriedades mecânicas do glúten puro e glúten + tintura.....	41
4.6 Espectroscopia de Infravermelho com Transformada de Fourier.....	41
4.7 Método Elisa para detecção da gliadina do glúten.....	42
5. RESULTADOS	44
6 DISCUSSÃO.....	55
7 CONSIDERAÇÃO FINAL.....	59
REFERÊNCIAS.....	60

1 INTRODUÇÃO

O trigo é originário da antiga Mesopotâmia, das regiões da Síria, Jordânia, Turquia e Iraque. Segundo estudos de arqueologia, o homem cultivava o trigo (*Triticum vulgare*) pelo menos há 6.000 anos e, para tirar a farinha, triturava os grãos entre pedras rústicas. É o segundo cereal mais cultivado no mundo e serve de base alimentar para humanos e animais, fornecendo energia por meio de carboidratos e proteínas presentes em seus grãos que são transformados em farinha e servem como principal insumo para a confecção de pães, bolos, bolachas, macarrão entre outros.

Duas principais proteínas são encontradas no endosperma do trigo, a gliadina e a glutenina. Quando hidratadas, essas proteínas se ligam, formando uma proteína ainda maior, conhecida como glúten, que contém propriedades elásticas e viscosas. O glúten possui capacidade de reter o ar e dar forma e consistência elástica e esponjosa aos pães e bolos em que se utilizam o fermento.

Apesar de tantos alimentos serem produzidos com o trigo, algumas pessoas são incapazes ou tem dificuldade de digestão. Nestas pessoas, o glúten danifica as paredes do intestino delgado, provocando diarreia, dor e inchaço abdominal, além de dificultar a absorção de nutrientes. Um quadro mais grave de intolerância ocorre na Doença Celíaca, afetando o sistema imunológico. Para essas enfermidades ainda não existem tratamento, e a única forma de combate é a total exclusão de alimentos que contenham o glúten em sua formulação.

Alguns laboratórios estão em fase de desenvolvimento de medicamentos, os quais tem se mostrado promissores em testes clínicos iniciais, e avançam para os estágios finais das pesquisas. A maioria desses medicamentos não eliminaria a necessidade de uma dieta sem glúten, mas ajudaria a aliviar os sintomas quando há alguma quantidade de glúten nos alimentos, ou mesmo uma contaminação cruzada. Todos esses novos fármacos são obtidos através de produtos químicos ou biológicos e podem ter um alto custo em sua fabricação, além do que, carecem de continuidade com seus estudos, de forma a avaliar reações em longo prazo. Desta forma, a medicina translacional, busca através do conhecimento produzido na bancada científica, soluções que sejam de baixo custo e de fácil acesso à população, com a finalidade de melhorar a saúde e a longevidade das populações do mundo.

O uso de plantas como medicamento é antigo e surgiu por experimentação e observação. Esse conhecimento ainda é transmitido oralmente e encarado como objeto de poder e misticismo. A literatura científica relata que a banana (*Musa spp*, família *Musaceae*) tem se mostrado, além de ótimo alimento, uma potencial planta medicinal. Muitas substâncias já foram identificadas na banana, polifenóis como flavonoides, taninos, epicatequina e galocatequina,

carotenoides totais, vitamina C, terpenóides, saponinas e ácidos fenólicos, todas essas substâncias estão presentes na raiz, pseudocaule, folhas, flores e frutos, e possuem características farmacológicas importantes, como ação antioxidante, antibacteriana e antifúngica. Estudos mostram que a banana contribui na cicatrização de úlcera, é hipoglicemiante e controla o colesterol, aumenta o leite materno, é protetora do fígado diminuindo as enzimas hepáticas ALT, AST e ALP e ainda auxilia na disfunção reprodutiva. Segundo a crendice popular, tem efeito contra picadas de serpente, acalma picadas de insetos, possui propriedades curativas de asma e bronquites, além do que algumas pessoas que fizeram uso de uma tintura feita com a inflorescência ou coração do cacho da banana afirmam que o fitoterápico é capaz de neutralizar os efeitos maléficos causados pelo glúten no organismo humano.

A importância do tema pesquisado justifica-se pelo aumento de casos de pessoas portadoras de intolerância ao glúten, tendo atualmente como única forma de tratamento sua total exclusão da alimentação. Na literatura científica não existem estudos que relacionem a bananeira ao glúten, no entanto, relatos pessoais sugerem efeitos positivos. Desta forma, nesse estudo foram testados produtos alimentícios contendo glúten posto em contato com a tintura preparada com a inflorescência da bananeira e analisados através de testes laboratoriais.

2 REVISÃO DA LITERATURA

2.1 Histórico do trigo

Estudos revelam que a alimentação na pré-história era baseada na ingestão de grãos, frutos e raízes. Com o passar do tempo, foram adquirindo conhecimento e habilidades, aprenderam a caçar, cultivar alguns alimentos e domesticar animais. Desta forma, o cultivo do trigo segue paralelamente com a história da humanidade, sendo sua participação de extrema importância na alimentação de todas as populações mundiais (MAZOYER; ROUDART, 2010).

Segundo a Abitrigo (2018), o trigo começou a ser cultivado na antiga Mesopotâmia, numa região chamada Crescente Fértil, que se estende do Egito ao Iraque. Seus grãos eram misturados com peixes e frutas. Desta região, o trigo espalhou-se pelo mundo, sendo conhecido pelos chineses há mais de 4000 anos. Na Europa, o cultivo do trigo chegou até regiões mais frias, como Rússia e Polônia, nas Américas veio pela mão dos europeus no século XV.

O trigo, do gênero *Triticum*, é uma gramínea com cerca de 30 tipos diferentes, dos quais apenas três são produzidos comercialmente: o *T. aevestivum*, o *T. durum* e o *T. compactum*. A espécie *T. durum* é a mais usada para a produção de macarrão e outras massas. Por conter baixo teor de glúten o *T. compactum* é produzido em baixa escala e é utilizado para fabricar biscoitos suaves; já o *T. aevestivum* é adequado à panificação, sendo responsável por mais de 4/5 da produção mundial (ABITRIGO, 2018).

O trigo é uma cultura adaptável a diversos climas devido à capacidade genética que possui. Desta forma, espalhou-se pelos continentes e hoje é o segundo cereal mais produzido, perdendo apenas para o milho. Pode ser utilizado para alimentação animal, em sua fase vegetativa, e na fase final do ciclo para a produção de grãos (RODRIGUES, 2012).

Dos grãos de trigo são produzidos a farinha, o farelo e o gérmen, matérias primas na elaboração de diversos produtos alimentícios. O farelo é usado na fabricação de rações animais, além de fornecer fibras e complexos vitamínicos em produtos dietéticos e cereais matinais. Do gérmen são extraídos óleo e vitaminas pela indústria farmacêutica e com a farinha são produzidos diversos tipos de produtos que fazem parte da nossa dieta alimentar (BRASIL, 1996).

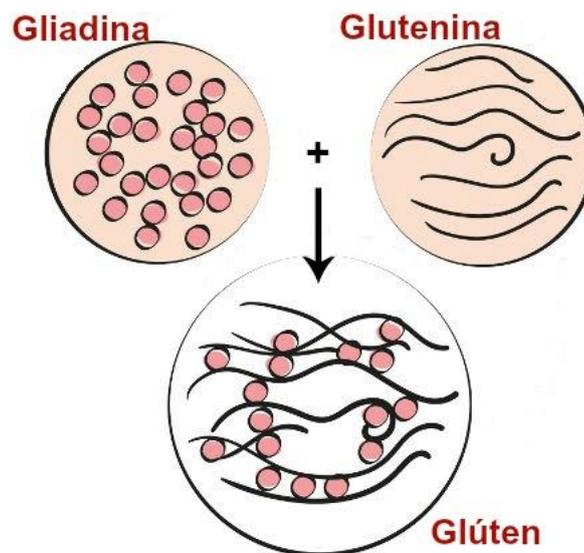
A farinha de trigo é formada por amido (70 a 75%), água (12 a 14%), proteínas (8 a 16%) e outros constituintes menores, como polissacarídeos não amiláceos (2 a 3%), lipídeos (2%) e cinzas (1%) (SCHEUER et al., 2011). O amido é constituído, basicamente, por polímeros de amilose e amilopectina, estes quando umedecidos e aquecidos formam géis que

originam redes tridimensionais modificando a textura e a qualidade das massas. As proteínas estão divididas em proteínas solúveis (albuminas e globulinas) e proteínas de reserva (gliadina e glutenina), que formam o glúten. Os lipídeos se localizam principalmente no gérmen, que é rico em vitamina E, e entre os minerais estão o fósforo e o selênio uma fonte de antioxidante e micronutriente essencial aos humanos.

2.2 Glúten

Todos os cereais possuem em seus grãos algumas proteínas. Porém, as proteínas gliadina e gluteninas do trigo, quando hidratadas e sob pressão mecânica, são as únicas capazes de formar o glúten. A figura 1 mostra a interação entre essas proteínas.

Figura 1- Moléculas de proteína que formam o glúten



Fonte: Ole Lookole

O glúten se constitui de uma massa viscoelástica, e faz com que o gás produzido durante o processo de fermentação seja retido, fazendo com que a massa cresça e fique esponjosa dando forma a pães, bolos entre outros (FERRARI, 1998).

Essas proteínas são formadas durante o crescimento do grão, e estão localizadas no endosperma, possuem funções estruturais e constituem as proteínas de reserva. As proteínas do glúten podem ser divididas em duas frações principais, e são classificadas quanto a solubilidade:

albuminas solúveis em água, globulinas solúveis em soluções salinas, prolamina solúvel em soluções hidroalcoólica e as glutelinas solúveis em soluções ácidas ou alcalinas. As proteínas podem ser removidas em duas fases, com a presença de agentes redutores ou na sua ausência. Na primeira etapa podem ser retiradas as proteínas solúveis em soluções sem a presença de agente redutor, a segunda parte, as glutelinas são formadas por polipeptídios ligados por pontes de enxofre (pontes dissulfetos), por não ser solúvel em solução hidroalcoólica precisam de agente redutor. No trigo essas duas frações de proteínas são as gliadinas e as glutelinas e juntas formam o glúten (RODRIGUES; DIDONET; TEIXEIRA, 2017).

2.2.1 Gliadinas e gluteninas

Hernández-Espinosa et al. (2013) relatam que a gliadina é uma fração da prolamina que dá formação ao glúten. É uma proteína monomérica e globular, e tem baixo peso molecular (30.000 a 74.000 g mol⁻¹, normalmente 50.000 g mol⁻¹). Sua mobilidade eletroforética dá nome à nomenclatura em pH ácido: α -gliadina, β -gliadina, γ -gliadina e ω -gliadina. Suas estruturas são semelhantes com ligações dissulfeto intramoleculares, exceto a ω -gliadina que é formada por um único domínio repetitivo sem resíduos de L-cisteína e, não possui ligações dissulfeto.

Para Aquino (2012), gliadinas e gluteninas possuem pontes dissulfeto e sua diferença está nas diferentes sequências de aminoácidos. As gluteninas possuem muitas pontes de dissulfeto entre suas cadeias polipeptídicas formando grandes agregados moleculares, enquanto nas gliadinas as pontes são intramoleculares, formando moléculas globulares. Ambas possuem pequenas quantidades de cistina e cisteína, sendo esta possuidora de um grupo tiol na sua cadeia lateral e sob determinadas condições, a cisteína oxida-se formando cistina, composta por duas cisteínas unidas por uma ligação dissulfeto, cujo rompimento permite a molécula se desenrolar e se reajustar em diferentes posições. Grupos sulfidríla estão presentes em ligações laterais com a cisteína e quando oxidado pela ligação -SS- causa o fortalecimento das proteínas do glúten.

Por ser rica nos aminoácidos prolina, cistina, ácido aspártico e ácido glutâmico, as proteínas formadoras do glúten possuem forma espiralada ou α -hélice que ocorrem pelas ligações de pontes de hidrogênio entre os grupos amida que atuam como doadores e receptores de hidrogênio. A estabilização dos complexos de gluteninas se deve às interações hidrofóbicas dos aminoácidos com sítios hidrofóbicos presentes nesta proteína, sendo responsáveis pela elasticidade do glúten. As moléculas de gliadinas e gluteninas possuem altos níveis de prolina, ácido glutâmico e de ácido aspártico na forma de amida que participam nas funções e estruturas

dessas proteínas, em especial da gliadina sendo responsável pela rigidez da rede proteica. Graças a esta estrutura, é possível a formação da massa, o que não ocorre com os demais cereais (MANDARINO, 1994).

No entanto, algumas pessoas possuem a incapacidade de digerir completamente essas proteínas, o que pode aumentar a concentração destes peptídeos no trato gastrointestinal. Essas proteínas podem desencadear uma resposta inflamatória que podem gerar alergias, intolerância ou sensibilidade, e um quadro mais grave como a doença celíaca (GAESSER, ANGADI, 2012). A incapacidade em digerir completamente as proteínas do glúten pode ainda estar ligada com doenças como autismo (VOJDANI et al., 2004), síndrome do intestino irritável (CATASSI et al., 2017), distúrbios autoimunes (CARROCCIO et al., 2015), síndrome de Down (PUESCHEL et al., 2007), e esclerose múltipla (SHOR et al., 2009).

2.3 Intolerância ao glúten

Para a FENACELBRA (Federação Nacional das Associações de Celíacos do Brasil) (2018), a intolerância ao glúten é a incapacidade ou dificuldade de digestão das proteínas formadoras do glúten presente no trigo, no centeio e na cevada. A intolerância pode ser classificada em três condições específicas: alergia ao trigo, doença celíaca e sensibilidade ao glúten não celíaca.

Segundo Johansson et al. (2003), é de grande importância que se conheça e compreenda os mecanismos de iniciação de uma reação no organismo a fim de que o tratamento seja correto e eficaz. A Academia Europeia de Alergologia e Imunologia Clínica e a Organização Mundial de Alergias, em Declaração de Posição de Nomenclatura, definem:

“A alergia é uma reação de hipersensibilidade iniciada por mecanismos imunológicos específicos”. “O termo hipersensibilidade deve ser usado para descrever sintomas ou sinais objetivamente reproduzíveis iniciados pela exposição a um estímulo definido em uma dose tolerada por pessoas normais”. E completa “A alergia pode ser mediada por anticorpos ou mediada por células”.

(JOHANSSON et al., 2003).

Quando o anticorpo IgE reage a um alérgeno, causa uma alergia. Em estágio crônico, a inflamação alérgica pode causar uma reação inflamatória por linfócitos específicos para

alérgenos. Em alergia não mediada por IgE, a inflamação pode ser desencadeada por linfócitos específicos de alérgenos (JOHANSSON et al., 2003).

Como o glúten é composto pelas proteínas gliadina e glutenina, de difícil degradação pelas enzimas do trato digestivo, estas podem desencadear reações imunes e alérgicas em indivíduos com predisposição genética. No entanto, o perfil tóxico das proteínas ainda é desconhecido, e para cada indivíduo uma sequência da proteína pode estimular células T distintas. A reação depende da via de exposição e da resposta inflamatória ou alérgica. Assim a alergia ao trigo e outros grãos relacionados, causam uma reação imunológica onde os anticorpos de imunoglobulina E (IgE) inibidor da tripsina e da alfa-amilase medeiam a resposta inflamatória. Na doença celíaca, os peptídeos derivados do glúten fazem com que as células T desencadeiem uma reação autoimune no intestino delgado, e na sensibilidade ao glúten não-celíaca não está claramente definido o diagnóstico, sabe-se apenas que não é um processo alérgico ou autoimune (ELLI et al., 2015).

2.3.1 Alergia ao trigo

A proteína do trigo, devido aos seus componentes alergênicos, causa uma reação específica das imunoglobulinas E, que pode manifestar-se em diversas formas. Quando ingeridas, essas proteínas podem causar um quadro de alergia alimentar de tradicional à anafilática, e quando inalada pode surgir rinite ou asma (CHRISTENSEN et al., 2014). Cianferoni (2016) relata que podem ocorrer sintomas como urticária, angioedema, asma, rinite alérgica, dor abdominal, vômitos, exacerbação aguda de dermatite atópica e anafilaxia induzida por exercícios, além de que a inalação pode causar asma ou rinite de padeiro em pessoas com contato repetitivo com a farinha. Estas reações são mediadas pela imunoglobulina E (IgE), enquanto reações alérgicas não- IgE causam esofagite e gastrite, caracterizadas por inflamação eosinofílica.

A alergia ao trigo difere entre crianças e adultos, sendo mais comum em crianças. As crianças apresentam de imediato sintomas como urticária, obstrução brônquica, náusea ou queixas gastrointestinais, podendo ainda apresentar após algumas horas prurido ou erupção cutânea eczematosa, dermatite atópica, além de outras alergias alimentares. Ao atingir a idade entre 12 a 16 anos a criança tende a superar este quadro alérgico. Os adultos são menos tendenciosos a apresentar sintomas de alergia ao trigo (LEONARD; VASAGAR, 2014).

Nem todos os principais alérgenos do trigo são reconhecidos, o que torna difícil seu diagnóstico. Assim, a melhor forma de diagnosticar continua sendo a exclusão do trigo da

alimentação, logo após se reintroduz pequenas porções de proteínas específicas do trigo e observar a reação. Para testes positivos, os sintomas aparecem logo após a ingestão. Com a confirmação da primeira etapa, começam testes laboratoriais para confirmar os níveis de IgE específica para alérgenos de trigo. São testes cutâneos com uma solução de trigo, porém sua especificidade é muito baixa. Esses testes consistem na mistura de albuminas e globulinas não contendo as prolaminas que são insolúveis, desta forma não possuem os principais alérgenos de trigo, o que dificulta o diagnóstico. Portanto a alergia ao trigo mediada por IgE é induzida exclusivamente pelas proteínas do trigo, e seu tratamento consiste de uma dieta isenta de trigo (CZAJA-BULSA; BULSA, 2017).

2.3.2 Sensibilidade ao glúten não celíaca

“Sensibilidade ao glúten não celíaca” é um tipo de resposta com sintomas intestinais e extra intestinais surgindo logo após sua ingestão. Embora seu mecanismo patogênico não seja compreendido, difere da alergia ao trigo ou da doença celíaca. O paciente não apresenta anticorpos relacionados com a doença celíaca, atrofia das vilosidades, ou qualquer processo relacionado à alergia. Em estudo baseado em questionário feito pelo National Health and Nutrition Examination Survey, nos Estados Unidos, a taxa de pessoas afetadas pode chegar a 13%, com menos de 1% de indivíduos com diagnóstico médico. Os sintomas relatados pelos pacientes são gastrointestinais, como dor abdominal, inchaço e alteração do hábito intestinal e sintomas sistêmicos, como fadiga, cefaleia, dor óssea ou articular, transtornos de humor e manifestações cutâneas como eczema ou erupção cutânea que aparecem logo após a ingestão do glúten e desaparecem com sua exclusão da alimentação (ELLI et al., 2015).

Vazquez-Roque e Oxentenko (2015) relatam que para uma boa avaliação clínica de Sensibilidade ao glúten não celíaca é importante descartar a doença celíaca e a alergia, devendo o paciente fazer uma sorologia de transglutaminase IgA tecidual enquanto o paciente está em dieta com glúten, e a medição dos níveis de IgE para a exclusão da doença celíaca e alergia. Se o paciente estiver em dieta livre de glúten, se faz necessário o teste antígeno leucocitário humano (HLA) para identificar a presença de genes associados a impermeabilidade intestinal, com os marcadores DQ2 e DQ8, estando estes ausentes se exclui doença celíaca e a alergia. A endoscopia digestiva alta com biópsia do intestino delgado é outra forma de diferenciação. Na sensibilidade, não haverá atrofia vilosa ou hiperplasia da cripta. A imunidade inata e a adaptativa podem estar envolvidas com a sensibilidade ao glúten, mas faltam biomarcadores específicos e validados (LECCIOLI et al., 2017). O desencadeamento do processo ainda não é

estabelecido, e sugere-se que outras moléculas, como inibidores de tripsina de trigo amilase, oligo- di- monossacarídeos, polióis fermentáveis, aglutinina de germe de trigo e exorfinas possam disparar o gatilho e iniciar a sensibilidade.

2.3.3 Doença Celíaca

A doença celíaca (DC) é uma desordem autoimune, com predisposição genética, que afeta indivíduos ao consumir alimentos contendo glúten, presente em grãos de trigo, cevada e centeio. Essas proteínas ativam respostas imunes na mucosa intestinal, o que resulta em alterações no epitélio e na lâmina própria, causando infiltração de linfócitos e células mononucleares, hiperplasia da cripta e atrofia das vilosidades. Esta inflamação do tecido intestinal produz uma grande perda de área de superfície, acarretando em má absorção de nutrientes, vitaminas e minerais (ROSTOM; MURRAY; KAGNOFF, 2006). A DC se manifesta em qualquer idade, seus sintomas podem variar de um paciente para outro. Em geral, a DC causa manifestações gastrointestinais como diarreia ou constipação, distensão abdominal e dor além de desnutrição e a perda de peso. Outros sintomas extra intestinais também podem ocorrer como anemia, neuropatia periférica, fadiga e redução da densidade óssea. Além disso, a DC pode apresentar-se de forma assintomática e o paciente não ser diagnosticado e não receber tratamento, o que pode levar a desenvolver doenças autoimunes secundárias como diabetes tipo 1, disfunções tireoidianas, doença de Addison, bem como câncer maligno (YUAN et al., 2013).

A DC afeta todas as populações mundiais. Antigamente, a DC parecia ser exclusiva de povos europeus brancos, mas hoje se sabe que ela acompanhou o consumo de trigo pela humanidade (GUJRAL; FREEMAN; THOMSON, 2012). A DC afeta cerca de 1% da população mundial. É uma inflamação intestinal crônica mediada pelo sistema imune de indivíduos portadores dos genes haplótipos HLA DQ2 ou DQ8, quando expostos ao glúten. Embora muitos acreditam que a DC possa ter início na infância, com a introdução da alimentação, dados recentes afirmam que podem ocorrer a qualquer momento devido a fatores ambientais desconhecidos. Além dos sintomas já conhecidos, a Sociedade Norte-Americana de Gastroenterologia e Nutrição Pediátrica inclui hipoplasia de dentes permanentes, osteopenia, osteoporose, baixa estatura, puberdade tardia, e anemia por deficiência de ferro, e a Sociedade Europeia de Gastroenterologia e Nutrição Pediátrica ainda envolve como manifestações extra intestinais, amenorreia, fadiga, estomatite aftosa recorrente, fratura e bioquímica hepática anormal (LEONARD; VASAGAR, 2014).

As proteínas do glúten não são totalmente digeridas pelas peptidases gástricas e pancreáticas, deixando grandes peptídeos que passam a barreira epitelial do intestino, onde o sistema imunológico adaptativo e inato faz com que aconteça uma reação imune adaptativa. A transglutaminase tecidual (TTG) aumenta a sua imunogenicidade, facilitando a ligação dos fragmentos de gliadina às moléculas HLA DQ2 ou DQ8 de células que apresentam antígenos. Células T reativas à gliadina reconhecem esses peptídeos e produzem citocinas pró-inflamatórias, como o interferon. Durante o quadro inflamatório ocorre a liberação de metaloproteinases e outros mediadores, com isso os linfócitos intraepiteliais (IELs) que fazem parte do sistema imune inato, reconhece e extermina as células que apresentam alterações citotóxicas e desencadeiam a lesão dos tecidos (LEBWOHL; LUDVIGSSON; GREEN, 2015).

2.3.3.1 Diagnóstico da Doença Celíaca

A aplicação de testes sorológicos de anticorpos facilitou muito a detecção da DC. Barker e Liu (2008) relataram que muitos anticorpos estão presentes em indivíduos com DC, e estes podem ser rastreados. Os anticorpos endomisial (EMA) e Transglutaminase tecidual (TG) IgA estão sendo considerados os melhores marcadores para o diagnóstico, por serem os mais sensíveis e específicos. Gujral, Freeman, Thomson (2012) demonstraram que os pacientes com DC compartilham os genes HLA-DQ2 e HLA-DQ8 em macrófagos e células dendríticas e apresentam antígenos contra peptídeos de glúten que podem levar a ativação de células CD4.

Entretanto, mesmo sendo seus resultados positivos favoráveis ao diagnóstico, a biópsia da mucosa intestinal é reconhecida como padrão-ouro para estabelecer a confirmação (ROSTOM; MURRAY; KAGNOFF, 2006). Rewers (2005), por outro lado, indica que a biópsia possui limitações significativas, já que as alterações histológicas na mucosa do intestino delgado podem variar de atrofia vilosa total a parcial, e a parte mais afetada se encontra no jejuno proximal, que não é vista pela biópsia endoscópica. Portanto exames de tipagem de HLA, nível de anticorpos, biópsia da mucosa do intestino delgado e contagem de linfócito, são testes imprescindíveis para o diagnóstico de DC. No entanto Vazquez-roque e Oxentenko (2015) concluem que para uma correta interpretação patológica, os indivíduos necessitam estar em uma dieta contendo glúten.

2.3.3.2 Tratamento

O único tratamento efetivo disponível para os indivíduos com DC, alergia ou sensibilidade ao glúten não celíaca é a total exclusão de glúten da sua dieta alimentar por toda a vida (GUJRAL; FREEMAN; THOMSON, 2012). Os autores afirmam ainda que a exclusão é uma tarefa extremamente difícil, por conta do glúten oculto em contaminação com outros alimentos que representa um risco eminente para portadores de DC. Mudanças de hábitos alimentares dependem das condições socioeconômicas, educação, conhecimento da doença e adesão dos demais familiares o que torna muito difícil de manter (ROSTOM; MURRAY; KAGNOFF, 2006).

A ingestão de glúten não está restrita apenas às proteínas do trigo, mas inclui as de cevada (hordeína) e centeio (secalinas). Os pacientes devem ser estimulados a comer alimentos naturais sem glúten e buscar fontes alternativas de amido como milho, arroz, batata etc (LUDVIGSSON et al., 2014). No Brasil, a LEI Federal Nº 10.674, de 16 de maio de 2003, obriga todos os alimentos industrializados a conter em seu rótulo e bula as inscrições "contém Glúten" ou "não contém Glúten", conforme o caso (BRASIL, 2003).

Alguns estudos mostram possíveis tratamentos para a DC, que pode se dar pela hidrólise da gliadina (MATYSIAK-BUDNIK et al., 2005; TYE-DIN et al., 2010), prevenção/inibição da absorção da gliadina (KELLY; GREEN; MURRAY, 2009; GUJRAL; FREEMAN; THOMSON, 2012) e ainda pela aplicação de vacinas para restaurar a tolerância imunológica ao glúten (KEECH; DROMEY; TYE-DIN, 2009).

Em um estudo, as prolil endopeptidases (PEPs), que são enzimas endoproteolíticas expressas em plantas e alguns microrganismos, estão sendo avaliadas. As PEPs clivam o glúten em peptídeos menores, apropriados para a digestão pelas enzimas aminopeptidases e carboxipeptidases presentes no intestino. Sua eficiência é limitada, exigindo cerca de 3 horas para desintoxicar os alimentos contendo glúten (MATYSIAK-BUDNIK et al., 2005). O ALV003, uma mistura de duas glutenases, uma endoprotease e PEP, foi avaliado em pacientes com DC. Uma refeição rica em glúten, pré-tratada ALV003, foi administrada em pacientes com DC. Já em estudo de fase clínica II, o ALV003 mostrou que pode diminuir a lesão da mucosa do intestino delgado induzida pelo glúten (TYE-DIN et al., 2010).

O Larazotide é um hexapeptídeo sintético derivado da toxina de *Vibrio cholerae*. Ele é usado para inibir a abertura das junções das células epiteliais do intestino delgado. Este fármaco é um candidato promissor na DC, uma vez que inibe uma das vias de absorção da gliadina,

através da junção das células epiteliais (KELLY; GREEN; MURRAY, 2009). Entretanto, o Larazotide precisa ser explorado em combinação com outros tratamentos.

Um outro produto que vem sendo estudado para inibição da absorção da gliadina é o anticorpo de gema anti-gliadina (IgY) (GUJRAL; FREEMAN; THOMSON, 2012). O IgY vem sendo utilizada para neutralizar a gliadina no trato gastrointestinal e prevenir sua absorção. Gujral, Freeman, Thomson (2012) avaliaram camundongos alimentados com formulação de IgY e gliadina, e observaram que a absorção de gliadina no trato gastrointestinal foi mínima (<1%). Agora, estudos em pacientes com DC são necessários.

Uma vacina também está sendo avaliada, a Nexvax2, que consiste de uma mistura contendo peptídeos de α -e ω -gliadinas imunotóxicas e B-hordeína (proteína do grupo das prolaminas, extraída da cevada) (KEECH; DROMEY; TYE-DIN, 2009). Esta vacina está sendo testada em animais, em modelos de imunidade ao glúten dependente de HLA Dq2. Os peptídeos estão sendo aplicados com o intuito de criar uma resposta imunitária ao glúten.

2.3.4 Interação do glúten com outras doenças

Em um estudo com pacientes que desenvolveram distúrbios autoimunes, a positividade foi associada à presença dos genes HLA DQ2/DQ8, assim como à presença de anticorpo antinuclear (ANA), um grupo de anticorpos especiais do sistema imune que perde a capacidade de identificar entre o que é “próprio” e o que é “não-próprio”, e acaba por atacar o próprio indivíduo. Pacientes exibindo sensibilidade ao glúten mostraram uma frequência muito alta de ANA sérico, que se correlacionou com os haplótipos HLA DQ2 / DQ8. Esses pacientes apresentavam tireoidite de Hashimoto, psoríase, diabetes tipo 1, doença mista do tecido conjuntivo e espondilite anquilosante, concluindo que os dados mostraram forte tendência de doenças autoimunes estar associada ao consumo de glúten (CARROCCIO et al., 2015).

Em outro estudo, Vojdani et al. (2004) avaliaram 50 pacientes autistas. Destes, a reação de anticorpos para gliadina com peptídeos cerebelares foram superiores a 60%. Os autores concluíram ainda que alguns autistas produzem anticorpos contra células de Purkinje e peptídeos de gliadina, podendo estes serem os responsáveis por alguns dos sintomas neurológicos.

Pueschel et al. (2007) confirmaram que 5% de pacientes com síndrome de Down são portadores de DC. Um aumento significativo dos anticorpos imunoglobina G contra a gliadina, e anticorpos antitransglutaminase antitumorais também foram encontrados em pacientes com

esclerose múltipla (SHOR et al. 2009). Green et al. (2003) avaliaram o risco de malignidade de câncer em portadores de DC, e o estudo mostrou ainda que o risco de Linfoma não-Hodgkin é três vezes maior e que a incidência aumentou a mortalidade. Risco de cânceres intestinais também foram documentados pelos autores. Wright (1995) relatou que linfomas de células T associados à DC surgem no decorrer da doença e evoluem de uma neoplasia linfocítica para um tumor de alto grau, e o aumento de carcinoma da faringe e do esôfago e o adenocarcinoma do intestino delgado podem estar relacionados com a deficiência de absorção de vitamina A.

Pacientes com a síndrome do intestino irritável relataram agravamento de sintomas, como dores abdominais, inchaços alterações nos hábitos intestinais logo após a ingestão alimentar, e outros claramente reconhecem a presença de trigo como sendo a causa do desencadeamento dos sintomas (CATASSI et al., 2017). Esses resultados sugerem uma reação autoimune mediada por constituintes do glúten em indivíduos suscetíveis, no entanto os mecanismos são desconhecidos (VERDU; ARMSTRONG; MURRAY, 2009).

2.4 Plantas medicinais

O uso de plantas como medicamento é antigo e surgiu por experimentação e observação, sendo que esse conhecimento era transmitido oralmente e encarado como objeto de poder e misticismo (SANTOS, 2009). Entretanto, nem toda planta é tida como medicinal (VIZZOTTO; KROLOW; WEBE, 2010). Para isso, ela precisa apresentar princípios ativos com ação farmacológica para o organismo dos seres humanos e animais. Os princípios ativos das plantas são compostos secundários, que servem de proteção contra pragas e doenças e possuem atração para polinizadores. Os princípios ativos podem estar concentrados nos rizomas, pseudocaule, folhas, flores e frutos (VIZZOTTO; KROLOW; WEBE, 2010).

O uso de uma espécie vegetal pela população não é suficiente para validar sua segurança e efetividade. São necessários estudos com isolamento, purificação e caracterização dos princípios ativos, bem como a verificação farmacológica de extratos e dos constituintes químicos isolados, assim como os mecanismos de ação dos princípios ativos e pôr fim a formulação dos fitoterápicos (MACIEL; PINTO; VEIGA JUNIOR, 2002). Segundo a Anvisa (2018) um fitoterápico é o produto obtido de planta medicinal, ou de seus derivados, exceto substâncias isoladas farmacologicamente ativas, com finalidade profilática, curativa ou paliativa.

2.4.1 Extração de princípios ativos

Embora uma planta possa conter centenas de metabólitos secundários, apenas os compostos presentes em maior concentração são geralmente isolados e estudados pela fitoquímica. Existem várias metodologias descritas para a preparação de extratos vegetais, visando o isolamento destes constituintes químicos (CECHINEL FILHO, 1998). O solvente é o composto no qual outra substância, chamada de soluto, pode se dissolver para formar uma solução. A quantidade de soluto que pode se dissolver em uma determinada substância depende muito da relação temperatura, volume ou massa, além das propriedades químicas das substâncias envolvidas, como a polaridade. Os solventes são compostos orgânicos, utilizados em laboratórios para extrair e separar os diferentes componentes das plantas, como nutrientes e fitoquímicos, pela sua polaridade. Como a água é altamente polar, vai solubilizar compostos polares como carboidratos simples, proteínas e compostos solúveis em água. O metanol é semi-polar, e solubilizará compostos como fenóis, flavonóides, alcaloides; e o hexano é apolar e assim compostos não-polares como esteróis, terpenóides, taninos, glicosídeos, são solubilizados nele (MAITY; DAS; MANDAL, 2016).

2.4.2 Tintura-Mãe

A tintura-mãe é uma forma de fitoterápico com preparação a base de plantas da qual se extrai os princípios ativos presentes em raízes, folhas, flores, cascas, tronco, rizoma, fruto e semente, e para a qual deve ser usada, preferencialmente, o etanol de cereais no preparo (ANVISA, 2018). Ainda segundo a Anvisa, uma tintura é a preparação etílica ou hidroetílica resultante da extração de drogas vegetais ou da diluição dos respectivos extratos, obtidas por maceração ou percolação, utilizando a planta fresca ou seca. Para a preparação da tintura-mãe, é necessária a determinação do resíduo sólido do vegetal fresco. Com o valor do resíduo sólido, calcula-se o volume total da tintura-mãe a ser obtido, assim como o volume e o teor de etanol a ser adicionado (ANVISA, 2011).

Para Toledo et al. (2003) uma tintura difere de um extrato pela forma de seu preparo. Um extrato sofre evaporação de seus solventes até chegar a concentração desejada do princípio ativo e este seja especificado. Por outro lado, a tintura não apresenta a concentração dos ativos contidos na droga que lhe deu origem.

2.4.3 Fitoterapia

Apesar de todo avanço conseguido pela medicina moderna, grande parte da população nos países em desenvolvimento ainda depende de plantas medicinais para seus cuidados primários. Além disso, o interesse do público pelas terapias naturais vem aumentando nos países industrializados, e o uso de plantas medicinais e fitoterápicos está se expandindo (HERNÁNDEZ, 2005). Nesse contexto, a partir de 2006 no Brasil foram criados marcos regulatórios que apoiam e promovem o uso seguro e racional de plantas medicinais e fitoterápicos como a Política Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos (PNPMF), Política Nacional de Práticas Integrativas e Complementares (PNPIC) e a RENISUS (Relação Nacional de Plantas Medicinais de Interesse ao SUS) afim de garantir à população brasileira o acesso seguro e o uso racional de plantas medicinais e fitoterápicos, promovendo o uso sustentável da biodiversidade e o desenvolvimento da cadeia produtiva e da indústria nacional (BRASIL, 2018).

Desta mesma forma, hoje vemos por meio da medicina translacional, a transferência do conhecimento produzido na bancada científica, para a aplicação na investigação clínica e saúde pública. Iniciou em 2003 com o Instituto de Medicina da Academia Nacional de Ciências dos Estados Unidos, contando hoje com cerca de 60 centros de medicina translacional nas universidades. Com isso criou uma cultura de aproximação da área básica com a área clínica e, principalmente, fazer com que aquilo que resultou da pesquisa básica e que foi visto como útil na pesquisa clínica chegasse até o paciente. A pesquisa translacional envolve um amplo time de cientistas e acadêmicos, que concentram seus esforços no cumprimento da promessa de que a pesquisa translacional deve melhorar a saúde e a longevidade das populações do mundo, unindo as descobertas das ciências básicas com o amplo território da investigação clínica e traduzir esses resultados em modificações da prática clínica. A partir de pesquisa laboratorial básica, testam a segurança e eficácia de medicamentos, principalmente em ensaios clínicos e aplicações práticas em ambientes reais e em situações da vida cotidiana (AZEVEDO, 2009).

A fitomedicina é a área da saúde que emprega plantas medicinais em um contexto terapêutico a partir de um contexto científico, ou seja, após as diferentes fases da metodologia científica de testes pré-clínico, clínico, farmacológico, toxicológico, mutagênico, etc. Além do conhecimento de seu mecanismo de ação, receptores, interações medicamentosas, efeitos adversos e contraindicações (HERNÁNDEZ RODRÍGUEZ, 2005).

2.5 Bananeira

A bananeira (*Musa* spp, família Musaceae) é um vegetal monocotiledôneo e herbáceo, suas principais características é o pseudocaule e produzir frutos apenas uma vez. Seu caule é subterrâneo (rizoma) de onde saem as raízes e a gema apical de crescimento, as gemas laterais de brotação são responsáveis pela formação de folhas que surgem no topo do pseudocaule, cuja função é de suporte, reserva energética e hídrica da planta e também atuam como vasos condutores de seivas (SCARPARE FILHO et al., 2016).

Com a mudança da fase de crescimento para a fase reprodutiva, ocorre o alongamento da gema apical no cilindro central do rizoma, formando o palmito, de onde surge o pedúnculo da inflorescência. A inflorescência consiste em um único florescimento principal, que contém brácteas dispostas em espiral e flores em pencas de duas fileiras horizontais e paralelas. Inicialmente são formadas as flores femininas, que darão origem a frutos por partenocarpia (produção de frutos sem sementes) e depois as flores masculinas que não produzem e caem. Desta forma, o que resulta no botão floral popularmente conhecido por coração da bananeira, é o conjunto de flores masculinas ainda em desenvolvimento com suas respectivas brácteas (KIRCHOFF, 2017).

A banana (*Musa* spp) é uma das frutas mais consumidas mundialmente, em especial nos países tropicais, onde é largamente produzida. Seus frutos foram avaliados, quanto ao aspecto nutricional, como uma grande fonte de minerais, vitaminas, hidratos de carbono, flavonoides, compostos fenólicos, etc (ASIF; KAUR, 2017). Ainda, esses autores relatam que todas as partes da planta possuem propriedades fitoquímicas e atividades biológicas, benéficas à saúde humana e animal. Singh et al. (2016) listam muitos compostos bioativos encontrados na banana, entre eles, flavonoides, alcaloides, fenóis, esteroides, glicosídeos, terpenóides, saponinas, carboidratos, vitamina C, vitamina A1, vitamina B6, vitamina B12, ácido gálico, além de constituintes menos comuns como catecolaminas, triptofano, aminoácidos, ácido elaídico, Butan-1-ona, ácido oleico, ácido vinílico, ácido láurico, etc.

Da bananeira, tudo pode ser aproveitado. Seus frutos são ricos em carboidratos, antioxidantes, potássio e ferro. A casca é rica em vitaminas, pectinas, açúcares e fibras, e podem ser reaproveitadas para fabricação de ração animal, e para produção de álcool. As folhas apresentam altos níveis de lignocelulose, e podem ser utilizadas em embalagens para produtos alimentícios (ASIF; KAUR, 2017).

2.5.1 Compostos Fenólicos

A banana é uma das culturas frutíferas mais importantes do mundo, e serve como parte de uma dieta humana equilibrada sendo um alimento básico para milhões de pessoas em muitas regiões tropicais e subtropicais. Tem sido relatada como uma importante fonte de compostos fenólicos, sendo os flavonoides sua principal forma (SCHIEBER; STINTZING; CARLE, 2001).

Os fenólicos são compostos que possuem um ou mais anéis aromáticos com um ou mais grupos hidroxilo. São dos metabólitos secundários, os mais abundantes nas plantas, sendo mais de 8.000 estruturas identificadas, variando de moléculas simples, como os ácidos fenólicos, até substâncias altamente polimerizadas, como os taninos e estão envolvidos na defesa contra a radiação ultravioleta ou agressão por patógenos, parasitas e predadores, além de contribuir para as cores das plantas (DAI; MUMPER, 2010). Estão divididos em diferentes subclasses: flavonóides (antocianinas, flavonóis e seus derivados) e ácidos fenólicos (ácidos benzóico, cinâmico e seus derivados) e cumarinas (XIAO et al., 2014).

Segundo Treutter, (2001), os compostos fenólicos em plantas à muito tempo, vem sendo utilizados por nutricionistas como componentes benéficos dos alimentos funcionais, contribuindo para a manutenção da saúde humana e para a prevenção de doenças. São atrativos pela capacidade antioxidante fortificando o organismo contra doenças cardiovasculares, inflamações e transtornos relacionados ao envelhecimento (BATAGLION, 2015).

2.5.2 Usos nutricionais

Os subprodutos de banana, especialmente a flor (ou inflorescência), são normalmente descartados pelos produtores. Em muitos países asiáticos, o coração da bananeira é consumido como um vegetal, e no Brasil é utilizado na culinária típica de algumas regiões (SILVA; SARTORI; OLIVEIRA, 2014). O coração da bananeira é rico em carboidratos e proteínas, possui baixo teor de lipídeos e baixo valor calórico, é importante fonte de minerais e fibras (FLORENTA; LOHA; THOMAS, 2015). Como alimento alternativo, pode ser incluído tanto em saladas, quanto cozido, como ingredientes em pratos, preparados isoladamente como um refogado ou até mesmo como um suplemento alimentar em pó. A casca de banana também é um subproduto que pode ser processada a fim de obter uma farinha com alto nível de compostos fenólicos (REBELLO et al., 2014).

Saravanan e Aradhya (2011) propuseram um suco a partir de resíduos do pseudocaule da bananeira. O suco foi avaliado como bebida funcional por apresentar alta atividade antioxidante. A farinha de banana é fonte de fibras e proteínas, com muitos compostos bioativos, podendo ser incorporada em grandes variedades de produtos alimentícios, tornando estes alimentos funcionais (YADAV; YADAV; DHULL, 2012; ARUN et al., 2015).

Um salgadinho de banana, livre de gordura, foi desenvolvido com o objetivo de controlar a resposta glicêmica (PRACHAYAWARAKORN; RAIKHAM; SOPONRONNARIT, 2016). Agu e Okoli (2014) investigaram a fortificação da farinha de trigo com farinha de banana verde, a fim de produzir alimentos ricos em proteínas e ferro. Um biscoito foi formulado e analisado demonstrando que a farinha de banana verde aumentou os níveis de proteínas e fibras e diminuiu a quantidade de carboidratos, mantendo elevado conteúdo energético. Farinhas a base de banana, suplementadas com soja e fibra de mandioca foram produzidas e analisadas quanto à composição nutricional, índice glicêmico, potencial antidiabético e a digestibilidade proteica. O perfil nutricional da farinha foi comparável à cerolina (produto alimentar recomendado para pacientes diabéticos). Ratos alimentados com a farinha formulada apresentaram menor índice glicêmico e carga glicêmica, e a glicose no sangue foi significativamente reduzida em comparação com a cerolina e a metformina (FAMAKIN et al., 2016).

Os portadores da DC são impossibilitados de ingerir o glúten presente na farinha de trigo. A possibilidade de substituir a farinha de trigo pela farinha de banana verde como ingrediente em formulações de diversos produtos alimentícios pode ampliar e contribuir para uma dieta mais diversificada. Zandonadi et al. (2012) propuseram a criação de um macarrão utilizando farinha de banana, obtendo boa aceitação.

2.5.3 Estudos medicinais com a bananeira

A banana possui atividade cicatrizante de feridas (AGARWAL et al., 2009, CALIXTRO et al., 2014), de úlceras gástricas (GOEL;SAIRAM; RAO, 2001; KUMAR et al., 2006), atividade antimicrobiana (SIDDIQUE et al., 2017; TIN et al., 2015), antioxidante (SINGH et al., 2016; JIMÉNEZ-MARTÍNEZ et al., 2016; VU; SCARLETT; VUONG, 2017), antidiarreica (EMERY et al., 1997; RABBANI et al., 2001; RABBANI et al., 2010), analgésica (INGALE; ANAGHA; PRAMOD, 2009), hepatoprotetora (DIKSHI et al., 2011), antilipidêmica (EDENTA et al., 2014), hipoglicemiante (RAMU et al., 2016; WU, et al., 2015), anti-hipertensivo (OSIM; IBU, 1999; PERFUMI, MASSI, CARO, 2008), entre outros.

Em modelo animal para cicatrização de feridas, ratos foram tratados com extratos aquoso e metanólico de bananeira, por via oral, com doses variando de 50 a 200 mg/Kg/dia, por período de 10 a 21 dias. Os extratos favoreceram a cicatrização das feridas em relação ao grupo controle, devido possivelmente aos efeitos antioxidantes dos extratos (AGARWAL et al., 2009). Outro estudo avaliou o extrato metanólico da polpa de bananeira quanto à atividade protetora e curativa de mucosa gástrica em dois modelos: atividades antiulcerosa e antioxidante em modelo *in vivo* de estresse por restrição a frio e atividade anti-*H. pylori in vitro*. O extrato apresentou atividade antioxidante e reverteu o aumento da ulceração induzida a frio. Entretanto, foi observado ausência de atividade anti-*H. pylori* do extrato metanólico da polpa da bananeira. Assim, os autores concluíram que as propriedades antioxidantes do extrato protegem a mucosa gástrica (GOEL; SAIRAM; RAO, 2001). Já Mohan et al. (2006) compararam o efeito do extrato metanólico de banana verde com medicamentos conhecidos para o tratamento de úlceras gástricas, em ratos com diabetes mellitus. O extrato da banana verde apresentou efeito antidiabético e melhor cicatrização das úlceras em comparação com os medicamentos estudados.

A atividade antibacteriana do extrato aquoso de casca de banana foi verificada contra quatro espécies (*Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Escherichia coli*) (SIDDIQUE et al., 2017). Tin et al. (2015) também demonstraram que a inflorescência da banana é um bactericida natural contra as bactérias gram-positivas e bactérias gram-negativas.

A banana é rica em antioxidantes, inibindo a oxidação de lipídeos, proteínas e DNA, reduzindo níveis de radicais livres e morte celular. Para Jiménez-Martínez et al. (2016) a atividade antioxidante da banana é atribuída a fitoquímicos, como saponinas, terpenóides, dopamina, ácido ascórbico e principalmente polifenóis, como os flavonoides. Shodehinde; Oboh (2013) relatam ainda que as espécies *Musa spp* são ricas em flavonóides como quercetina, kaempferol, miricetina e rutina, que atuam como antioxidantes, antiinflamatório, antialérgico, antiviral, anticâncer e doenças cardiovasculares, além de proteger o fígado do estresse oxidativo. Concentrações mais elevadas de antioxidantes foram encontradas na inflorescência quando comparada com a casca da banana (RAMLAN et al., 2017).

A atividade antidiarreica, em doentes graves que recebiam nutrição enteral, foi avaliada por Emery et al., (1997). O estudo mostrou que os pacientes tratados com farinha de banana tiveram menos diarreia que o grupo tratado com fármacos conhecidos para tal fim. Em ensaio clínico, 62 crianças com quadro de diarreia persistente à mais de 14 dias, foram avaliadas, distribuídas em 3 grupos de tratamento: dieta com banana verde cozida e arroz, pectina à base

de arroz, ou somente o arroz. Após 7 dias de tratamento, os grupos tratados com a banana e pectina apresentaram redução do volume de fezes, levando a uma recuperação clínica significativa em relação ao grupo tratado apenas com arroz (RABBANI et al., 2001). Em outro estudo, 2968 crianças de Bangladesh, com diarreia aguda ou prolongada e de gravidade leve a moderada, foram divididas em grupo controle e grupo que recebeu banana verde cozida como parte da alimentação. Ficou evidente a melhora do grupo que recebeu a banana a partir do terceiro dia (RABBANI et al., 2010).

Os extratos aquosos e etanólico do pseudocaule de bananeira (100 e 200 mg/Kg, respectivamente) demonstraram atividade analgésica significativa em experimento com ratos, utilizando placa quente e imersão da cauda. Os extratos aumentaram significativamente o tempo de reação e o efeito máximo foi observado aos 30 minutos de experimento (INGALE; ANAGHA; PRAMOD, 2009).

Após induzir toxicidade hepática em ratos com CCl_4 , o extrato aquoso do pseudocaule de bananeira foi comparado ao medicamento silimarina. Tanto o extrato quanto a silimarina demonstraram redução de forma semelhante ao dano causado pelo CCl_4 . A alta atividade antioxidante do extrato pode ser a responsável pela atividade hepatoprotetora (DIKSHI et al., 2011).

Edenta et al. (2014) avaliaram o efeito de extratos aquosos da casca de três cultivares de banana sobre o perfil lipídico de ratos normolipidêmicos e hiperlipidêmicos. 100 mg/Kg do extrato foram administrados e comparados com a atorvastatina, por 21 dias. Os resultados mostraram que o cultivar *Oranta* poderia ser utilizado no tratamento de hiperlipidemia, pois reduziu os níveis de colesterol total e de triglicerídeos quando comparado aos outros cultivares. Esta diminuição foi semelhante àquela encontrada para o medicamento padrão.

Além disso, camundongos diabéticos com doença induzida por aloxano tiveram redução dos níveis de glicose no sangue após 14 dias de tratamento com extrato de casca de banana. Tal resultado foi atribuído aos compostos β -sitosterol e lupenona, substâncias encontradas nas diversas partes da planta e com potencial para o desenvolvimento de medicamento anti-hiperglicêmico (WU et al., 2015). Esses achados corroboram os resultados de Ramu et al. (2016), que identificaram dois compostos ativos no extrato da flor da bananeira - o lupeol e a umbelliferona e trataram ratos com diabetes induzido por aloxano com o extrato etanólico e aos compostos ativos isolados. Os resultados demonstraram que o uso do extrato e seus derivados obtiveram melhores resultados quando comparados ao grupo tratado com a metformina, medicamento hipoglicêmico de referência. Os níveis séricos das enzimas hepáticas foram reduzidos, e houve reversão do perfil lipídico sérico, melhorias nos níveis de insulina e proteção

das células pancreáticas. Iroaganachi; Eleazu e Okafor (2015) também avaliaram o perfil renal de ratos diabéticos tratados com banana verde, e confirmaram o efeito anti-hiperglicêmicos e benéfico contra a nefrotoxicidade.

Para Osim e Ibu (1999), ratos tratados com dieta de banana tiveram diminuição de pressão arterial mesmo após a administração de acetato de desoxicorticosterona, que induz aumento da pressão arterial média. Após experimento com ingestão de sal, a fim de causar efeito hipertensivo em ratos, Perfumi, Massi e Caro (2008) sugerem que o alto conteúdo de triptofano e carboidrato da banana causa aumento dos níveis de serotonina, produzindo maior excreção de sódio, o que leva ao efeito anti-hipertensivo da banana.

2.5.4 Estudo de toxicidade da banana

Uma substância é considerada segura se não produzir qualquer efeito adverso na dose de 10 vezes do uso em dose terapêutico (AGARWAL et al., 2009). O perfil de segurança e de toxicidade aguda e sub-crônica de *Musa* spp foi estudado em ratos e camundongos por Edenta; Okoduwa; Okpe (2017), Hossain et al. (2011), Bhattachary et al. (2013), Krishnan, Subramanian e Subramanian (2014), Calixtro et al. (2014), Ramu et al. (2016), Parra et al (2001), Nirmala et al. (2012), Jacobus, Mello e Mello (2006).

Ugbogu, et al. (2018), estudaram a toxicidade aguda em ratos, administrando dose única de 500, 1000, 2000 e 5000 mg/Kg. No teste subagudo, doses de 200, 400 e 800 mg/Kg foram administradas por 14 dias. Os resultados mostraram que não houve sinais de toxicidade ou óbito em nenhum dos experimentos. Os estudos histopatológicos do fígado e rim apresentaram condições semelhantes ao grupo controle; no entanto, no estudo subagudo em doses de 800 mg/Kg, o extrato revelou diminuição das enzimas hepáticas (ALT, AST e ALP) quando comparado com seus respectivos controles, sugerindo que o extrato aquoso de *M. paradisiaca* poderia ter efeitos hepato-protetores, podendo ser considerada segura para fins terapêuticos.

Emordi e seus colaboradores (2014) avaliaram um fitoterápico a base de mel e extrato seco de *M. paradisiaca*, utilizado pela população da Nigéria. Estudos de toxicidade aguda e sub-crônica em roedores foram realizados, utilizando doses de 1 a 20g/kg para toxicidade aguda, e 100 a 750 mg/Kg para toxicidade sub-crônica, por 30 dias. Em conclusão, os resultados corroboraram com Ugbogu, et al. (2018), esses os autores relatam ainda que uma DL50 > 5000 mg / kg é segura e pode ser considerada não tóxica..

Calixtro et al. (2014) testaram a toxicidade aguda e dérmica aguda de extratos brutos com o coração de banana. Para toxicidade aguda, camundongos receberam doses diárias de

2000 mg/Kg e foram observados por 14 dias. Para toxicidade dérmica aguda, as costas de camundongos foram raspadas e aplicado o extrato por 14 dias. Nenhuma morte ou sinais de intoxicação na pele foram reportados. Em estudo realizado por Bhattachary et al. (2013), não foi reportada mortalidade durante o período de 28 dias. Ao final, parâmetros bioquímicos do fígado foram avaliados, e nenhuma alteração significativa foi encontrada. Ramu et al. (2016) utilizaram o extrato da flor e pseudocaule em cultura de células de linhagem celular 3T3-L1 (obtida de tecidos adiposos). Usando o ensaio de MTT, os autores comprovaram que os extratos não diminuíram a viabilidade celular.

Diante do exposto, a importância do tema a ser pesquisado justifica-se pelo aumento de casos de pessoas diagnosticadas portadoras de sensibilidade ao glúten, tendo atualmente como única forma de tratamento sua total exclusão da alimentação. Assim, a busca por um medicamento seguro, capaz de neutralizar os efeitos deletérios do glúten se faz necessário, e as empresas farmacêuticas buscam os primeiros medicamentos para a DC. A tintura-mãe a base de inflorescência de banana estudada baseia-se em relatos pessoais de portadores de sensibilidade ao glúten, que dizem obter resultados satisfatórios.

Na literatura científica não existem estudos que relacionem a bananeira com a desnaturação do glúten. Desta forma, novos direcionamentos nas pesquisas científicas com a inflorescência se fazem necessários, especialmente pelo fato de ser uma matéria prima que é descartada nos bananais, diariamente em todo mundo, e ter demonstrado resultados positivos sobre os sintomas da doença, com baixo custo e eficácia além de contribuir com o reaproveitamento de material descartável diariamente em todos os bananais.

3 OBJETIVOS

3.1 Geral

Avaliar o potencial da tintura produzida com a inflorescência da bananeira na desnaturação das proteínas formadoras do glúten.

3.2 Específicos

- Avaliar os grupamentos funcionais das proteínas do glúten da farinha de trigo branca;
- Avaliar os grupamentos funcionais das proteínas do glúten da farinha de trigo branca e de produtos contendo glúten em sua composição após contato com a tintura;
- Avaliar a concentração de gliadina em produtos alimentícios contendo glúten, com adição de tintura;
- Avaliar a atividade antioxidante da tintura, bem como a presença de compostos fenólicos;
- Avaliar as propriedades mecânicas do glúten e do glúten + tintura.

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 Material

Os materiais utilizados neste estudo foram:

- Acetonitrila
- Ácido acético.
- Ácido fosfórico
- Cloreto de sódio;
- Etanol obtido de cereais com graduação de 90%;
- Etanol absoluto;
- Farinha de trigo;
- Inflorescência da bananeira;
- Iodo;
- Kit ELISA;
- Pão integral;
- Pão branco;
- Papel filtro;
- Solução etanólica de DPPH.

4.2 Preparação da tintura

Em análise prévia, foi determinado o teor do resíduo sólido da inflorescência do cacho de banana pesando uma amostra de 1000 g, mantendo-a em estufa à temperatura entre 100 °C e 105 °C, até massa constante. Segundo orientação da Farmacopeia Brasileira (2011), para amostras com resíduo sólido de até 29%, utiliza-se etanol a 90%. E se o resíduo sólido for inferior a 20%, deve-se considerá-lo igual a 20%. Assim, o resíduo sólido de 4% encontrado para inflorescência da bananeira foi considerado, para os cálculos de volume de etanol, como 20%. O volume de tintura-mãe deve ser de 10 vezes o resíduo sólido, ou seja, 2.000 mL. O volume de etanol 90% a ser adicionado deve ser de 1.200 mL, para 800g do material vegetal.

Para a produção da tintura, foi utilizado a inflorescência do cacho de banana, conforme reportado na Figura 2.

Figura 2 - Inflorescência da bananeira



Fonte: Elaboração própria.

Para a obtenção da tintura, uma inflorescência da bananeira foi coletada na zona rural do município de Itu-SP. A espécie escolhida pertencente ao subgrupo Cavendish (banana nanica), por ser facilmente encontrada na região. Em laboratório, a inflorescência do cacho de banana foi limpa, as partes externas foram retiradas, até que ficasse totalmente fechada. A inflorescência do cacho de banana foi lavada em água corrente e seca em papel toalha. Após a limpeza, a inflorescência foi ralada, utilizando um ralador comum. Uma amostra com 100 g do material foi pesada e colocada em um frasco âmbar de boca larga; correspondentemente, foi adicionado um volume de 120 mL de etanol de cerca de 90°. O frasco foi tampado e a mistura foi mantida em repouso durante 14 dias. Após esse período, a tintura foi filtrada em papel filtro, com porosidade qualitativa. O resíduo restante no frasco foi comprimido manualmente, filtrado e adicionado à solução anteriormente obtida. Esta tintura foi armazenada em frasco de vidro âmbar, em ambiente protegido da ação direta de luz e calor, para uso posterior.

4.3 Atividade antioxidante da tintura

O método do radical livre DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazil) foi utilizado para verificar a capacidade antioxidante, pela atividade sequestradora do radical livre 2,2-difenil-1-

picrilhidrazil pela amostra estudada. A solução de DPPH possui coloração púrpura, e em contato com um antioxidante é reduzido, formando difenil-picril-hidrazina, de coloração amarela, com conseqüente decaimento da absorção. Assim, a absorbância pode ser monitorada pelo seu decréscimo. A partir dos resultados obtidos, determina-se a porcentagem de atividade antioxidante ou sequestradora de radicais livres remanescente no meio reacional (OLIVEIRA 2015).

Para avaliar a capacidade antioxidante, foi utilizado 1,5 mL da solução etanólica de DPPH 0,1mM e 0,5 mL de tintura. Para o branco, foi utilizado 2 mL de etanol 70%, e para o controle 1,5 mL de solução de DPPH 0,1 mM e 0,5 mL de álcool etílico 70%. A reação foi realizada por espectrofotometria a 515 nm e monitorada aos 0, 15, 30, 45 e 60 min. Analisou-se uma amostra logo após a filtração e aos 30 dias de armazenamento.

A capacidade da amostra em sequestrar o radical (DPPH), expressa como percentual de inibição, é calculada de acordo com a seguinte equação matemática:

$$\text{Inibição (\%)} = \frac{\text{Abs1} - \text{Abs2}}{\text{Abs1}} \times 100$$

Em que: Abs1 = absorbância do controle

Abs2 = absorbância da amostra a ser testada

4.4 Avaliação dos compostos fenólicos por HPLC

A Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (do inglês *High Performance Liquid Chromatography* - HPLC) utiliza pequenas colunas, preenchidas com materiais especialmente preparados e uma fase móvel que é eluída sob altas pressões, sendo capaz de realizar separações e análises quantitativas de uma grande quantidade de compostos presentes em vários tipos de amostras, em escala de tempo de poucos minutos, com alta resolução, eficiência e sensibilidade (VALENTE et al., 1983).

Para a análise da tintura-mãe foi utilizado um sistema LC-10 (Shimadzu- Kyoto-Japan), consistindo de uma unidade de degaseificação DGU-20A_{5r}, com detector SPD-M 10A Diodo Array e detector espectrofotométrico SPD-10A-UV / VIS, com válvula de injeção Rheodine VS 7125 com loop de 100 µL. A coluna analítica empregada foi Zorbax ODS (c18; 250 mm x 4,6 mm i.d. 5 de tamanho de partícula). A fase móvel foi composta por acetonitrila-água 15:85

(v / v). Todas as separações foram realizadas em modo de eluição isocrática a uma taxa de fluxo de $1,0 \text{ mL}^{-1}$ e a condição da coluna foi mantida a 25°C .

4.5 Separação do glúten da farinha de trigo

Para a separação do glúten, foi adotado o protocolo do Instituto Adolfo Lutz, com modificações nas quantidades de água e farinha de trigo. A separação é baseada na insolubilidade do glúten em água e na propriedade que o mesmo possui de se aglomerar, formando uma massa elástica quando manuseado sob água potável corrente. Nestas condições, os componentes da farinha solúveis em água são removidos do meio. O glúten obtido era composto de globulina, glutenina e gliadina (INSTITUTO ADOLFO LUTZ. NORMAS ANALÍTICAS, 2008).

Para o teste de separação do glúten, foram pesados 10 g de farinha de trigo em um béquer de 100 mL, e adicionados 5 mL de solução aquosa de cloreto de sódio (NaCl) a 5%, formando uma massa aglomerada e compacta, que ficou em repouso por 30 minutos. Após esse período, a massa formada foi submersa na solução de NaCl no béquer, e mantida em repouso por mais 30 min. A massa foi lavada com água corrente sobre um tamis de malha 100, apertando e amassando levemente com as mãos, afim de eliminar o amido da amostra, permanecendo somente o glúten.

4.5.1 Desnaturação do glúten com ensaios de adição de tintura

Para a avaliação da desnaturação do glúten pela tintura, 10 g da farinha de trigo foram pesados em um béquer, e adicionados 4 mL de solução NaCl 5% e 1 mL da tintura etanólica. Após, procedeu-se com os mesmos passos reportados acima. Como um controle negativo, foi feito um experimento somente com o etanol de cereal, para garantir que a desnaturação do glúten, caso ocorresse, fosse pelos constituintes da inflorescência da bananeira e não pelo etanol. Assim, 10 g de farinha de trigo foram pesados, e acrescido 4 mL de NaCl 5% e 1 mL de etanol de cereais. Foi seguido o mesmo protocolo de repouso e lavagem.

Todas as amostras foram feitas em triplicata. A massa final, obtida após as lavagens, foi colocada em recipiente adequado e levada para estufa com circulação de ar, a 105°C , até massa constante.

4.5.2 Propriedades mecânicas do glúten e glúten + tintura

A análise do perfil de textura permite avaliar as propriedades físicas prevendo o comportamento de uma amostra, com a finalidade de reunir informações sobre a estrutura física, medindo a dureza (força necessária para atingir uma determinada deformação); adesividade (trabalho necessário para vencer as forças de atração entre a superfície da amostra e a superfície da sonda), compressibilidade (o trabalho necessário para deformar o produto durante a primeira compressão da sonda), coesividade (efeito da tensão de cisalhamento sobre as propriedades estruturais da formulação) (ALVES, 2016).

As propriedades do glúten e glúten + tintura-mãe foram analisadas para verificar mudanças visuais observadas na preparação dessas amostras. As análises foram determinadas usando uma sonda controlada por software, TAXTPlus Analisador de Textura (Stable Micro Systems, UK). Antes das análises, o texturômetro foi calibrado com uma célula de carga com massa de 2 kg. Uma amostra de cada formulação foi transferida para um béquer de vidro, uma sonda analítica com 10 mm de diâmetro foi comprimida sobre a superfície das amostras, com uma força de 0,049 N. O procedimento para cada amostra foi repetido por duas vezes com intervalo de 10 min entre uma compressão e outra.

4.6 Espectroscopia de Infravermelho com Transformada de Fourier

A Espectroscopia de Infravermelho estuda a vibração dos átomos de uma molécula, quando esta recebe uma radiação. Assim, a energia absorvida é determinada, gerando um pico no espectro de absorção correspondente à frequência de vibração de parte da molécula da amostra que, ao possuir características específicas com variações no momento dipolar, causam vibrações diferentes. A espectroscopia FTIR, Fourier Transform InfraRed (Transformada de Fourier Infravermelho) possui elevada sensibilidade e resolução, rapidez no registro, das análises de sólido, líquido ou gás (FAN; DAI; HUANG, 2012).

Os espectros de FTIR das amostras foram obtidos através do espectrofotômetro IRAffinity 1S (Shimadzu Corp. Japão), que se encontra no Laboratório de Biomateriais e Nanotecnologia da Uniso (LabNUs). A caracterização dos grupamentos químicos específicos pela técnica de reflectância atenuada (ATR) no modo transmitância foram obtidos na faixa de números de onda de 4.000 a 400 cm^{-1} , com resolução de 4 cm^{-1} e 128 scans. Os espectros foram normalizados e as bandas de vibração foram associadas aos principais grupamentos químicos. A espectroscopia de FTIR foi realizada com as amostras secas de glúten puro, glúten + tintura

etanólica, glúten + etanol de cereal, amostras de pão fabricado com farinha de trigo integral, e amostra com pão francês comercializado nas padarias locais. Leituras da tintura etanólica da inflorescência do cacho de banana também foram realizadas. Após a secagem, as amostras do glúten puro e as amostras de glúten contendo tintura etanólica e etanol de cereal, foram trituradas usando almofariz de porcelana com pistilo, e analisadas por FTIR pela técnica de reflectância atenuada (ATR). O gráfico de glúten puro foi comparado com os dados obtidos nas leituras das demais amostras de glúten, com tintura e com o etanol de cereal.

Para avaliação do pão integral, o pão foi umedecido em uma solução contendo água destilada e tintura da inflorescência do cacho de banana, nas concentrações de 25% e 50%. Uma amostra de pão foi molhada apenas com água destilada, como controle. As amostras tratadas foram trituradas em almofariz de porcelana com pistilo até que a massa ficasse homogênea. Dessas amostras, retirou-se uma parte, a qual foi usada em temperatura ambiente ($\pm 21^{\circ}\text{C}$) e outra parte foi colocada em estufa a 37°C (semelhante à temperatura corpórea). Após as leituras foram feitas por FTIR nos tempos 0, 30, 60, 90 e 120 minutos.

Já para o pão francês, uma amostra foi preparada sem tratamento (apenas embebida em água destilada), e outra amostra foi embebida em tintura, e ambas colocadas em estufa por 90 minutos em temperatura de 37°C . Logo após as análises foram feitas com FTIR.

4.7 Método Elisa para detecção da gliadina do glúten

O kit comercial ELISA-R5 (Ridascreen Gliadin, R. Biopharm, Darmstad, Germany) utiliza o anticorpo monoclonal R5 para reconhecimento de sequência de 5 aminoácidos tóxicos que ocorrem nas frações de α -, β -, γ -, ω -gliadinas, hordeninas e secalinas. Possui limite de detecção de 1,56 ng de gliadina/mL em alimentos, possuindo maior sensibilidade que 20 ppm de glúten exigida pela Comissão Alimentar CODEX, sendo, portanto, adequado ao trabalho aqui exposto.

As extrações das frações proteicas do glúten foram realizadas seguindo rigorosamente as recomendações do fabricante do kit de ELISA. A extração foi realizada com solução *cocktail* constante no kit, a base de 2 mercaptoetanol, cuja composição não é descrita pelo fabricante. Esta solução permite extrair quantitativamente as porções insolúveis das subfrações de α -, β -, γ -, ω -gliadinas, formadas após o tratamento térmico de alimentos.

Para a análise em ELISA, foi utilizado pão comum, tipo francês, obtido em padaria local. Oito amostras de aproximadamente 0,025g de pão foram pesadas e colocada em tubo Falcon, conforme abaixo:

- Duas amostras de pão foram adicionadas a 1 mL de tintura da inflorescência de banana;
- Duas amostras de pão foram adicionadas a 1 mL de tintura, acrescida de 0,025g de leite em pó desnatado (a utilização do leite em pó é recomendação do kit, caso a amostra contenha taninos e polifenóis);
- Duas amostras de pão foram adicionadas a 1mL de etanol de cereal;
- Duas amostras de pão foram adicionadas a 1 mL de etanol de cereal, acrescida de 0,025 g de leite em pó.

De cada duas amostras, uma foi colocada em banho-maria por 90 minutos em temperatura de 37 °C (simulando a temperatura corpórea), e as outras amostras permaneceram em temperatura de ± 21 °C, pelo mesmo tempo. Após esse período, foi adicionado 2,5 mL do coquetel em cada amostra e colocadas em banho-maria por 40 min em temperatura de 50 °C. As amostras foram retiradas do banho-maria e mantidas em temperatura ambiente. Foi adicionado 7,5 mL de etanol 80% e agitado em shaker por uma hora em temperatura de 25 °C. Após os tubos foram centrifugados por 10 min à 2500G. O sobrenadante foi retirado, armazenado em eppendorf, protegido da luz até posteriores análises.

Para as análises, as recomendações do protocolo do kit comercial foram seguidas. No entanto, foi necessário diluir a amostra até chegar à concentração de 1/120.000, por estarmos trabalhando com alta concentração de glúten. Com as amostras diluídas, pipetou-se 100 μ L desta amostra por poço da placa e incubado por 30 min em temperatura ambiente. O líquido foi retirado dos poços e procedeu-se a lavagem da placa com 250 μ L de tampão de lavagem, diluído três vezes. Imediatamente, foi adicionado em cada poço 100 μ L do conjugado e incubado por 30 min em temperatura ambiente. Novamente, os poços foram lavados por três vezes; em seguida, foi adicionado 50 μ L de substrato e 50 μ L de cromógeno em cada poço, misturando gentilmente e incubando por 30 min em temperatura ambiente e no escuro. Em seguida, 100 μ L de reagente bloqueador foi adicionado em cada poço, a fim de parar a reação. A leitura da absorbância foi realizada com leitora de microplacas Tecan, Modelo Infinite M200Pro, à 450 nm.

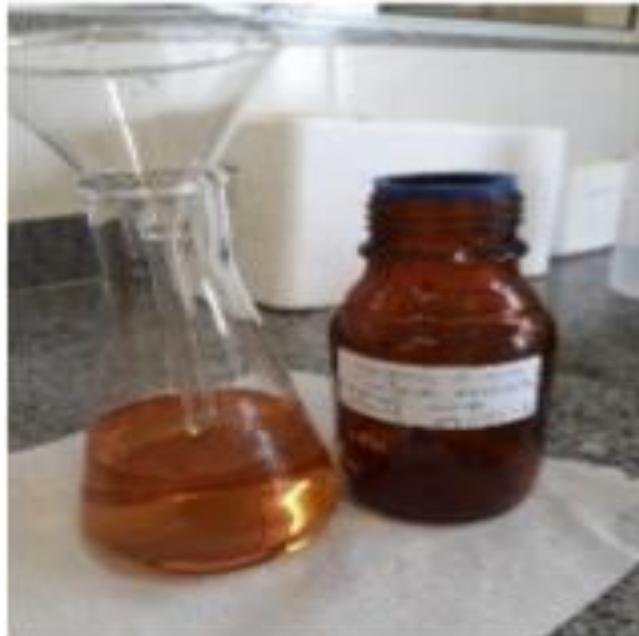
Após a leitura, os cálculos com as absorbâncias foram realizados por meio do uso de uma função de spline cúbica, com software RIDASOF, gentilmente realizada pelo representante do kit.

5. RESULTADOS

A porcentagem de resíduo sólido após a secagem da inflorescência de bananeira foi de 4%, ou seja, a inflorescência apresentou um teor de umidade de 96%.

Após a filtração, a tintura da inflorescência de bananeira apresentou coloração amarelo citrino, conforme Figura 3.

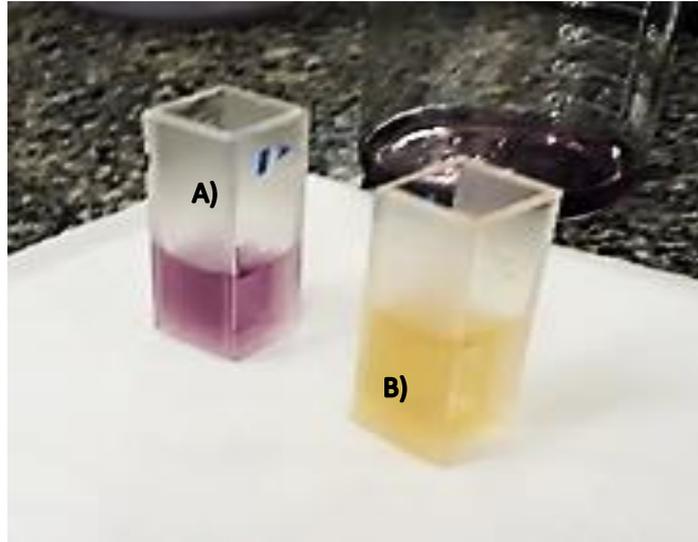
Figura 3- Tintura da inflorescência de bananeira filtrada



Fonte: Elaboração própria

Com relação à atividade antioxidante da tintura da inflorescência da bananeira, a Figura 4 demonstra, qualitativamente, a capacidade dos compostos antioxidantes da tintura em sequestrar o radical DPPH. Uma vez que o DPPH possui inicialmente coloração púrpura (Figura 4A), em contato com um antioxidante ele é reduzido, formando um composto de coloração amarela (Figura 4B).

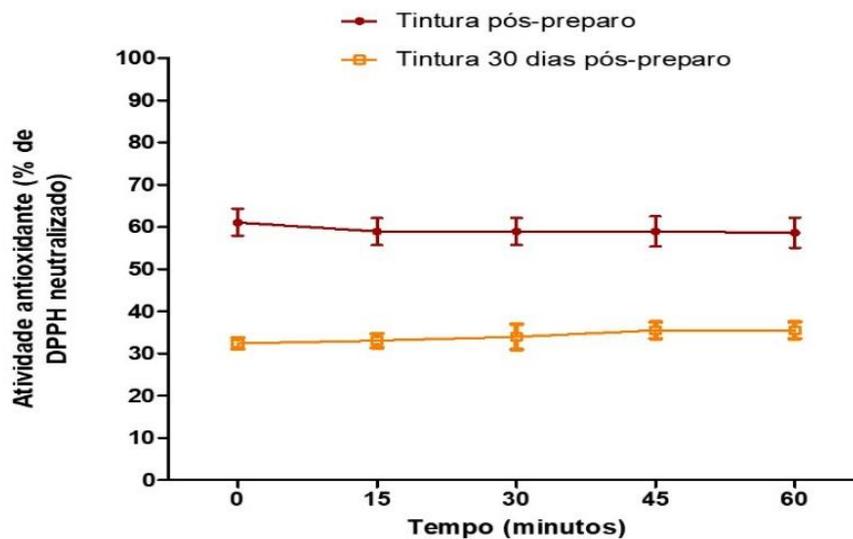
Figura 4- Ação antioxidante da tintura, pelo método de DPPH. Em (A), solução de DPPH; (B) Tintura em solução DPPH.



Fonte: Elaboração própria.

A figura 5 mostra a análise quantitativa com DPPH revelando que a atividade antioxidante média da tintura-mãe pós-preparo foi de 59%. Essa atividade manteve-se constante ao longo dos 60 min de análise. Aos 30 dias pós-preparo, a tintura apresentou média antioxidante de 34%. Tal resultado mostra que a capacidade antioxidante diminuiu estatisticamente com o tempo de armazenamento, porém não perde totalmente tal capacidade.

Figura 5-Atividade antioxidante da tintura, pelo método de DPPH.



Fonte: Elaboração própria.

A cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC) foi realizada na tentativa de elucidar os compostos antioxidantes presentes na tintura-mãe da inflorescência da bananeira.

Por não termos os padrões puros, o tempo de retenção da amostra da tintura foi comparado ao tempo de retenção de dados da literatura. Padrões de triptofano, ácido índole-3-propionico, epigallocatequina, quercetina, epicatequina, kaempferol e ácido cafeico, foram descritos por diversos autores (LI et al. (2017); PRAMOTE, WARANUCH, KRITSUNANKUL,(2018); UNPROMMA, INGKANINAN, WARANUCH, (2016); MANTHEY; JAITRONG, (2016); SEAL, (2018); YAN et al., 2012. Os tempos de retenção encontrados na amostra de tintura de inflorescência de bananeira (Tabela 1) indicam que essas substâncias podem estar presentes na amostra estudada.

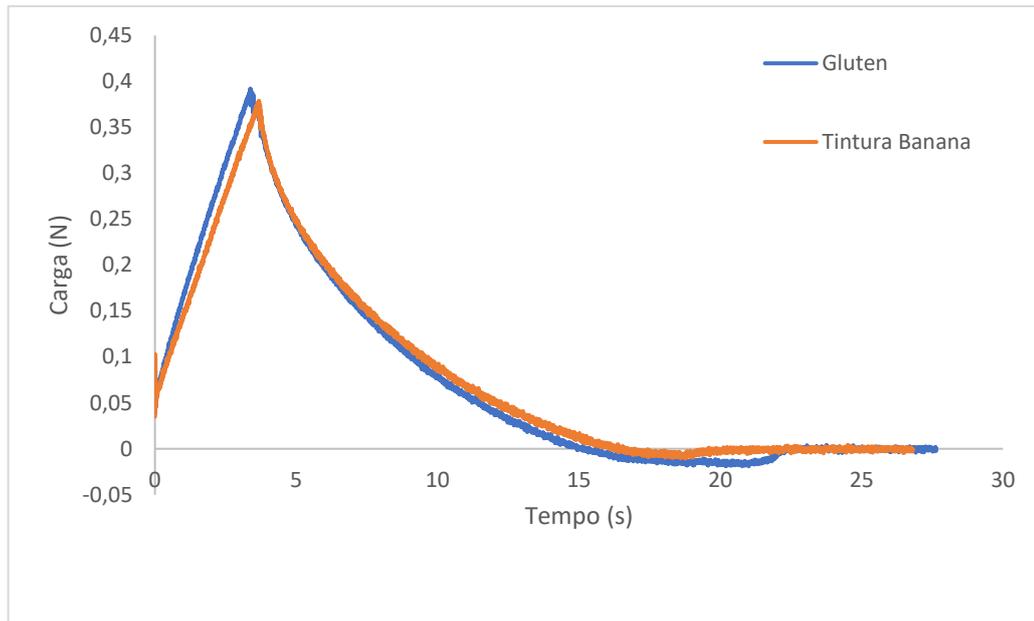
Tabela 1 - Tempo de retenção (TR) dos picos encontrados, por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência, na amostra da tintura-mãe de inflorescência de bananeira

TR Da tintura	TR na literatura	Possível substância encontrada	Referência
4,438	4,43 4,65 ± 0.07	Triptofano	LI et al. (2017) PRAMOTE, WARANUCH, KRITSUNANKUL, (2018)
5,836	5,836	Índole-3-Propionico ácido	LI et al. (2017)
9,209	9,20	Epigallocatequina	UNPROMMA, INGKANINAN, WARANUCH, 2016
10,738	10,8	Quercetina	MANTHEY; JAITRONG, (2016)
11,270	11.19 ± 0.14 11,28	Epicatequina	PRAMOTE, WARANUCH, KRITSUNANKUL, (2018) SEAL, (2018)
12,380	12,3	kaempferol	MANTHEY; JAITRONG, (2016)
13,82	13,96	Ácido cafeico	SEAL, (2018)

Fonte: Elaboração própria.

A figura 6, mostra as propriedades mecânicas do glúten e do glúten + tintura quanto à compressibilidade, adesividade, dureza e coesividade. A amostra contendo tintura apresentou diferença em relação ao glúten puro, a tabela 2, mostra os resultados da análise com o texturometro.

Figura 6 - Propriedades mecânicas do glúten puro e glúten + tintura



Fonte: Elaboração própria.

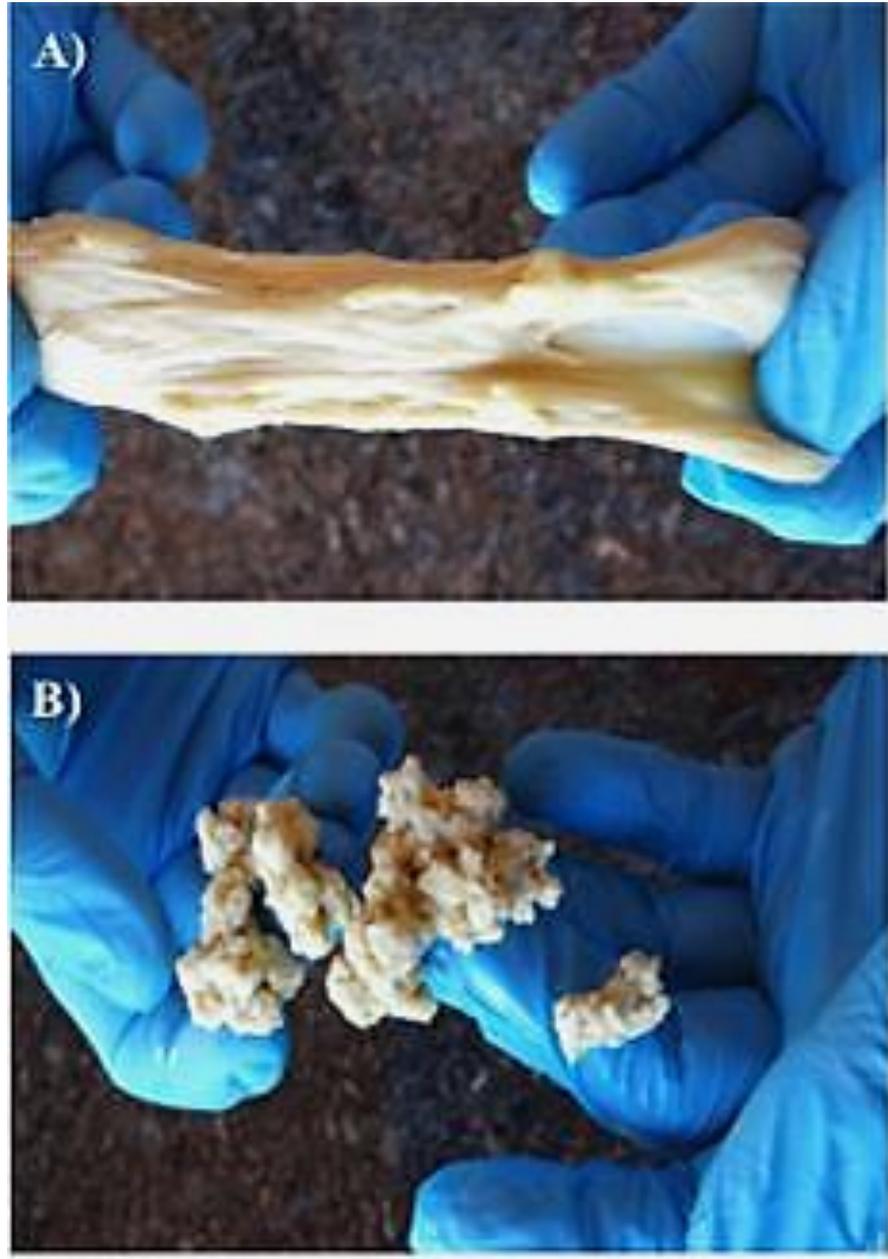
Tabela 2- Resultado de análise com texturometro

	Glúten	Tintura Banana
Dureza (N)	0,405013957	0,382
Compressibilidade (N.s)	2,196862888	2,214
Coesividade (N)	0,03	0,014
Adesividade (N.s)	0,071194393	0,002

Fonte: Elaboração própria.

A obtenção do glúten a partir da farinha de trigo apresentou diferenças visuais quanto à elasticidade característica, nas preparações usando tintura da inflorescência do cacho de banana, conforme Figura 7. Na figura 7A, observa-se a amostra do glúten elástico; já na figura 7B, a amostras estão fragmentadas e quebradiças.

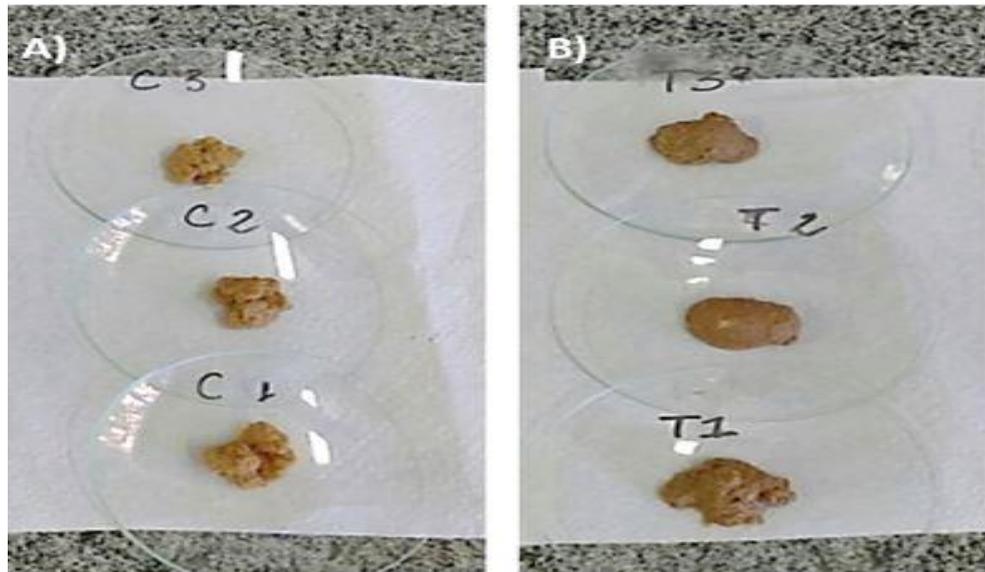
Figura 7- Obtenção do glúten (A), do glúten + tintura etanólica (B)



Fonte: Elaboração própria.

Após a secagem, as amostras de glúten apresentaram estrutura maciça e dura, figura 8 (A), enquanto as amostras contendo tintura apresentavam-se aeradas e não possuíam a dureza do glúten puro, figura 8(B).

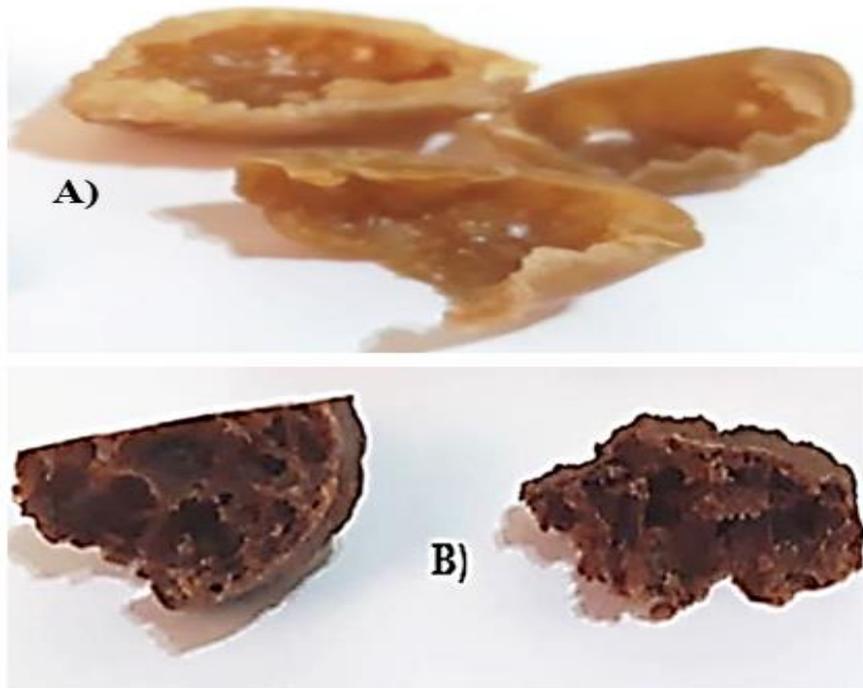
Figura 8- Amostras depois de secas. Em (A), glúten; em (B), glúten + tintura.



Fonte: Elaboração própria.

A figura 9, mostra o aspecto interno das amostras. Houve mudança na coloração das amostras que continham tintura, o qual se presume que sejam causadas pelos polifenóis presentes na tintura.

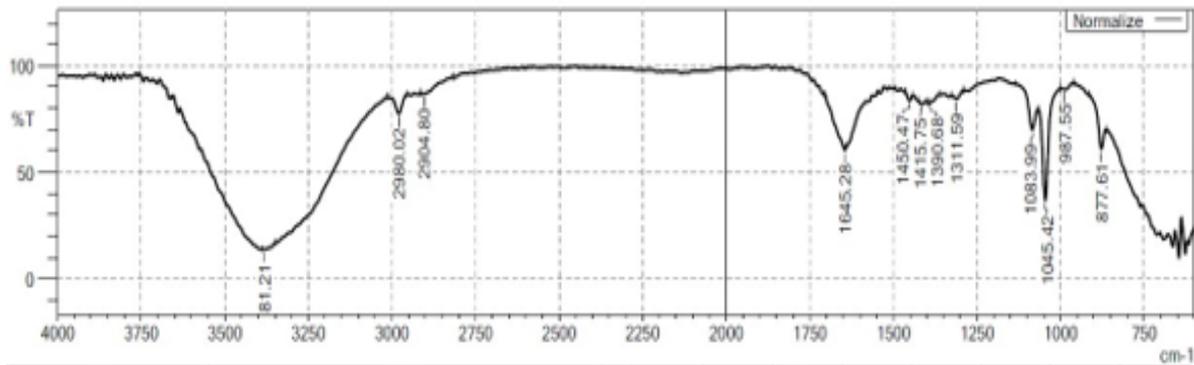
Figura 9- Aspecto interno das amostras após secagem. Em (A), amostra de glúten, em (B), glúten + tintura.



Fonte: Elaboração própria.

A espectroscopia de infravermelho foi utilizada para identificar os grupos funcionais presentes na tintura etanólica da inflorescência do cacho de banana, com base nos valores dos picos, na região da radiação infravermelha. A Figura 10 mostra o espectro de FTIR da tintura.

Figura 10- Espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier (FTIR) da tintura da inflorescência da banana.

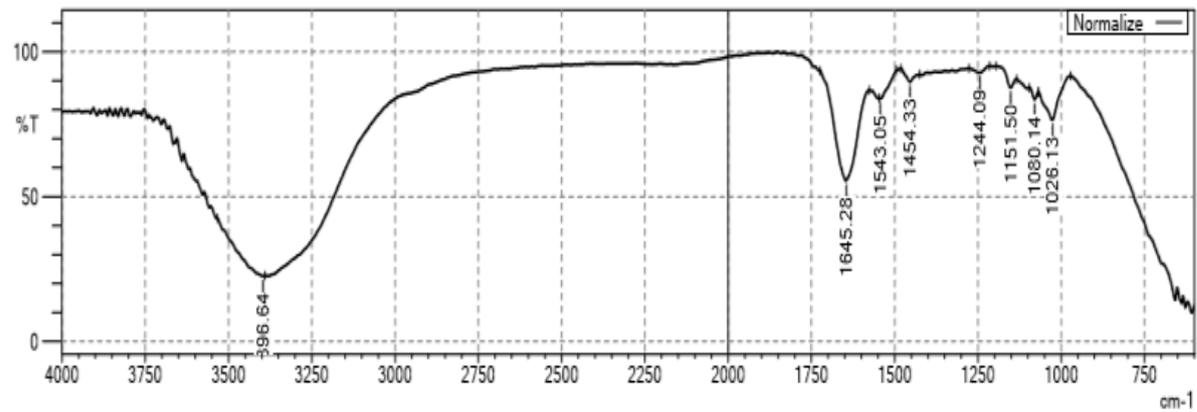


Fonte: Elaboração própria

A atribuição de bandas aos grupos funcionais é correspondente aos resultados mostrados por Suantak et al. (2011), Sitthiya et al. (2017), El-din et al. (2017) para os picos 3.381 cm^{-1} , atribuída como as vibrações de NH e OH de grupos hidroxilas, 2.980 cm^{-1} estiramento C-H, que representa a natureza alifática da tintura, 2.980 e 2.904 cm^{-1} são devido às vibrações de estiramento do CH dos grupos CH, CH₂ e CH₃. As bandas de absorção em torno de 1645 a 1415 cm^{-1} são características de C = C em anéis aromáticos; já a banda carboxílica C-O está visível em 1390 cm^{-1} .

A Figura 11 apresenta os estiramentos dos grupos funcionais encontrados no pão integral, considerado como uma amostra controle para o glúten. Os espectros de absorção de FTIR para o pão apresentaram bandas de absorção em 3396 , 1645 , 1543 , 1454 , 1244 , 1151 , 1080 e 1026 cm^{-1} . Bandas de proteínas típicas podem ser encontradas em 1645 , 1543 , 1454 e 1244 cm^{-1} que são derivadas de ligações da Amida I C = O e C – N, Amida II N – H, alongamento de N e Alongamento de C – C, e Amida III com faixa complexa resultante de vários deslocamentos de coordenadas, que corresponde com resultados encontrados por Sivam et al. (2012), Kaddour, Mondet e Cuq (2008), Bock e Damodaran (2013) e Georget, Belton (2006).

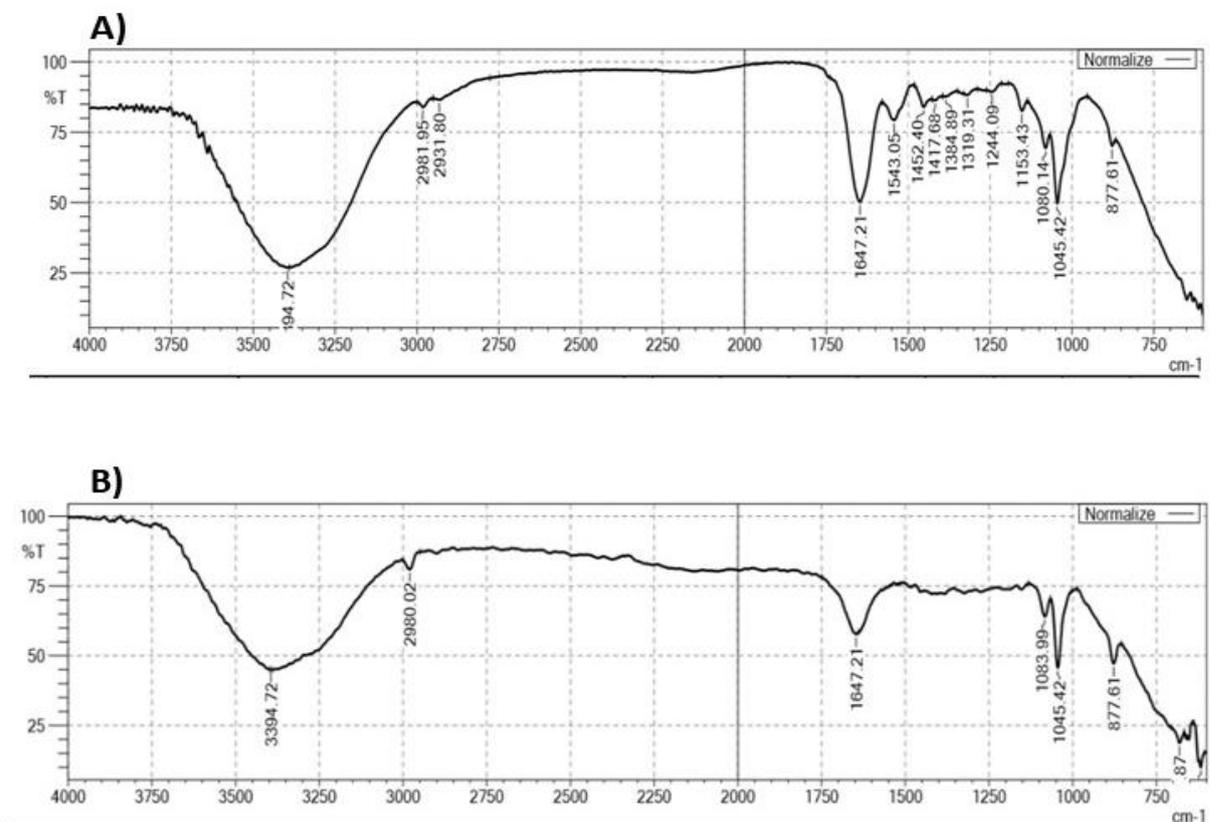
Figura 11- Espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier (FTIR) de amostra de pão integral.



Fonte: Elaboração própria

A Figura 12 apresenta os estiramentos dos grupos funcionais encontrados no pão integral embebido em tintura 50%, a 37 °C, em tempo 0 (Figura 12A), e no pão com tintura 50%, a 37 °C após 90 minutos (Figura 12B).

Figura 12- Espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier (FTIR) de amostra de pão integral com tintura 50%, a 37 °C, em tempo 0 (A) e após 90 minutos (B).



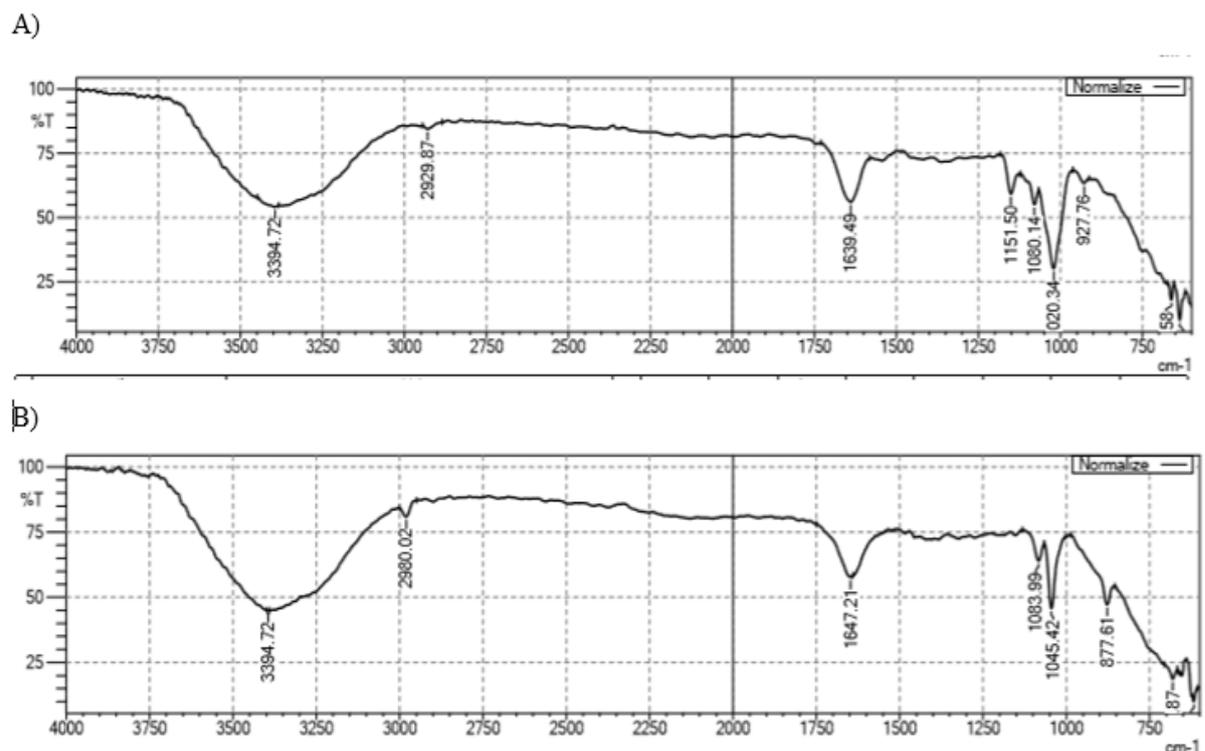
Fonte: Elaboração própria

Para o pão integral umedecido em tintura a 50% e colocado em estufa por 90 minutos, as análises revelaram o desaparecimento de bandas características do glúten da amostra do pão integral e de diversas bandas da tintura da mesma amostra em seu tempo 0. Os resultados mostraram a ação da tintura sobre a estrutura química dos componentes do pão. As bandas correspondentes à amida II e à amida III e grupamentos lipídicos, desapareceram do espectro de FTIR. O estiramento em 1153 cm^{-1} está relacionado com lipídios, segundo Pinheiro et al. (2014), e seu desaparecimento pode ser resultado da dissolução destes na solução etanólica. No entanto o desaparecimento dos estiramentos em 1543 , 1452 e 1244 cm^{-1} sugere quebra de ligação das amidas.

As bandas 2931 , 1417 , 1384 e 1319 cm^{-1} estão relacionadas com a tintura e mostram picos característicos para hidrocarbonetos alifáticos constituinte de ácidos graxos e lipídios ($2927 - 2885\text{ cm}^{-1}$) e ondas na região de impressão digital para polissacarídeos de acordo com Borges et al. (2012) e Oliveira et al. (2016).

A figura (13A) mostra o espectro do pão francês embebido em água, e a figura (13B), o pão francês molhado em tintura, após o tempo de 90 minutos em estufa a $37\text{ }^{\circ}\text{C}$. Os picos apresentados correspondem aos encontrados nas amostras com o pão integral.

Figura 13- Em A, espectro do pão francês embebido em água. Em B, pão francês embebido em tintura.

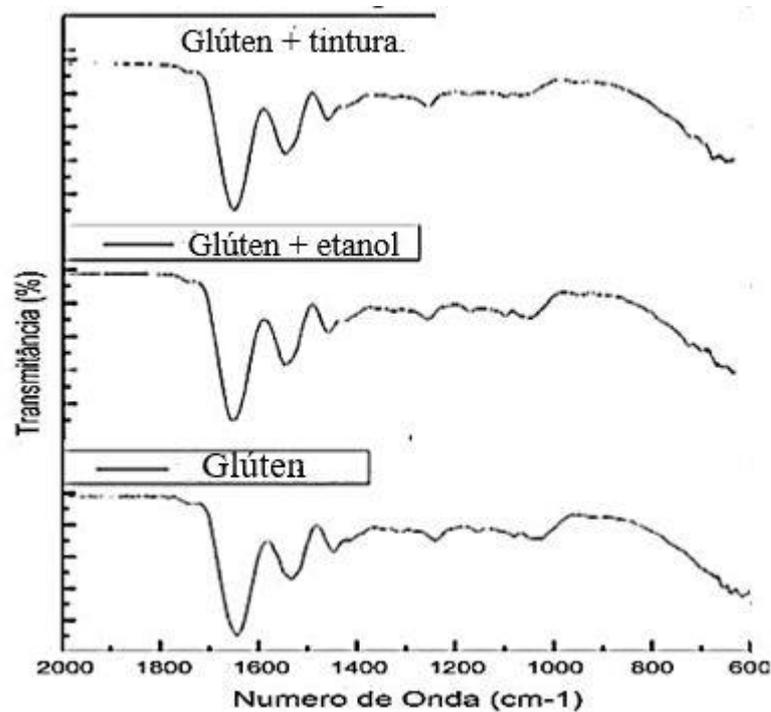


Fonte: Elaboração própria

As análises de FTIR para as amostras do glúten puro (da farinha de trigo), glúten + etanol de cereal e glúten + tintura estão apresentadas na Figura 14.

As análises de FTIR para as amostras do glúten puro e do glúten com as adições mostraram bandas características para as encontradas no pão integral, pão integral + tintura e pão integral+ etanol.

Figura 14- Espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier (FTIR) de amostras de glúten + tintura, glúten + etanol e glúten puro.



Fonte: Elaboração própria

Para a quantificação da gliadina do glúten, seguiu-se todas as recomendações do fabricante do kit. Contudo, o kit Ridascreen Gliadin é preparado para detectar traços de glúten (gliadina) em alimentos, e recomenda uma diluição de 1/500. Uma vez que a amostra avaliada neste estudo foi o pão comum, tipo francês, que contém muito glúten, houve a necessidade de uma diluição ainda maior, fixada a 1/120.000. A tabela 3 mostra os resultados de gliadina e glúten nos diferentes tratamentos do pão francês. Para amostras contendo a tintura os resultados com spline calculado foram inferiores a 5,0, enquanto as amostras com etanol apresentaram valores superiores indicando a presença do glúten.

Tabela 3- Análise da gliadina, com anticorpos anti-gliadina, realizada por ELISA, e resultado do glúten total.

Amostra	Absorbância	Spline calculado (ng/mL)	Gliadina (mg/Kg)	Glúten (mg/Kg)
Pão + etanol (25 °C)	0,732	<5,0	<600	<1200
Pão+ etanol +leite em pó (25 °C)	0,748	5,15	618	1.236
Pão + etanol (37 °C, 90 min)	1,119	15,19	1.822	3.645
Pão + etanol + leite em pó (37 °C, 90 min)	0,785	6,18	741	1.482
Pão + tintura (25 °C)	0,569	<5,0	<600	<1.200
Pão + tintura + leite em pó (25 °C)	0,780	6,03	724	1.448
Pão + tintura (37°C, 90 min)	0,605	<5,0	<600	<1.200
Pão + tintura + leite em pó (37°C, 90 min)	0,556	<5,0	<600	<1.200

Fonte: Elaboração própria

6 DISCUSSÃO

A utilização de produtos naturais, com fins medicinais nasceu com a humanidade, que buscava a cura, prevenção e tratamento de doenças, encontrando uma fonte inesgotável de compostos biologicamente ativos nas plantas. As plantas, por sua vez, utilizam uma grande variedade desses compostos para o seu crescimento, obtenção de energia, defesa contra predadores e agentes patogênicos, atração de agentes polinizadores e adaptação ao ecossistema. Desta forma, o conhecimento popular foi suplantado pela química experimental, permitindo a síntese laboratorial da diversidade de compostos reconhecidos e registrados na literatura, atuando de forma direta ou indireta, podendo inibir ou ativar importantes alvos moleculares e celulares (FIRMO et al., 2011).

Cerca de 90% das plantas conhecidas como medicinais possuem misturas complexas, com atividades fracas ou moderadas, contrário ao que se pensa, serem substâncias altamente ativas. Esses compostos bioativos provenientes do reino vegetal são responsáveis pelo aumento de novas estratégias terapêuticas por meio de seus metabólitos secundários (VIEGAS Jr; BOLZANI, 2006). Entretanto, os fitoterápicos produzidos a partir das plantas contém princípios ativos que podem agir isoladamente ou em sinergia com múltiplos componentes, tendo por base diversos alvos, exercendo atividades biológicas mais pronunciadas que fármacos sintéticos, com constituintes químicos isolados (CASANOVA; COST, 2017).

Segundo a literatura, (VIVANCO, et al., 2005; FERREIRA; PINTO, 2010; FUMAGALI, et al., 2008), as plantas possuem em seu metabolismo substâncias de transformação molecular, que a suprem de energia, renova suas moléculas garantindo a continuidade e visando o aproveitamento de nutrientes para satisfazer suas exigências fundamentais. Segundo Hijazi, Simão e Silveir (2010), a quebra de ligações de uma proteína se dá através de métodos químicos, pela hidrólise ácida, alcalina ou enzimática, em meio aquoso. Na hidrólise ácida, a ionização sofrida por ácidos fornece cátions com íons H_3O^+ . Na hidrólise alcalina, as bases sendo substâncias iônicas, sofrem dissociação em solução aquosa, liberando cátions diferentes de H_3O^+ e ânions diferentes de OH^- . Na hidrólise enzimática, as enzimas funcionam como catalisadores quebrando as ligações peptídicas acelerando a velocidade das reações.

O ácido acético é capaz de modificar o glúten de trigo por desamidação, resultando em glúten de leite sem amidas com boas propriedades funcionais e nutricionais (LIAO et al., 2009). Esse achado está de acordo com os resultados encontrados por Qiu et al. (2013), que ainda relatam alterações da estrutura secundária do glúten, que podem facilitar a fase de digestão

pancreática. A banana por sua vez, é rica em ácidos fenólicos. Assim, uma vez que foi encontrado quebra estrutural do glúten após contato com a tintura, pode-se sugerir que tal quebra tenha ocorrido pela presença desses ácidos.

Com Kumagai e colaboradores (2007), uma resina de troca catiônica tipo carboxilato e adição de cisteína, foi capaz de desenrolar e expor os grupos funcionais da amida ácida, que facilitou a desamidação, favorecendo a digestibilidade peptídica em ratos induzidos à um quadro alérgico ao glúten. Em seu estudo, os ratos tiveram diminuição da reatividade com IgE e IgG reduzindo a alergenicidade in vivo pela gliadina. Por sua vez, o coração da banana é rico em compostos fenólicos que, pelas interações iônicas e hidrofóbicas, ligações covalentes ou ligações de hidrogênio, podem precipitar proteínas do glúten (S´wieca et al. (2013). Roberts et al. (2013) ainda relatam que a fibra dietética solúvel da bananeira pode inibir a adesão, invasão e translocação em células do intestino de enterotoxina liberadas por bactérias patogênicas, evitando que seja causado um efeito tóxico no organismo.

Segundo S´wieca et al. (2013) o uso de compostos fenólicos, em especial os flavonoides, tiveram influência na estrutura secundária e terciária das proteínas do glúten, com redução dos resíduos de lisina, cisteína e triptofano, corroborando com os estudos realizados por Nawrocka et al. (2018), Pourfarzad, et al. (2015), Sivam et al. (2012).

O glúten interage com os polissacarídeos celulose microcristalina, inulina, pectina de maçã e pectina cítrica, sendo possível visualizar através dos gráficos de FTIR mudanças estruturais e interações entre as proteínas do glúten e os polissacarídeos (NAWROCKA et al. (2018). Sivam e colaboradores (2012) também relatam o uso de polifenóis e pectina na fabricação de pães. Para esses autores, houve interações entre as estruturas conformacionais das proteínas, causando alterações associadas as bandas Amida I e II do glúten. Em nosso estudo as bandas correspondentes ao glúten desapareceram dos espectros de FT-IR, e a literatura confirma a existência de pectinas, polifenóis e inulina em extratos de banana (AGOPIA et al., 2008; EMAGA et al., 2008; CRUZ-CÁRDENAS et al., 2015).

O uso de enzimas para a desnaturação do glúten foi proposto por Stepniak et al. (2006). Ao utilizar a prolilo endoprotease, derivada de *Aspergillus niger*, os autores conseguiram comprovar a degradação dos peptídeos tóxicos do glúten. Com esta enzima, atualmente, está sendo produzido o medicamento AN-PEP. Gass e colaboradores (2005), obtiveram os mesmos resultados utilizando a prolilo endopeptidase de *Myxococcus xanthus*. No entanto, também foi relatado que essas proteases não são eficientes em pH ácido, como o pH do estômago, podendo ser inutilizadas pela pepsina (STEPNIAK et al, 2006).

Alguns resultados promissores vêm sendo alcançados, como é o caso do medicamento ALV003, combinando a prolil endopeptidase de *Sphingomonas capsulata*, com outra endopeptidase da cevada em germinação. Este tem se mostrado eficiente, clivando os resíduos de prolina e diminuindo a resposta imunitária, além de que, essas enzimas não tiveram suas atividades enzimáticas alteradas em função dos ácidos do estômago. Porém, o ALV003 não pôde aliviar os sintomas causados pelo glúten (STOVEN; A MURRAY; MARIETTA, 2012). Lawand e seus colegas (2010), disseram que as endopeptidases específicas de prolina estão presentes em organismos de mamíferos, plantas, bactérias e fungos. O NCBI (The National Center for Biotechnology Information) em seu centro de referência para proteínas, relata a presença de prolil endopeptidases em *Musa acuminata*, cujo genoma já foi decifrado (NCBI, 2018).

As prolil-oligopeptidases eram denominadas de enzimas de clivagem pós-prolina e prolina endopeptidase (LAWAND et al., 2010). Em plantas, fazem parte da defesa contra invasores parasitas. Sua especificidade e preferência é qualquer resíduo de prolina em um substrato. Já foi relatado por Esteve et al. (2013) que a *Musa* spp possui uma variedade muito grande de proteínas/enzimas, num total de 1131 já identificadas. Algumas enzimas precisam de cofatores, ou seja, uma molécula orgânica ou metal para exercer sua função. Além disso, a temperatura também pode afetar a atividade enzimática (TYMOCZOKO, BERG, STYER, 2010). Em nosso experimento, a temperatura apresentou grande influência na desnaturação do glúten.

Segundo o banco de genoma MUSA Cyc (Banana Genome Hub), na banana são encontradas enzimas classificadas como oxirredutases, transferases, hidrolases, liases, isomerases e ligases, e polipeptídeos como peptidil-prolil cis-trans isomerase, prolil 4-hidroxilase, prolil-endopeptidase X2 (MUSA Cyc, 2018).

Sobre o teste enzimático específico para gliadina, o R5 ELISA RIDASCREEN Gliadin, ele é um ensaio imunoenzimático do tipo sanduíche para a análise quantitativa de prolaminas do trigo, centeio e cevada. É aceito como teste ouro pelo *Codex Alimentarius*. A base do teste é a reação antígeno-anticorpo, e a leitura da absorbância é proporcional à concentração de gliadina da amostra, segundo o fabricante do produto. Os resultados das amostras analisadas com o Kit ELISA confirmaram a quebra das moléculas de gliadina. Mesmo estando em uma diluição elevada é possível visualizar que as amostras contendo a tintura da inflorescência da bananeira não apresentaram os epítomos da gliadina, quando comparadas com as amostras contendo o álcool de cereal.

As amostras para temperatura ambiente podem ter sofrido alterações quando colocadas em banho-maria após a adição do coquetail, o que não ocorreu com amostras com o etanol de cereal. As amostras do pão + etanol em temperatura ambiente e pão + tintura + leite em pó em temperatura ambiente, possivelmente foram trocadas por descuido durante o preparo, o que justifica os dados contrários. Desta forma todas as amostras contendo a tintura não apresentariam gliadina, enquanto as amostras com o etanol exibiriam quantidades significativas em nosso trabalho.

A atividade antioxidante está de acordo com os estudos de Jiménez-Martínez et al. (2016), Vu; Scarlett; Vuong, (2017), Kevers et al. (2007), que encontraram valores de inibição de DPPH entre de 36,8 e 68,0% em extratos de banana obtidos com diferentes solventes. Aquino et al., (2016), comparou a atividade antioxidante na polpa e na casca de 15 cultivares de banana. Marikkar et al.,(2016), relata que quanto maior o conteúdo fenólico, maiores são as atividade sequestradoras de radicais livres das flores de bananeira e Singh et al. 2016, afirma que a variedade de compostos bioativos encontrados na banana, são altamente desejáveis em dietas, exercendo efeitos positivos sobre a saúde e o bem-estar através de suas propriedades antioxidantes. Em nossa análise a atividade antioxidante pós-preparo foi de 59%, e aos 30 dias pós-preparo, a tintura apresentou média antioxidante de 34% não perdendo totalmente sua capacidade.

Ainda Stojiljković et al. (2012) relatam que uma das principais consequências da inflamação no intestino de pacientes com DC é o dano oxidativo, causado pelas secreções de várias citocinas encontradas aumentadas no duodeno de pacientes com DC. Uma dieta rica em antioxidantes naturais, bem como suplementos dietéticos apropriados, pode ser de grande benefício para os pacientes. Enquanto Mårtensson, Jain e Meister (1990) descreveram que a deficiência de antioxidantes pode levar à degeneração grave das células epiteliais do jejuno e do cólon, a administração destes compostos pode ser protetora do epitélio gastrointestinal e outros tecidos. Ao apresentar polifenóis e alguns agentes redutores como os tióis, as bananas são ricas em antioxidantes, cuja função é inibir a oxidação de outras moléculas, reduzindo os radicais livres e o dano oxidativo celular. Além disso, em sua composição encontramos outras substâncias biologicamente ativas que são documentadas na literatura tradicional e científica, com muitas propriedades farmacológicas como antifúngicos, anti-inflamatórios, reguladores do intestino, anticarcinogênicos e hepatoprotetores, desta forma, a propriedade antioxidante natural desta flor pode agir como protetora do tecido epitelial do intestino, além ser um bom substituto para antioxidantes sintéticos, e contribuir à prevenção de outras doenças.

7 CONSIDERAÇÃO FINAL

Este estudo é um projeto piloto, para avaliar as propriedades de uma tintura feita com a inflorescência da bananeira quanto à desnaturação do glúten, e esta hipótese foi confirmada. A tintura mostrou-se eficiente quando colocada em contato com alimentos contendo glúten. Quando analisadas em conjunto, os resultados de gliadina do kit comercial juntamente com os espectros de FTIR mostraram a ação da tintura clivando a estrutura do glúten. As quebras foram mais efetivas a 37 °C, em simulação à temperatura do corpo humano, para um tempo de 90 minutos.

Uma vez que o consumo da inflorescência da bananeira é seguro, inclusive como alimento, e baseando-se na medicina transacional, a tintura mostra-se promissora no tratamento ou prevenção da doença celíaca, e transtornos causados pelo glúten. Desta forma, novos direcionamentos nas pesquisas poderão ser adotados, usando as propriedades encontradas na inflorescência, bem como avaliando as demais partes da planta. Além deste benefício na área da saúde, a utilização da inflorescência contribui para o reaproveitamento de material descartado nos bananais, a baixo custo.

REFERÊNCIAS

- ABITRIGO. **O TRIGO NA HISTÓRIA**. Brasil, 2018. Disponível em <http://www.abitrigo.com.br/conhecimento-trigo.php> Acesso em 06 de junho de 2018.
- AGARWAL, P. K., et al. Evaluation of wound healing activity of extracts of plantain banana (*Musa sapientum* var. *paradisiaca*) in rats. **Indian Journal off Experimental Biology**, Varanas- India, v. 47, p. 32-40, 2009.
- AGOPIA, R. G. D., et al. Identification of Fructooligosaccharides in Different Banana Cultivars. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, São Paulo, n. 56, p. 3305-3310, 2008.
- AGU, H. O.; OKOLI, N. A. Physico-chemical, sensory, and microbiological assessments of wheat-based biscuit improved with beniseed and unripe plantain. **Food Science Nutrition** v. 2, n. 5, p. 464-469, 2014.
- Alves, T.F. R. **Desenvolvimento e avaliação de hidrogéis termorresponsivos para administração vaginal e veiculação de curcumina**. Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas da Universidade de Sorocaba, Brasil, 2016.
- ANVISA. **Farmacopeia Homeopática Brasileira**, 3ª Edição – 2011
- ANVISA. **Primeiro Suplemento do Formulário de Fitoterápicos da Farmacopeia Brasileira**, 1ª edição, P. 10-12, 2018.
- AQUINO, C. F., et al. Carbohydrates, phenolic compounds and antioxidant activity in pulp and peel of 15 banana cultivars. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 38, n. 4, p.1-5, 2016.
- AQUINO, V. C. **Estudo da estrutura de massas de pães elaboradas a partir de diferentes processos fermentativos**. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos) - Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2012.
- ARUN, K. B., et al. Plantain Peel - a Potential Source of Antioxidant Dietary Fiber for Developing Functional Cookies. **Journal of Food Science and Technology** v. 52, n 10, p. 6355–6364, 2015.
- ASIF, M.; KAUR, A. Biologically active phytochemical contents and biological activities of whole *musa acuminata* (banana) plant. **International Journal of Recent Advances in Medical & Pharma Research**, v. 1, n. 1, p. 5-33, 2017.
- AZEVEDO, V. F., Translational medicine: what's the importance to rheumatologic practice? **Revista Brasileira de Reumatologia**, v. 1, n. 49, p.81-83, 2009.
- BARKER, J. M.; LIU, E. Celiac Disease: Pathophysiology, Clinical Manifestations and Associated Autoimmune Conditions. **Advances in pediatrics** v. 55, p. 349–365, 2008.
- BATAGLION, G. A., at al. Determination of the phenolic composition from Brazilian tropical fruits by UHPLC–MS/MS. **Food Chemistry**. v. 180, p. 280–287, 2015.

- BHATTACHARY, S., et al. Acute and sub-chronic toxicity study of *Musa paradisiaca* leaf extracts in mice. **Journal of Advanced Pharmacy Education & Research**, v. 3, n. 2, p. 90-93, 2013.
- BOCK, J. E.; DAMODARAN, S. Bran-induced changes in water structure and gluten conformation in model gluten dough studied by Fourier transform infrared spectroscopy. **Food Hydrocolloids**, v. 31, n. 2, p.146-155, 2013.
- BORGES, C. V., et al. Espectroscopia de infravermelho médio e quimiometria aplicadas a discriminação de acessos de bananeira. **Embrapa Mandioca e Fruticultura: Congresso Brasileiro De Fruticultura**, Bento Gonçalves, Brasil, 2012.
- BRASIL, E. M. G., **Qualidade Industrial do Trigo**. 2. ed. Passo Fundo – RS. Embrapa, 1996.
- BRASIL. **Lei Federal nº. 10.674 de 16 de maio de 2003**. Publicado no Diário Oficial da União – DOU de 19 de maio de 2003.
- BRASIL. Ministério da Saúde. **Política e Programa Nacional de Plantas Mediciniais e Fitoterápicos**, 2018. Disponível em <http://portalms.saude.gov.br/acoes-e-programas/programa-nacional-de-plantas-mediciniais-e-fitoterapicos-ppnmpf/politica-e-programa-nacional-de-plantas-mediciniais-e-fitoterapicos> Acesso em 19 de fevereiro de 2019.
- CALIXTRO, R. S., et al. Wound healing potential of the ethanolic extract of banana flower (*Musa sapientum*, BBB ‘Saba’, Family Musaceae). **International Journal of Pharmacy**, Philippine, v. 4, n. 2, p.33-37, 2014.
- CARROCCIO, A. et al. High proportions of people with nonceliac wheat sensitivity have autoimmune disease or antinuclear antibodies. **Gastroenterology**, v. 149, n. 3, p. 596-603, 2015.
- CASANOVA, L. M.; COST, S. S. Interações Sinérgicas em Produtos Naturais: Potencial Terapêutico e Desafios. **Revista Virtual Química**, v. 9, n.2, p, 575-595, 2017.
- CATASSI, C. et al. The Overlapping Area of Non-Celiac Gluten Sensitivity (NCGS) and Wheat-Sensitive Irritable Bowel Syndrome (IBS): An Update. **Nutrients** v. 9. n. 11 p. 1268, 2017.
- CECHINEL FILHO, V. Estratégias para a obtenção de compostos farmacologicamente ativos a partir de plantas medicinais. conceitos sobre modificação estrutural para otimização da atividade. **Química Nova**, v. 1, n. 21, p.99-104, 1998.
- CHRISTENSEN, M. J. et al. Patterns of Suspected Wheat-Related Allergy: A Retrospective Single-Centre Case Note Review in 156 Patients. **Clinical and Translational Allergy** v. 4, n. 39. 2014.
- CIANFERONI, A. Wheat Allergy: Diagnosis and Management. **Journal of Asthma and Allergy**, v.9, p. 13–25, 2016.

CRUZ-CÁRDENAS, C. I., et al. Fructans and other water soluble carbohydrates in vegetative organs and fruits of different *Musa* spp. accessions. **Frontiers in Plant Science**, v. 6, p.395-395, 2015.

CZAJA-BULSA, G.; BULSA, M. What do we know now about IgE-Mediated wheat allergy in children? **Nutrients** v. 9, n. 1, p. 35, 2017.

DAI, J.; MUMPER, R. J., Plant Phenolics: Extraction, Analysis and Their Antioxidant and Anticancer Properties. **Molecules**, v. 15, n. 10, p. 7313-7352, 2010.

DIKSHIT, P., et al. Hepatoprotective effect of stem of *Musa sapientum* Linn in rats intoxicated with carbon tetrachloride. **Annals of Hepatology**, v. 10, n. 3, p. 333-339, 2011.

EDENTA, C. J., et al. Hypolipidemic effects of aqueous extract of three cultivars of *Musa sapientum* fruit peel on Poloxamer-407 induced hyperlipidemic Wistar rats. **International Journal of Pharmaceutical Sciences** v. 5, p. 1049-1054, 2014.

EDENTA, C.; OKODUWA, S.; OKPE, O. Effects of Aqueous Extract of Three Cultivars of Banana (*Musa acuminata*) Fruit Peel on Kidney and Liver Function Indices in Wistar Rats. **Medicines**, v. 4, n. 4, p. 77-81, 2017.

EL-DIN, G. A., et al. Study on the use of banana peels for oil spill removal. **Alexandria Engineering Journal**, v. 57, n. 3, p. 2061-2068, 2018.

ELLI, L. et al. Diagnosis of gluten related disorders: Celiac disease, wheat allergy and non-celiac gluten sensitivity. **World Journal Gastroenterol**, v. 21, n. 23, p. 7110-7119, 2015.

EMAGA, T. H., et al. Dietary fibre components and pectin chemical features of peels during ripening in banana and plantain varieties. **Bioresource Technology**, v. 99, n. 10, p. 4346-4354, 2008.

EMERY, E.A., et al. Banana flakes control diarrhea in enterally fed patients. **Nutrition in Clinical Practice**, v. 2, n. 12, p. 72-75, 1997.

EMORDI, E. J., et al. Preclinical toxicity study of the phytomedicine - bee honey and *musa paradisiaca* extract- in rodents. **International Journal of Herbs and Pharmacological Research**. v. 3, n.1, p. 8 – 15, 2014.

ESTEVE, C., et al. In-depth proteomic analysis of banana (*Musa* spp.) fruit with combinatorial peptide ligand libraries. **Electrophoresis**, v. 34, n. 2, p. 207-214, 2013.

FAMAKIN, O. et al. Assessment of nutritional quality, glycaemic index, antidiabetic and sensory properties of plantain (*Musa paradisiaca*)-based functional dough meals. **Food Science Technology**, M, v. 53, n. 11, p.3865-3875, 2016.

FAN, M.; DAI, D.; HUANG, B. Fourier Transform Infrared Spectroscopy for Natural Fibers. **Fourier Transform – Materials Analysis InTech**, 2012.

FENACELBRA - **Federação Nacional das Associações de Celíacos do Brasil. Sensibilidade ao glúten na ausência de doença celíaca.** Disponível em

<http://www.fenacelbra.com.br/fenacelbra/sensibilidade-ao-gluten-na-ausencia-de-doenca-celiaca/> Acesso em 06 de junho de 2018.

FERRARI, M. C. **Estudos de viabilidade sobre avaliação de qualidade de farinhas de trigo através de medidas das propriedades do glúten**. Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Engenharia de Alimentos, Campinas, SP, 1998.

FERREIRA, V. F.; PINTO, A. C., A fitoterapia no mundo atual. **Química Nova**, v. 33, n. 9, p.1829-1829, 2010.

FIRMO, W. C. A., et al, Historical context, popular use and scientific conception on medicinal plants, **Cadernos de Pesquisa**, v. 18, p. 90-95, 2011.

FLORENTA, A. W.; LOHA, A. M. B.; THOMAS, H. E., Nutritive value of three varieties of banana and plantain blossoms from Cameroon. **Greener Journal of Agricultural Sciences**, v. 5, n. 2, p. 52-61, 2015.

FUMAGALI, et al., Produção de metabólitos secundários em cultura de células e tecidos de plantas: O exemplo dos gêneros *Tabernaemontana* e *Aspidosperma*, **Brazilian Journal of Pharmacognosy**, v.18 n. 4, p. 627-641, 2008.

GAESSER, G.; ANGADI, S. S., Gluten-Free Diet: Imprudent Dietary Advice for the General Population? **Journal of the Academy of Nutrition And Dietetics**, v. 112, n. 9, p.1330-1333, 2012.

GASS, J., et al. Fermentation, purification, formulation, and pharmacological evaluation of a prolyl endopeptidase from *Myxococcus xanthus*: Implications for Celiac Sprue therapy. **Biotechnology and Bioengineering**, v. 92, n. 6, p. 674-684, 2005.

GEORGET, D. M. R.; BELTON, P. S. Effects of temperature and water content on the secondary structure of wheat gluten studied by FTIR spectroscopy. **Biomacromolecules**, v.7, p. 469-475, 2006.

GOEL, R. K; SAIRAM, K; RAO, C. V. Role of gastric antioxidant and anti-Helicobacter pylori activities in antiulcerogenic activity of plantain banana (*Musa sapientum* var. *paradisiaca*). **Indian Journal of Experimental Biology**, v. 39, p. 719-722, 2001.

GREEN, P. H. R., et al. Risk of malignancy in patients with celiac disease. **The American Journal of Medicine**, v. 115, n. 3, p.191-195, 2003.

GUJRAL, N., FREEMAN, H. J.; THOMSON, A. B. Celiac disease: Prevalence, diagnosis, pathogenesis and treatment. **World Journal Gastroenterology**, v. 18 n. 42, p. 6036-6059, 2012.

HERNÁNDEZ, R., A. Fitoterapia. Bases científicas e legais para sua aplicação. **Boletim Latino-Americano e do Caribe de Plantas Mediciniais e Aromáticas**. V.4, n.4, p 71-74, 2005.

HERNÁNDEZ-ESPINOSA, N. et al, Protein fraction distribution and their contribution to quality characteristics in wheat, **Revista Fitotecnia Mexico** v. 36 n. 2, p. 137-145, 2013.

HIJAZI, C. A. H.; SIMÕE, A. T.; SILVEIR, D. R. Hidrólise ácida, alcalina e enzimática. **Revista Attitude: Faculdade Dom Bosco de Porto Alegre**, v. 7, n. 4, p.89-93, 2010.

HOSSAIN, M. S. et al. Antidiarrheal, Antioxidant and Antimicrobial Activities of the Musa Sapientum Seed. **Avicenna Journal of Medical Biotechnology** v. 3 n. 2, p. 95–105, 2011.

INGALE, S.; ANAGHA, J.; PRAMOD, I. To study analgesic activity of stem of Musa sapientum linn. **Journal of Pharmacy Research**, v. 9, n. 2, p. 1381-1382, 2009.

Instituto Adolfo Lutz (São Paulo - Brasil). Métodos físico-químicos para análise de alimentos: normas analíticas do Instituto Adolfo Lutz. 4a ed. São Paulo: **Instituto Adolfo Lutz**; 2008.

IROAGANACHI, M.; ELEAZU, C.; OKAFOR, P. Effect of unripe plantain (Musa paradisiaca) and ginger (Zingiber officinale) on renal dysfunction in streptozotocin-induced diabetic rats. **Journal of the Pancreas**, v. 16, n. 2, p. 167-170, 2015.

JACOBUS, D.; MELLO, F. B.; MELLO, R. B. Evaluation of the acute and repeated doses toxicity of a phytotherapeutic containing Roripa nasturtium Rusby, Musa spp., Ficus carica Linné, Tagetes minuta Linné and honey (Xarope de Agrião Composto Cibecol) in Wistar rats. **Acta Scientiae Veterinariae**. v. 34, n. 3, p.295-300, 2006.

JIMÉNEZ-MARTÍNEZ, M. C., et al. Effect of high hydrostatic pressure on the polyphenols and antioxidant activity of plantain pulp (Musa paradisiacaAAB). **Journal of the Science of Food And Agriculture**, v. 97, n. 8, p. 2508-2515, 2016.

JOHANSSON, S. G. et al. Revised nomenclature for allergy for global use: Report of the Nomenclature Review Committee of the World Allergy Organization, October 2003. **Journal of Allergy and Clinical Immunology**. v. 113, p. 832-836, 2003.

KADDOUR, A. A.; MONDET, M.; CUQ, B., Description of Chemical Changes Implied During Bread Dough Mixing by FT-ATR Mid-Infrared Spectroscopy. **Cereal Chemistry Journal**, v. 85, n. 5, p. 673-678, 2008.

KEECH C. L.; DROMEY, J.; TYE-DIN, J. A., Immune tolerance induced by peptide immunotherapy in an HLA Dq2-dependent mouse model of gluten immunity. **Gastroenterology**. v. 136, n.5, P. A-57, 2009.

KELLY, C. P.; GREEN, P. H.; MURRAY, J. A. Intestinal permeability of larazotide acetate in celiac disease: results of a phase IIB 6-week gluten-challenge clinical trial (abstr) **Gastroenterology**, v. 136, n. 5, p. A-474, 2009.

KEVERS, C. et al., Evolution of antioxidant capacity during storage of selected fruits and vegetables. **Journal of agricultural and food chemistry**, v.55, p.8596-8603.2007.

KIRCHOFF, B.K., Inflorescence and Flower Development in *Musa velutina* H. Wendl. & Drude (Musaceae), with a Consideration of Developmental Variability, Restricted Phyllotactic Direction, and Hand Initiation. **International Journal of Plant Sciences**, v. 178, n. 4, p. 259-272, 2017.

KONGKIATPAIBOON, S.; CHEWCHINDA, S.; VONGSAK, B., Optimization of extraction method and HPLC analysis of six caffeoylquinic acids in *Pluchea indica* leaves from different provenances in Thailand. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 28, n. 2, p.145-150, 2018.

KRISHNAN, S. S. C.; SUBRAMANIAN, I. P.; SUBRAMANIAN, S. P. Isolation, characterization of syringin, phenylpropanoid glycoside from *Musa paradisiaca* tepal extract and evaluation of its antidiabetic effect in streptozotocin-induced diabetic rats. **Biomedicine & Preventive Nutrition**, v. 4, n. 2, p.105-111, 2014.

KUMAGAI, H. I., et al. Improvement of digestibility, reduction in allergenicity, and induction of oral tolerance of wheat gliadin. *Bioscience*, **Biotechnology and Biochemistry** v. 71, p. 977–985, 2007.

KUMAR, M., et al. Effect of plantain banana on gastric ulceration in NIDDM rats: role of gastric mucosal glycoproteins, cell proliferation, antioxidants and free radicals. **Indian Journal of Experimental Biology**, v. 4, n. 44, p. 292-299, 2006.

LAWAND, J., et al. Inhibitors of Prolyl Oligopeptidases for the Therapy of Human Diseases: Defining Diseases and Inhibitor. **Journal of Medicinal Chemistry**, n. 53, p. 3423-3438, 2010.

LEBWOHL, B.; LUDVIGSSON, J. F; GREEN, Peter Hr. Celiac disease and non-celiac gluten sensitivity. **Bmj**, v. 351, p. 4347, 2015.

LECCIOLI, V. et al. A New Proposal for the Pathogenic Mechanism of Non-Coeliac/ Non-Allergic Gluten/Wheat Sensitivity: Piecing Together the Puzzle of Recent Scientific Evidence. **Nutrients**, v. 9, n. 11, p. 1203-1223, 2017.

LEONARD, M. M.; M; VASAGAR, B., US perspective on gluten-related diseases. **Clinical and Experimental Gastroenterology**, v. 7, p. 25-37, 2014.

LI, W. et al. Metabolomic, Biochemical, and Gene Expression Analyses Reveal the Underlying Responses of Resistant and Susceptible Banana Species during Early Infection with *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*. **Plant Disease**, v. 101, n. 4, p. 534-543, 2017.

LIAO, L., et al. Effect of acetic acid deamidation-induced modification on functional and nutritional properties and conformation of wheat gluten. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 90 n. 3, p. 409-417, 2009.

LUDVIGSSON, J. F., et al. Diagnosis and Management of Celiac Disease in Adults: Guidelines of the British Society of Gastroenterology. **BMJ** v. 63, n. 8, p. 1210–1228, 2014.

MACIEL, M. A. M.; PINTO, A. C.; VEIGA JUNIOR, V. F. Plantas medicinais: a necessidade de estudos multidisciplinares. **Quimica Nova**, v. 25, n. 3, p. 429-438, 2002.

- MAITY, S.; DAS, K.; MANDAL, N.. To investigate which solvent extract (aqueous, methanol, acetone and hexane) of Apple banana is more potent content of phytochemical. **International Journal Of Physiology, Nutrition And Physical Education** v. 1, n. 1, p. 33-45, 2016.
- MANDARINO, J. M. G., Componentes do trigo: características físico-químicas, funcionais e tecnológicas. Londrina, **EMBRAPA-CNPSO**, p.36, 1994.
- MANTHEY, J; JAITRONG, O., An HPLC-MS Analysis of Phenolic Antioxidants in Banana Peel Conference Paper, **Handling & Processing Section**, Florida, Usa., n. 129, p.181-184, Conference: Proc. Fla. State Hort. Soc., 2016.
- MARIKKAR, J. M. N, et al., Evaluation of banana (Musa sp.) flowers of selected varieties for their antioxidative and anti-hyperglycemic potentials, **International Food Research Journal**, v. 23, n. 5, p. 1988-1995, 2016.
- Mårtensson, J; Jain, A; Meister, A. Glutathione is required for intestinal function **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 87 n.5, pp 1715-1719;
- MATYSIAK-BUDNIK T., et al. Limited efficiency of prolyl-endopeptidase in the detoxification of gliadin peptides in celiac disease. **Gastroenterology**. n. 129, p. 786–796, 2005.
- MAZOYER, M.; ROUDART, L., História das agriculturas no mundo do neolítico à crise contemporânea. Brasília: **Editora Unesp**, p. 568, 2010.
- MOHAN, K. M. et al. Effect of plantain banana on gastric ulceration in NIDDM rats: role of gastric mucosal glycoproteins, cell proliferation, antioxidants and free radicals. **Indian Journal of Experimental Biology**, v. 4, n. 44, p.292-299, 2006.
- MUSA Cyc (Banana Genome Hub) disponível em <http://ptools.southgreen.fr/MUSA/class-instances?object=Polypeptides> Acesso em 07 de novembro de 2018.
- NAWROCKA, A., et al. FTIR studies of gluten matrix dehydration after fiber polysaccharide addition. **Food Chemistry**, v. 252, p. 198-206, 2018.
- NCBI** - National Center for Biotechnology Information. Search database, Disponível em <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/protein/?term=musa+>, acesso em 04 de novembro de 2018.
- NIRMALA, M. et al. Hepatoprotective activity of Musa paradisiaca on experimental animal models. **Asian Pacific Journal Of Tropical Biomedicine**, v. 2, n. 1, p. 11-15, 2012.
- OLIVEIRA, G. L. S., Determinação da capacidade antioxidante de produtos naturais in vitro pelo método do DPPH: estudo de revisão. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 17 n. 1, p. 36–44, 2015.
- OLIVEIRA, T. I. S. et al. Optimization of pectin extraction from banana peels with citric acid by using response surface methodology. **Food Chemistry**, v. 198, p. 113-118, 2016.

- OSIM, E. E.; IBU, J.O. The Effect of Plantains (*Musa paradisiaca*) on DOCA-Induced Hypertension in Rats. **International Journal Of Pharmacognosy**, v. 29, n. 1, p.9-13, 1999.
- PARRA, A.L. et al. Comparative study of the assay of *Artemia salina* L. and the estimate of the medium lethal dose (LD50 value) in mice, to determine oral acute toxicity of plant extracts. **Phytomedicine**, v. 8, n. 5, p. 395-400, 2001.
- PERFUMI, M.; MASSI, N.; CARO, G. Effects of banana feeding on Deoxy corticosterone-induced hypertension and salt consumption in rats. **International Journal of Pharmacognosy**, v. 32, n. 2, p. 115-125, 2008.
- PINHEIRO, C.P. et al. Extração de lípidios de microalga: avaliação da qualidade utilizando espectroscopia de infravermelho FTIR. **Anais do X Congresso Brasileiro de Engenharia Química**, 2014.
- POURFARZAD, A. et al. Serish inulin and wheat biopolymers interactions in model systems as a basis for understanding the impact of inulin on bread properties: a FTIR investigation. **Journal of Food Science and Technology**. v. 12, n. 52, p.7964-7973, 2015.
- PRACHAYAWARAKORN S.; RAIKHAM C.; SOPONRONNARIT, S., Effects of ripening stage and steaming time on quality attributes of fat free banana snack obtained from drying process including fluidized bed puffing. **Journal of Food Science and Technology**. v. 53 n. 2, p. 946-955, 2016.
- PRAMOTE, B.; WARANUCH, N.; KRITSUNANKUL, O., Simultaneous Determination of Gallic Acid and Catechins in Banana Peel Extract by Reversed-Phase High Performance Liquid Chromatography. **Naresuan University Journal: Science And Technology**, v. 26, n. 3, p. 189-200, 2018.
- PUESCHEL, S. M. et al. A prevalence study of celiac disease in persons with Down syndrome residing in the United States of America. **Acta Paediatrica**, v. 88, n. 9, p. 953-956, 2007.
- QIU, C., et al. Effect of citric acid deamidation on in vitro digestibility and antioxidant properties of wheat gluten. **Food Chemistry**, n. 141, p. 2772-2787, 2013.
- RABBANI, G. H., et al. Clinical studies in persistent diarrhea: Dietary management with green banana or pectin in Bangladeshi children. **Gastroenterology**, v. 121, n. 3, p. 554-560, 2001.
- RABBANI, G. H., et al. Green banana-supplemented diet in the home management of acute and prolonged diarrhoea in children: a community-based trial in rural Bangladesh. **Tropical Medicine & International Health**, v. 15, n. 10, p. 1132-1139, 2010.
- RAMLAN, N. N., et al. Influence of different extraction solvents on phytochemical content and antioxidant capacity extracted from pulp and flower of dessert and cooking bananas. **Malaysian Journal of Biochemistry & Molecular Biology**, v. 3, n. 2, p. 10-16, 2017.

- RAMU, R. et al. Assessment of In Vivo Antidiabetic Properties of Umbelliferone and Lupeol Constituents of Banana (*Musa sp. var. Nanjangud Rasa Bale*) Flower in Hyperglycaemic Rodent Model. **Plos One**, v. 11, n. 3, p. 1600-1648, 2016.
- REBELLO, L. P. G., et al. Flour of banana (*Musa AAA*) peel as a source of antioxidant phenolic compounds. **Food Research International**, v. 55, p. 397-403, 2014.
- REWERS, M. Epidemiology of celiac disease: What are the prevalence, incidence, and progression of celiac disease? **Gastroenterology**, v. 128, n. 4, p. 47-51, 2005.
- ROBERTS, C. L. et al. Soluble plantain fibre blocks adhesion and M-cell translocation of intestinal pathogens. **Journal of Nutritional Biochemistry**, v. 1, n. 24, p. 97-103, 2013.
- RODRIGUES, O.; DIDONET, A. D.; TEIXEIRA, M. C. C., Composição proteica de grãos. **Embrapa**, Brasil, p.13-23, 2017.
- RODRIGUES, T. R. D., **Características agronômicas, qualidade da farinha e avaliação de genótipos de trigo duplo propósito submetidos a diferentes manejos de corte**. 2012. 1 v. Dissertação (Mestrado) - Curso de Agronomia, Unioeste, Marechal Cândido Rondon, 2012.
- ROSTOM, A.; MURRAY, J. A.; KAGNOFF, M. F., American Gastroenterological Association (AGA) Institute Technical Review on the Diagnosis and Management of Celiac Disease. **Gastroenterology**, v. 131, n. 6, p.1981-2002, 2006.
- S'WIECA, M., et al. The influence of protein–flavonoid interactions on protein digestibility in vitro and the antioxidant quality of breads enriched with onion skin. **Food Chemistry**, n. 141, p. 451-485, 2013.
- SANTOS, F. S. As plantas brasileiras, os jesuítas e os indígenas do Brasil: história e ciência na Trianga Brasília séc.XVII-XVIII. São Paulo: **Casa do Novo Autor**, 2009.
- SARAVANAN, K; ARADHYA, S. M. Potential nutraceutical food beverage with antioxidant properties from banana plant bio-waste (pseudostem and rhizome). **Food Functional**, v. 2, n. 10, p. 603-610, 2011.
- SCARPARE FILHO, J. A. et al. Cultivo e Produção de Banana. **Esalq-usp**, Piracicaba, SP, p. 20-25, 2016
- SCHEUER, P. M. et al. Trigo: Características E Utilização Na Panificação. **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**, Campina Grande, v. 2, n. 13, p. 211-222, 2011.
- SCHIEBER, A.; STINTZING, F.C.; CARLE, R., By-products of plant food processing as a source of functional compounds — recent developments, **Trends in Food Science & Technology**, v.12, p. 401–413, 2001
- SEAL, T., Quantitative HPLC analysis of phenolic acids, flavonoids and ascorbic acid in four different solvent extracts of two wild edible leaves, *Sonchus arvensis* and *Oenanthe linearis* of North-Eastern region in India. **Journal Of Applied Pharmaceutical Science**, [p.157-166, 2016.

SHODEHINDE, S. A.; OBOH, G., “Antioxidant Properties of Aqueous Extracts of Unripe *Musa Paradisiaca* on Sodium Nitroprusside Induced Lipid Peroxidation in Rat Pancreas in Vitro.” **Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine** v. 3 n. 6, p. 449–457, 2013.

SHOR, D. B. et al. Gluten sensitivity in multiple sclerosis: experimental myth or clinical truth? Pubmed: **Annals of the New York Academy of Sciences**, v. 1173, p. 343-349, 2009.

SIDDIQUE, S., et al. Phytochemical screening and in-vitro evaluation of pharmacological activities of peels of *Musa sapientum* and *Carica papaya* fruit. **Natural Product Research**, v. 32, n. 11, p. 1333-1336, 2017.

SILVA, A. C. P.; SARTORI, G. V.; OLIVEIRA, A. L. Composição nutricional do coração da bananeira e sua utilização como um alimento alternativo. **SaBios: Rev. Saúde e Biologia** v. 9, n. 2, p. 40-45, 2014.

SINGH, B., et al. Bioactive compounds in banana and their associated health benefits – A review. **Food Chemistry**, v. 206, p.1-11, 2016.

SITTHIYA, K., et al., Extraction and characterization of proteins from banana (*Musa Sapientum* L) flower and evaluation of antimicrobial activities. **Journal of Food Science and Technology**, v. 55, n. 2, p. 658-666, 2017.

SIVAM, A. S., et al., Exploring the interactions between blackcurrant polyphenols, pectin and wheat biopolymers in model breads; a FTIR and HPLC investigation. **Food Chemistry**, v. 131, n. 3, p. 802-810, 2012.

STEPNIAK, D., et al. Highly efficient gluten degradation with a newly identified prolyl endoprotease: implications for celiac disease. **American Journal of Physiology-gastrointestinal and Liver Physiology**, v. 291, n. 4, p. 621-629, 2006.

STOJILJKOVI, V. et al. Glutathione redox cycle in small intestinal mucosa and peripheral blood of pediatric celiac disease patients. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, [s.l.], v. 84, n. 1, p.175-184, mar. 2012.

STOVEN, S.; A MURRAY, J.; MARIETTA, E. Celiac Disease – Advances in Treatment via Gluten Modification. **Clinical Gastroenterol Hepatology**, v. 8, n. 10, p. 859-862, 2012.

SUANTAK, K., et al. Characterization of Banana And Orange Peels: Biosorption Mechanism. **International Journal of Science Technology & Management**. v. 2, p. 1-7, 2011.

TIN, H. S., et al. Effect of Preparation and Extraction Parameters of Banana (*Musa balbisiana* cv. Saba) Inflorescence on their Antibacterial Activities. **Sains Malaysiana**, Malasia, v. 9, n. 49, p. 1301-1307, 2015.

TOLEDO, A. C. O. et al. Fitoterápicos: uma abordagem farmacotécnica. **Revista Lecta**, Bragança Paulista, v. 1, n. 21, p.7-13, 2003.

- TREUTTER, Dieter. Biosynthesis of phenolic compounds and its regulation in apple. **Plant Growth Regulation**, v. 34, n. 1, p.71-89, 2001.
- TYE-DIN, J. A., et al. The effects of ALV003 pre-digestion of gluten on immune response and symptoms in celiac disease in vivo. **Clinical Immunology**, v. 134, n. 3, p. 289-295, 2010.
- TYMOCZKO, J. L.; BERG, J. M.; STRYER, L., Bioquímica Fundamental. **Ed. Guanabara koogan**, Cap.5, p. 69-85, 2010.
- UGBOGU, E.A. et al. Toxicological profile of the aqueousfermented extract of *Musa paradisiaca* in rats. **Avicenna Journal Phytomedicine**, v.8 n. 6, p. 478-487, 2018.
- UNPROMMA, S.; INGKANINAN, K.; WARANUCH, N. Development and validation of HPLC analysis for banana bunch extract. **Naresuan University Journal: Science And Technology**, v. 12, n. 0, p.11-19, 2016.
- VALENTE, A.L.P.; COLLINS, C.H.; MANFREDI, J.E. Conceitos básicos de cromatografia líquida de alta eficiência. **Química Nova**, São Paulo, p.103-109, 1983.
- VAZQUEZ-ROQUE, M.; OXENTENKO, A. S. Nonceliac Gluten Sensitivity. **Mayo Clinic Proceedings**, v. 90, n. 9, p. 1272-1277, 2015.
- VERDU, E. F.; ARMSTRONG, D.; MURRAY, J. A. Between Celiac Disease and Irritable Bowel Syndrome: The ‘No Man’s Land’ of Gluten Sensitivity. **The American Journal of Gastroenterology** v. 104 n. 6, p. 1587–1594, 2009.
- VIEGAS JR, C.; BOLZANI, V. S. Os Produtos Naturais E A Química Medicinal Moderna, **Química Nova**, v. 29, n. 2, p. 326-337, 2006.
- VIVANCO, J. M. et al., **Mecanismos químicos de defensa en las plantas, Investigación y Ciencia: Edición Española de Scientific American**, v. 341, p. 68-75, 2005.
- VIZZOTTO, M.; KROLOW, A. C.; WEBE, G. E. B.,Metabólitos Secundários Encontrados em Plantas e sua Importância. **Embrapa**, 2010.
- VOJDANI, A. et al. Immune Response to Dietary Proteins, Gliadin and Cerebellar Peptides in Children with Autism. **Nutritional Neuroscience**, v. 7, n. 3, p.151-161, 2004.
- VU, H. T.; SCARLETT, C. J.; VUONG, Q. V. Effects of drying conditions on physicochemical and antioxidant properties of banana (*Musa cavendish*) peels. **Drying Technology**, v. 35, n. 9, p. 1141-1151, 2017.
- WRIGHT, D. H., The major complications of coeliac disease. **Baillière's Clinical Gastroenterology**, v. 9, n. 2, p. 351-369, 1995.
- WU, H. et al. Antihyperglycemic Activity of Banana (*Musa nana* Lour.) Peel and Its Active Ingredients in Alloxan-Induced Diabetic Mice. **Proceedings of the 3rd International Conference On Material, Mechanical And Manufacturing Engineering**, p.230-237, 2015.

XIAO, J. et al., Advance in Dietary Polyphenols as Aldose Reductases Inhibitors: Structure-Activity Relationship Aspect. **Critical Reviews In Food Science And Nutrition**, [s.l.], v. 55, n. 1, p.16-31, 8 ago. 2014.

YADAV, R. B.; YADAV, B. S.; DHULL, N. Effect of Incorporation of Plantain and Chickpea Flours on the Quality Characteristics of Biscuits. **Journal of food science and technology** v. 49 n. 2, p. 207–213, 2012.

YAN, H. et al. Simultaneous determination of four plant hormones in bananas by molecularly imprinted solid-phase extraction coupled with high performance liquid chromatography. **The Analyst**, v. 137, n. 12, p.2884-2890, 2012.

YUAN, J. et al. The Tip of the “Celiac Iceberg” in China: A Systematic Review and Meta-Analysis. **Plos One**, v. 8, n. 12, p. e81151, 2013.

ZANDONADI, R. P. et al. Green Banana Pasta: an alternative for gluten-free diet. **Journal of the Academy of Nutrition and Dietetics**, v. 112, n. 7, p. 1068-1072, 2012.