

Atendendo solicitação do(a) autor(a), o texto completo desta tese/dissertação será disponibilizado somente a partir de 12/02/2024

At the author's request, the full text of this thesis / dissertation will not be available online until February 12, 2024

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “Julio de Mesquita Filho”

FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA

CÂMPUS DE BOTUCATU

**ABORDAGEM METALOPROTEÔMICA DE MACRO E MICROMINERAIS EM
BOVINOS NELORE CONFINADOS COM DIFERENTES NÍVEIS DE FARELO DE
GLÚTEN DE MILHO**

WELLINGTON LUIZ DE PAULA ARAÚJO
ZOOTECNISTA

Tese apresentada ao Programa de
Pós-graduação em Zootecnia
como parte das exigências para a
Defesa de Doutorado.

BOTUCATU - SP
Fevereiro – 2022

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “Julio de Mesquita Filho”

FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA

CÂMPUS DE BOTUCATU

**ABORDAGEM METALOPROTEÔMICA DE MACRO E MICROMINERAIS
EM BOVINOS NELORE CONFINADOS COM DIFERENTES NÍVEIS DE
FARELO DE GLÚTEN DE MILHO**

WELLINGTON LUIZ DE PAULA ARAÚJO

ZOOTECNISTA

Orientador: Prof. Dr. Pedro de Magalhães Padilha

Coorientadores: Prof. Dr. Mário de Beni Arrigoni

Dr. José Cavalcante Souza Vieira

Tese apresentada ao Programa de
Pós-graduação em Zootecnia
como parte das exigências para a
Defesa de Doutorado.

BOTUCATU – SP

Fevereiro – 2022

A663a

Araújo, Wellington Luiz de Paula

Abordagem metaloproteômica de macro e microminerais em bovinos nelore confinados com diferentes níveis de farelo de glúten de milho / Wellington Luiz de Paula Araújo. -- Botucatu, 2022

113 p. : il., tabs., fotos

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista (Unesp),
Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Botucatu

Orientador: Pedro de Magalhães Padilha

Coorientador: Mário De Beni Arrigoni

1. Nutrição animal. 2. Metaloproteínas. 3. Espectrometria de massas. 4. GFAAS e FAAS. 5. 2D-PAGE. I. Título.

Sistema de geração automática de fichas catalográficas da Unesp. Biblioteca da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Botucatu. Dados fornecidos pelo autor(a).

Essa ficha não pode ser modificada.

BIOGRAFIA DO AUTOR

Wellington Luiz de Paula Araújo, nascido em 20 de março de 1991, na cidade de Viçosa-MG, filho de Vicente de Araújo e Maria Efigênia de Paula Araújo, ingressou no curso de Zootecnia do Instituto Federal de Educação, Ciências e Tecnologia do Sudeste de MG - Campus Rio Pomba em 28 de Fevereiro de 2011, finalizando a graduação em 20 de Dezembro de 2015. Foi bolsista de iniciação científica, desenvolvendo 3 projetos: Anatomia comparativa de espécies de *Brachiaria sp.*; Influência do tamanho de partículas na ingestibilidade, digestibilidade e ganho de peso de bovinos; Produção de pólen em abelhas africanizadas submetidas a diferentes suplementações energético-proteicos. Participou do Projeto Rondon –Operação Velho Monge e do Projeto de Extensão “Puro Leite”. Além disso, foi monitor em sete disciplinas e estagiário nos setores de produção da faculdade. É Mestre em Zootecnia, com ênfase em Nutrição e Alimentação Animal pelo programa de Pós-Graduação na Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia - FMVZ - Unesp – Botucatu (2016 -2018), onde foi orientador de 2 projetos de TCC e Estágios Supervisionados. Iniciou o curso de Doutorado em Zootecnia em 01 de março de 2018 pelo mesmo programa, desenvolvendo pesquisa com exigências nutricionais de animais, qualidade da carne, fracionamento e caracterização de proteínas e metaloproteínas (eletroforese 2D-PAGE e espectrometria de massa), e quantificação de micro e macrominerais por espectrometria de absorção atômica. Também realizou Doutorado Sanduíche, desenvolvendo atividades relacionadas a proteômica/ metabolômica de bovinos, junto a University of Nebraska - Lincoln, Estados Unidos, pelo período de um ano. No período de Pós-Graduação, foi bolsista CAPES e também bolsista FAPESP.

Dedicatória

Dedico esta conquista à minha família, meus pais Vicente e Maria, minha irmã Uli e minha sobrinha Ana Julia.

Agradecimento

A Deus, por sempre me guiar, iluminar, dar forças para superar todas as barreiras e ser cada vez melhor.

Ao Prof. Dr. Pedro de Magalhães Padilha pela oportunidade de orientação, pela amizade, por todos os ensinamentos, incentivo e disponibilidade de sempre.

Ao Prof. Dr. Mário de Beni Arrigoni, pela orientação, amizade e por junto a Prof^ª. Dra. Cyntia Ludovico Martins e ao Prof. Dr. Otávio Rodrigues Machado Neto por terem aberto as portas do confinamento experimental da faculdade para que o experimento fosse realizado.

A equipe do confinamento, Hugo Lennon Corrêa, Mateus Silva Ferreira, Bismarck Moreira Santiago e Tainá Eburnêo Martins, obrigado pela experiências, convivência e aprendizado.

A todos os estagiários e também aos integrantes da Empresa Júnior NUTRIR – UNESP, pela participação ao longo de todo o período experimental. Sem a ajuda e colaboração de vocês não teríamos concluído esse projeto com sucesso;

Ao Dr. José Cavalcante Souza Vieira, amigo e sempre disponível e pronto a ajudar. Obrigado pela orientação e ensinamentos.

A Cléo, ao Mateus e a Isabela, pelas conversas, por serem exemplos e estarem presentes sempre...

A Ana Bárbara Domingues Sartor, minha noiva, parceira e amiga em todas as horas, por me apoiar, acompanhar e sempre estar do meu lado. Esta conquista também é sua.

Aos meus pais, exemplos de humildade, vida e sabedoria. Sempre me dando todo o suporte em cada passo.

A University of Nebraska/Lincoln e todos que convivi e aprendi, Jiri Adamec, Camila Pereira Braga, Dana Adamec, André Mauric...

À Comissão de Aperfeiçoamento Pessoal do Nível Superior – CAPES, pela concessão das bolsas de estudo (PROEX (Programa de Excelência Acadêmica), o presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.

A CAPES-PrInt (PRINT - PROGRAMA INSTITUCIONAL DE INTERNACIONALIZAÇÃO). Por fomentar o período de Doutorado Sanduiche na University of Nebraska/Lincoln.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo pelo bolsa concedida e apoio financeiro por meio da reserva técnica de Bolsa Regular de Doutorado (Processo 2018/25969-8).

A empresa Nutron/Cargil representado por Dr. Pedro Veiga Paulino pela parceria em projeto de pesquisa com a UNESP.

A Unesp-Botucatu, em especial ao Departamento de Química e Bioquímica – IB, e a FMVZ por concederem a estrutura e equipamentos para realização das análises laboratoriais e experimentais.

Aos funcionários da seção técnica de pós-graduação da FMVZ, Claudia Cristina e Ellen Cassimiro por todo apoio.

Ao Programa de Pós-graduação em Zootecnia e a excelente equipe de professores e funcionários.

À equipe do Laboratório de Bioanálítica e Metaloproteômica – LBM, José Cavalcante Souza Vieira, Leone Campos Rocha, Andrey Sávio de Almeida Assunção, Renata Aparecida Martins, Grasieli de Oliveira, Izabela da Cunha Bataglioli, Otávio Augusto de Freitas Apostólico e Maria Gabriela de Albuquerque Santiago.

E a todos os amigos que fiz na UNESP...

MUITO OBRIGADO!

Epígrafe

“O desejo é a própria essência do homem.”

(Baruch de Espinoza)

RESUMO GERAL

Embora o perfil proteômico do músculo *longissimus thoracis* tenha sido relatado em estudos no Brasil e em outros países, dados disponíveis na literatura sobre alterações no proteoma de bovinos, ainda são poucos, particularmente sobre mudanças no perfil das proteínas e na interação com mineral em bovinos de corte. Na raça Nelore essas dificuldades se tornam ainda maiores. **Artigo 1 (Capítulo II):** o objetivo do presente estudo foi avaliar os efeitos de diferentes níveis de Farelo de Glúten de Milho (DCGF – “*Dry Corn Gluten Feed*”) na dieta de terminação de bovinos Nelore, machos, não castrados, sobre características da qualidade da carne e do metaloproteoma do tecido muscular e da carne. **Artigo 2 (Capítulo III):** objetivou avaliar a inclusão de diferentes níveis de DCGF no perfil mineral e proteico (metaloproteômico) do tecido hepático de bovinos Nelore na terminação em confinamento e sobre a expressão de importantes proteínas no metabolismo animal. Para isto, foram utilizados 120 bovinos, machos não castrados, Nelore, com peso médio inicial de 361 kg, oriundos de pastagem, do mesmo rebanho. As dietas experimentais foram compostas de diferentes níveis de inclusão de DCGF (0%, 18%, 36% e 54%) em substituição ao milho grão. Após a coleta das amostras biológicas, foi obtido o proteoma por 2D PAGE, e utilizando o ImageMaster 2D Platinum 7.0, foi realizadas análises de expressão dos *spots* proteicos. A identificação das proteínas foi feita por cromatografia líquida–espectrometria de massa (LC-MS/MS). Após isso, foram determinados os minerais por espectrometria de absorção atômica com chama (FAAS) e forno de grafite (GFAAS). Por fim, estudos de bioinformática através de softwares específicos, foram identificados os níveis funcionais, vias metabólicas e interações metal-proteína. Os resultados mostraram diferenças na expressão de proteínas do tecido muscular e da carne. Porém o Farelo de Glúten de Milho (DCGF) não se mostrou prejudicial à saúde hepática, sendo o ferro e o zinco os principais minerais do estudo, aparecendo em maiores frequências nos *spots* proteicos. A inclusão de DCGF nas dietas de terminação aumentou a ingestão de matéria seca, o ganho de peso diário, e o peso corporal final de bovinos Nelore. Diante disso, é indicado o uso do Farelo de Glúten de Milho seco como alternativa viável para inclusão na dieta quando se trata desses parâmetros, uma vez que não afetou negativamente o produto final, nem apresentou prejuízo à saúde animal.

Palavras-chave: tecido muscular e hepático, nutrição animal, metaloproteômica, perfil mineral-proteico, 2D-PAGE, GFAAS e FAAS, LC-MS/MS.

ABSTRACT

Although the proteomic profile of the longissimus thoracis muscle has been reported in studies in Brazil and in other countries, the data available in the literature on alterations in the bovine proteome are still few, mainly on alterations in the protein profile and in the interaction with minerals in beef cattle. In the Nelore breed these difficulties become even greater. **Manuscript 1** (Chapter II): the goal of the present study was to evaluate the effects of different levels of Corn Gluten Flour (DCGF – “Dry Corn Gluten Feed”) in the finishing diet of uncastrated male Nellore cattle on beef quality and the metalloproteome of muscle tissue and meat. **Manuscript 2** (Chapter III): aimed to evaluate the inclusion of different levels of DCGF in the mineral and protein (metalloproteomic) profile of the liver tissue of Nellore cattle in feedlot finishing and in the expression of important proteins in animal metabolism. For this, 120 bovines, not castrated males, of the Nelore breed, with an average initial weight of 361 kg, coming from pasture, from the same herd, were used. The experimental diets were composed of different levels of inclusion of DCGF (0%, 18%, 36% and 54%) in replacement of corn grain. After the collection of biological samples, the proteome was obtained by 2D PAGE, and using ImageMaster 2D Platinum 7.0, analyzes of expression of protein spots. Protein identification was performed by liquid chromatography-mass spectrometry (LC-MS/MS). Then, the minerals were determined by flame atomic absorption spectrometry (FAAS) and graphite furnace (GFAAS). Finally, bioinformatics studies were identified using specific software, functional levels, metabolic pathways and metal-protein interactions. The results showed differences in the expression of muscle tissue and meat proteins. However, corn gluten meal (DCGF) was not shown to be harmful to liver health, with iron and zinc being the main minerals in the study, appearing more frequently in protein spots. The inclusion of DCGF in finishing diets increased dry matter intake, daily weight gain and final body weight of Nellore cattle. Therefore, the use of dry corn gluten meal is indicated as a viable alternative for inclusion in the diet when it comes to these parameters, since it did not negatively affect the final product, nor did it harm animal health.

Keywords: muscle and liver tissue, animal nutrition, metalloproteomics, mineral-protein profile, 2D-PAGE, GFAAS and FAAS, LC-MS/MS.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

CAPÍTULO I

- Figura 1: Fluxograma do processo de moagem úmida do milho, com destaque para a obtenção do Farelo de Glúten de Milho. Adaptado de: Fernandes, 2003.21
- Figura 2: Fluxo de trabalho da estratégia proteômica 2D-PAGE adotada em bovinos.....29

CAPÍTULO II

- Figura 1: Fluxograma da metodologia do estudo.....40
- Figura 2. Diagrama do estudo molecular correlacionando com de qualidade de carne.....43
- Figure 3: Gel de poliacrilamida com *spots* proteicos de tecido muscular bovino identificados por LC-MS/MS.....48
- Figura 4: Gel de poliacrilamida com *spots* proteicos de carne bovina identificados por LC-MS/MS.....48

ANEXO

- Figura 5: Análise da interação proteína-proteína realizada pela String 11.0 de proteínas diferencialmente expressas no músculo *Longissimus lumborum thoracis*, na carne e proteínas presentes em ambos os tecidos de Bovinos Nelore.....56
- Figura 6: Incidência de *spots* no tecido muscular com cada mineral avaliado nos diferentes níveis de inclusão de DCGF.....73
- Figura 7: Incidência de *spots* na carne com cada mineral avaliado nos diferentes níveis de inclusão de DCGF.....73

CAPÍTULO III

- Figura 1: Fluxograma da metodologia de estudo.....88
- Figura 2: Gel de poliacrilamida com spots proteicos de tecido hepático de bovinos identificados por LC-MS/MS.94*
- Figura 3: Incidência de spots no tecido hepático com cada mineral avaliado nos diferentes níveis de inclusão de DCGF.107
- Figura 4: Análise da interação proteína-proteína realizada pela String 11.0 de proteínas diferencialmente expressas no tecido hepático de Bovinos Nelore.108

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO II

Tabela 1. Composição das dietas experimentais.....39

ANEXO

Tabela 2: Ingestão de MS e performance de bovinos Nelore alimentados com diferentes níveis de DCFG.....56

Tabela 3: Características de qualidade de carcaça e carne de touros Nelore alimentados com níveis crescentes de Farelo de Glúten de milho (DCGF) seco na dieta de terminação.....56

Tabela 4: Presença de minerais em *spots* proteicos que apresentaram diferença de expressão no tecido muscular de bovinos alimentados com 0% (T1), 18% (T2), 36% (T3) e 54% (T4) de Farelo de Glúten de Milho (DCGF).....58

Tabela 5: Presença de minerais em *spots* proteicos que apresentaram diferença de expressão na carne de bovinos alimentados com 0% (T1), 18% (T2), 36% (T3) e 54% (T4) de Farelo de Glúten de Milho (DCGF).....61

Tabela 6: Identificação de proteínas com diferentes expressões no tecido muscular de bovinos alimentados com diferentes níveis de inclusão de Farelo de Glúten de Milho (DCGF). A análise da expressão dos pontos foi realizada usando o Programa ImageMaster Platinum com a identificação de proteínas por LC-MS/MS. Positivo (+) os valores mostram uma tendência potencial de expansão e os valores negativos (-) mostram potenciais reduções na expressão. O sinal Ø significa que não houve expressão. Esses valores são avaliados em comparação com o tratamento controle, sem inclusão de Farelo de Glúten de Milho.....65

Tabela 7: Identificação de proteínas com diferentes expressões na carne de bovinos alimentados com diferentes níveis de inclusão de Farelo de Glúten de Milho (DCGF). A análise da expressão dos pontos foi realizada usando o Programa ImageMaster Platinum com a identificação de proteínas por LC-MS/MS. Positivo (+) os valores mostram uma tendência potencial de expansão e os valores negativos (-) mostram potenciais reduções na expressão. O sinal Ø significa que não houve expressão. Esses valores são avaliados em comparação com o tratamento controle, sem inclusão de Farelo de Glúten de Milho.....67

Tabela 8: Concentração de zinco, manganês, cálcio, ferro, cobre e magnésio (ng mL⁻¹) de acordo com cada *spots* protéicos das amostras do tecido muscular no período ante rigor mortis dos grupos (T1, T2, T3 e T4), nos quais foram analisados quanto a presença desses elementos. Os mesmos são representados na figura 3, e na tabela 4 quanto as proteínas identificadas.....74

Tabela 9: Concentração de zinco, manganês, cálcio, ferro, cobre e magnésio (ng mL⁻¹) de acordo com cada *spots* protéicos das amostras de carne (tecido muscular no período post rigor mortis) dos grupos (T1, T2, T3 e T4), nos quais foram analisados quanto a presença desses elementos. Os mesmos são representados na figura 4, e na tabela 5 quanto as proteínas identificadas.....77

CAPÍTULO II

Tabela 1. Composição das dietas experimentais.....	88
--	----

ANEXO

Tabela 2: Presença de minerais em <i>spots</i> proteicos que apresentaram diferença de expressão no tecido hepático de bovinos alimentados com 0%, 18%, 36% e 54% de Farelo de Glúten de milho (DCGF).....	101
--	-----

Tabela 3: Identificação de proteínas com diferentes expressões no tecido <i>hepático</i> de bovinos alimentados com diferentes níveis de inclusão de Farelo de Glúten de Milho (DCGF). A análise da expressão dos pontos foi realizada usando o Programa ImageMaster Platinum com a identificação de proteínas por <i>LC-MS/MS</i> . Positivo (+) os valores mostram uma tendência potencial de expansão e os valores negativos (-) mostram potenciais reduções na expressão. O sinal Ø significa que não houve expressão. Esses valores são avaliados em comparação com o tratamento controle, sem inclusão de Farelo de Glúten de Milho.....	102
--	-----

Tabela 4: Concentração de zinco, manganês, cálcio, ferro, cobre e magnésio (ng mL ⁻¹) de acordo com cada <i>spots</i> protéicos das amostras de fígado dos grupos (T1, T2, T3 e T4), nos quais foram analisados quanto a presença desses elementos. Os mesmos são representados na figura 2, e na tabela 2 quanto as proteínas identificadas.....	106
---	-----

Tabela 5: Ingestão de MS e performace de bovinos Nelore alimentados com diferentes níveis de DCFG.....	108
--	-----

Sumário

CAPÍTULO I.....	15
CONSIDERAÇÕES INICIAIS.....	16
1- REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	18
1.1 QUALIDADE DE CARNE.....	18
1.2 FARELO DE GLÚTEN DE MILHO (DCGF).....	20
1.3. METALOPROTEÔMICA.....	23
1.3.1. Eletroforese bidimensional (2D-PAGE).....	24
1.3.2. Espectrometria de absorção atômica com chama (FAAS) e forno de grafite (GFAAS).....	25
1.3.3. Espectrometria de massas – MS.....	25
2- JUSTIFICATIVA E OBJETIVO.....	27
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	30
CAPÍTULO II.....	35
RESUMO.....	36
1. INTRODUÇÃO.....	37
2. MATERIAL E MÉTODOS.....	39
2.1. Confinamento experimental.....	40
2.2. Abate e características de carcaça.....	41
2.3. Coleta de amostras do tecido muscular (<i>Longissimus thoracis</i>).....	41
2.4. Qualidade de carne.....	42
2.4.1. Força de cisalhamento.....	42
2.4.2. Área de olho de lombo e gordura de cobertura.....	42
2.4.3. Coloração instrumental da carne.....	42
2.5. Estudo metaloproteômico do tecido muscular.....	42
2.5.1. Procedimentos de extração e precipitação das proteínas.....	44
2.5.2. Fracionamento do proteoma das amostras de músculo LT por 2D PAGE e tratamento de imagem.....	44
2.5.3. Determinação de minerais de spots proteicos do músculo LT.....	45
2.5.4. Caracterização dos spots proteicos por LC-MS/MS.....	45
2.5.5. Tratamento e análise de imagens.....	46
2.6. Análises estatísticas.....	46
3- RESULTADOS.....	47
4- DISCUSSÃO.....	49
5- CONCLUSÃO.....	55
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS:.....	81
CAPÍTULO III.....	85
RESUMO.....	86
1. INTRODUÇÃO.....	87
2. MATERIAL E MÉTODOS.....	88

2.1. Confinamento experimental	88
2.2. Abate	90
2.3. Coleta de amostras do tecido hepático	90
2.4. Estudo metaloproteômico do tecido hepático	90
2.4.1. <i>Procedimentos de extração e precipitação das proteínas.</i>	90
2.4.2. <i>Eletroforese em gel bidimensional e tratamento de imagem</i>	91
2.4.3. <i>Determinação de minerais nas amostras de spots proteicos do tecido hepático</i>	91
2.4.4. <i>Caracterização dos spots proteicos por LC-MS/MS</i>	92
2.4.5. <i>Tratamento e análise de imagens</i>	92
2.5. Análises estatísticas	93
3. RESULTADOS	93
4. DISCUSSÃO	95
5. CONCLUSÃO	100
REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA:	109
CAPÍTULO IV	112
IMPLICAÇÕES	113

CAPÍTULO I

CONSIDERAÇÕES INICIAIS

O Brasil possui o maior rebanho bovino comercial do mundo, sendo o maior exportador e segundo maior produtor de carne bovina (USDA, 2020), produzindo cerca de 9,9 milhões de toneladas ao ano (DEPEC, 2019), ficando em segundo lugar nas fontes de proteína animal produzidas no país, atrás somente da carne avícola. O consumo de carne bovina, segundo o Departamento de Pesquisas e Estudos Econômicos (2019), é estimado hoje em 31,5 kg/habitante/ano, representando uma parcela significativa como fonte proteica no país.

Dentre os alimentos, a carne vermelha é uma das fontes mais nutritivas usadas no consumo humano, sendo principalmente fonte de proteínas de alta qualidade, minerais, vitamina A e vitaminas do complexo B (ABERLE, 2001).

Considerado um alimento nobre, a carne sempre teve uma posição de destaque na mesa das famílias ocidentais, destacando-se entre os alimentos mais consumidos, apresentando alto teor e valor biológico de suas proteínas e quantidades significativas de vitaminas do complexo B e minerais como ferro e zinco, que atendem em grande parte às necessidades nutricionais humanas (BRASIL, 1988; HOLM & MOHL, 2000), além de fósforo, potássio, e magnésio (ROÇA, 2007). Sendo assim, dentre várias fontes alimentares existentes à disposição do homem, a carne é o alimento que sempre esteve presente durante toda evolução (RAMOS, 2008).

Com 21% de proteína em média, a carne bovina auxilia no suprimento das necessidades nutricionais de um humano, que se dá por 0,8g/kg de peso corporal, sendo necessária a ingestão de duas porções de carne diárias (125g/porção), se considerada como fonte proteica única para um adulto de aproximadamente 70 kg. Rica em aminoácidos, dentre eles pode-se destacar o triptofano, que auxilia na produção do hormônio do crescimento, na síntese proteica, estimula a secreção de insulina e regula mecanismos fisiológicos, sendo essencial para a produção do neurotransmissor serotonina (ROSSI; TIRAPEGUI, 2004). Além disso, é capaz de fornecer também os outros oito aminoácidos essenciais de que o ser humano necessita, sendo eles: fenilalanina, valina, treonina, metionina, leucina, isoleucina, lisina e histidina.

Além disso, a carne transformou-se um alimento de grande consumo, podendo ser usada como indicador de desenvolvimento econômico. Observando que, com o crescimento econômico de um país, há também uma elevação no consumo de carnes e produtos cárneos. Nos EUA, o consumo de carnes, incluindo carne bovina, suína e de aves em 2006, foi estimado em 119,8 Kg/pessoa/ano (em equivalente carcaça), enquanto no Brasil este consumo é de 80,5 Kg/pessoa/ano (ANUALPEC, 2006).

1 Com o passar do tempo, vem aumentando a preocupação por produção de um alimento de
2 melhor qualidade, tendo em vista, mudanças notórias no comportamento dos consumidores,
3 havendo uma procura crescente por alimentos equilibrados do ponto de vista nutricional. O
4 aumento da preocupação dos consumidores sobre os aspectos nutricionais dos alimentos resulta da
5 constatação de que a dieta influencia diretamente na saúde (CARRANÇA, 2021), além de também
6 levar em conta o modo como os animais são criados e abatidos. No futuro, a produção de carne
7 vermelha sofrerá as alterações necessárias, impostas pelos consumidores e pelas entidades
8 mundiais de saúde, para garantir um abastecimento de carne com qualidade e salubridade
9 excelentes, mantendo um adequado binômio nutrição/saúde (LOPES, 2015).

0 Além disso, há outros dois fatores que interferem no consumo de carne: a preocupação com
1 a saúde, como o aumento do colesterol por exemplo, e a preocupação de parte da população com
2 o modo em que os animais são criados e abatidos

3 São poucos os estudos acerca da preferência do consumidor brasileiro, porem alguns aspectos
4 são na compra de carne, por ordem de importância, segurança alimentar (onde a origem e a marca
5 do produto são fundamentais), tipo e tamanho de corte, coloração, gordura de cobertura e maciez
6 da carne. Portanto, o aspecto visual influencia muito. Geralmente o consumidor observa traços
7 fenotípicos mais importantes como a cor da carne e tamanho do corte e, principalmente, a
8 quantidade de marmoreio ou gordura intramuscular e gordura subcutânea, assim há maior
9 possibilidade de prever se a carne é macia e suculenta, (MAZZUCHETTI et al., 2004;
0 CHARDULO et al. 2013; VEISETH-KENT, et al., 2018).

1 Mecanismos moleculares associados às possíveis diferenças fenotípicas na carne desses
2 animais ainda são pouco avaliados. A informação proteômica gerada contribui para uma melhor
3 compreensão dos mecanismos moleculares subjacentes às variações de características músculo
4 esquelético bovino, como por exemplo, a variação do pH (POLETI, et al., 2018). Na literatura, é
5 possível encontrar estudos sobre alterações moleculares associadas às características de qualidade
6 de carne bovina como maciez e marmorização (SHEN *et al.*, 2012; OUALI *et al.*, 2013;
7 BALDASSINI *et al.*, 2015). No entanto, mais estudos são necessários sobre essas importantes
8 características de qualidade para indústria e consumidores.

9 A proteômica e/ou metalômica podem responder/esclarecer alguns mecanismos do
0 organismo animal. A proteômica envolve o estudo das propriedades das proteínas, como o nível
1 de expressão, modificações pós-traducionais e interações, de modo a obter uma visão geral dos
2 processos celulares (BINNECK, 2014). A metalômica, recente linha científica, permitiu a
3 integração de estudos tradicionalmente analíticos com estudos bioquímicos e fisiológicos. Assim,
4 estudos metalômicos nos organismos vivos podem fornecer informações importantes sobre como

1 uma espécie metálica e/ou metalóide está distribuído e coordenado às proteínas, como também,
2 sua essencialidade e/ou toxicidade, além de sua concentração individual, contribuindo assim no
3 melhor entendimento dos aspectos fisiológicos e funcionais das proteínas (GARCIA *et al.*, 2006).
4 Inserido na metalômica, a “metaloproteômica”, estuda íons metálicos e/ou metalóides que estão
5 complexados às proteínas e/ou enzimas (GARCIA *et al.*, 2006).

6 Nesse contexto a metaloproteômica permite a identificação/caracterização de proteínas
7 biomarcadoras associadas aos macro e microminerais. O aumento ou diminuição de expressão
8 dessas metaloproteínas e/ou *metal binding protein*, frente às diferentes estratégias nutricionais
9 poderão contribuir para o melhor entendimento na composição do proteoma/metaloproteoma de
0 bovinos.

1- REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2 1.1 QUALIDADE DE CARNE

3 A qualidade da carne bovina é definida por diversos fatores, dentre eles, valor nutricional e
4 aspectos sensoriais (ROTA *et al.*, 2004). O grupo genético, a categoria sexual (NOGALSKI *et al.*,
5 2018), e a dieta são frequentemente avaliados como influenciadores dessas características
6 (NUERNBERG *et al.*, 2005), bem como na quantidade da gordura, no pH, na cor, e na presença de
7 antioxidantes (REIS, 2017).

8 Os aspectos sensoriais, também conhecidos como características organolépticas, englobam
9 atributos como cor, brilho, maciez, sabor, suculência, textura e odor e, mais além, aspectos
0 relacionados à gordura, como cor, gordura de cobertura e marmoreio (FARMER & FARRELL,
1 2018). Consideram-se ainda fundamentais outros dois fatores para que a carne seja avaliada quanto
2 à sua qualidade (LADEIRA *et al.*, 2019), sendo a sanidade definida como a carga mínima de
3 contaminantes e patógenos exigidos por lei para carnes e embutidos, e a composição química, que
4 refere-se aos parâmetros nutricionais envolvendo teores de proteína, vitaminas, minerais, e perfil
5 de ácidos graxos, além da proporção de músculo e gordura. A composição química, bem como as
6 características organolépticas, estão intimamente ligadas ao manejo nutricional ao qual os animais
7 são submetidos, e relacionam-se também aos níveis de aceitabilidade do consumidor no momento
8 da escolha do produto (FERREIRA *et al.*, 2019). Portanto, a qualidade da dieta interfere
9 diretamente na qualidade da carne (BURGGRAAF *et al.*, 2020), e os estudos nessa área vem sendo
0 constantemente explorados através de alternativas como o uso de coprodutos da indústria de milho
1 (REIS *et al.*, 2019; ROEBER *et al.*, 2005) e aditivos alimentares (ORNAGHI *et al.*, 2020),
2 (RABELO *et al.*, 2016).

1 GSTA1 (Glutathione S-transferase A1) pode desempenhar um papel importante na biossíntese
2 hormonal. Por meio da sua atividade de peroxidase dependente de glutathione em direção ao
3 hidroperóxido de ácido graxo, também está envolvida no metabolismo do ácido linoleico. Já a
4 GSTA2 (Glutathione S-transferase A2) participa da conjugação de glutathione reduzida a
5 eletrófilos hidrofóbicos exógenos e endógenos. Ambas apresentaram menores expressões nos
6 tratamentos com a presença de DCGF.

7 Por fim, o processo metabólico de modificação celular de aminoácidos relaciona-se com
8 a atuação da ASS1 e da GATM. ASS1 (Argininosuccinato sintase) é uma das enzimas do ciclo
9 da uréia, a via metabólica que transforma a amônia neurotóxica produzida pelo catabolismo
10 proteico em uréia inócua no fígado de animais ureotélicos. A GATM (Glicina
11 amidinotransferase mitocondrial) catalisa a biossíntese de guanidinoacetato, o precursor
12 imediato da creatina. A creatina desempenha um papel vital no metabolismo energético nos
13 tecidos musculares. Pode desempenhar um papel no desenvolvimento embrionário e do sistema
14 nervoso central. São importantes enzimas do metabolismo hepático, e não apresentaram
15 diferenças de expressão significativas entre tratamentos.

17 5. CONCLUSÃO

18 De modo geral, o Farelo de Glúten de Milho (DCGF) não se mostrou prejudicial à saúde
19 hepática. Foram encontradas proteínas importantes relacionadas à manutenção de
20 processos biológicos, e a resposta hepática aos diferentes tratamentos indica bons
21 resultados para a inclusão do subproduto na dieta. O ferro e o zinco apareceram em
22 maiores frequências nos *spots* proteicos, sendo fundamentais na atuação de determinadas
23 enzimas. Diante disto, a inclusão de 36% de DCGF mostrou-se a melhor recomendação
24 em substituição ao milho moído, pois apresentou melhores resultados de desempenho, sem
25 prejuízo à saúde animal.

REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA:

- Baldassini, W. A., Bonilha, S. F. M., Branco, R. H., Vieira, J. C. S., Padilha, P. M., & Lanna, D. P. D. (2018). Proteomic investigation of liver from beef cattle (*Bos indicus*) divergently ranked on residual feed intake. *Molecular biology reports*, 45(6), 2765-2773.
- Beauchemin, K.A., Koenig, K.M., **Feedlot cattle diets based on barley or corn supplemented with dry corn gluten feed evaluated using the NRC and CNCPS beef models** *Can. J. Anim. Sci.*, 85 (2005), pp. 365-375.
- Bittarello, A. C., Vieira, J. C. S., Braga, C. P., de Paula Araújo, W. L., da Cunha Bataglioli, I., da Silva, J. M., da Silva, Buzalaf, M.A.R., Fleuri, L.F., Padilha, P.M., **Characterization of molecular biomarkers of mercury exposure to muscle tissue of *Plagioscion squamosissimus* and *Colossoma macropomum* from the Amazon region.** *Food Chem.*, 276 (2019), pp. 247-254.
- Braga, C. P., Bittarello, A. C., Padilha, C. C. F., Leite, A. L., Moraes, P. M., Buzalaf, M. A. R., R., Zara, L.F., Padilha, P. M. **Mercury fractionation in dourada (*Brachyplatystoma rousseauxii*) of the Madeira River in Brazil using metalloproteomic strategies** *Talanta*, 132 (2015), pp. 239-244.
- Braga, C. P., Vieira, J. C. S., Grove, R. A., Boone, C. H., de Lima Leite, A., Buzalaf, M. A. R., ... & de Magalhaes Padilha, P. (2017). A proteomic approach to identify metalloproteins and metal-binding proteins in liver from diabetic rats. *International journal of biological macromolecules*, 96, 817-832.
- CRICHTON, R. R.; *Biological Inorganic Chemistry – An Introduction*. Oxford, Elsevier, 2008. P. 369.
- Firkins, J.L., Berger, L.L., Fahey, G.C., 1985. Evaluation of wet and dry distillers grains and wet and dry corn gluten feeds for ruminants. *J. Anim. Sci.* 60, 847–860.
- GUYTON Arthur C., **Tratado de Fisiologia Médica**, M, 9 ed., Guanabara Koogan, Rio de Janeiro, c. 70, p. 672, 1997.
- HULS, T. J., M. K. LUEBBE, G. E. ERICKSON, T. J. KLOPFENSTEIN. 2008. Effect of inclusion level of modified wet distillers grains plus solubles on feedlot performance and carcass characteristics. *Journal of Animal Science*. 86(Suppl. 2):118.
- Itzhaki, R. F., & Gill, D. M. (1964). **A micro-biuret method for estimating proteins.** *Analytical biochemistry*, 9(4), 401-410.
- KLOPFENSTEIN, T. J., G. E. ERICKSON, V. R. BREMER. 2008. BOARD-INVITED REVIEW: Use of distillers by-products in the beef cattle feeding industry. *Journal of*

animal science, 86(5):1223-1231.

- LARSON, E. M., R. A. STOCK, T. J. KLOPFENSTEIN, M. H. SINDT, R.P. HUFFMAN. 1993. Feeding value of wet distillers byproducts for finishing ruminants. *Journal of Animal Science*, 71(8):2228-2236.
- Lima, P. M., de CF Neves, R., Dos Santos, F. A., Pérez, C. A., Da Silva, M. O., Arruda, M. A., ... & Padilha, P. M. (2010). Analytical approach to the metallomic of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) liver tissue by SRXRF and FAAS after 2D-PAGE separation: preliminary results. *Talanta*, 82(3), 1052-1056.
- LIU, K. Effects of particle size distribution, compositional and color properties of ground corn on quality of distillers dried grains with solubles (DDGS). *Bioresource technology*, 100(19):4433-4440, 2009.
- McDOWELL, L.R. Minerals in animal and human nutrition. San Diego: Academic Press, p.524, 1992.
- Moraes S.S. 1998. Avaliação das concentrações de ferro, manganês e ferro no fígado de bovinos e ovinos de várias regiões do Brasil. *Pesq. Vet. Bras.* 18(3/4):107-110.
- Moraes, P, Santos, F. A., Padilha, C. C. F., Vieira, J. C. S., Zara, L. F., Padilha, PM (2012). A Preliminary and Qualitative Metallomics Study of Mercury in the Muscle of Fish from Amazonas, Brazil. *Biological Trace Element Research*, v. 150, p. 195-199.
- Moraes, P. M., Santos, F. A., Cavecci, B., Padilha, C. C., Vieira, J. C., Roldan, P. S., & Padilha, P. D. M. **GFAAS determination of mercury in muscle samples of fish from Amazon Brazil.** *Food Chem.*, 141 (2013), pp. 2614-2617.
- MORAES, S. S. Embrapa gado de corte: Principais deficiências minerais em bovinos de corte. Embrapa Gado de Corte, Campo Grande MS, 2001.
- NRC – National Research Council. 2007. Nutrient Requirements of Small Ruminants: Sheep, Goats, Cervids, and New World Camelids Washington, DC: The National Academies Press. <https://doi.org/10.17226/11654>.
- Pereira, E. M., Santos, F. A. P., Bittar, C. M. M., Ramalho, T. R., Costa, D. F. A., & Martinez, J. C. (2007). Substituição do milho por farelo de trigo ou farelo de glúten de milho na ração de bovinos de corte em terminação. *Acta Scientiarum. Animal Sciences*, 29(1), 49-55.
- PINTO, A. C. J., & D. D. MILLEN. 2016. Situação atual da engorda de bovinos em confinamento e modelos nutricionais em uso. In: Sebastião de Campos Valadares Filho et al.. (Org.). *Simpósio de Produção de Gado de Corte (X Simcorte)*. 1ed. Viçosa/MG: UFV, 1:103-120.

- RESTLE, J., R. L. MISSIO, P. L. P. RESENDE, N. L. Q. SILVA, F. N. VAZ, I. L. BRONDANI, F. KUSS. 2012. Silagem de híbridos de sorgo associado a percentagens de concentrado no desempenho de novilhos. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, 64(5):1239-1245.
- SCHOONMAKER, J. P., A. H. TRENKLE, D. C. BEITZ. 2010. Effect of feeding wet distillers grains on performance, marbling deposition, and fatty acid content of beef from steers fed low-or high-forage diets. *Journal of animal science*, 88(11):3657-3665.
- SCOTTÁ, B.A. et al. Influência dos minerais quelatados e inorgânicos no metabolismo, desempenho, qualidade da carcaça e da carne de frangos de corte. *PUBVET, Londrina*, v.8, N. 9, Ed. 258, Art. 1710, 2014.
- Tokarnia C.H., Canella C.F.C., Guimarães J.A. & Döbereiner J. 1968. Deficiências de cobre e cobalto em bovinos e ovinos no nordeste e norte do Brasil. *Pesq. Agropec. Bras.* 3:351-360.
- Tokarnia C.H., Guimarães J.A., Canella C.F.C. & Döbereiner J. 1971. Deficiências de cobre e cobalto em bovinos e ovinos em algumas regiões do Brasil. *Pesq. Agropec. Bras.* 6:61-77.
- Vieira, J. C. S., Braga, C. P., de Oliveira, G., de Lima Leite, A., de Queiroz, J. V., Cavecci, B., Bittarello, A.C., Buzalaf, M.A.R., Zara, L.F., & de Magalhães Padilha, P. **Identification of protein biomarkers of mercury toxicity in fish.** *Environ. Chem. Lett.*, 15 (2017), pp. 717-724.
- WATSON, A. K., K. J. VANDER POL, T. J. HULS, M. K. LUEBBE, G. E. ERICKSON, T. J. KLOPFENSTEIN, M. A. GREENQUIST. 2014. Effect of dietary inclusion of wet or modified distillers grains plus solubles on performance of finishing cattle. *The Professional Animal Scientist*, 30(6):585-596.
- Zinn, R.A., Shen, Y., 1998. An evaluation of ruminally degradable intake protein and metabolizable amino acid requirements of feedlot calves. *J. Anim. Sci.* <https://doi.org/10.2527/1998.7651280x>.