POLLYANA LEITE MATIOLI GARBOSSA

**Influência da condição sexual de bovinos cruzados Angus x Nelore
terminados em confinamento sobre a proteólise *post mortem* e
maciez da carne**

Pirassununga

2021

POLLYANA LEITE MATIOLI GARBOSSA

Influência da condição sexual de bovinos cruzados Angus x Nelore terminados em confinamento sobre a proteólise *post mortem* e maciez da carne

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Nutrição e Produção Animal da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Mestre em Ciências.

Departamento:

Nutrição e Produção Animal

Área de concentração:

Nutrição e Produção Animal

Orientadora:

Prof. Dra. Angélica Simone Cravo Pereira

Coorientadora:

Prof. Dra. Mirele Daiana Poleti

Pirassununga
2021

Obs.: A versão original encontra-se disponível na Biblioteca da FMVZ/USP.

Autorizo a reprodução parcial ou total desta obra, para fins acadêmicos, desde que citada a fonte.

DADOS INTERNACIONAIS DE CATALOGAÇÃO NA PUBLICAÇÃO

(Biblioteca Virginie Buff D'Ápice da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo)

T. 4056
FMVZ

Garbossa, Pollyana Leite Matioli
Influência da condição sexual de bovinos cruzados Angus x Nelore terminados em confinamento sobre a proteólise *post mortem* e maciez da carne / Pollyana Leite Matioli Garbossa. – 2021.
257 f. : il.

Dissertação (Mestrado) – Universidade de São Paulo. Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia. Departamento de Nutrição e Produção Animal, Pirassununga, 2021.

Programa de Pós-Graduação: Nutrição e Produção Animal.

Área de concentração: Nutrição e Produção Animal.

Orientadora: Profa. Dra. Angélica Simone Cravo Pereira.

Coorientadora: Profa. Dra. Mirele Daiana Poleti.

1. Qualidade da carne. 2. Maturação. 3. Força de cisalhamento. 4. Degradação muscular. 5. Proteômica muscular. I. Título.

CERTIFICADO

Certificamos que a proposta intitulada "Influência da condição sexual de bovinos cruzados Angus x Nelore terminados em confinamento sobre a proteólise post mortem e maciez", protocolada sob o CEUA nº 1643171218 (ID 006255), sob a responsabilidade de **Angélica Simone Cravo Pereira e equipe; Pollyana Leite Matioli Garbossa; Lenise Freitas Mueller da Silveira** - que envolve a produção, manutenção e/ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto o homem), para fins de pesquisa científica ou ensino - está de acordo com os preceitos da Lei 11.794 de 8 de outubro de 2008, com o Decreto 6.899 de 15 de julho de 2009, bem como com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA), e foi **aprovada** pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo (CEUA/FMVZ) na reunião de 07/03/2019.

We certify that the proposal "Influence of sexual condition of feedlot crossbred Angus x Nellore cattle on postmortem proteolysis and tenderness ", utilizing 150 Bovines (males and females), protocol number CEUA 1643171218 (ID 006255), under the responsibility of **Angélica Simone Cravo Pereira and team; Pollyana Leite Matioli Garbossa; Lenise Freitas Mueller da Silveira** - which involves the production, maintenance and/or use of animals belonging to the phylum Chordata, subphylum Vertebrata (except human beings), for scientific research purposes or teaching - is in accordance with Law 11.794 of October 8, 2008, Decree 6899 of July 15, 2009, as well as with the rules issued by the National Council for Control of Animal Experimentation (CONCEA), and was **approved** by the Ethic Committee on Animal Use of the School of Veterinary Medicine and Animal Science (University of São Paulo) (CEUA/FMVZ) in the meeting of 03/07/2019.

Finalidade da Proposta: **Pesquisa**

Vigência da Proposta: de **03/2019** a **03/2019**

Área: **Nutrição E Produção Animal**

Origem: **Animais provenientes de estabelecimentos comerciais**

Espécie: **Bovinos**

sexo: **Machos e Fêmeas**

idade: **11 a 16 meses**

N: **150**

Linhagem: **F1 Angus x Nelore**

Peso: **220 a 500 kg**

Local do experimento: Confinamento: Fazenda Letícia (Grupo Piveta) - Rio Verde de Mato Grosso - MS. Abate e coleta de amostras: Frigorífico Frizelo - Terenos - MS. Desossa e coleta de amostras: VPJ Alimentos - Pirassununga - SP. Análises laboratoriais de qualidade de carne: FMVZ USP. Análises laboratoriais de proteólise: FZEA USP.

São Paulo, 07 de março de 2019

Profa. Dra. Anneliese de Souza Traldi
Presidente da Comissão de Ética no Uso de Animais
Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade
de São Paulo

Roseli da Costa Gomes
Secretária
Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade
de São Paulo

USP - FACULDADE DE
ZOOTECNIA E ENGENHARIA
DE ALIMENTOS DA
UNIVERSIDADE DE SÃO

PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Influência da condição sexual de bovinos cruzados Angus x Nelore terminados em confinamento sobre a proteólise post mortem e maciez

Pesquisador: POLLYANA LEITE MATIOLI GARBOSSA

Área Temática:

Versão: 3

CAAE: 24354019.5.0000.5422

Instituição Proponente: UNIVERSIDADE DE SAO PAULO

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 3.806.518

Recomendações:

Não há recomendações para a atual versão do projeto.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Não há pendências ou inadequações que impeçam o desenvolvimento da pesquisa.

Considerações Finais a critério do CEP:

Este CEPH FZEA aprova o desenvolvimento do projeto, a partir desta data.

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_1445089.pdf	18/12/2019 13:20:12		Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE_Pollyana_corrigido_2.pdf	18/12/2019 13:18:58	POLLYANA LEITE MATIOLI GARBOSSA	Aceito
Folha de Rosto	Folha_de_Rosto_Pollyana.pdf	21/10/2019 13:11:26	POLLYANA LEITE MATIOLI	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	Projeto_Detalhado_Pollyana.pdf	30/09/2019 17:23:06	POLLYANA LEITE MATIOLI GARBOSSA	Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

PIRASSUNUNGA, 22 de Janeiro de 2020

Assinado por:

Judite das Graças Lapa Guimarães
(Coordenador(a))

FOLHA DE AVALIAÇÃO

Autor: GARBOSSA, Pollyana Leite Mاتيoli

Título: **Influência da condição sexual de bovinos cruzados Angus x Nelore terminados em confinamento sobre a proteólise *post mortem* e maciez da carne**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Nutrição e Produção Animal da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Mestre em Ciências.

Data: ____/____/____

Banca Examinadora

Prof. Dr. _____

Instituição: _____ Julgamento: _____

Prof. Dr. _____

Instituição: _____ Julgamento: _____

Prof. Dr. _____

Instituição: _____ Julgamento: _____

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho a todos que compartilharam suas vidas comigo, animais e humanos, deixando um pouquinho de si e levando um pouquinho de mim. Todos foram essenciais para que eu chegasse até aqui!

AGRADECIMENTOS

À Família Leite Matioli, minha família, por sempre confiar nas minhas escolhas, me incentivar a sonhar e me apoiar na luta pelas minhas próprias conquistas. Por estarem comigo nos momentos bons e também nos infortúnios. Por cuidarem de mim sempre que a minha saúde se debilita. Obrigada por compreenderem minha ausência em alguns momentos! Vocês são o meu alicerce! Amo muito vocês!

Ao amor da minha vida, meu esposo Cesar, por andar ao meu lado e me entusiasmar a dar cada novo passo no caminho que escolhemos seguir juntos; por também me segurar e me levantar a cada tropeço ou tombo. Por todo o amor, respeito, carinho, cuidado, cumplicidade, amizade, paciência e orientação. Admiro e me orgulho muito de você! Que sorte a minha em ter você! Eu amo MUITO você!

Aos meus pets, que já se foram e os que estão aqui, que me mostraram o amor incondicional, que foram o motivo principal para eu escolher a Medicina Veterinária, que me fizeram feliz todos os dias da minha vida e que sempre foram a minha terapia, me ajudando a melhorar a cada dia. Sou muito grata pela vida de cada um de vocês!

Às Professoras Angélica e Mirele pela orientação e por todos os ensinamentos acadêmicos, profissionais e de vida! Muito obrigada por acreditarem e confiarem na minha capacidade e por todo o apoio durante o meu mestrado! Conto com vocês nas próximas etapas da minha vida acadêmica e espero, de coração, que o nosso laço nunca se desfaça na vida pessoal! Os mais sinceros agradecimentos, devo a vocês!

A todos da equipe do Laboratório de Ciência da Carne e do Laboratório de Pesquisa em Gado de Corte, que me acolheram e sempre se puseram dispostos a me ensinar e ajudar! Nada disto teria acontecido sem o auxílio de vocês! À VPJ Alimentos, empresa parceira, que forneceu as amostras de carne do experimento, e

ao Grupo Piveta pelo acesso às suas instalações. Aproveito para agradecer especialmente à Lenise, minha companheira de experimento!

À minha amiga Taiane, por toda a paciência, orientação acadêmica e de vida, sensibilidade, sensatez, carinho, por tudo o que vivemos juntas, por todas as palavras de conforto, por sempre conseguir me acalmar nos meus momentos de angústia, por ter doado tanto do seu intelecto a favor deste trabalho e pela paz que me transmite! À minha amiga Adrielle, que me conquistou desde o primeiro momento com seu jeitinho travesso, que tanto me ensinou, fosse no âmbito científico, na lida do dia a dia ou nos processos administrativos (risos), por todo o apoio, carinho, momentos de descontração, cantorias na estrada, por ter oferecido sua alegria e animação aos meus momentos de seriedade, me contagiando com sua serenidade. Meninas, muito obrigada pela nossa linda amizade!

Aos companheiros do Laboratório de Estudos Avançados em Ciência da Carne, pela colaboração na análise proteômica, pelos lanches compartilhados no laboratório, fosse no meio da tarde ou às altas horas da noite, pelas diversas gargalhadas e momentos agradáveis!

Ao Programa de Pós-Graduação em Nutrição e Produção Animal, ao Departamento de Nutrição e Produção Animal, à Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia e à Universidade de São Paulo, por acreditarem no meu potencial, muito obrigada! Ao Professor Júlio Balieiro, pelo apoio e colaboração na análise proteômica deste estudo.

A todos os colaboradores do Departamento de Nutrição e Produção Animal, que tanto contribuíram para que o meu dia a dia fosse mais tranquilo!

À Família Pospissil Garbossa, que também é a minha família, por todo amor, apoio e incentivo que sempre me dão, bem como por todos os momentos maravilhosos que passamos juntos! Amo vocês!

Ao Schmidt, que é um grande amigo e que tanto me ensinou sobre ser Veterinária! Por todos os momentos que tivemos juntos, fosse correndo atrás das

vacas ou correndo delas, arriscando nossas vidas (risos) para pegar um bezerro, ou atolados no barro, a diversão e o aprendizado foram garantidos! E ainda tenho muito o que aprender com você! Quero um dia trabalhar com o mesmo amor e dedicação que você faz o seu trabalho! Você é um dos grandes presentes que Pirassununga nos deu, ao Cesar e a mim!

À Val e à Jaque, por todos os cafés-da-manhã compartilhados, pelas gargalhadas e por todo o cuidado, preocupação, atenção e carinho que têm comigo! Vocês também são grandes presentes que recebemos dessa cidade! À psicóloga Marcela, por nossas inúmeras horas de terapia e por tanto ter me ajudado a me conhecer melhor e a ser uma pessoa melhor!

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (processo 2018/24624-7), pela bolsa de mestrado concedida, bem como à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior. Agradeço especialmente ao Renato Alves de Moraes, do Escritório de Apoio Institucional ao Pesquisador, por toda a sua disponibilidade em tirar as minhas dúvidas e me ajudar!

A todos que colaboraram para que a realização deste trabalho fosse possível, meus sinceros agradecimentos!

Por último, e ao mais importante de todos, ó Deus, muito obrigada por sempre guiar o meu caminho e cuidar de mim!

“Gib dem Menschen einen Hund und seine Seele wird gesund.”

“Dê ao homem um cachorro e sua alma será curada”

Hildegard von Bingen

RESUMO

GARBOSSA, P. L. M. **Influência da condição sexual de bovinos cruzados Angus x Nelore terminados em confinamento sobre a proteólise *post mortem* e maciez da carne**. 2021. 257 f. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2021.

O consumidor brasileiro de carne diferenciada vem exigindo, cada vez mais, carne de qualidade extra e para que esse produto seja produzido, o cruzamento industrial entre raças bovinas tem sido amplamente utilizado. Ainda, é possível adotar outras estratégias para complementar as vantagens do cruzamento, como o uso das diferentes condições sexuais. Contudo, não são completamente conhecidos os mecanismos moleculares que contribuem para as variações na maciez da carne, decorrentes da condição sexual dos bovinos e também do processo de maturação. Portanto, objetivou-se avaliar a influência da condição sexual na qualidade da carne e, sobretudo, na maciez da carne de bovinos cruzados, bem como aprofundar os conhecimentos por meio da avaliação do perfil proteico do músculo *Longissimus* entre as condições sexuais e durante a proteólise *post mortem*. Foram utilizados 150 bovinos F1 Angus x Nelore, pertencentes ao mesmo grupo contemporâneo, com idade média de abate de 16 meses, divididos nas condições sexuais fêmeas, machos castrados e machos não castrados. Os animais foram confinados e mantidos sob as mesmas condições de manejo e dieta, por 150 dias. Posteriormente, os animais foram abatidos e durante a sangria foram coletadas amostras de sangue para quantificação hormonal. Foi avaliado o pH 24 h *post mortem* e durante a desossa foram avaliadas a área de olho de lombo, a espessura de gordura subcutânea e a marmorização no músculo *Longissimus*. Foram coletadas amostras do mesmo músculo e maturadas sob temperatura entre 0 e 2 °C para análises de comprimento de sarcômero (dois e sete dias de maturação), cor, perdas totais por cocção, força de cisalhamento (dois, sete, 14 e 21 dias de maturação) e análise sensorial (14 dias de maturação). Para análise do perfil proteico, alíquotas do músculo *Longissimus* foram coletadas no momento do abate e ao final dos períodos de maturação de dois e sete dias. As condições sexuais, bem como os períodos de maturação, alteram o perfil proteico do músculo *Longissimus*, influenciando a proteólise *post mortem*, afetando, conseqüentemente, a maciez da carne. As condições sexuais dos bovinos que permitem a produção de carne mais

macia, com menor período de maturação, são machos castrados e fêmeas. Os provadores consumidores preferem a carne de machos castrados, a qual eles julgaram como mais macia e mais succulenta, em relação às demais. Em síntese, as bandas dos géis de eletroforese unidimensional, que evidenciaram particularidades em cada condição sexual, ao longo dos períodos de maturação, foram aquelas nas quais constam proteínas principalmente do metabolismo energético. Portanto, acredita-se que a chave das particularidades entre as condições sexuais de bovinos, bem como da proteólise *post mortem*, encontra-se nessa via. Ainda, destaca-se a importância dos processos biológicos de estruturação e contração muscular, transporte de íons e resposta ao estresse celular, para o desenvolvimento da maciez da carne bovina. Por fim, o presente estudo aponta as proteínas AGL, ANXA6, EEF1A2, LDB3, PGAM2, AK1 e TNNC2 como potenciais biomarcadoras para maciez de carne bovina.

Palavras-chave: Qualidade da carne. Maturação. Força de cisalhamento. Degradação muscular. Proteômica muscular.

ABSTRACT

GARBOSSA, P. L. M. **Influence of sex class of feedlot crossbred Angus x Nellore cattle on *post mortem* proteolysis and beef tenderness**. 2021. 257 f. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2021.

The Brazilian consumer of differentiated meat is increasingly demanding extra quality meat and to produce this product, crossbred bovine breeds have been widely used. Furthermore, it is possible to adopt other strategies to complement the advantages of the crossbred breeds, as the use of different sex classes. However, the molecular mechanisms that contribute to the variations in meat tenderness resulting from the sex class and also from the aging process are not completely known. Therefore, we aimed to evaluate the influence of sex class on meat quality and, mainly on meat tenderness of crossbred cattle, as well as to deepen the knowledge by the evaluation of *Longissimus* muscle protein profile during *post mortem* proteolysis. Were used 150 F1 Angus x Nellore cattle, from the same contemporary group, with an average slaughter age of 16 months, divided into heifers, steers, and bulls. The animals were confined and kept under the same conditions of management and diet, for 150 days. Subsequently, the animals were harvested and during bleeding, blood samples were collected for hormonal quantification. The pH was evaluated 24 h *post mortem* and, during boning, were evaluated the rib eye area, subcutaneous fat thickness, and marbling in the *Longissimus* muscle. Samples of the same muscle were collected and aged at temperatures between 0 and 2 °C for the sarcomere length analysis (two and seven days of aging), color, total cooking losses, Warner-Bratzler shear force (two, seven, 14, and 21 days of aging) and sensory analysis (14 days of aging). For the protein profile analysis, aliquots of *Longissimus* muscle were collected during harvest and at the end of the aging periods of two and seven days. Sex classes, as well as aging periods, change the *Longissimus* muscle protein profile, influencing *post mortem* proteolysis, consequently affecting the meat tenderness. The cattle sex classes that allow the production of tender meat, with a shorter aging period, are steers and heifers. Consumer panelists prefer the meat of steers, which they judged to more tender and juicier over the counterparts. In summary, the unidimensional electrophoresis bands, which showed particularities in each sex class, throughout the aging periods, were those in which proteins are mainly found in energy metabolism.

Therefore, it is believed that the key to the particularity between the cattle sex classes, as well as *post mortem* proteolysis, lies in this pathway. Moreover, the importance of the biological processes of muscle structuring and contraction, ion transport, and response to cellular stress is highlighted for the development of beef tenderness. Finally, the present study points out the proteins AGL, ANXA6, EEF1A2, LDB3, PGAM2, AK1, and TNNC2 as potential biomarkers for beef tenderness.

Keywords: Meat quality. Aging. Shear force. Muscle degradation. Muscle proteomics.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Gráfico 1 - Força de cisalhamento da carne de bovinos <i>Bos taurus</i> x <i>Bos indicus</i> de diferentes condições sexuais (MC, F e MNC) terminados em confinamento	131
Figura 1 - Animais ao início do período experimental	77
Figura 2 - Animais após pesagem para determinação dos 50 animais que compuseram cada grupo experimental	78
Figura 3 - Acesso dos animais aos cochos	79
Figura 4 - Animais ao final do período experimental	81
Figura 5 - Embarque dos animais para transporte até o frigorífico comercial	81
Figura 6 - Animais separados por condição sexual no curral de espera do frigorífico.....	81
Figura 7 - Coleta das amostras de sangue	82
Figura 8 - Coleta dos bifes para a realização das análises	83
Figura 9 - Análise de comprimento de sarcômero por meio do método de difração a laser.....	85
Figura 10 - Avaliação da cor, com uso de colorímetro portátil.....	86
Figura 11 - Amostras sendo assadas com controle individual da temperatura interna dos bifes por termopares	87
Figura 12 - Lâmina Warner-Bratzler acoplada ao texturômetro para realização da análise da força de cisalhamento	87
Figura 13 - Gel de eletroforese unidimensional de amostras de músculo Longissimus de bovinos <i>Bos taurus</i> x <i>Bos indicus</i> de diferentes condições sexuais (F, MNC e MC) demonstrando o número de bandas detectadas e comuns entre as condições sexuais	132
Figura 14 - Rede de interação proteína-proteína, com enriquecimento de cluster String, das principais proteínas identificadas nas bandas diferencialmente abundantes, de acordo com o escore, entre as condições sexuais (F, MC e MNC) de bovinos cruzados <i>Bos taurus</i> x <i>Bos indicus</i> terminados em confinamento	144
Figura 15 - Rede de interação proteína-proteína, com enriquecimento de cluster String, das principais proteínas identificadas nas bandas diferencialmente abundantes, de acordo com o escore, ao longo dos períodos de maturação, em cada condição sexual (F, MC e MNC) de bovinos cruzados <i>Bos taurus</i> x <i>Bos indicus</i> terminados em confinamento	145
Figura 16 - Gel de eletroforese unidimensional de amostras de músculo Longissimus de bovinos cruzados <i>Bos taurus</i> x <i>Bos indicus</i> demonstrando o número de bandas detectadas e comuns entre os diferentes períodos de maturação	186
Figura 17 - Rede de interação proteína-proteína, com enriquecimento de cluster String, das principais proteínas identificadas nas bandas diferencialmente abundantes, de acordo com o escore, ao longo dos períodos de maturação da carne de bovinos cruzados <i>Bos taurus</i> x <i>Bos indicus</i> terminados em confinamento	194
Figura 18 - Rede de interação proteína-proteína predita pelo software String 11.0 das proteínas identificadas nas bandas diferencialmente abundantes	

	entre as condições sexuais (F, MC e MNC) de bovinos cruzados <i>Bos taurus</i> x <i>Bos indicus</i> terminados em confinamento	255
Figura 19 -	Rede de interação proteína-proteína predita pelo software String 11.0 das proteínas identificadas nas bandas diferencialmente abundantes ao longo dos períodos de maturação (zero, dois e sete dias), em cada condição sexual, de bovinos cruzados <i>Bos taurus</i> x <i>Bos indicus</i> terminados em confinamento	256
Figura 20 -	Rede de interação proteína-proteína predita pelo software String 11.0 das proteínas identificadas nas bandas diferencialmente abundantes entre os períodos de maturação da carne de bovinos cruzados <i>Bos taurus</i> x <i>Bos indicus</i> terminados em confinamento	257

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Composição percentual da dieta (na matéria seca)	80
Tabela 2 - Quantificação hormonal de bovinos Angus x Nelore de diferentes condições sexuais (MC, F e MNC) terminados em confinamento	90
Tabela 3 - Desempenho e características de carcaça de bovinos Angus x Nelore de diferentes condições sexuais (MC, F e MNC) terminados em confinamento	95
Tabela 4 - Cor da carne de bovinos Angus x Nelore de diferentes condições sexuais (MC, F e MNC) terminados em confinamento	100
Tabela 5 - Comprimento de sarcômero da carne de bovinos Angus x Nelore de diferentes condições sexuais (MC, F e MNC) terminados em confinamento nos períodos de maturação de dois e sete dias.....	101
Tabela 6 - Perdas totais por cocção e força de cisalhamento da carne de bovinos Angus x Nelore de diferentes condições sexuais (MC, F, MCN) terminados em confinamento	105
Tabela 7 - Características avaliadas na análise sensorial da carne aos 14 dias de maturação de bovinos Angus x Nelore de diferentes condições sexuais (MC, F e MNC) terminados em confinamento	108
Tabela 8 - Bandas dos géis de eletroforese unidimensional diferencialmente abundantes entre as condições sexuais (F, MC e MNC) de bovinos cruzados <i>Bos taurus</i> x <i>Bos indicus</i> terminados em confinamento.....	133
Tabela 9 - Bandas dos géis de eletroforese unidimensional diferencialmente abundantes ao longo dos períodos de maturação (zero, dois e sete dias), em cada condição sexual (F, MC e MNC), de bovinos cruzados <i>Bos taurus</i> x <i>Bos indicus</i> terminados em confinamento	135
Tabela 10 - Proteínas identificadas nas bandas diferencialmente abundantes dos géis SDS-PAGE entre as condições sexuais (F, MC e MNC) de bovinos cruzados <i>Bos taurus</i> x <i>Bos indicus</i> terminados em confinamento	137
Tabela 11 - Proteínas identificadas nas bandas diferencialmente abundantes dos géis SDS-PAGE ao longo dos períodos de maturação (zero, dois e sete dias), em cada condição sexual, de bovinos cruzados <i>Bos taurus</i> x <i>Bos indicus</i> terminados em confinamento	139
Tabela 12 - Vias KEGG enriquecidas das proteínas identificadas nas bandas diferencialmente abundantes entre as condições sexuais (F, MC e MNC) de bovinos cruzados <i>Bos taurus</i> x <i>Bos indicus</i> terminados em confinamento	142
Tabela 13 - Vias KEGG enriquecidas das proteínas identificadas nas bandas diferencialmente abundantes ao longo dos períodos de maturação, em cada condição sexual de bovinos cruzados <i>Bos taurus</i> x <i>Bos indicus</i> terminados em confinamento	143
Tabela 14 - Força de cisalhamento da carne de bovinos cruzados <i>Bos taurus</i> x <i>Bos indicus</i> terminados em confinamento maturada por diferentes períodos de maturação (dois, sete, 14 e 21 dias).....	185
Tabela 15 - Bandas dos géis de eletroforese unidimensional diferencialmente abundantes ao longo dos períodos de maturação (zero, dois e sete dias) da carne de bovinos cruzados <i>Bos taurus</i> x <i>Bos indicus</i> terminados em confinamento	188

Tabela 16 - Proteínas identificadas nas bandas diferencialmente abundantes dos géis SDS-PAGE entre os diferentes períodos de maturação da carne de bovinos cruzados <i>Bos taurus</i> x <i>Bos indicus</i> terminados em confinamento.....	189
Tabela 17 - Vias KEGG enriquecidas das proteínas identificadas nas bandas diferencialmente abundantes ao longo dos períodos de maturação da carne de bovinos cruzados <i>Bos taurus</i> x <i>Bos indicus</i> terminados em confinamento.....	193
Tabela 18 - Proteínas identificadas nas bandas diferencialmente abundantes dos géis SDS-PAGE e seus respectivos processos biológicos descritos no Uniprot.....	240

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

A1BG	Alfa-1B-glicoproteína
ACADVL	Acil-CoA desidrogenase específica de cadeia muito longa, mitocondrial
ACTA1	Actina, músculo esquelético alfa
ACTC1	Actina, músculo alfa cardíaco 1
ACTH	Hormônio adrenocorticotrófico
ACTN1	Isoforma do citoesqueleto de alfa-actinina
ACTN2	Alfa-actinina-2
ACTN3	alfa-actinina-3
ACTN4	Alfa-actinina-4
ADP	Difosfato de adenosina
ADSL	Adenilossuccinato liase
AGL	4-alfa-glucanotransferase
AHCY	Adenosil-homocisteinase
AK1	Isoenzima 1 de adenilato quinase
AKR1B1	Membro B1 da família 1 de aldo-ceto redutase
ALB	Albumina
ALDH1A1	Desidrogenase retinal 1
ALDH2	Aldeído desidrogenase, mitocondrial
ALDH7A1	Alfa-aminoadípico semialdeído desidrogenase
ALDOA	Frutose-bisfosfato aldolase
AMPD1	AMP deaminase
ANXA2	Anexina A2
ANXA5	Anexina A5
ANXA6	Anexina A6
AOL	Área de olho de lombo
ARVC	Cardiomiopatia arritmogênica do ventrículo direito
AS	Análise sensorial
ASPH	Aspartil/asparaginil beta-hidroxilase
ASTM	<i>American Society for Testing and Materials</i> (Sociedade Americana de Ensaio e Materiais)
ATP	Trifosfato de adenosina
ATP2A1	Cálcio ATPase 1 do retículo sarcoendoplasmático

ATP2A2	ATPase transportadora de cálcio
ATP5F1A	ATP sintetase subunidade alfa
ATP5F1B	ATP sintetase subunidade beta, mitocondrial
ATP5F1C	ATP sintetase subunidade gama, mitocondrial
ATP5PD	Subunidade d da ATP sintase, mitocondrial
ATP5PO	Subunidade de haste periférica OSCP da ATP sintase
BIN1	Integrador de ponte 1
CA2	Anidrase carbônica 2
CA3	Anidrase carbônica 3
CACNB1	Isoforma 2 da subunidade beta-1 do canal de cálcio tipo L dependente de voltagem
CACNB3	Subunidade beta 3 do canal de cálcio dependente da voltagem
CACNB4	Subunidade auxiliar beta 4 do canal controlado por voltagem de cálcio
CALM	Calmodulina
CAPN1	Subunidade catalítica da Calpaína-1
CAPNS1	Subunidade menor 1 da calpaína
CAPES	Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior
CNPEM	Centro Nacional de Pesquisa em Energia e Materiais
CNPq	Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico
CAPZA2	Subunidade alfa da proteína F-actina
CAPZB	Subunidade beta da proteína F-actina
CASQ1	Calsequestrina
CAVIN1	Proteína 1 associada à caveolina
CHCHD3	Subunidade MIC19 do complex MICOS
CKM	Creatina quinase tipo M
CKMT2	Creatina quinase tipo S, mitocondrial
CRAT	Carnitina O-acetiltransferase
CRH	Hormônio liberador de corticotrofina
CRYAB	Cadeia alfa-cristalina B
CRYZ	Zeta-cristalina
CS	Comprimento de sarcômero
CSRP3	Proteína 3 rica em cisteína e glicina
CYB5R1	NADH-citocromo b5 redutase 1
CYC1	Citocromo c1, proteína heme, mitocondrial

DCM	Cardiomiopatia dilatada
DCUN1D1	Proteína semelhante a DCN1
DES	Desmina
DEP	Diferença esperada na progênie
DFD	<i>Dark, firm, and dry</i> (escura, firme e seca)
DHAP	fosfato de diidroxiacetona
DHRS7C	Isoforma 2 do membro 7C da família SDR desidrogenase/redutase
DLAT	Componente acetiltransferase do complexo piruvato desidrogenase
DLD	Diidrolipoil desidrogenase
DLST	Diidrolipoilisina-resíduo succiniltransferase componente do complexo 2-oxoglutarato desidrogenase, mitocondrial
DNPEP	Aspartilaminopeptidase
DUSP3	Fosfatase de proteína de especificidade dupla
EEF1A2	Fator de alongamento 1-alfa 2
EGS	Espessura de gordura subcutânea
EIF4A2	RNA helicase
ENO1	Alfa-enolase
ENO3	2-fosfo-D-glicerato hidro-liase
F	Fêmeas
F1	Animais meio sangue, filhos da primeira geração do cruzamento
FAPESP	Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo
FBP2	Frutose-1,6-bifosfatase isoenzima 2
FC	Força de cisalhamento
FGG	Cadeia gama-B de fibrinogênio
FHL1	Proteína 1 de quatro domínios e meio LIM
FMVZ/USP	Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo
FSH	Hormônio folículo estimulante
FZEA/USP	Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos da Universidade de São Paulo
GAPDH	Gliceraldeído-3-fosfato desidrogenase
GDE	Enzima de desramificação do glicogênio (do inglês, <i>glycogen debranching enzyme</i>)
GLOD4	Proteína 4 contendo domínio de glioxalase

GnRH	Hormônio liberador de corticotrofina
GOT2	Aspartato aminotransferase, mitocondrial
GPD1	Glicerol-3-fosfato desidrogenase [NAD (+)], citoplasmático
GPD	Ganho de peso médio diário
GPI	Glicose-6-fosfato isomerase
GSTM1	Glutathione S-transferase Mu 1
GSTM1	Glutathione transferase
H2BC14	Proteína 14 agrupada à histona H2B
HADHA	Enoil-CoA hidratase
HCM	Cardiomiopatia hipertrófica
HPA	Eixo hipotálamo-hipófise-adrenal (do inglês, <i>hypothalamic-pituitary-adrenal axis</i>)
HPG	Eixo hipotálamo-hipófise-gonadal (do inglês, <i>hypothalamic-pituitary-gonadal axis</i>)
HSP90AA1	Proteína de choque térmico HSP 90-alfa
HSPs	Proteínas de choque térmico
HSPA1A	Proteína 1A de choque térmico de 70 kDa
HSPA1B	Proteína 1B de choque térmico de 70 kDa
HSPA1L	Proteína semelhante-1 de choque térmico de 70 kDa
HSPA5	Chaperona BiP do retículo endoplasmático
HSPA5	Chaperona BiP do retículo endoplasmático
HSPA6	Membro 6 da família A (HSP70) de proteína de choque térmico
HSPA8	Proteína cognata de choque térmico de 71 kDa
HSPB1	Proteína beta-1 de choque térmico
HSPB6	Proteína beta-6 de choque térmico
HSPD1	Chaperonina de 60 kDa
IDH2	Isocitrato desidrogenase [NADP], mitocondrial
KEGG	<i>Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes</i>
KLHL40	Proteína KBTBD5
KLHL41	Proteína contendo domínio BTB
LAAQC	Laboratório de Avaliação Animal e Qualidade da Carne
LAP3	Citosol aminopeptidase
LCC	Laboratório de Ciência da Carne
LC-MS/MS	Cromatografia líquida acoplada à espectrometria de massas

LDB3	Proteína 3 de ligação ao domínio LIM
LDHA	Cadeia A de L-lactato desidrogenase
LDHAL6B	L-lactato desidrogenase A-like 6B
LEACC	Laboratório de Estudos Avançados em Ciência da Carne
LH	Hormônio luteinizante
LOC510369	Hipoxantina fosforibosiltransferase
MACROD1	ADP-ribose glicohidrolase MACROD1
MAP3K20	Proteína contendo domínio de proteína quinase
MAR	Escore de marmorização
MC	Machos castrados
MCP	Complexo multicatalítico de proteinase
MDH2	Malato desidrogenase, mitocondrial
MNC	Machos não castrados
MPST	Sulfurtransferase
MT-CO2	Subunidade 2 da enzima citocromo c oxidase
MYBPC1	Proteína C1 de ligação à miosina
MYBPC2	Proteína C2 de ligação à miosina
MYH1	Miosina-1
MYH13	Cadeia pesada 13 da miosina
MYH2	Miosina-2
MYH3	Proteína MYH3
MYH4	Cadeia pesada 4 da miosina
MYH6	Cadeia pesada 6 da miosina
MYH7	Miosina-7
MYH8	Cadeia pesada 8 da miosina
MYL1	Cadeia leve 1/3 da miosina, isoforma de músculo esquelético
MYL2	Cadeia leve regulatória 2 da miosina, isoforma ventricular/músculo cardíaco
MYL3	Cadeia leve 3 da miosina
MYL6	Polipeptídeo leve 6 da miosina
MYLPF	Cadeia leve regulatória 2 da miosina, isoforma do músculo esquelético
MYOM1	Miomesina-1
MYOM2	Miomesina 2
MYOM3	Miomesina 3

MYOZ1	Myozenina-1
MYOZ3	Miozenina 3
NDRG2	Proteína NDRG2
NDUFA10	NADH desidrogenase (ubiquinona) subcomplexo alfa subunidade 10, mitocondrial
NDUFS1	Subunidade de 75 kDa da NADH-ubiquinona oxidoreductase, mitocondrial
NDUFV2	Flavoproteína 2 da NADH desidrogenase (ubiquinona), mitocondrial
NPEPPS	Aminopectidase
NRC	<i>National Research Council</i>
OGDH	2-oxoglutarato desidrogenase, mitocondrial
O/M	Razão entre oximioglobina e metamioglobina
PCQ	Peso de carcaça quente
PDHB	Subunidade beta do componente E1 da piruvato desidrogenase, mitocondrial
PDLIM5	Proteína 5 dos domínios PDZ e LIM
PEBP1	Proteína 1 de ligação à fosfatidiletanolamina
PFKM	Fosfofrutocinase-6 dependente de ATP, tipo muscular
PGAM2	Fosfoglicerato mutase 2
PGK1	Fosfoglicerato quinase 1
PGM1	Fosfoglicomutase-1
PKM	Piruvato quinase
PRDX2	Peroxiredoxina-2
PRDX6	Peroxiredoxina-6
PSMA1	Subunidade alfa tipo 1 do proteassoma
PSMA6	Subunidade alfa tipo 6 do proteassoma
PVF	Peso vivo final
PVI	Peso vivo inicial
PPC	Perdas totais por cocção
PSE	Pálida, mole e exsudativa (do inglês, <i>pale, soft, and exudative</i>)
PYGB	Glicogênio fosforilase, forma cerebral
PYGM	Alfa-1,4 glucano fosforilase
QH	Quantificação hormonal
QTLs	Locos de características quantitativas

RCQ	Rendimento de carcaça quente
RIISPOA	Regulamento de Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal
ROS	Espécies reativas de oxigênio (do inglês, <i>reactive oxygen species</i>)
RTN2	Reticulon
SDHA	Subunidade da flavoproteína da succinato desidrogenase (ubiquinona), mitocondrial
SDHB	Subunidade ferro-enxofre da succinato desidrogenase (ubiquinona), mitocondrial
SERPINA3-1	Serpina A3-1
SIF	Serviço de Inspeção Federal
SLC25A12	Proteína SLC25A12
SLC25A13	Membro 13 da família 25 de carreador de soluto
SLC25A4	ADP/ATP translocase 1
SLC25A6	ADP/ATP translocase 3
SMYD1	Proteína 1 contendo domínios SET e MYND
SNTB1	Beta-1 sintrofina
SOD2	Superóxido dismutase (Mn), mitocondrial
ST13	Proteína ST13 que interage com Hsp70
STBD1	Domínio 1 de ligação de amido
STRING	<i>Search Tool for the Retrieval of Interacting Genes/Proteins</i>
SYPL2	Proteína 2 semelhante a sinaptofisina
TCA	Ciclo do citrato
TF	Transferrina
TNNC1	Troponina C, músculos esqueléticos lentos e cardíacos
TNNC2	Troponina C2, tipo esquelético rápido
TNNI1	Troponina I1, tipo esquelético lento
TNNI2	Troponina I2, tipo esquelético rápido
TNNT1	Troponina T, músculo esquelético lento
TPI1	Triosefosfato isomerase
TPM4	Tropomiosina 4
TPPP3	Membro 3 da família de proteínas promotoras de polimerização de tubulina
TRIM72	Mitsugumina-53

TUBA1D	Cadeia alfa-1D da tubulina
TUBA4A	Cadeia alfa da tubulina
TUBA8	Cadeia alfa-8 da tubulina
TUBB2A	Cadeia beta da tubulina
TUBB3	Cadeia beta-3 da tubulina
TUBB4A	Cadeia beta-4A da tubulina
TUBB4B	Cadeia beta-4B da tubulina
TUBB5	Cadeia beta-5 da tubulina
TUFM	Fator de alongamento Tu, mitocondrial
UBA1	Enzima 1 de ativação de modificador semelhante à ubiquitina
UCHL3	Isoenzima L3 da hidrolase do terminal carboxila da ubiquitina
UGP2	UTP - glicose-1-fosfato uridililtransferase
VDAC1	Proteína 1 do canal seletivo de ânions dependente de voltagem
VDAC2	Proteína 2 do canal seletivo de ânions dependente de voltagem
VIM	Vimentina
WBSF	Warner-Bratzler <i>Shear Force</i> (força de cisalhamento Warner-Bratzler)
YBX3	Proteína 3 de ligação a Y-box
YWHAB	Protein beta/alpha 14-3-3
YWHAE	Proteína epsilon 14-3-3
YWHAH	Proteína 1 inibidora da proteína quinase C
ZASP	Proteína com motivo PDZ de banda Z emendada alternativa (do inglês, <i>Z-band alternatively spliced PDZ-motif protein</i>)

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO GERAL.....	29
2	REVISÃO DE LITERATURA.....	33
2.1	ATRIBUTOS DE QUALIDADE DA CARNE	33
2.1.1	pH.....	35
2.1.2	Área de olho de lombo, espessura de gordura subcutânea e escore de marmorização	37
2.1.3	Comprimento de sarcômero	38
2.1.4	Cor	41
2.1.5	Perdas totais por cocção	45
2.1.6	Força de cisalhamento	47
2.1.7	Análise sensorial	49
2.1.8	Quantificação hormonal.....	53
2.2	CRUZAMENTO INDUSTRIAL	55
2.3	ESTRATÉGIA DE CONFINAMENTO NA FASE DE TERMINAÇÃO	57
2.4	INFLUÊNCIA DA CONDIÇÃO SEXUAL SOBRE A QUALIDADE DA CARNE DE BOVINOS.....	58
2.4.1	O eixo hipotálamo-hipófise-gonadal em bovinos machos	61
2.5	MACIEZ DA CARNE.....	62
2.5.1	Maturação.....	64
2.5.2	Sistemas proteolíticos	65
3	PRODUÇÃO DE CARNE BOVINA DE QUALIDADE EXTRA: UMA ABORDAGEM DE CONDIÇÃO SEXUAL E MATURAÇÃO DA CARNE PARA ATENDER ÀS DEMANDAS DOS CONSUMIDORES DE CARNE DIFERENCIADA	72
3.1	INTRODUÇÃO.....	74
3.2	MATERIAL E MÉTODOS	77
3.2.1	Instalações, manejo dos animais e dietas.....	77
3.2.2	Abate, desossa e coleta de amostras	82
3.2.3	Análises quantitativas e qualitativas da carcaça e qualitativas da carne	83
3.2.3.1	Ganho de peso médio diário e rendimento de carcaça quente	83
3.2.3.2	pH.....	84
3.2.3.3	Área de olho de lombo, espessura de gordura subcutânea e escore de marmorização.....	84
3.2.3.4	Comprimento de sarcômero	84
3.2.3.5	Cor.....	85
3.2.3.6	Perdas totais por cocção	86
3.2.3.7	Força de cisalhamento	86
3.2.3.8	Análise sensorial da carne <i>in natura</i>	88
3.2.4	Quantificação hormonal.....	88
3.2.5	Análise estatística	89
3.3	RESULTADOS E DISCUSSÃO	89
3.4	CONCLUSÃO.....	108
3.5	AGRADECIMENTOS.....	109
	REFERÊNCIAS.....	110
4	A MACIEZ DA CARNE BOVINA É INFLUENCIADA POR ALTERAÇÕES NO PROTEOMA DO MÚSCULO <i>LONGISSIMUS</i> DEVIDO À CONDIÇÃO SEXUAL E PROTEÓLISE.....	120

4.1	INTRODUÇÃO.....	122
4.2	MATERIAL E MÉTODOS	124
4.2.1	Animais, manejo e dieta.....	124
4.2.2	Abate e coleta de amostras	125
4.2.3	Análises laboratoriais	125
4.2.3.1	Força de cisalhamento	125
4.2.3.2	Análise do perfil proteico	126
4.2.4	Análise estatística	128
4.3	RESULTADOS	129
4.3.1	Efeito da condição sexual e maturação sobre a maciez da carne	129
4.3.2	Efeito da condição sexual no perfil proteico do músculo <i>Longissimus</i> e efeito dos períodos de maturação no proteoma da carne, em cada condição sexual.....	132
4.4	DISCUSSÃO	145
4.4.1	Efeito da condição sexual e maturação sobre a maciez da carne	145
4.4.2	Efeito da condição sexual no perfil proteico do músculo <i>Longissimus</i>	147
4.4.3	Efeito dos períodos de maturação no proteoma da carne, em cada condição sexual.....	152
4.5	CONCLUSÃO	160
4.6	AGRADECIMENTOS.....	161
	REFERÊNCIAS.....	162
5	ANÁLISE PROTEÔMICA APLICADA À CIÊNCIA DA CARNE: CARACTERIZANDO A PROTEÓLISE <i>POST MORTEM</i> EM BOVINOS <i>BOS TAURUS</i> X <i>BOS INDICUS</i>	176
5.1	INTRODUÇÃO.....	178
5.2	MATERIAL E MÉTODOS	179
5.2.1	Animais, manejo e dieta.....	180
5.2.2	Abate e coleta de amostras	180
5.2.3	Análises laboratoriais	180
5.2.3.1	Força de cisalhamento	180
5.2.3.2	Análise do perfil proteico	181
5.2.4	Análise estatística	183
5.3	RESULTADOS E DISCUSSÃO	184
5.3.1	Efeito da proteólise <i>post mortem</i> sobre a maciez da carne	184
5.3.2	Efeito da proteólise <i>post mortem</i> sobre o proteoma do músculo.....	185
5.1	CONCLUSÃO	203
5.2	AGRADECIMENTOS.....	204
	REFERÊNCIAS.....	205
6	CONSIDERAÇÕES FINAIS	217
	REFERÊNCIAS.....	219
	APÊNDICES.....	240

1 INTRODUÇÃO GERAL

O Brasil detém o maior rebanho comercial de bovinos do mundo, com aproximadamente 238 milhões de cabeças, e ocupa a segunda posição no ranking mundial de produção de carne bovina, totalizando em 2019 uma produção de 10,2 milhões de toneladas de carne. Ainda, é o maior exportador de carne do mundo, exportando aproximadamente 2,3 milhões de toneladas de carne em 2019 (USDA, 2020). O rebanho brasileiro é composto principalmente por animais zebuínos (*Bos indicus*) da raça Nelore (FERRAZ; FELÍCIO, 2010; RODRIGUES et al., 2017), devido à sua rusticidade (CARVALHO et al., 2014). Em sua maioria, os animais são não castrados, criados em sistema extensivo, e comumente abatidos com idade elevada (FERRAZ; FELÍCIO, 2010).

Em relação à qualidade da carne, *Bos indicus*, em geral, apresentam alguns atributos desfavoráveis, quando comparados a certas raças taurinas, como menor taxa de deposição de gordura subcutânea, pouca ou ausência de deposição de gordura intramuscular (marmorização) (CROUSE et al., 1989; PEREIRA et al., 2015; RODRIGUES et al., 2017) e uma taxa reduzida de degradação das proteínas miofibrilares durante o armazenamento *post mortem*, devido a uma maior atividade da calpastatina (WHIPPLE et al., 1990; KOOHMARAIE, 1992), o que pode determinar uma carne menos macia.

Nesse sentido, uma das estratégias a fim de minimizar o problema da falta de padronização e qualidade, muitas vezes, desfavorável da carne dos animais zebuínos é o cruzamento com animais taurinos, onde se aproveitam as características desejáveis de ambas subespécies, com uma maior eficiência (CROUSE et al., 1989; WHIPPLE et al., 1990; LAGE et al., 2012; MODZELEWSKA-KAPITUŁA; NOGALSKI, 2014). Dessa forma, o cruzamento entre as raças Nelore e Aberdeen Angus é um dos mais utilizados atualmente no Brasil (ASBIA, 2017).

Além da raça, a idade e a condição sexual dos animais também têm ampla influência sobre a qualidade da carne produzida, por afetarem a deposição de músculo e gordura na carcaça (ZHANG et al., 2010). Os dados sobre a condição sexual dos bovinos abatidos no Brasil são subdivididos de forma generalizada entre as condições (i) machos com dois anos de idade ou mais, não diferindo entre não castrados e castrados; (ii) fêmeas com dois anos de idade ou mais, independentemente de já terem parido ou não; (iii) novilho e novilha, ambos com

menos de dois anos de idade (IBGE, 2020). Em 2019, 59,2% do abate brasileiro foram compostos por bovinos machos e 40,8% foram de fêmeas. No entanto, dentre o abate de fêmeas, apenas 25% são de fêmeas jovens (novilhas) (IBGE, 2020), o que indica que a maior parte do abate de fêmeas é caracterizada principalmente por fêmeas de idade elevada (descarte). Contudo, esses dados oficiais não subdividem o abate de bovinos machos entre animais não castrados e castrados. Entretanto, segundo dados da JBS S.A. (informação verbal)¹, uma das líderes globais da indústria de alimentos, a maior parte do abate de bovinos, realizado em plantas frigoríficas brasileiras, da própria multinacional, no ano de 2020, é caracterizada por machos não castrados, os quais totalizaram 54% do abate, enquanto os machos castrados totalizaram apenas 9%.

Os machos não castrados, em geral, apresentam as vantagens de melhor desempenho, caracterizado por conversão alimentar mais eficiente, crescimento mais rápido e maior rendimento de carcaça, produzindo mais tecido muscular do que gordura (SEIDEMAN et al., 1982; FRITSCHÉ; STEINHART, 1998). Entretanto, a qualidade da carne produzida por esses animais pode ser inferior, apresentando cor indesejável, carne mais dura e pior deposição de gordura (MUELLER et al., 2019). Adicionalmente, o comportamento mais agressivo desses animais dificulta o manejo nos sistemas de produção (SEIDEMAN et al., 1982; PÉREZ-LINARES et al., 2017).

Por outro lado, fêmeas e machos castrados, em geral, produzem carne mais macia, com maior deposição de gordura intramuscular, melhor qualidade da carcaça e de características sensoriais do que machos não castrados (SEIDEMAN et al., 1982; DOS SANTOS et al., 2015). Já, em comparação entre as fêmeas e os machos não castrados, as fêmeas apresentam carne mais macia, atributos sensoriais e escore de marmorização (MAR) superiores (ZHANG et al., 2010).

Dentre os atributos de qualidade da carne, a maciez é considerada uma característica sensorial muito importante (LISTRAT et al., 2020) devido à sua influência na intenção de compra do consumidor (MILLER et al., 2001; FONT-I-FURNOLS; GUERRERO, 2014; HOLMAN et al., 2017; MALHEIROS et al., 2019). No

¹ Informação fornecida pelo Diretor de Relacionamento com o Pecuário da Friboi – JBS S.A., Fábio Dias, na palestra “Dados de abate da Friboi: qualidade, marcas e mercados”, ministrada no 16º Webinar Giro do Boi - A qualidade da carne brasileira passa pelo Nelore, em setembro de 2020. Disponível em: https://youtu.be/8E_XjA5L7uk. Acesso em: 08 jul. 2021.

entanto, os processos biológicos e fisiológicos que afetam as diferenças na maciez da carne entre as condições sexuais em bovinos ainda não são claramente elucidados. Presume-se que diferenças na atividade da calpastatina associadas ao amaciamento *post mortem* (WULF et al., 1996; O'CONNOR et al., 1997); diferenças no temperamento e nas reações ao estresse pré-abate (VOISINET et al., 1997) e efeitos hormonais, incluindo aqueles associados com os níveis de testosterona em machos não castrados (ANDREO et al., 2013) estão entre os fatores associados à maciez da carne e à condição sexual dos animais.

A proteólise *post mortem* é um dos principais fatores responsáveis pelo amaciamento da carne e o sistema de calpaínas tem papel fundamental na degradação muscular e, conseqüentemente, na maciez do produto final (KOOHMARAIE, 1996; HOPKINS; THOMPSON, 2002). O sistema de calpaínas, dependente de cálcio e com atividade ótima em pH neutro, é composto principalmente por duas proteases: μ -calpaína e m-calpaína, além de um inibidor específico, a calpastatina (GOLL et al., 2003; WENDT; THOMPSON; GOLL, 2004). A μ -calpaína é a mais relacionada com a fragmentação miofibrilar (DE OLIVEIRA et al., 2019) e, conseqüentemente, com a maciez da carne, devido a sua atuação sobre várias proteínas miofibrilares, como a titina, nebulina, filamina, desmina e troponina-T (HUFF-LONERGAN; PARRISH; ROBSON, 1995). Já a calpastatina é relacionada negativamente com o amaciamento da carne devido ao seu papel na inibição da ação enzimática das calpaínas (DELGADO; SANTOS, 2010).

Além do sistema das calpaínas, os sistemas das caspases, catepsinas, proteassomas e proteínas de choque térmico também foram apontados como possíveis responsáveis pelo amaciamento da carne *post mortem* (SENTANDREU; COULIS; OUALI, 2002; OUALI et al., 2006, 2013). Segundo Herrera-Mendez et al. (2006), as caspases provavelmente degradam primeiro as principais proteínas envolvidas na organização espacial das miofibrilas dentro das células musculares e, posteriormente, a hidrólise dos componentes celulares e organelas ocorre devido à ação de outros sistemas proteolíticos, como as calpaínas, catepsinas e proteassomas. Dessa forma, as caspases seriam, provavelmente, facilitadoras da ação desses outros sistemas proteolíticos.

De acordo com Sentandreu, Coulis e Ouali (2002), as catepsinas são exo- e endopeptidases compostas por 15 membros, dos quais apenas oito (B, D, E, F, H, K, L e S) são encontrados nos músculos. As catepsinas são estudadas em produtos

cárneos curados devido à persistência de sua atividade por longos períodos. As catepsinas B e L possuem de 5 a 10% de sua atividade por até 15 meses e a catepsina D, o faz por seis a dez meses (RICO; TOLDRÁ; FLORES, 1991; TOLDRÁ et al., 1992). Muitos autores rejeitavam a hipótese de ação das catepsinas na proteólise da carne *post mortem* (LANA; ZOLLA, 2016). Entretanto, Wang et al. (2014) confirmaram a ação das catepsinas B, D e L no amaciamento da carne de pato curado a seco.

O proteassoma 20S, também conhecido como complexo multicatalítico de proteinase (MCP), está envolvido na regulação de várias vias celulares por meio da degradação de determinadas proteínas (LANA; ZOLLA, 2016). A sua incubação com células musculares bovinas causou a degradação de nebulina, actina, miosina e tropomiosina após 24 horas (TAYLOR et al., 1995; ROBERT et al., 1999).

Já, as proteínas de choque térmico (HSPs, do inglês, *heat shock proteins*), representam a família de proteínas relacionadas à manutenção da homeostase celular (GAGAOUA et al., 2021). Essas proteínas têm diversas funções antiestresse e são reconhecidas como chaperonas devido a sua função antiapoptótica (MA; KIM, 2020), estabilizando e garantindo o enovelamento de proteínas (estruturação das proteínas em sua forma funcional), ou auxiliando no enovelamento de proteínas que sofreram alterações devido ao estresse celular (LOMIWES et al., 2014; PICARD; GAGAOUA, 2017). Dessa forma, as HSPs atuam tentando manter as proteínas vivas, bem como manter a funcionalidade das proteínas. Ou seja, as HSPs têm papel essencial na proteção das estruturas proteicas citoesqueléticas, quando as células são submetidas a algum tipo de estresse. O estresse celular, ao qual as células musculares são submetidas, inicia no momento do abate, sendo relevante para a qualidade da carne. Com a sangria do animal, devido à falta da circulação sanguínea, o aporte de oxigênio é interrompido, o que acarreta também na falta de nutrientes e energia para a manutenção da homeostase celular. Portanto, a morte celular apoptótica e os fatores que a regulam, influenciam a qualidade da carne (LOMIWES et al., 2014).

Como demonstrado, distintos sistemas de proteólise estão relacionados à maciez da carne, conferindo diferentes perfis de degradação proteica. Dessa forma, ferramentas de análise de proteínas, metodologias de proteômica, como eletroforese, cromatografia líquida, espectrometria de massas, análise de imagens e bioinformática, têm sido combinadas para prever proteínas associadas com maciez

e aprofundar os conhecimentos sobre os mecanismos biológicos que controlam essa característica (SAWDY et al., 2004; ZAPATA; ZERBY; WICK, 2009). Nesse sentido, a proteômica pode gerar grandes conjuntos de dados que podem ser analisados com ferramentas bioinformáticas de alto rendimento, permitindo a identificação de interações de moléculas e análises de vias moleculares, além de possibilitar a identificação de biomarcadores (PICARD et al., 2010).

Pouco se sabe sobre a influência das diferentes condições sexuais no proteoma muscular de bovinos cruzados no Brasil. Portanto, sugere-se que diferenças no proteoma muscular influenciam a proteólise *post mortem* entre as condições sexuais de bovinos cruzados que, por consequência, refletem diretamente na maciez da carne. Assim, pretende-se avaliar as diferenças no perfil proteico da carne em relação à condição sexual de bovinos cruzados Angus x Nelore terminados em confinamento.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 ATRIBUTOS DE QUALIDADE DA CARNE

A cadeia de produção de carne baseia-se na criação de animais com o propósito de abate para alimentação humana. No entanto, para se obter carne de qualidade com garantia de segurança alimentar, não basta simplesmente criar os animais, abatê-los e processar a sua carne. A ciência da carne envolve questões que vão muito além disso, como a escolha dos animais adequados para a criação; a forma como eles são criados e abatidos, o que inclui os preceitos de bem-estar animal na criação, transporte e abate humanitário; as tecnologias aplicadas nos músculos após o abate e na carne; entendimento do mercado e do consumidor; e até a forma como o consumidor prepara a carne em casa; ou seja, inicia-se na escolha dos animais que serão acasalados gerando o animal que será criado e termina no momento em que o consumidor prepara e consome a carne: da fazenda ao prato.

A carne é derivada do músculo de animais de uma ampla variedade de espécies: aves, suínos, bovinos, ovinos, caprinos, animais de caça e muitas espécies de peixes. A conversão do músculo em carne é um processo bastante

complexo e que, juntamente com o desenvolvimento da qualidade alimentar da carne, ainda necessitam de estudos para serem completamente entendidos.

O processo de conversão do músculo em carne inicia quando o animal é sangrado e o aporte de oxigênio é interrompido devido à falta da circulação sanguínea. Nesse momento, o músculo precisa da disponibilidade de energia para manter a homeostasia e ele o faz por meio da metabolização da sua reserva de glicogênio. Nesse metabolismo, denominado glicólise anaeróbica, ocorre a fosforilação do ADP (difosfato de adenosina) para formar ATP (trifosfato de adenosina), bem como ocorre a formação de ácido láctico, que é acumulado no músculo, diminuindo o pH intramuscular (MALTIN et al., 2003). Então, a concentração de glicogênio começa a diminuir, a queda do pH influencia a ação de várias enzimas da glicogenólise e a ressíntese de ATP começa a ser comprometida. Quando há pouco ATP na célula muscular, as cabeças de miosina não conseguem mais se soltar da actina, formando o complexo conhecido como actomiosina (fenômeno chamado de rigor). Nesse instante, a célula muscular perde a sua capacidade de relaxamento, e os íons de cálcio (Ca^{2+}) que estavam disponíveis no sarcoplasma não retornam para o retículo sarcoplasmático devido à perda de funcionamento das suas bombas, sendo esse o ambiente e a estruturação celular que iniciam o *rigor mortis* (HONIKEL, 2014b).

É importante atentar-se à diferença entre rigor e *rigor mortis*: o *rigor mortis* acontece quando todas as células musculares já se encontram em rigor; ou seja, o rigor vai acontecendo aos poucos, célula por célula e o *rigor mortis* abrange o músculo como um todo, com todas as suas células já em rigor. Esse é o encurtamento do rigor, que ocorre ao final da glicogenólise *post mortem*, quando o músculo está sob qualquer temperatura. A resolução do *rigor mortis* não acontece com a desestruturação do complexo de actomiosina; ela se dá com a desestruturação de outras proteínas miofibrilares estruturais (HONIKEL, 2014b) por meio da ação de enzimas endógenas, o que culmina com a extensibilidade do músculo, que passa então a ser carne.

A aceitabilidade visual, que determina a impressão inicial da qualidade da carne, e a aceitabilidade sensorial, quando a carne é consumida, são as duas características de qualidade mais importantes da carne. A aceitabilidade visual depende da cor da carne e do exsudato presente na bandeja, quando a carne é

assim exposta no mercado (WARNER, 2014). Já a aceitabilidade sensorial pode ser influenciada por inúmeros atributos.

Além das características visuais e sensoriais desejáveis para o consumidor, a qualidade da carne também é definida pelos selos que certificam a sua segurança e procedência, como “carne verde” e o *status* de garantia de bem-estar animal no sistema de produção (BECKER, 2000). Em pesquisas realizadas em vários países acerca da disposição dos consumidores em pagar por qualidade adicional da carne (POLKINGHORNE; THOMPSON, 2010), indicou-se que desde que essa qualidade adicional seja garantida, os consumidores pagarão mais caro pela melhor qualidade de alimentação, a qual é determinada por suas propriedades sensoriais como maciez, suculência e sabor (ANDRÉS et al., 2008).

O conhecimento dos fatores que causam variação na qualidade, como também da contribuição da genética, são fundamentais para a produção consistente de carne de alta qualidade (WARNER et al., 2010). Dessa forma, inúmeras são as causas de variação na qualidade da carne. Nesta revisão serão abordados alguns fatores que causam variação na qualidade da carne.

2.1.1 pH

No animal vivo, a maioria dos tecidos tem valores semelhantes de pH neutro; os músculos encontram-se na faixa de pH de 6,9 a 7,0 (HONIKEL, 2014a). Durante a conversão do músculo em carne, inúmeras alterações metabólicas e estruturais ocorrem. No momento imediatamente após o abate, quando a circulação sanguínea é interrompida, acarretando descontinuação do aporte de oxigênio, o músculo tenta manter a homeostasia e, para isso, é necessário que exista energia disponível. Dessa forma, o músculo metaboliza a sua reserva de glicogênio no processo de glicólise anaeróbica, fosforilando o ADP para formar ATP. Nesse processo ocorre a formação de ácido láctico, que é acumulado no músculo, o que causa a diminuição do pH intramuscular (MALTIN et al., 2003). Dessa forma, nos animais abatidos, o pH do músculo cai para 5,3 a 5,8. O valor do pH ao término do *rigor mortis* é denominado pH final, o qual pode ser mensurado 24 horas após o abate e, em condições normais, deve estar nessa faixa de pH referida acima. Apesar disso, dependendo da espécie animal, do tipo muscular e do estresse sofrido no período pré-abate e imediatamente antes do abate, ou seja, em condições adversas, o pH final da carne

pode ser atingido em diferentes momentos *post mortem*, podendo variar entre 5,3 a 7,0 (HONIKEL, 2014a). Segundo Lomiwes et al. (2014a), o pH final da carne pode ser classificado em três categorias: pH final baixo $\leq 5,79$; pH final intermediário entre 5,8 e 6,19; e pH final elevado $\geq 6,2$.

O pH é essencial no processo de transformação do músculo em carne e, conseqüentemente, influencia a qualidade da carne (MALTIN et al., 2003). Quando o animal sofre estresse pré-abate, a sua reserva muscular de glicogênio é diminuída, acarretando produção de lactato insuficiente, o que causa um pH final elevado da carne (LU et al., 2018). A relação entre o estresse e o elevado pH final se dá pela rápida liberação de catecolaminas pela medula da adrenal, que resulta na diminuição do glicogênio e conseqüente pouca produção de lactato (LACOURT; TARRANT, 1985); quando o pH final se encontra elevado, ele afeta a maciez e a manutenção da qualidade da carne. Na espécie suína ou em aves, quando o pH máximo de 5,3 a 5,5 é atingido entre 1 e 2 horas após a morte, a carne recebe a denominação de *pale, soft, and exudative* (PSE - pálida, mole e exsudativa). O estresse pré-abate em bovinos pode resultar, com frequência, em pH final acima de 6,0. Nesse caso, o resultado é a carne *dark, firm, and dry* (DFD - escura, firme e seca), também conhecida por carne de corte escuro (*dark cutting beef*), a qual tem muitas das suas propriedades alteradas, como a cor, perda por gotejamento (HONIKEL, 2014b), predisposição para crescimento microbiano e reduzida vida de prateleira (LU et al., 2018).

Já em bovinos, o pH final entre 5,5 e 5,6 acontece em 18 a 36 horas após a morte. O pH final baixo em aproximadamente 5,5, ou seja, normal, impede ou retarda o crescimento microbiano, além de conferir um sabor desejável à carne e de, quando em maturação, resultar em carne macia (HONIKEL, 2014a).

A taxa de queda do pH e o pH final podem acarretar ampla consequência na qualidade alimentar da carne, por influenciarem a desnaturação proteica, como também as funções enzimáticas das proteínas (CONTRERAS-CASTILLO et al., 2016). Segundo Monin (1998), o pH afeta a capacidade de processamento da carne, como também a maioria das suas características sensoriais, por isso é o atributo de qualidade mais avaliado em carne fresca, haja vista sua importância na detecção de atributos de qualidade da carne.

2.1.2 Área de olho de lombo, espessura de gordura subcutânea e escore de marmorização

Além de fibras musculares esqueléticas, os músculos esqueléticos também consistem em diversos outros tipos celulares, como tecido conjuntivo, células de gordura ou matriz extracelular, e células satélites, células imunes e vasos sanguíneos. A quantidade de gordura intramuscular depositada é o que determina a proporção entre músculo e células de gordura (PARK et al. 2018). No músculo *Longissimus dorsi*, o conteúdo de gordura intramuscular sofre grande variação dependendo da raça do animal e, dessa forma, bovinos Wagyu apresentam o mais alto conteúdo de gordura nesse músculo, seguidos por bovinos Hanwoo e, em terceiro, lugar por animais Angus (PARK et al. 2018).

A gordura é depositada no animal em cinco diferentes tipos de depósito: gordura mesentérica; gordura renal, pélvica e cardíaca; gordura subcutânea; gordura intermuscular; e, por fim, gordura intramuscular ou marmorização. Haja vista a gordura ser depositada sequencialmente nesses tipos de depósito à medida em que os animais crescem e se desenvolvem, a gordura intramuscular é a última a ser depositada, podendo ser indicadora do crescimento e do status nutricional dos animais (MILLER, 2014).

As medidas da área de olho de lombo (AOL) e da espessura de gordura subcutânea (EGS) são métodos eficientes para se estimar o rendimento e a qualidade da carne; além da porcentagem de gordura intramuscular e espessura de gordura da picanha, as quais podem ser usadas com esse mesmo propósito (NUNES et al., 2015). O rendimento da carcaça e dos cortes comerciais é economicamente relevante pois nos permite determinar o valor final do produto. Devido à dificuldade da avaliação direta desse rendimento, as análises da AOL e da EGS são usadas como medidas indiretas de rendimento (SILVA-VIGNATO et al., 2017).

A AOL relaciona-se com o rendimento de carcaça, haja vista a sua relação com a estimativa da quantidade de músculo na carcaça. Já a EGS está relacionada com a gordura corporal total e é um atributo desejável quando bem distribuída na carcaça e em uma proporção adequada (NUNES et al., 2015), haja vista o papel da gordura no sabor e suculência da carne (HOCQUETTE et al., 2010; MAGALHÃES et al., 2016). A EGS é uma das principais características que afeta a qualidade da

carcaça e da carne, que juntamente com a marmorização, podem ser usadas para a classificação de carcaças bovinas (JEREMIAH, 1996), a qual permite que se recompense os produtores de acordo com a qualidade das carcaças produzidas, além de traduzir as características da carcaça em uma linguagem única que descreve os atributos comercialmente importantes, facilitando o comércio de carnes (ALLEN, 2014).

Ainda, a EGS pode atuar como isolante térmico da carcaça, evitando problemas como o encurtamento pelo frio no processo de resfriamento da carcaça (SAÑUDO et al., 2000). Para a indústria brasileira de carne, a espessura mínima de gordura recomendada é de no mínimo 3 mm (RIBEIRO et al., 2004; GÓMEZ et al., 2017), o que evita o encurtamento pelo frio e garante a não ocorrência de penalizações para o pecuarista. Esse encurtamento na realidade é a alteração estrutural conhecida por encurtamento de sarcômero, que determina a pior maciez da carne e a diminuição da capacidade de retenção de água (ERTBJERG; PUOLANNE, 2017).

De acordo com Smith, Griffin e Johnson (2013), a classificação do MAR é feita por graus em ordem decrescente de qualidade, os quais consistem em *prime* (dividido em *abundant*, *moderately abundant* e *slightly abundant*), *choice* (dividido em *moderate*, *modest* e *small*), *select* (*slight*) e *standard* (dividido em *traces* e *practically devoid*).

Existe uma sutil relação positiva entre a marmorização e maciez, suculência e intensidade do sabor da carne, ao mesmo tempo que existe uma pequena relação inversa da marmorização com a WBSF (WHEELER; CUNDIFF; KOCH, 1994). Ainda, de acordo com esses autores, a marmorização explica apenas entre 5% e 10% da variação em maciez. Em relação à classificação das carcaças, a indústria internacional de carne bovina se baseia tanto no rendimento, quanto nas classificações de qualidade, o que inclui a marmorização como um dos atributos que são avaliados (SCHULZ; SUNDRUM, 2019). Dessa forma, AOL, EGS e MAR são avaliadas na determinação da qualidade da carne.

2.1.3 Comprimento de sarcômero

O sarcômero é a menor unidade funcional do músculo e responsável pela produção de força muscular por meio da sua contração. *In vivo*, durante o

crescimento muscular, os sarcômeros são continuamente renovados. Sua estrutura é formada principalmente pelas proteínas actina e miosina, sendo a primeira conhecida como filamento fino e a segunda como filamento grosso, a qual tem função motora. Ao visualizar a sua estrutura por microscopia óptica, o alinhamento desses filamentos determina faixas claras e escuras que se alternam, formando a aparência estriada característica do sarcômero. A faixa clara é denominada de banda I; a faixa escura recebe o nome de banda A, a qual tem sua região central conhecida como zona H, sendo a banda M o centro da zona H; ainda, os limites laterais do sarcômero são definidos como discos Z, aos quais a actina se encontra fixada (ERTBJERG; PUOLANNE, 2017), ou seja, o sarcômero é a estrutura localizada entre dois discos Z (HUFF-LONERGAN; ZHANG; LONERGAN, 2010).

Após a morte do animal, o comprimento de sarcômero (CS) afeta a textura e a retenção de água da carne, além de causar efeitos no sabor e na cor, por exemplo. Isso se deve à contração do sarcômero no músculo em *rigor mortis*, o que pode resultar em comprimentos variados de sarcômero, assim como, em distâncias variadas entre os filamentos de miosina e actina. O encurtamento do sarcômero determina a pior maciez da carne e a diminuição da capacidade de retenção de água (ERTBJERG; PUOLANNE, 2017). De acordo com esses mesmos pesquisadores, o CS em descanso varia entre músculos e entre espécies animais; o seu comprimento médio é de 2,5 μm , sendo maior do que os valores médios do CS dos músculos em *rigor mortis*, de 2 μm .

A dureza da carne e o CS foram relacionados pela primeira vez por Locker (1960), e estudos posteriores (HERRING et al., 1967; BOUTON et al., 1973; WHEELER; SHACKELFORD; KOOHMARAIE, 2000) demonstraram a forte relação negativa entre essas duas variáveis em sarcômeros menores que 2 μm , isso é, quanto maior o CS, mais macia é a carne. Segundo Ertbjerg e Puolanne (2017), o CS pode variar entre 1,0 e 3,0 μm .

Ertbjerg e Puolanne (2017) listaram condições intrínsecas e extrínsecas que influenciam o CS: taxa de declínio do pH, temperaturas mais baixas, métodos de suspensão, tipo de músculo, cobertura de gordura e peso da carcaça, dentre outras características biológicas. Dessa forma, o rápido resfriamento da carcaça ou *cold shortening* pode ser uma das causas do encurtamento do sarcômero e consequente redução da maciez da carne avaliada por força de cisalhamento Warner-Bratzler (WBSF – Warner-Bratzler *Shear Force*) ou por análise sensorial (AS).

A temperatura a qual a carcaça é submetida logo após o abate, antes do estabelecimento do *rigor mortis*, altera drasticamente o CS. Quando a carcaça em *pré-rigor mortis* é exposta a temperaturas entre 14 e 20 °C ocorre um grau mínimo de encurtamento, no entanto, para manter a segurança microbiológica, não é possível armazenar carcaças por longos períodos nessa temperatura. Uma forma de prevenir o encurtamento pelo frio seria o resfriamento da carcaça em passos determinados, de forma que inicialmente a sua temperatura caia rapidamente para 10 a 15 °C, permanecendo nessa temperatura por até 6h para permitir a ocorrência do *rigor mortis* ao mesmo tempo em que se preserva a segurança microbiológica da carne (REES; TROUT; WARNER, 2003; ROSENVOLD; BORUP; THERKILDSEN, 2010). Diante do exposto, entende-se a importância de se realizar o controle da temperatura a qual as carcaças são expostas.

Purchas e Aungsupakorn (1993) e Moran et al. (2017) não encontraram efeito significativo entre condição sexual e comprimento de sarcômero, apesar das diferentes condições sexuais apresentarem resultados significativos para cobertura de gordura da carcaça e pH final, os quais são fatores que influenciam o comprimento de sarcômero (ERTBJERG; PUOLANNE, 2017).

A análise de CS pode ser realizada diretamente por microscópio de fase ou indiretamente por difração a laser. A difração a laser consiste em uma técnica mais fácil, mais rápida (BATTAGLIA et al., 2019) e menos sujeita a erros (KOOLMEES; KORTEKNIE; SMULDERS, 1986). No entanto, no estudo realizado por Battaglia et al. (2019) comparando as duas metodologias, os resultados mostraram que o método de difração a laser forneceu menores comprimentos de sarcômero (1,33 a 2,81 μm , com média de $1,72 \pm 0,03 \mu\text{m}$) do que pela metodologia de microscopia de fase (1,73 a 2,83 μm , com média de $2,01 \pm 0,02 \mu\text{m}$). Apesar desse menor CS por difração a laser, eles concluíram que essa metodologia foi mais precisa para se explicar diferenças na maciez do que a metodologia de microscopia de fase.

Haja vista o papel importante do CS após o *rigor mortis* na maciez da carne, principal característica de qualidade da carne, a análise do CS pode ser usada como mais uma forma de se avaliar a maciez da carne, melhor dizendo, é uma análise fundamental a ser realizada antes de se fazer conclusões acerca dos resultados de maciez (BATTAGLIA et al., 2019).

2.1.4 Cor

Para escolher produtos cárneos ou rejeitá-los, muitas vezes os consumidores reparam em sua aparência e cor, o que torna os atributos de cor muito importantes do ponto de vista de manutenção de suas características desejáveis, devendo esses serem garantidos pela cadeia de produção. A mioglobina é o pigmento vermelho primário da carne, mas vários outros fatores afetam a coloração final da carne, a qual é percebida pelo consumidor. Esses outros fatores são a espécie animal, genética, nutrição, alterações *post mortem* no músculo referentes ao pH e temperatura a qual a carne é submetida, efeitos relativos aos próprios músculos, período e temperatura de armazenamento, além dos fatores relativos ao processamento da carne, como a embalagem e exposição à luz. Ainda, a cor final percebida pelo consumidor sofre influência da interação química da mioglobina com a física da absorbância e refletância da luz (AMSA, 2012).

A molécula da mioglobina é constituída por oito alfa-hélices, no centro das quais se encontra um átomo de ferro, formando o seu núcleo hidrofóbico. Esse átomo de ferro tem seis ligações associadas a ele, das quais quatro o conectam ao anel heme, a quinta o liga à histidina e a sexta se encontra disponível para ligações reversíveis com outros ligantes, os quais podem ser o oxigênio diatômico, monóxido de carbono, água e óxido nítrico. Dessa forma, dependendo do ligante ao qual o ferro encontra-se unido e do estado de valência do ferro, a cor da carne é alterada, podendo a mioglobina ser encontrada nas formas de desoximioglobina, oximioglobina, carboximioglobina e metamioglobina. A desoximioglobina, caracterizada por não ter um ligante na sexta ligação e pelo ferro em sua forma ferrosa (Fe^{2+}), determina a cor vermelha ou rosa-arroxeadas escuras, a qual pode ser observada em carnes embaladas a vácuo, bem como no interior da carne fresca, haja vista a necessidade de uma tensão de oxigênio muito baixa para a sua formação; quando há oxigênio disponível ocorre a união do oxigênio diatômico na sexta ligação, o que, juntamente com o ferro ferroso (Fe^{2+}) determina a formação de oximioglobina, causando a cor vermelho-cereja brilhante; a junção do monóxido de carbono à sexta ligação forma a carboximioglobina que, em ambiente desprovido de oxigênio, causa a cor estável vermelha brilhante e, em ambientes oxigenados, pode ser convertida em oximioglobina ou metamioglobina, dependendo da quantidade de oxigênio; em baixas concentrações de oxigênio (1 a 2%), ocorre a formação da

metamioglobina, que contém a água em sua sexta ligação e o ferro em sua forma férrica (Fe^{3+}), sendo sua cor bronzeada a marrom oxidada (AMSA, 2012; MANCINI; HUNT, 2005).

Como comentado, a carne embalada a vácuo contém a mioglobina com ausência de ligante na sexta ligação, ou seja, encontra-se na forma de desoximioglobina, a qual determina a cor vermelha-arroxeadada escura, típica das carnes que são embaladas em ausência de oxigênio. Quando a carne é retirada de sua embalagem a vácuo e colocada em contato com o oxigênio da atmosfera, ocorre a oxigenação da mioglobina formando a oximioglobina, processo também chamado de *blooming*, o que culmina com a transformação da cor da carne de vermelha-arroxeadada escura em vermelha brilhante. Dessa forma, de acordo com a AMSA (2012), existe a necessidade de exposição da carne embalada a vácuo ao oxigênio por 30 min, para que a carne retorne à sua cor normal, para então se realizar a avaliação da cor, que pode ser feita pelos seguintes métodos: CIE $L^*a^*b^*$, Hunter Lab ou *tristimulus*. Nesse estudo utilizou-se o primeiro método.

O sistema de cores CIE $L^*a^*b^*$ determina a cor em um espaço tridimensional, sendo os valores de a^* apresentados no eixo X, os valores de b^* apresentados no eixo Y e os valores de L^* apresentados no eixo Z. Os valores de L^* são apresentados numericamente, onde 100 representa a cor branca e zero representa a cor preta. Os valores de a^* quando positivos representam a cor vermelha e quando negativos representam a cor verde, sendo expressos em uma escala de +60 para vermelho e -60 para verde. Os valores de b^* quando positivos representam a cor amarela e quando negativos representam a cor azul, sendo expressos em uma escala de +60 para amarelo e -60 para azul (AMSA, 2012).

Ao tentarem estabelecer limites colorimétricos baseados na capacidade de medidas instrumentais em prever a satisfação do consumidor em relação à cor da carne bovina, Holman et al. (2017) verificaram que o componente de cor a^* é aquele, dentre os outros componentes, que permitiu uma previsão mais simples e expressiva de aceitabilidade da cor da carne, definindo o limite de aceitação do consumidor para o componente de cor a^* em $\geq 14,5$, com 95% de confiança, ou seja, a cor da carne foi considerada aceitável quando os valores de a^* foram $\geq 14,5$.

Por meio do uso de funções trigonométricas é possível calcular o ângulo da tonalidade (*Hue angle*) pelo cálculo do desvio do ângulo de incidência da amostra em relação ao eixo X. O *Hue angle* é calculado pela fórmula $h_{ab} = \arctan$

(b^*/a^*). O índice de saturação (*Chroma*), relativo à vividez ou opacidade da cor da amostra, é calculado a partir dos valores a^* e b^* pela fórmula $Chroma = (a^{*2} + b^{*2})^{1/2}$. O *Chroma* é útil para indicar a intensidade de qualquer cor da amostra, onde valores maiores indicam maior saturação da tonalidade, já o *Hue angle* é útil para indicar mudanças de cor ao longo do tempo em relação à descoloração, onde valores maiores indicam menos vermelho, mais metamioglobina e uma coloração de cozimento orientada para bem cozido (AMSA, 2012). Haja vista o *Hue angle* e *Chroma* serem calculados com base nos valores de a^* e b^* , eles são influenciados pelo conteúdo de pigmentos e pela forma em que a mioglobina se encontra na carne (LINDAHL; LUNDSTRÖM; TORNBERG, 2001).

Macdougall (1982) classificou as mudanças de cor referentes aos valores do *Chroma* em: menores que 12 referentes à cor marrom a marrom acinzentado-esverdeado, contendo porcentagem de metamioglobina maior que 60%; entre 12 e 14 referentes à cor marrom, contendo 40% de metamioglobina; entre 14 e 18 referente à cor vermelha opaca, contendo 20% de metamioglobina; e maiores que 20 referentes à cor vermelha brilhante. Dessa forma, determinou o limiar de *Chroma* em 18 para que a carne seja aceita pelo consumidor, haja vista a rejeição pelo consumidor de carne com teores de metamioglobina iguais ou superiores a 20% (HOOD; RIORDAN, 1973). O componente de cor L^* e o *Chroma* podem ser confundidos, mas são avaliações distintas. O componente de cor L^* usa um padrão branco para medir a luminosidade da cor, comparando a cor da amostra com esse padrão. Já, o *Chroma*, também conhecido como índice de saturação, mede a intensidade da cor ou a sua força relativa (AMSA, 2012), o que sugere que o *Chroma* possa explicar melhor a importância qualitativa determinada do brilho da cor vermelha (HOLMAN et al., 2017).

A razão entre oximioglobina e metamioglobina (O/M) é utilizada para avaliar a desejabilidade da cor da carne, haja vista a presença de oximioglobina determinar a cor vermelha brilhante e a metamioglobina determinar a cor “bronzeada” a marrom oxidada. Dessa forma, de acordo com Purchas, Triumf e Egelanddal (2010), a razão entre esses dois tipos de molécula de mioglobina, quando abaixo de 3, é considerada indesejável.

A cor da carne pode ser influenciada por fatores extrínsecos, como genética, condição sexual e idade do animal, densidade energética da dieta, tempo de alimentação, sazonalidade, estresse *ante mortem*, peso da carcaça, muitas

condições do *post mortem* (método de insensibilização, taxa de resfriamento, espaçamento e alinhamento da carcaça, uso de estimulação elétrica da carcaça e de aplicação de intervenções antimicrobianas), métodos de processamento e embalagem *post mortem*, período e temperatura de armazenamento, extensão da exposição ao oxigênio e número de vezes em que a carne passa pelas transformações de cores e, especialmente, o tempo desde a fabricação do produto geralmente influencia a cor da carne. A alteração na cor da carne pelos fatores extrínsecos ocorre por meio da taxa de extensão de declínio do pH, quantidade e desnaturação proteica durante a conversão do músculo em carne, acúmulo de antioxidantes na carne e quantidade de ácidos graxos insaturados (AMSA, 2012).

Em relação à influência da condição sexual na cor da carne, de acordo com Gagaoua et al. (2016), as fêmeas apresentam carne com cor mais intensa do que machos, independentemente da castração. Ao avaliarem a efeito da condição sexual sobre as características de carcaça e de carne, Daza et al. (2014) verificaram que a carne de fêmeas apresentou valores médios significativamente maiores para a^* , b^* *Chroma* e O/M, quando comparada com a carne de machos não castrados. Já, Miguel et al. (2014) verificaram maiores valores médios de L^* e a^* na carne de machos castrados, em comparação com a carne de machos não castrados, ou seja, machos não castrados apresentam carne mais escura e machos castrados apresentaram carne mais vermelha.

Os fatores intrínsecos também podem influenciar a cor da carne em relação ao uso de oxigênio pela carne e à capacidade da carne de reduzir a metamioglobina; eles são pH, tipo de músculo, região dentro de um mesmo músculo, composição das fibras musculares, concentração de mioglobina, capacidade de retenção da água, carga microbiana e temperatura (AMSA, 2012).

Diante de todos os fatores que podem influenciar a cor da carne, percebe-se a complexidade desse tópico, haja vista o quão esses fatores podem variar globalmente (MANCINI; HUNT, 2005). Apesar disso, sabe-se que a carne vermelha brilhante é preferida pelos consumidores (FONT-I-FURNOLS; GUERRERO, 2014) e os mesmos inferem o frescor e a saudabilidade da carne por meio da sua coloração (MANCINI; HUNT, 2005), visto que essa característica é a única percebida pelo consumidor no momento da compra, influenciando significativamente a sua decisão de compra (ANDRÉS et al., 2008). O consumidor brasileiro de carne bovina tem as características extrínsecas da carne como os principais fatores levados em

consideração ao comprar carne, avaliando principalmente a aparência geral do produto, bem como o frescor aparente e a cor (BOITO et al., 2021). Por isso, a avaliação da cor é fundamental em pesquisas de ciência da carne, no âmbito internacional e nacional.

2.1.5 Perdas totais por cocção

No músculo vivo, aproximadamente 80% da água se encontra entre as miofibrilas actina e miosina (OFFER et al., 1989), ou seja, mudanças no espaçamento entre elas geram mudanças na distribuição da água presente na estrutura da carne (TORNBERG, 2005). A capacidade de retenção de água tem como fator crucial o encolhimento e o inchaço das miofibrilas e a perda de água da carne crua pode acontecer por meio da evaporação da água superficial ou por exsudato, o qual consiste em uma solução de proteínas sarcoplasmáticas. A perda de água da carne crua é chamada de perda por gotejamento e acontece devido à gravidade. Já, a perda de água da carne durante o cozimento é chamada de perdas totais por cocção (TORNBERG, 2005).

O cozimento da carne induz mudanças estruturais que culminam com a diminuição da capacidade de retenção de água (TORNBERG, 2005): a carne perde volume e peso devido à saída de fluido, o que causa alterações em sua textura, além de alterações nas proteínas e gordura por efeito do calor, e diminuição no rendimento do cozimento, a qual é uma preocupação econômica para o setor de processamento de carne (PURSLOW et al., 2016). Tornberg (2005) explicou que com o aumento da temperatura de cozimento ocorre o aumento da perda de peso da carne, mas não é só a temperatura que influencia essa perda, o CS, pH e a quantidade de sal na carne também a afetam.

Com o aumento da temperatura da carne ocorre o seu encolhimento em volume, o qual não é igual em todas as direções da amostra (PURSLOW et al., 2016). As perdas totais por cocção (PPC) foi resumida por Offer (1984), segundo as mudanças estruturais causadas pelo cozimento: entre 40 °C e 60 °C ocorre o encolhimento transversal ao eixo da fibra, o que aumenta o vão entre as fibras e o seu endomísio circundante, vão esse que já está presente no *rigor mortis*; de 60 °C a 70 °C ocorre o encolhimento longitudinal na rede do tecido conjuntivo e nas fibras musculares e esse encolhimento aumenta de acordo com o aumento da

temperatura. São esses encolhimentos transversal e longitudinal que causam as grandes PPC. Purslow et al. (2016) também explicaram as PPC em relação ao CS: quando o CS é longo, ocorre a acentuação do encurtamento longitudinal; já quando o CS é curto, ocorre a intensificação do encurtamento transversal; ambos culminando com a saída de fluido da carne.

Ainda, em sua pesquisa, Purslow et al. (2016) concluíram que as PPC da carne parecem ser causadas pela desnaturação térmica de parte das moléculas de miosina em temperaturas acima de 42 °C, o que determina o encolhimento lateral das fibras musculares; e, em temperaturas mais altas, pelas mudanças térmicas na actina, causando o encolhimento longitudinal das fibras musculares.

Fabre et al. (2018) avaliaram o efeito do método de cocção sobre a porcentagem de PPC do músculo *Longissimus* e de outros músculos de machos castrados da raça Aberdeen Angus. Os métodos de cocção avaliados foram forno, chapa e banho-maria, e todos eles afetaram significativamente as PPC do músculo *Longissimus*: as maiores PPC foram dos bifes preparados no forno (35,4 a 39,9%), os quais, conseqüentemente, apresentaram menor teor de umidade, quando comparadas com as PPC dos bifes preparados na chapa ou em banho-maria (16,0 a 28,5%).

Mueller et al. (2019) avaliaram o efeito da condição sexual de bovinos Angus x Nelore sobre a qualidade da carcaça e da carne e constataram que as PPC nos bifes de machos castrados ($29,5 \pm 0,46\%$) foram maiores do que nos bifes de machos não castrados ($26,6 \pm 0,47\%$), machos imunocastrados ($26,8 \pm 0,47\%$) e fêmeas ($26,0 \pm 0,47\%$). Contraditoriamente, no estudo de Zhang et al. (2010) os machos não castrados ($32,21 \pm 0,66\%$) apresentaram maiores PPC, quando comparados com fêmeas ($28,64 \pm 0,98\%$) e machos imunocastrados ($29,24 \pm 0,98\%$).

No entanto, Miguel et al. (2014) não encontraram efeitos da condição sexual nem da raça sobre as PPC, ao avaliarem diferentes condições sexuais (macho não castrado, macho cirurgicamente castrado e macho imunocastrado) de bovinos Nelore e Nelore x Aberdeen Angus sobre a qualidade da carne.

Em um estudo de revisão, Muchenje et al. (2009) determinaram o intervalo normal para as PPC da carne bovina entre 13,1% e 34,54%.

2.1.6 Força de cisalhamento

A maciez da carne pode ser avaliada tanto objetivamente quanto subjetivamente: objetivamente, a sua avaliação tem sido realizada principalmente pela análise da força de cisalhamento (FC), a qual é executada majoritariamente pela técnica de WBSF, mas também pode ser realizada por meio da AS com painel treinado e análise de CS, por exemplo; subjetivamente, a sua avaliação pode ser feita por AS com consumidores de carne (painel não treinado).

A FC da carne pode ser explicada como a carga máxima de força necessária para cisalhar uma amostra de carne de forma que as duas porções resultantes do cisalhamento se encontrem completamente separadas uma da outra; e a WBSF pode ser definida como dispositivo mecânico/metodologia usada para determinar a maciez da carne por meio de medições da força obtidas a partir do cisalhamento de amostras cilíndricas de bife (ASTM, 2011), perpendicularmente às fibras musculares. A relação entre a FC e a maciez da carne é negativa, ou seja, quanto menor a FC da carne, mais macia é a carne (MILLER et al., 1995).

Há anos, no final da década de 1920, a análise da maciez da carne por meio do cisalhamento de amostras de carne cozida foi estabelecida por Warner e mais tarde foi ajustada por Bratzler em relação à lâmina e velocidade de cisalhamento (WARNER, 1928; 1952; BRATZLER, 1932; 1949; 1954). No entanto, estudos foram realizados ao longo do tempo e vários outros ajustes foram feitos à técnica de WBSF, até que houve uma padronização da técnica nas *Research Guidelines for Cookery, Sensory Evaluation, and Instrumental Tenderness Measurements of Meat* (Diretrizes de Pesquisa para Culinária, Avaliação Sensorial e Medidas Instrumentais de Maciez da Carne) pela AMSA e pelo *National Live Stock and Meat Board* em 1995 (AMSA, 1995), as quais, ainda, continuaram sendo ajustadas até a versão 1.02 (AMSA, 2016).

O limiar para a análise de WBSF tem sido estudado por meio da análise de regressão entre os valores de WBSF e os valores de maciez obtidos por meio da AS da carne, por provadores treinados ou não treinados, como demonstrado no próximo tópico. Esse limiar pode ser mais bem explicado como o limite entre carne macia e carne dura, usado para se determinar a classificação da carne de acordo com a sua maciez (RODAS-GONZÁLEZ et al., 2009)

No estudo realizado por Wheeler, Shackelford e Koohmaraie (1997), recomendou-se que a indústria de carne poderia aproveitar das diferentes categorias de maciez da carne para atender às expectativas dos consumidores em relação a esse atributo, o que foi confirmado por Miller et al. (2001), quando verificaram que os consumidores são capazes de diferenciar a carne em classes de maciez e estão sim dispostos a pagar mais pela carne que for indubitavelmente macia.

Os limiares de maciez WBSF foram separados em classes por Miller et al. (2001), sendo: WBSF < 3,0 Kg (equivalente a 29,43 N) para uma aceitação de 100% dos consumidores, ou seja, carne macia; WBSF entre 3,0 e 4,6 kg (equivalente a 29,43 e 45,13 N) para uma aceitação de 93% dos consumidores, sendo essa classe onde ocorre a transição média entre as classificações levemente macia e levemente dura; e WBSF > 4,6 kg (equivalente a 45,13 N) para uma classificação como carne dura, a qual necessita de algum tratamento *post mortem* que altere a sua maciez para aceitação do consumidor americano. Já, Platter et al. (2005) classificaram a carne em muito macia, quando WBSF $\leq$ 3,40 kg (equivalente a 33,35 N); levemente macia, quando o valor de WBSF se encontrava entre 3,41 e 4,40 kg (equivalente a 33,35 e 43,16 N); levemente dura, quando o valor de WBSF se encontrava entre 4,41 e 5,40 kg (equivalente a 43,16 e 52,97 N); e muito dura quando WBSF > 5,40 kg (equivalente a 52,97 N).

De acordo com a *American Society for Testing and Materials* (ASTM - Sociedade Americana de Ensaio e Materiais), a qual regulamenta os requisitos necessários para a certificação de maciez da carne, a determinação do padrão de maciez para a carne bovina facilita a comunicação entre todo o setor produtivo, aperfeiçoando o entendimento entre produtores, processadores e consumidores acerca das expectativas em relação ao produto final. Dessa forma, a ASTM (2011) definiu o valor mínimo de limite de maciez (ou limiar de maciez) para WBSF em 4,4 kg ou 43,1 N, sendo esse limiar representativo da pesquisa científica instrumental e sensorial realizada por Platter et al. (2005) e Wheeler, Shackelford e Koohmaraie (2004). Ainda, foi definido 0,5 kg (equivalente a 4,9 N) como a diferença em WBSF que o consumidor médio de carne consegue detectar ao consumir a carne em casa, baseados no estudo de Miller et al. (1995).

Contudo, não existe a definição do limiar de maciez da carne para consumidores brasileiros. A atitude, predileção e sensação do consumidor brasileiro podem ser bastante distintas do consumidor americano ou de outras nacionalidades.

No entanto, enquanto não houver o limiar de maciez da carne produzida no Brasil, definido em pesquisas com consumidores brasileiros, utiliza-se o padrão americano de maciez.

2.1.7 Análise sensorial

O fundamento da AS da carne é determinar se as amostras analisadas diferem em relação a atributos sensoriais, dessa forma, essa análise permite que as características sensoriais da carne, como maciez ou a dureza, sabor, suculência, dentre outras, sejam avaliadas por meio do *feedback* do provador. Para isso, pessoas são recrutadas para provar a carne e caracterizá-la quanto a sua percepção dessas características. Dessa forma, a AS permite que os pesquisadores obtenham um *feedback* dos provadores acerca da maciez da carne e de outros atributos (HOLMAN et al., 2020).

Os participantes da AS, chamados de provadores, podem ser treinados ou não, dependendo dos objetivos do teste. Os provadores treinados podem fornecer informações com alto grau de certeza em relação à significância das diferenças entre os tratamentos e quanto mais treinados eles forem, ou seja, quanto mais tempo de treinamento eles tiverem, mais experientes nesse tipo de análise eles serão e maior será a capacidade deles em detectar pequenas diferenças nos atributos entre amostras. Para isso, esses provadores devem ser cuidadosamente selecionados e altamente treinados, sendo considerados hipercríticos em comparação aos provadores não treinados. Ainda, eles nunca devem ser questionados em relação às suas opiniões: apesar de também serem consumidores, o julgamento dos provadores treinados pode não ser representativo da população geral, ou seja, dos consumidores normais de carne, pois devido ao treinamento pode haver algum viés em suas avaliações pessoais (AMSA, 2016).

Já, os provadores não treinados são considerados como provadores consumidores. Dessa forma, quando o objetivo do estudo é saber a percepção e aceitação da população em relação à carne, os provadores não treinados podem ser a melhor opção (AMSA, 2016), haja vista eles fornecerem uma melhor compreensão acerca das reações de uma população geral de consumidores de carne (HOLMAN et al., 2020).

Ainda, vale destacar a necessidade de maiores investimentos em tempo e dinheiro, além da dificuldade para se formar e manter um painel satisfatoriamente treinado (SHACKELFORD; WHEELER; KOOHMARAIE, 1995; WHEELER; SHACKELFORD; KOOHMARAIE, 2004), o que pode, muitas vezes, tornar inviável a realização dessa análise por meio de painel treinado. Ademais, Wheeler, Shackelford e Koohmaraie (2004) concluíram, com base em seu estudo e em resultados relatados anteriormente, que um painel sensorial de consumidores, sob condições controladas, ou seja, em laboratório, é capaz de fornecer com acurácia e repetibilidade uma avaliação de maciez de bifes do músculo *Longissimus* semelhante à avaliação fornecida por um painel sensorial de provadores treinados.

Os provadores consumidores podem fazer avaliações quantitativas e qualitativas. As avaliações qualitativas por consumidores terão como resposta as suas opiniões sobre o produto analisado; já as avaliações quantitativas associam as opiniões com uma escala, a qual pode ser convertida em valores numéricos, permitindo uma análise estatística dos dados obtidos, sendo assim possível determinar as diferenças entre as amostras (AMSA, 2016).

Como resultado desse tipo de AS, o pesquisador obtém dados acerca da satisfação do consumidor em relação ao produto (HOLMAN et al., 2020), o que é uma informação essencial para se colocar um produto no mercado e saber como será a sua receptividade. Ainda, segundo Font-I-Furnols e Guerrero (2014), identificar os fatores que afetam o comportamento do consumidor em relação à compra de carne permite que a indústria atenda às demandas e necessidades dos consumidores, satisfazendo adequadamente as suas expectativas. Ademais, haja vista a influência da maciez na decisão de compra do consumidor, a AS permite o estabelecimento da relação entre maciez e aceitação, bem como do limiar de aceitação entre a maciez objetiva e a subjetiva (SHACKELFORD et al., 1991).

Shackelford et al. (1991) determinaram o limiar da FC pela análise de regressão dos valores de WBSF e por painel sensorial treinado, avaliando maciez geral de bifes do músculo *Longissimus*, obtendo-se o valor de 4,6 kg (45,13 N) para a carne comercializada no varejo. Ou seja, nesse estudo, quando o valor de WBSF dos bifes era menor que 4,6 kg, a chance desses bifes serem classificados pelos provadores como macios era de 50%.

Miller et al. (2001) realizaram uma avaliação nacional com 734 consumidores, sobre a maciez da carne bovina no músculo *Longissimus* de machos castrados e

fêmeas Simental x Brahman, em cinco diferentes áreas metropolitanas dos Estados Unidos da América e concluíram que o consumidor é capaz de perceber diferenças na maciez da carne, estando 78% desses consumidores dispostos a pagar mais pela garantia da maciez. Nesse estudo, a percepção de diferença pelos consumidores entre carne macia e dura ocorreu entre os valores de 4,3 e 4,9 kg (42,18 e 48,07 N) de WBSF, considerando-se 86% de aceitação, ou seja, quando o valor de WBSF da carne era de 4,3 kg, 86% dos consumidores a classificaram como levemente macia e, ainda, quando o valor de WBSF da carne era de 4,9 kg, 59% dos consumidores a classificaram como levemente dura. Além disso, o limiar médio entre as classificações macia e dura se deu em 4,6 kg (42,18N) de WBSF.

Destefanis et al. (2008) estudaram a relação entre a percepção de 220 consumidores italianos sobre a maciez da carne com a WBSF de bifes do músculo *Longissimus* de animais de raças diferentes e classificados em distintas categorias comerciais, os quais foram submetidos à maturação. Os seus resultados mostraram que mais de 55% dos consumidores conseguiram diferenciar significativamente a carne dura das carnes com maciez intermediária e macias. Assim como, aproximadamente 62% dos consumidores diferenciaram a carne macia das carnes com maciez intermediária e duras. Dessa forma, esses autores classificaram a maciez da carne em macia, quando o valor de WBSF era menor que 42,87 N (4,37 kg); intermediária, quando o valor de WBSF se encontrava entre 42,87 e 52,68 N (4,37 e 5,37 kg); e dura, quando o valor de WBSF era maior que 52,68 N (5,37 kg). Ainda, em comparação com outros estudos realizados até aquele momento com painel sensorial treinado, constataram que valor médio encontrado entre as classificações de carne macia e carne dura nesse estudo, 47,77 N (4,87 kg) encontrava-se entre os valores reportados pelos outros estudos, de 42,28 a 58,76 N (4,31 a 5,99 kg), concluindo que existe concordância entre o painel sensorial de consumidores desse estudo com os painéis sensoriais treinados dos outros estudos.

Rodas-González et al. (2009) determinaram os limiares de maciez da carne da Venezuela, relacionando painel sensorial treinado, não treinado (296 consumidores) e valores de WBSF. Os bifes utilizados eram do músculo *Longissimus* de 738 bovinos de corte, de diferentes raças cruzadas *Bos indicus* x *Bos taurus*, diferentes condições sexuais (macho inteiro, macho castrado, novilha e vaca) e diferentes idades ao abate (entre 1 e 11 anos), os quais foram submetidos à maturação por dois dias. Essas diferenças foram exploradas para obtenção de bifes

com distintos valores de maciez. O limiar de maciez da carne foi 37,98 N (3,87 kg) para os provadores treinados, determinado por análise de regressão, ou seja, quando o valor de WBSF era inferior ou igual a 37,98 N, a amostra foi classificada como macia; e quando esse valor era superior a 37,98 N, a amostra foi considerada dura. Já para os provadores não treinados, a satisfação de 81% dos consumidores em relação à maciez se deu quando a carne teve valor de WBSF inferior a 40,13 N (4,09 kg). Dessa forma, os pesquisadores sugeriram que o limiar de maciez da carne para separar a carne dura da carne macia é de 40,13 N para o consumidor de carne venezuelano. Portanto, para eles, carne com valor de WBSF inferior ou igual a 40,13 N é macia e, quando esse valor é superior a 40,13 N, a carne é dura. Por conseguinte, os pesquisadores apontaram que os consumidores são capazes de detectar mudanças na maciez da carne. Além de determinar o limiar de maciez da carne, os pesquisadores também concluíram que quando a carne é macia, o consumidor venezuelano procura por diferenças no sabor para dizer-se satisfeito ao comer a carne.

Alguns autores verificaram melhores escores sensoriais para a carne de machos castrados, quando comparada com a carne de fêmeas, e para a carne de fêmeas, quando comparada com a carne de machos não castrados (WULF et al., 1996; CHOAT et al., 2006; BUREŠ; BARTOŇ, 2012). Esses resultados corroboram com aqueles verificados por Gagaoua et al. (2016), em que a carne de fêmeas alcançou níveis intermediários de qualidade sensorial, enquanto as carnes de machos castrados e de machos não castrados tiveram as melhores e piores classificações, respectivamente.

Como demonstrado, a AS é importante para se conhecer as características sensoriais da carne, bem como para determinar a relação dos atributos sensoriais da carne com a expectativa do consumidor, o que, juntamente com a análise da FC, possibilita a determinação de limiares de aceitação para maciez e outros atributos de qualidade da carne. No entanto, é importante destacar que o perfil dos consumidores varia em função de fatores pessoais, sociais, econômicos e culturais, que influenciam a conduta individual na compra e consumo desses produtos, como também na satisfação ao consumi-los. Portanto, seria importante que o Brasil tivesse os seus próprios limiares para essas características de qualidade de carne.

2.1.8 Quantificação hormonal

Durante a criação, os animais de produção precisam ser manejados, contidos ou transportados em distintas situações, o que causa desconforto e estresse. A avaliação do cortisol é considerada uma medida fisiológica de estresse e quando alguns animais são contidos eles apresentam comportamento agitado e níveis mais altos de cortisol, glicose ou lactato (GRANDIN; SHIVLEY, 2015). Oyola e Handa (2017) definiram estresse como sendo a resposta natural dos organismos vivos às perturbações ambientais.

As experiências anteriores do animal, seu temperamento e outras características comportamentais herdadas podem afetar a resposta ao estresse. Além disso, as diferentes raças de bovinos podem apresentar distintas diferenças em reatividade, haja vista os níveis de cortisol em animais de raça cruzada *Bos taurus* x *Bos indicus* serem mais elevados após o seu manejo do que animais puros *Bos taurus* (ZAVY et al., 1992).

Ainda, entre machos e fêmeas os mecanismos relativos a agentes estressores são distintos (BALE; EPPERSON, 2015); essas diferenças ainda não foram bem definidas, haja vista os estudos iniciais nessa área terem sido realizados em roedores machos, o que foi justificado pela dificuldade experimental com fêmeas devido à influência do seu ciclo estral no perfil hormonal: as mudanças nos níveis de progesterona e estradiol influenciam diretamente a forma como fêmeas reagem a estímulos estressantes, ou seja há uma influência ovariana na ativação e na inibição de componentes do eixo neuroendócrino hipotálamo-hipófise-adrenal (eixo HPA, do inglês, *hypothalamic-pituitary-adrenal axis*; VIAU; MEANEY, 1991), também chamado de *stress axis* (eixo do estresse).

O eixo HPA é estabelecido, ativado e regulado pelos hormônios gonadais, ajustando assim os níveis de hormônios do estresse na circulação sanguínea. Isso acontece por meio da influência dos hormônios sexuais na resposta e sensibilidade dos fatores liberadores, neurotransmissores e hormônios. Sendo assim, desde o início da vida adulta, os esteroides gonadais influenciam diferencialmente o eixo HPA, que afeta muitas funções fisiológicas, fazendo com que a resposta do organismo às mudanças ambientais seja apropriada para o seu *status* reprodutivo. Camundongos e ratas fêmeas apresentam resposta mais robusta desse eixo devido aos seus níveis circulantes de estradiol, os quais elevam os níveis de hormônios do

estresse em condições normais, assim como em condições estressantes. Embora a resposta desse eixo aos estressores seja benéfica, episódios estressantes constantes podem desregular esse eixo e causar doenças (OYOLA; HANDA, 2017).

As três estruturas primárias do eixo HPA são o núcleo paraventricular do hipotálamo, a hipófise anterior e a glândula adrenal. Frente a perturbações ambientais ou estressores, o núcleo paraventricular regula os sinais neuronais e humorais para ativar as células especializadas na produção e secreção do hormônio liberador de corticotrofina (CRH), o qual estimula a produção e secreção do hormônio adrenocorticotrófico (ACTH) na circulação sanguínea. Ao atingir o córtex da adrenal, o ACTH sinaliza a produção de glicocorticoides (RIVIER; VALE, 1985; ULRICH-LAI; HERMAN, 2009), que se ligam aos receptores mineralocorticoide e glicocorticoide promovendo a resposta adequada do organismo aos estressores. Os glicocorticoides primários são a corticosterona em camundongos e ratos, e o cortisol em humanos (REUL; DE KLOET, 1985; DE KLOET; JOËLS; HOLSBOER, 2005) e bovinos (MORMÈDE et al., 2007). O *feedback* negativo desse eixo é realizado por esses mesmos hormônios, restabelecendo a homeostase inicial (OYOLA; HANDA, 2017).

Apesar de o mecanismo envolvido não ser totalmente estabelecido, o temperamento do animal influencia a maciez da sua carne (KING et al., 2006). Esses pesquisadores estudaram o efeito do temperamento de machos castrados na qualidade da carne, segregando os animais de acordo com a sua reação ao estresse em três categorias de temperamento: calmo, intermediário e excitável. O aumento da excitabilidade do animal foi associado com as concentrações séricas de cortisol, pH após o abate e com valores de WBSF: a concentração de cortisol diminuiu com a diminuição da excitabilidade; os valores de pH 30 min após o abate foram mais altos no grupo de animais calmos do que os outros dois grupos. No entanto, todas as carcaças atingiram o pH final em quatro horas após a morte; e animais classificados como excitáveis apresentaram maior valor de WBSF aos sete e 21 dias de maturação em comparação com os animais dos grupos calmo e intermediário.

Assim, é importante avaliar o estresse sofrido pelos animais no momento pré-abate por meio da mensuração do cortisol como forma de entender diferenças nos atributos de qualidade da carne, como pH e maciez, o que poderia ser corroborado com a quantificação dos níveis de estrógeno. Ainda, a quantificação dos níveis de

testosterona nos machos permite que se afirme a eficiência da castração desses animais.

2.2 CRUZAMENTO INDUSTRIAL

Devido à demanda mundial crescente, há necessidade de aumentar a produção agropecuária, quantitativamente e qualitativamente. No entanto, as formas para se alcançar esses dois produtos, a carne magra do dia a dia e a carne especial ou *premium*, são diferentes. O propósito do uso desses produtos difere completamente no Brasil, sendo o primeiro tipo de carne aquele consumido durante os dias da semana, nos quais se tem pouco tempo para o preparo das refeições, e o segundo tipo é aquele preparado nos churrascos de fim de semana, entre familiares e amigos. Já nos países ricos, segundo Warner et al. (2010), o consumidor de carne está exigindo carne de alta qualidade sempre que a consome, independentemente da ocasião.

O consumidor brasileiro de carne diferenciada vem exigindo cada vez mais carne de qualidade extra e cortes especiais, estando disposto a pagar mais por isso, haja vista o sucesso do mercado de carne bovina *premium* no país (BEEF POINT, 2020; MOITINHO, 2021). Ainda, apesar de ser o maior exportador de carne bovina do mundo (USDA, 2020), o Brasil continua importando esse produto, o que totalizou 35,4 mil toneladas de carne bovina importada, em 2020 (BRASIL, 2021). Ou seja, o Brasil não é capaz de atender ao seu próprio nicho de mercado de carne diferenciada (MOITINHO, 2021) e, por isso, ainda é cliente da carne bovina *premium* produzida em outros países, sendo eles Paraguai (44%), Argentina (30%), Uruguai (20%), Austrália (4,8%), Estados Unidos (0,56%) e Japão (0,098%) (BRASIL, 2021). Para que esse produto seja produzido no Brasil, com o objetivo de melhorar a eficiência produtiva e a qualidade da carne, o cruzamento industrial entre raças bovinas tem sido amplamente utilizado. Por meio desse cruzamento é possível explorar a heterose e a variação genética aditiva entre diferentes raças (CROUSE et al., 1989). Nos países de clima tropical, como o Brasil, o interesse pelo cruzamento tem a finalidade de melhorar o crescimento dos animais, a qualidade da carne bovina, e a adaptabilidade dos animais nos sistemas de produção (LAGE et al., 2012), haja vista tanto os fatores genéticos quanto os fatores ambientais, bem como

a sua interação, serem determinantes para o êxito da produção de carne bovina (WARNER et al., 2010; FAVERO et al., 2019).

No Brasil, realiza-se principalmente o cruzamento entre bovinos zebuínos (*Bos indicus*) e taurinos (*Bos taurus*), tanto para produção de carne (MIGUEL et al., 2014) quanto de leite (OLIVEIRA JÚNIOR et al., 2017). Isso se deve à necessidade de adaptação do animal às condições tropicais, o que decorre dos bovinos zebuínos, e à necessidade de melhor produtividade, o que provém dos bovinos taurinos (OLIVEIRA; SANTANA; CARDOSO, 2016). Ainda de acordo com esses autores, a proporção ideal entre as subespécies nesse cruzamento depende do tipo de manejo a ser utilizado e do clima no local da criação.

Os animais zebuínos (*Bos indicus*) da raça Nelore são os principais representantes do rebanho brasileiro (FERRAZ; FELÍCIO, 2010; RODRIGUES et al., 2017), o que se deve à sua rusticidade (CARVALHO et al., 2014). Animais zebuínos apresentam alta resistência aos ectoparasitas, como também às doenças, além de serem tolerantes às condições climáticas tropicais (CARVALHO et al., 2014; FAVERO et al., 2019); as quais são as características que determinam a sua rusticidade. No entanto, geralmente, a carne de *Bos indicus* apresenta alguns atributos de qualidade desfavoráveis, quando comparada com a carne de certas raças de animais *Bos taurus*, como carne menos macia e menor MAR (CROUSE et al., 1989; ELZO et al., 2012; LAGE et al., 2012; PEREIRA et al., 2015). Ambos atributos apresentam destaque no que diz respeito à qualidade de carne, considerando-se que a maciez é uma característica sensorial muito importante para o consumidor (LISTRAT et al., 2020) e a gordura intramuscular tem influência sobre a suculência e o sabor (HOCQUETTE et al., 2010; MAGALHÃES et al., 2016), além de ser uma característica de aparência visual da carne, muito relacionada com a expectativa do consumidor, sendo a maciez e a suculência atributos que influenciam positivamente a sua preferência (FONT-I-FURNOLS; GUERRERO, 2014). A importância de atender à expectativa do consumidor se deve ao fato de a aceitabilidade da carne bovina após a sua compra ser determinada pela satisfação do consumidor ao consumi-la (JEREMIAH; TONG; GIBSON, 1991); o que o fideliza.

No Brasil, a raça britânica que tem sido mais usada no cruzamento com o Nelore é a Aberdeen Angus. A raça Angus, *Bos taurus*, produz, em geral, carcaças mais pesadas e carne de melhor qualidade (BUREŠ; BARTOŇ, 2018), haja vista a

sua maior EGS, bem como maior deposição de gordura intramuscular, carne mais macia e mais suculenta (ELZO et al., 2012; BUREŠ; BARTOŇ, 2018).

O animal F1 *Bos taurus* x *Bos indicus*, quando comparado com o animal de raça pura *Bos indicus* em condições de clima tropical, geralmente apresenta as seguintes vantagens: ganho de peso superior e consequente produção de carcaças mais pesadas, com cobertura de gordura superior (LAGE et al., 2012) e carne de qualidade superior (ELZO et al., 2012; PEREIRA et al., 2015). No estudo realizado por Pereira et al. (2015), as vantagens do animal cruzado *Bos taurus* x *Bos indicus* foram atribuídas, além dos efeitos da heterose e complementariedade, à superioridade da raça Angus em relação às características acima comentadas.

Assim sendo, a qualidade da carne é positivamente influenciada quando se realiza o cruzamento entre animais *Bos indicus* e *Bos taurus* (GAMA et al., 2013; MIGUEL et al., 2014), o que justifica a utilização do cruzamento industrial objetivando-se a produção de carnes especiais e que atendam à expectativa do consumidor.

2.3 ESTRATÉGIA DE CONFINAMENTO NA FASE DE TERMINAÇÃO

Sabe-se que nos distintos sistemas de produção de gado de corte são fornecidas aos animais dietas com diferentes disponibilidades de energia, determinando diferenciadas taxas de ganho de peso diário e de deposição de gordura, as quais estabelecerão maior ou menor tempo necessário para que os animais alcancem o peso desejado para abate, bem como carcaças com variados acabamentos de gordura; os quais, inclusive, alteram a eficiência da produção de carne. Por isso, também é necessário criar os animais no sistema de produção mais adequado para o objetivo da produção.

Segundo Ferraz e Felício (2010), o sistema de produção mais utilizado no Brasil é o extensivo, no qual os animais são criados a pasto, composto por gramíneas muito bem adaptadas ao solo brasileiro ácido e de baixa a média fertilidade, sendo elas usualmente *Brachiaria spp.* e *Panicum spp.*, onde recebem suplementação mineral, se não houver restrição de custos pelo pecuarista. A justificativa para o uso desse tipo de sistema de produção se deve à grande disponibilidade de terras brasileiras para produção agropecuária (CARRER; SOUZA FILHO; VINHOLIS, 2013), as quais têm preços relativamente baixos, bem como à

mão-de-obra mais acessível (FERRAZ; FELÍCIO, 2010). No entanto, os animais alimentados com forragem normalmente atingem o ponto de abate com maior idade, quando comparados com animais alimentados com grãos (ROTTA et al., 2009) e, ainda, suas carcaças são mais magras e com menor porcentagem de gordura intramuscular (FERRAZ e FELÍCIO, 2010) e a carne apresenta atributos desfavoráveis de qualidade, no que diz respeito à maciez e cor (DEL CAMPO et al., 2014).

Dessa forma, quando a criação é de animais de maior potencial genético, como é o caso dos animais F1 Angus x Nelore, tornou-se usual a utilização do sistema de produção semi-intensivo: os animais são criados e recriados a pasto, mas a terminação é realizada em confinamento, ofertando-se dieta com altos níveis de energia. Segundo Miguel et al. (2014), o uso do confinamento tem sido uma prática comum no Brasil para terminar o gado de corte cruzado, haja vista a demanda desses bovinos por dietas com alta energia para ganho de peso e deposição de gordura (OWENS; DUBESKI; HANSON, 1993). Além disso, sistemas de criação mais intensificados determinam altas taxas de produtividade por animal e/ou por área, ou seja, aumenta a eficiência produtiva, bem como determina a produção de carne de melhores qualidade e uniformidade (DEL CAMPO et al., 2014), como também de carcaças uniformes, o que possibilita ao Brasil ter competitividade no mercado internacional de carnes.

Devido à demanda de alguns países por carne de animais jovens, de melhor qualidade e padronizada, e pelo fato de o abate de animais jovens determinar maior eficiência produtiva, haja vista a sua menor idade ao abate e consequente redução da duração do ciclo de produção; e, ainda, devido ao requisito dos consumidores nacionais por carnes especiais e de melhor qualidade, bem como ao crescimento do mercado de carnes *premium*, fundamenta-se a estratégia do confinamento de bovinos na fase de terminação.

2.4 INFLUÊNCIA DA CONDIÇÃO SEXUAL SOBRE A QUALIDADE DA CARNE DE BOVINOS

Além do uso do cruzamento industrial para promover a eficiência da produção de carne bovina, o que tem sido praticado pela indústria de carne há anos (LONG, 1980) e que também promove a produção de carne bovina de melhor qualidade,

uma outra estratégia que pode ser adotada para complementar as vantagens do cruzamento industrial é a utilização das diferentes condições sexuais (BONNY et al., 2016), empregando cada uma delas de acordo com o objetivo da produção. Além do macho e da fêmea bovinos, pode-se optar pela castração do macho, sendo a castração cirúrgica a técnica mais comumente utilizada (XU et al., 2018). Neste estudo abordaremos as condições sexuais macho não castrado, macho cirurgicamente castrado e fêmea.

A castração cirúrgica consiste em incisão da bolsa escrotal, seguida de dissecação, corte cirúrgico ou rompimento dos cordões espermáticos (STAFFORD; MELLOR, 2005). Atualmente, a castração cirúrgica tem sido utilizada objetivando-se a produção de carcaças e de carne com melhores atributos de qualidade. Além disso, a castração é uma estratégia para facilitar o manejo dos bovinos machos, haja vista a diminuição da agressividade desses animais (XU et al., 2018), bem como para evitar acasalamentos não desejados e atender às exigências dos consumidores, principalmente quanto a maciez e sabor da carne (DEL CAMPO et al., 2014).

Segundo Gómez et al. (2017), o manejo de machos não castrados em fase de terminação é mais difícil do que o manejo de machos castrados, o que se deve às mudanças comportamentais causadas pelos hormônios masculinos presentes no macho não castrado. Esses hormônios causam aumento da susceptibilidade ao estresse nesses animais e consequentes lesões na carcaça, o que determina redução na qualidade da carne, bem como redução na eficiência produtiva, haja vista os hematomas precisarem ser retirados da carcaça à faca no frigorífico. Tanto o comportamento agressivo, quanto o comportamento de monta, aos quais os machos não castrados são mais suscetíveis do que os machos castrados, são responsáveis pelas injúrias nas carcaças (STAFFORD; MELLOR, 2005).

No entanto, essa mesma diminuição dos hormônios androgênicos promovida pela castração determina que os machos castrados apresentem desempenho inferior, quando comparados com machos não castrados. Apesar disso, há a necessidade de se melhorar os atributos de qualidade da carne de machos não castrados, o que se deve à sua maior variação em maciez, bem como ao fato de sua carne ser mais dura e apresentar coloração mais escura, quando comparada com a carne de machos castrados (SEIDEMAN et al., 1982).

As vantagens de produção de machos jovens não castrados, em comparação com machos castrados, são a sua taxa de crescimento, eficiência alimentar, produção de carcaças magras e grau de rendimento de cortes principais. As desvantagens são o grau de qualidade, rendimento de carcaça, MAR, cobertura de gordura, peso de carcaça, remoção do couro, estresse (causando maior incidência de cortes escuros e carne DFD), maciez, cor e textura. Ademais, os machos castrados em confinamento atingem o acabamento de carcaça desejado em menor tempo do que os machos não castrados, resultando, geralmente, em menores custos, ou seja, sendo mais econômicos (SEIDEMAN et al., 1982).

Segundo Xu et al. (2018), devido à inibição dos hormônios sexuais masculinos, o animal castrado apresenta desempenho produtivo reduzido. Ainda, os escores baixos de marmorização da carne de machos não castrados podem prejudicar a percepção de qualidade (BONNY et al., 2016).

As fêmeas bovinas podem produzir carne de melhor qualidade devido às suas diferenças em deposição de gordura (BONNY et al., 2016), haja vista elas apresentarem genes favoráveis à deposição de gordura, bem como seu perfil hormonal influenciar a proporção e distribuição dos ácidos graxos nos músculos (VENKATA REDDY et al., 2015). Essas diferenças das fêmeas determinam que a carne delas apresente, em geral, maior deposição de gordura intramuscular, a qual é relacionada com melhores maciez, suculência e sabor (CHRIKI et al., 2012). Além da deposição de gordura, outros fatores podem ser apontados como determinantes para a menor FC da carne de fêmeas bovinas em comparação com a carne de machos não castrados, como o menor diâmetro de suas fibras musculares e a menor quantidade de colágeno no seu músculo (SEIDEMAN; CROSS; CROUSE, 1989).

Fêmeas e machos castrados apresentam músculos maiores no quarto traseiro, quando comparados com machos não castrados, os quais, além de apresentarem músculos maiores no quarto dianteiro, também apresentam músculos maiores no pescoço (BRANDSTETTER et al., 2000). De acordo com Choat et al. (2006), ao avaliarem as características de carcaça de fêmeas e machos castrados sob as mesmas condições de manejo desde o nascimento até o abate, as fêmeas apresentaram carcaças mais leves. Porém, apresentaram maior área de músculo *Longissimus* por 100 kg de carcaça, maior MAR e melhor qualidade em relação ao

USDA quality grade (grau de qualidade de acordo com o Departamento de Agricultura dos Estados Unidos da América).

Choat et al. (2006) também avaliaram a FC e a AS por painel treinado em um nível comum de espessura de gordura da carcaça de fêmeas e machos castrados. Os autores relataram que machos castrados apresentaram menor FC aos sete dias de maturação e não houve diferença em relação à FC aos 14 e 21 dias de maturação; nem para suculência, maciez das fibras musculares, maciez geral e sabor. No entanto, em relação à quantidade de tecido conjuntivo, a carne dos machos castrados foi melhor classificada sensorialmente. Já, no que diz respeito à FC e à AS por painel treinado em uma pontuação comum de marmorização, os machos castrados apresentaram menor FC aos sete e 14 dias de maturação e receberam melhor classificação para maciez das fibras musculares, quantidade de tecido conjuntivo e maciez geral. Em relação à probabilidade prevista de aceitação pelo consumidor com base na FC, não houve diferença entre macho castrado e fêmea e, com base na pontuação de marmorização, as taxas previstas para aceitação da carne de fêmeas foram maiores.

Portanto, pode ser possível estabelecer a condição sexual a ser produzida de acordo com o objetivo da produção, como em qual mercado a carne será comercializada: nacional, internacional ou nicho de mercado e o tipo de produto que se espera obter no final, a carne do dia a dia ou a carne especial ou *premium*.

2.4.1 O eixo hipotálamo-hipófise-gonadal em bovinos machos

O eixo hipotálamo-hipófise-gonadal (eixo HPG, do inglês, *hypothalamic-pituitary-gonadal axis*) atua tanto na reprodução quanto na produção de hormônios esteroides em machos e fêmeas. Os hormônios produzidos por esse eixo são o hormônio liberador de gonadotrofina (GnRH); as gonadotrofinas: hormônio luteinizante (LH) e o hormônio folículo-estimulante (FSH); e os esteroides sexuais: estrógenos e andrógenos (JIN; YANG, 2014). O GnRH é secretado pelo hipotálamo e atua na hipófise anterior estimulando a síntese e secreção de LH e FSH, os quais atuam nas gônadas, que no caso dos machos, são os testículos (JIN; YANG, 2014; HAN et al., 2017).

Os testículos fazem parte do sistema reprodutor masculino e tem duas funções básicas: esteroidogênese e espermatogênese. A primeira delas ocorre nas

células de Leydig e é caracterizada pela secreção de hormônios, como a testosterona; já a segunda ocorre nas células de Sertoli dos túbulos seminíferos, com a finalidade de produção de espermatozoides. Essas duas funções estão intimamente ligadas, haja vista a influência da testosterona, na produção e maturação dos espermatozoides. O LH e o FSH também influenciam, separadamente e respectivamente, a secreção de esteroides e a produção de espermatozoides (AMANN; SCHANBACHER, 1983), ainda, o FSH e a testosterona agem juntos na regulação da maturação das células espermáticas (JIN; YANG, 2014).

Algumas substâncias regulam as secreções do eixo HPG: estrógenos, andrógenos e progesterona regulam a secreção de GnRH, além de regularem a secreção de gonadotrofinas; LH e FSH realizam o *feedback* no hipotálamo e na hipófise juntamente com outras substâncias, como os hormônios esteroides gonadais e os hormônios peptídicos, como activina e inibina; e activina, inibina e folistatina também participam da regulação de gonadotrofinas. Nos machos a regulação precisa dos hormônios possibilita a capacidade reprodutiva e o desenvolvimento das características secundárias (JIN; YANG, 2014).

Além da função reprodutiva, os andrógenos, como a testosterona, também são necessários para muitas das funções somáticas das células (JIN; YANG, 2014), haja vista, por exemplo, o maior crescimento muscular dos machos não castrados, o que se deve aos estímulos dos esteroides gonadais, os quais também aumentam a eficiência alimentar (SCARLET et al., 2016). Esse maior crescimento muscular se deve à testosterona produzida nos testículos, que se liga aos seus receptores musculares e estimula a incorporação de aminoácidos nas proteínas, aumentando a massa muscular (DAYTON; WHITE, 2008).

2.5 MACIEZ DA CARNE

Dentre todos os atributos de qualidade da carne, a maciez é reconhecida como um dos mais importantes para o consumidor. Segundo Miller et al. (2001) e Holman et al. (2017), a contribuição da maciez na percepção geral da carne e na intenção de compra do consumidor excede a contribuição de outros atributos sensoriais. No entanto, a maciez da carne sofre grande variação, podendo causar descontentamento (DESTEFANIS et al., 2008; LISTRAT et al., 2020), dessa forma, é

o primeiro atributo avaliado em relação aos aspectos qualitativos da produção de carne bovina.

Segundo Holman et al. (2020), a maciez pode ser definida como a facilidade que se tem em cortar, morder e mastigar a carne, por isso, esse atributo é tão importante em relação à percepção sensorial e satisfação do consumidor de carne bovina. A relação entre a maciez da carne e a satisfação do consumidor foi estabelecida há muito tempo, ademais, sabe-se que o consumidor prefere adquirir uma carne com garantia de maciez, inclusive, estando disposto a pagar mais por esse produto (MILLER et al., 2001).

Fatores intrínsecos e extrínsecos afetam a maciez da carne. A estrutura, tipo e dimensão das fibras musculares, a distribuição de tecido conjuntivo, o depósito de gordura, e a suscetibilidade da carne à degradação *post mortem* são fatores intrínsecos; já, os fatores extrínsecos são o corte cárneo ou o músculo selecionado, o método de preparação da carne, bem como o seu grau de cozimento, e vários outros fatores da cadeia produtiva, como tipo de produção, processamento e preservação (HOPKINS, 2017).

Shackelford, Wheeler e Koohmaraie (1995), ao avaliarem a relação entre a FC e as classificações de maciez da carne por painel sensorial treinado de dez músculos de bovinos *Bos indicus* x *Bos taurus*, demonstraram a diminuição da maciez da carne do músculo *Longissimus* na progênie de touros *Bos indicus*, o que já era bem estabelecido na época, mas também verificaram que o mesmo era válido para outros músculos, como *Triceps brachii* e *Biceps femoris*. Ademais, eles destacaram uma série de outros fatores, além da genética, que contribuem para a variação na maciez de vários músculos: tempo de alimentação e idade ao abate do animal, uso da estimulação elétrica nas carcaças, método de suspensão das carcaças e duração do período de maturação da carne. Já, Warner et al. (2010) citaram fatores intrínsecos que determinam a maciez da carne, como tecido conjuntivo, CS, grau de proteólise durante a maturação, gordura intramuscular e metabolismo da energia *post mortem*.

Para entender esses efeitos, bem como a influência deles na maciez da carne, vários métodos podem ser usados, como comentado anteriormente: tanto métodos objetivos, quanto métodos subjetivos; e para modificar a maciez da carne, práticas de processamento podem ser aplicadas à carcaça ou à carne, como a estimulação elétrica da carcaça, técnicas de suspensão da carcaça e maturação da

carne. Segundo Kim et al. (2018), a maturação da carne é uma dessas práticas que tem sido largamente utilizada há anos, visando tornar a carne macia e, assim, satisfazer o consumidor, além de agregar valor ao produto final.

2.5.1 Maturação

Maturação é o conceito de processo de amaciamento da carne ao longo do tempo, o que ocorre por meio da ação de enzimas musculares endógenas que já existiam no músculo do animal vivo e que ainda continuam presentes e funcionais no músculo após a morte (DEVINE, 2014). Essas enzimas proteolíticas endógenas, as quais fazem parte de diferentes sistemas proteolíticos inerentes à carne, degradam as principais proteínas miofibrilares, resultando em carne mais macia (CONTRERAS-CASTILLO et al., 2016; KIM et al., 2018).

De modo geral, praticamente todos os aspectos de produção e processamento podem influenciar a extensão e a taxa de maturação da carne, dessa forma, o amaciamento é afetado pelo histórico do animal enquanto ainda vivo, sendo os efeitos do estresse pré-abate muito relevantes, e pode ser afetado ainda mais pela temperatura até o esgotamento de ATP das fibras musculares, bem como pelo encurtamento muscular, estimulação elétrica, e temperatura e duração da maturação (DEVINE, 2014). Apesar de vários fatores influenciarem a taxa de maturação da carne, a extensão da proteólise *post mortem* sobre as proteínas estruturais das fibras musculares é a principal determinante da maciez final (KEMP et al., 2010).

A maturação em todas as fibras musculares se inicia após o *rigor mortis*. No entanto, nas fibras em que o rigor tiver sido atingido antes, o mecanismo de maturação também terá iniciado mais cedo (DEVINE, 2014), ou seja, as fibras que tiverem entrado em rigor antecipadamente, também iniciarão a maturação antecipadamente, em comparação com as fibras tardias. Industrialmente, a maturação tem sido realizada de duas formas principais: úmida (*wet-aging*, ou ainda, maturação a vácuo – *vacuum-aging*) e a seco (*dry-aging*) (SMITH et al., 2008); e, ainda, pode ser realizada na carcaça como um todo ou em cortes cárneos embalados a vácuo, os quais são armazenados sob temperatura controlada (KIM et al., 2018).

A maturação úmida consiste em embalar a vácuo cortes de carne e armazená-los em refrigeração controlada (SMITH et al., 2008), sendo o mais usual maturar a carne sob temperatura entre 0 e 2 °C por aproximadamente 14 dias (KILGANNON et al., 2019). Já, na maturação a seco, a carne é mantida sem embalagem sob condições específicas de controle da temperatura, umidade relativa e fluxo de ar (KIM; KEMP; SAMUELSSON, 2016). O método mais utilizado pela indústria é a maturação úmida, que tem como prós a melhoria da maciez e da suculência, o que se deve à retenção da umidade da carne (PARK et al., 2015; VAN BA et al., 2017; KIM et al., 2019) e, ainda, flexibilidade de armazenamento (SMITH et al., 2008).

Embora inúmeras pesquisas tenham sido realizadas na tentativa de compreensão dos mecanismos que causam o amaciamento da carne, ainda não há um consenso sobre o que exatamente acontece entre as proteases endógenas e as estruturas das fibras musculares (OUALI et al., 2013). O que já está bem definido, até o momento, é que a proteólise *post mortem* é um processo multienzimático, que envolve vários sistemas proteolíticos intracelulares (KIM et al., 2018).

2.5.2 Sistemas proteolíticos

De acordo com Hopkins e Taylor (2002), a extensão da alteração da estrutura muscular e das proteínas associadas a essa estrutura é determinante para a maciez final da carne. Como comentado anteriormente, sabe-se que vários sistemas proteolíticos intracelulares estão envolvidos na proteólise *post mortem* (KIM et al., 2018). No entanto, esses mecanismos ainda não são completamente entendidos (OUALI et al., 2013) e, por isso, são necessários ainda mais estudos para melhor entendimento do processo de proteólise *post mortem*, bem como do amaciamento da carne. Também, o melhor entendimento desse processo permite a identificação de preditores confiáveis de maciez da carne, ou biomarcadores de maciez da carne (OUALI et al., 2013), o que pode ser de ampla utilidade para a indústria de carne, haja vista a necessidade de se satisfazer as expectativas dos consumidores, principalmente no que diz respeito à maciez da carne.

Segundo Huff-Lonergan et al. (1996), a interação coordenada de várias proteínas é a responsável pela manutenção da integridade e da função geral das células musculares. Dessa forma, o enfraquecimento da estrutura celular dos

músculos também depende da degradação de várias proteínas miofibrilares ou citoesqueléticas.

O amaciamento da carne por meio da maturação natural, ou seja, sem aplicação de enzimas exógenas, inicia-se a partir da morte do animal, ocorre mais lentamente que quando há a aplicação dessas enzimas e, geralmente, tem duração de sete dias na maioria das espécies animais. Essa tecnologia se dá por ação das enzimas endógenas, as quais já se encontravam no músculo vivo e nele realizavam as funções de reparo e regulação do crescimento muscular, removendo as proteínas que não atuavam mais adequadamente, para que elas fossem substituídas por proteínas apropriadas. A maioria das enzimas endógenas atua na estrutura da miofibrila e nas ligações das miofibrilas com a membrana celular, o sarcolema (HUFF-LONERGAN, 2014).

Segundo esse mesmo pesquisador, no período *post mortem* precoce é possível observar a degradação de algumas das proteínas que atuam na ligação entre as miofibrilas e o sarcolema. Ainda, a degradação das proteínas que compõem a própria miofibrila (principalmente da banda I) também culmina com o amaciamento da carne. Dessa forma, titina, nebulina, desmina e troponina-T são algumas das principais proteínas miofibrilares e citoesqueléticas que são degradadas precocemente durante a maturação, enquanto que as proteínas mais abundantes da miofibrila, actina e miosina, não sofrem degradação durante a maturação.

Ouali et al. (2006) afirmaram dois pontos sobre o amaciamento da carne: a natureza enzimática dos mecanismos responsáveis pelo amaciamento da carne, os quais envolvem diversos sistemas proteolíticos intracelulares; e a apoptose como fator iniciador da conversão do músculo em carne, a qual consiste em um processo de morte celular programada, dependente de energia. De todos os sistemas proteolíticos apontados como responsáveis pelo amaciamento da carne, o mais estudado é o sistema de calpaínas (KIM et al., 2018), por isso, será o primeiro sistema abordado nesta revisão.

O sistema de calpaínas tem papel fundamental na degradação muscular e, conseqüentemente, na maciez do produto final (KOOHARAIE, 1996; HOPKINS; THOMPSON, 2002). No geral, tem como substrato a titina, nebulina, troponina-T, desmina, sinemina, talina e vinculina (HUFF-LONERGAN, 2014); é dependente de cálcio, apresenta atividade ótima em pH neutro e é composto principalmente por duas proteases: μ -calpaína, também chamada de calpaína 1, e m-calpaína,

chamada de calpaína 2, além de um inibidor específico, a calpastatina (GOLL et al., 2003; WENDT; THOMPSON; GOLL, 2004).

As calpaínas degradam a maioria das proteínas musculares em relativamente poucos fragmentos e este processo é observado na carne durante a maturação (HUFF-LONERGAN, 2014). A μ -calpaína, dependente de concentrações micromolares de cálcio, é a mais relacionada com a fragmentação miofibrilar (DE OLIVEIRA et al., 2019) e, conseqüentemente, com a maciez da carne, devido à sua atuação sobre várias proteínas miofibrilares, como a titina, nebulina, filamina, desmina e troponina-T (HUFF-LONERGAN; PARRISH; ROBSON, 1995). A m-calpaína é dependente de concentrações milimolares de cálcio para ser ativada. Por outro lado, a calpastatina é relacionada negativamente com o amaciamento da carne devido a sua inibição na ação enzimática das calpaínas (DELGADO; SANTOS, 2010). Essa enzima foi observada em todos os tecidos nos quais se encontrem calpaínas e, devido à sua estrutura com quatro domínios repetidos para atividade inibitória, uma molécula de calpastatina pode inibir, teoricamente, quatro moléculas de calpaína (HUFF-LONERGAN, 2014).

Apesar disso, o nível de atividade inibitória da calpastatina diminui durante a maturação da carne, haja vista a ocorrência de sua degradação no músculo *post mortem*, o que pode ser parcialmente causado pelas calpaínas, contudo, ainda não se sabe em que condições isso ocorre (HUFF-LONERGAN, 2014). Segundo de Moura Souza et al. (2019), existe relação positiva entre a FC da carne e a abundância e atividade do mRNA da calpastatina. Ao investigarem a associação entre a maciez da carne e o temperamento de bovinos, esses mesmos autores observaram que o músculo *Longissimus* de animais com temperamento exacerbado e com maior expressão de calpastatina se manteve duro mesmo após longo período de maturação.

Embora μ -calpaína e m-calpaína sejam dependentes de cálcio para se tornarem ativas, elas também autolisam a si mesmas, quando há cálcio disponível. Entretanto, tanto sua forma autolisada quanto sua forma não autolisada apresentam atividade e, por isso, a presença da forma autolisada da μ -calpaína no tecido muscular *post mortem* pode indicar que houve ação dessa enzima (HUFF-LONERGAN, 2014).

No entanto, o declínio do pH no músculo *post mortem*, chegando a níveis inferiores ao ideal para a ação das calpaínas, despertou a atenção para outros

sistemas proteolíticos, que também possam estar envolvidos no amaciamento da carne (KIM et al., 2018). Dessa forma, além dos sistemas das calpaínas, os sistemas das caspases, catepsinas, proteassomas e proteínas de choque térmico também têm papel fundamental no amaciamento da carne *post mortem* (SENTANDREU; COULIS; OUALI, 2002; OUALI et al., 2006, 2013).

As catepsinas são exo- e endopeptidases encontradas nos lisossomos do músculo vivo, compostas por 15 membros, dos quais apenas oito (B, D, E, F, H, K, L e S) são encontrados nos músculos, sendo classificadas em três famílias de peptidases: cisteína, aspartil e serina (SENTANDREU; COULIS; OUALI, 2002). No início das pesquisas sobre o amaciamento da carne durante o período de maturação, as catepsinas foram as principais proteases estudadas (HUFF-LONERGAN, 2014).

De acordo com Huff-Lonergan (2014), as catepsinas B, D, H e L são as mais estudadas para maciez da carne e são ativas em pH ácido, sendo a maioria ativa em pH entre 5,0 e 6,0, ou seja, próximo aos valores de pH da carne pós *rigor mortis*: para a catepsina B, pertencente à família cisteína, a faixa de pH na qual ela se encontra ativa é de 4,0 a 6,5 e ela degrada actina e miosina, além de outras proteínas do músculo; para a catepsina D, da família aspartil, a faixa de pH na qual há atividade é de 2,5 a 5,0 e ela também degrada actina e miosina, assim como as catepsinas B e L; a catepsina L é ativa na faixa de pH entre 3,0 e 6,5 e, além de degradar actina e miosina, ela também degrada alfa-actinina, troponina-T e troponina-I; já a catepsina H, pertencente à família cisteína, encontra-se ativa em pH entre 5,5 e 6,5, tendo atividade contra a miosina.

As catepsinas são estudadas em produtos cárneos curados, devido à persistência de sua atividade por longos períodos. Vale ressaltar que várias catepsinas, principalmente B e L, também hidrolisam os tecidos conjuntivos, sendo a primeira ativa contra colágeno e proteoglicanos e a segunda ativa contra elastina, além de colágeno e proteoglicanos. As catepsinas B e L possuem de 5 a 10% de sua atividade por até 15 meses e a catepsina D, o faz por seis a dez meses (RICO; TOLDRÁ; FLORES, 1991; TOLDRÁ et al., 1992). Muitos autores rejeitavam a hipótese de ação das catepsinas na proteólise da carne *post mortem* (LANA; ZOLLA, 2016). Entretanto, Wang et al. (2014) confirmaram a ação das catepsinas B, D e L no amaciamento da carne de pato curado a seco.

Assim como as calpaínas têm a calpastatina como sua inibidora, as proteases da família cisteína têm como inibidora a cistatina, encontrada por toda a célula muscular. A existência da cistatina é o que explica a pouca atividade das catepsinas no músculo *post mortem*, o que justifica a ausência de degradação de actina e miosina, mesmo quando o pH *post mortem* deveria favorecer a atividade das catepsinas (HUFF-LONERGAN, 2014).

O proteassoma 20S, também conhecido como MCP, está envolvido na regulação de várias vias celulares, por meio da degradação de determinadas proteínas do citosol e do núcleo (LANA; ZOLLA, 2016). A sua incubação com células musculares bovinas causou a degradação de nebulina, actina, miosina e tropomiosina após 24 horas (TAYLOR et al., 1995; ROBERT et al., 1999). A proteólise por esse complexo é dependente de ubiquitina, haja vista a necessidade de ligação de pelo menos quatro proteínas de ubiquitina ao resíduo de lisina do substrato alvo, para que haja reconhecimento desse substrato pelo proteassoma; após o reconhecimento, o proteassoma remove a cadeia de ubiquitina e degrada o substrato (TAILLANDIER et al., 2004).

As caspases compreendem uma família de proteases de cisteína envolvidas na morte celular programada, ou seja, apoptose, a qual é caracterizada pelo “desmonte” organizado de uma célula, sem que haja resposta inflamatória generalizada, o que acontece com gasto de ATP. Os substratos das caspases necessariamente apresentam resíduos de aspartato, os quais incluem proteínas miofibrilares e esqueléticas (HUFF-LONERGAN, 2014).

As caspases podem ser ativadas pela condição de hipóxia do músculo após a morte, dessa forma, a sua atividade pode contribuir com a proteólise *post mortem* precoce e amaciamento da carne (SENTANDREU; COULIS; OUALI, 2002; KEMP et al., 2010). Acredita-se que as caspases iniciadoras (8, 9, 10 e 12) ativam as efetoras (3, 6 e 7) (EARNSHAW; MARTINS; KAUFMANN, 1999), que segmentam e clivam seus substratos específicos, “desmontando” a célula (FUENTES-PRIOR; SALVESEN, 2004). Os seus substratos incluem cadeias leves de actina, troponina-T e miosina, dentre outros (HUFF-LONERGAN, 2014).

Segundo Herrera-Mendez et al. (2006), as caspases provavelmente degradam primeiro as principais proteínas envolvidas na organização espacial das miofibrilas dentro das células musculares e, posteriormente, a hidrólise dos componentes celulares e organelas ocorre devido à ação de outros sistemas

proteolíticos, como as calpaínas, catepsinas e proteassomas. Dessa forma, as caspases seriam, provavelmente, facilitadoras da ação desses outros sistemas proteolíticos. Entretanto, afirma-se que esse sistema ainda não está bem esclarecido e são necessários estudos futuros para definir sua relação com o amaciamento da carne (BECILA et al., 2010; KEMP et al., 2010; GAGAOUA et al., 2015; LANA; ZOLLA, 2015; BOUDIDA et al., 2016).

Outras proteínas importantes e associadas à maciez da carne são as proteínas de choque térmico. Elas representam uma grande família de proteínas relacionadas à manutenção da homeostase celular (GAGAOUA et al., 2021). Essas proteínas têm diversas funções antiestresse e são reconhecidas como chaperonas devido a sua função antiapoptótica (MA; KIM, 2020), estabilizando e garantindo o enovelamento de proteínas (estruturação das proteínas em sua forma funcional), ou auxiliando no enovelamento de proteínas que sofreram alterações devido ao estresse celular (LOMIWES et al., 2014b; PICARD; GAGAOUA, 2017), ou seja, elas atuam em uma via de sobrevivência das células.

Após a morte do animal, o organismo é exposto a condições fisiológicas atípicas que desencadeiam mecanismos de proteção celular, os quais podem ser tanto de morte programada das células, como de sobrevivência celular (OUALI et al., 2013), momento em que as HSPs têm sua maior expressão desencadeada (SUGIYAMA et al., 2000). Diversas proteínas pertencentes à família de HSPs foram apontadas como possíveis biomarcadores relacionados à maciez da carne (GAGAOUA et al., 2018; MALHEIROS et al., 2019; SILVA et al., 2019; PICARD; GAGAOUA, 2020), tanto positivamente, quanto negativamente, dependendo de fatores como raça, condição sexual, intensidade do estresse pré-abate ao qual os animais são submetidos e tipo de isoformas da HSP atuante.

Muito se especula sobre qual dos sistemas proteolíticos é o predominante no amaciamento da carne *post mortem*. Apesar disso, as evidências apontam que os sistemas atuam juntos em busca do mesmo objetivo e, portanto, os esforços deveriam ser direcionados para se entender como os sistemas atuam em conjunto (HUFF-LONERGAN, 2014). Outra questão é que, dependendo da situação, pode haver incidência de um ou mais sistemas atuando na determinação da maciez. Dessa forma, é importante também conhecermos as vias biológicas que se relacionam com a proteólise *post mortem* e o amaciamento da carne. Até hoje, as principais vias descritas, relacionadas com o amaciamento da carne, são: contração

muscular, estrutura e proteínas associadas; metabolismo energético; proteínas de choque térmico; proteínas do estresse oxidativo; proteólise e outras proteínas, como as envolvidas na regulação de processos celulares, de ligação, apoptose e transporte (GAGAOUA, 2021).

Portanto, a identificação de proteínas potencialmente relevantes para a determinação da maciez da carne de bovinos de diferentes condições sexuais possibilitará a caracterização de mecanismos moleculares envolvidos na determinação desse atributo, podendo elucidar o que torna a carne mais ou menos macia, dentre as condições sexuais e ao longo dos períodos de maturação.

Acredita-se que a condição sexual dos bovinos altera o perfil proteico do músculo, influenciando a proteólise *post mortem*, afetando a maciez da carne. Assim, objetivou-se comparar a maciez da carne de bovinos Angus x Nelore entre as condições sexuais (machos não castrados, machos castrados e fêmeas) no músculo *Longissimus* nos diferentes períodos de maturação (dois, sete, 14 e 21 dias); avaliar as diferenças na proteólise *post mortem* entre as condições sexuais e entre as condições sexuais nos períodos de maturação de dois e sete dias e identificar as proteínas que apresentam diferenças no perfil de degradação, a fim de elucidar os principais mecanismos biológicos que possivelmente controlam a maciez da carne desses animais.

3 PRODUÇÃO DE CARNE BOVINA DE QUALIDADE EXTRA: UMA ABORDAGEM DE CONDIÇÃO SEXUAL E MATURAÇÃO DA CARNE PARA ATENDER ÀS DEMANDAS DOS CONSUMIDORES DE CARNE DIFERENCIADA

RESUMO

A cadeia de produção de carne baseia-se na criação de animais com o propósito de abate para alimentação humana e o consumidor de carne diferenciada vem exigindo cada vez mais carne de qualidade extra. Para que esse produto seja produzido, o cruzamento industrial entre raças bovinas tem sido amplamente utilizado. Ainda, é possível adotar outras estratégias para complementar as vantagens do cruzamento, como o uso das diferentes condições sexuais. Dessa forma, é possível estabelecer a condição sexual a ser produzida, de acordo com o objetivo da produção, como em qual mercado a carne será comercializada: nacional, internacional ou nicho de mercado; bem como qual consumidor se deseja atender e o tipo de produto que se espera obter no final, a carne do dia a dia ou a carne *premium*. Assim, objetivou-se comparar as características de carcaça, bem como os atributos de qualidade da carne de bovinos Angus x Nelore entre as condições sexuais machos não castrados, machos castrados e fêmeas, no músculo *Longissimus* nos diferentes períodos de maturação (dois, sete, 14 e 21 dias); determinar o período de maturação ideal para cada condição sexual e inferir a condição sexual mais adequada para produção de carne mais macia, com menor período de maturação. Foram utilizados 150 bovinos F1 Angus x Nelore, divididos nas três condições sexuais. Os animais foram confinados e receberam a mesma dieta durante 150 dias. Posteriormente, os animais foram abatidos e durante a sangria foram coletadas amostras de sangue para quantificação hormonal. Foi avaliado o pH 24 h *post mortem* e durante a desossa foram analisadas a área de olho de lombo, a espessura de gordura subcutânea e a marmorização no músculo *Longissimus*. Foram coletadas amostras do mesmo músculo e maturadas sob temperatura entre 0 e 2 °C para análises de comprimento de sarcômero (dois e sete dias de maturação), cor, perdas totais por cocção, força de cisalhamento (dois, sete, 14 e 21 dias de maturação) e análise sensorial (14 dias de maturação). Machos castrados e fêmeas foram as condições sexuais que permitiram a produção de carne mais macia, com menor período de maturação. De modo geral, os provadores perceberam diferenças entre as carnes

de machos não castrados e castrados, e a carne de fêmeas foi classificada em posição intermediária entre as carnes das outras duas condições sexuais, assemelhando-se a ambas. Assim sendo, os provadores consumidores preferiram a carne de machos castrados, a qual eles julgaram como mais macia e mais suculenta, em relação às demais. Dessa forma, a condição sexual a ser usada pelos produtores depende do propósito da produção. Se o objetivo é produzir carne em volume, ou carne do dia a dia, a melhor condição sexual a ser produzida é o macho não castrado. Mas, se o objetivo é produzir carne especial ou *premium*, para atender aos nichos de mercado e atender às demandas dos consumidores que desejam carne de qualidade extra, fêmeas e machos castrados são as melhores condições sexuais a serem produzidas.

Palavras-chave: Condição sexual. Desempenho. Características de carcaça. Maturação. Qualidade da carne. Força de cisalhamento. Análise sensorial.

3.1 INTRODUÇÃO

A cadeia de produção de carne baseia-se na criação de animais com o propósito de abate para alimentação humana. No entanto, para se obter carne de qualidade com garantia de segurança alimentar, não basta simplesmente criar os animais, abatê-los e processar a sua carne. A ciência da carne envolve questões que vão muito além disso, como a seleção dos animais adequados para a criação; a forma como eles são criados e abatidos, o que inclui os preceitos de bem-estar animal na criação, transporte e abate humanitário; as tecnologias aplicadas nos músculos após o abate e na carne; entendimento do mercado e do consumidor; e até a forma como o consumidor prepara a carne em casa. Portanto, esse processo inicia-se na seleção dos animais que serão acasalados, gerando o animal que será criado e somente é finalizado no momento em que o consumidor prepara e consome a carne: da fazenda ao prato.

O consumidor brasileiro de carne diferenciada vem exigindo cada vez mais carne de qualidade extra e cortes especiais, estando disposto a pagar mais por isso, haja vista o sucesso do mercado de carne bovina premium no país (BEEF POINT, 2020; MOITINHO, 2021). Ainda, apesar de ser o maior exportador de carne bovina do mundo (USDA, 2020), o Brasil continua importando esse produto, o que totalizou 35,4 mil toneladas de carne bovina importada, em 2020 (BRASIL, 2021). Ou seja, o Brasil não é capaz de atender ao seu próprio nicho de mercado de carne diferenciada (MOITINHO, 2021) e, por isso, ainda é cliente da carne bovina premium produzida em outros países, sendo eles Paraguai (44%), Argentina (30%), Uruguai (20%), Austrália (4,8%), Estados Unidos (0,56%) e Japão (0,098%) (BRASIL, 2021). Para que esse produto seja produzido, com o objetivo de melhorar a eficiência produtiva e a qualidade da carne, o cruzamento industrial entre raças bovinas tem sido amplamente utilizado. Por meio desse cruzamento é possível explorar a heterose e a variação genética aditiva entre diferentes raças (CROUSE et al., 1989). Nos países de clima tropical, como o Brasil, o interesse pelo cruzamento tem a finalidade de melhorar o crescimento dos animais, a qualidade da carne bovina e a adaptabilidade dos animais nos sistemas de produção (LAGE et al., 2012), haja vista tanto fatores genéticos, quanto fatores ambientais, bem como a sua interação,

serem determinantes para o êxito da produção de carne bovina (FAVERO et al., 2019; WARNER et al., 2010).

No Brasil, realiza-se principalmente o cruzamento entre bovinos zebuínos (*Bos indicus*) e taurinos (*Bos taurus*), tanto para produção de carne (MIGUEL et al., 2014) quanto de leite (OLIVEIRA JÚNIOR et al., 2017). Isso se deve à necessidade de adaptação do animal às condições tropicais, o que decorre dos bovinos zebuínos, e à necessidade de melhor produtividade, o que provém dos bovinos taurinos (OLIVEIRA; SANTANA; CARDOSO, 2016).

Os animais zebuínos da raça Nelore são os principais representantes do rebanho brasileiro (FERRAZ; FELÍCIO, 2010; RODRIGUES et al., 2017), o que se deve à sua rusticidade (CARVALHO et al., 2014). Animais zebuínos apresentam alta resistência aos ectoparasitas, como também às doenças, além de serem tolerantes às condições climáticas tropicais (CARVALHO et al., 2014; FAVERO et al., 2019); as quais são as características que determinam a sua rusticidade.

No entanto, geralmente, a carne de *Bos indicus* apresenta alguns atributos de qualidade desfavoráveis, quando comparada com a carne de certas raças de animais *Bos taurus*, como carne menos macia e pouca marmorização (CROUSE et al., 1989; ELZO et al., 2012; LAGE et al., 2012; PEREIRA et al., 2015). Ambos atributos apresentam destaque no que diz respeito à qualidade de carne, considerando-se que a maciez é uma característica sensorial muito importante para o consumidor (LISTRAT et al., 2020) e a gordura intramuscular tem influência sobre a suculência e o sabor (HOCQUETTE et al., 2010; MAGALHÃES et al., 2016), além de ser uma característica de aparência visual da carne, muito relacionada com a expectativa do consumidor, sendo a maciez e a suculência atributos que influenciam positivamente a sua preferência (MILLER et al., 2001; FONT-I-FURNOLS; GUERRERO, 2014; HOLMAN et al., 2017; MALHEIROS et al., 2019).

A importância de atender à expectativa do consumidor se deve ao fato de a aceitabilidade da carne bovina após a sua compra ser determinada pela satisfação do consumidor ao consumi-la (JEREMIAH et al., 1991), o que o fideliza. De acordo com a *American Society for Testing and Materials* (Sociedade Americana de Ensaio e Materiais; ASTM, 2011), a determinação do padrão de maciez para a carne bovina facilita a comunicação entre todo o setor produtivo, aperfeiçoando o entendimento entre produtores, processadores e consumidores acerca das expectativas em relação ao produto final. Contudo, não existe a definição do limiar de maciez da

carne para consumidores brasileiros. A atitude, predileção e sensação do consumidor brasileiro podem ser bastante distintas do consumidor americano ou de outras nacionalidades. A AS é importante para se conhecer as características sensoriais da carne, bem como para determinar a relação dessas características com a expectativa do consumidor, o que, juntamente com a análise da FC, possibilita a determinação de limiares de aceitação para maciez e outros atributos de qualidade da carne. No entanto, é importante destacar que o perfil dos consumidores varia em função de fatores pessoais, sociais, econômicos e culturais, que influenciam a conduta individual na compra e consumo desses produtos, como também na satisfação ao consumi-los.

Uma outra estratégia que pode ser adotada para complementar as vantagens do cruzamento industrial é a utilização das diferentes condições sexuais (BONNY et al., 2016), empregando cada uma delas, de acordo com o objetivo da produção. Além do macho e da fêmea bovinos, pode-se optar pela castração do macho, sendo a castração cirúrgica a técnica mais comumente utilizada (XU et al., 2018).

Atualmente, a castração cirúrgica tem sido utilizada objetivando-se a produção de carcaças e de carne com melhores atributos de qualidade, haja vista a carne dos machos não castrados geralmente apresentar maior variação em maciez, ser mais dura e com coloração mais escura quando comparada com a carne de machos castrados (SEIDEMAN et al., 1982). Ademais, os escores inferiores de marmorização da carne de machos não castrados podem prejudicar a sua percepção de qualidade (BONNY et al., 2016). Ainda, a castração do macho é uma estratégia para facilitar o manejo dos bovinos machos, haja vista a diminuição da agressividade (XU et al., 2018).

As fêmeas bovinas podem produzir carne de melhor qualidade devido às suas diferenças em deposição de gordura (BONNY et al., 2016), haja vista elas apresentarem genes favoráveis à deposição de gordura, bem como seu perfil hormonal influenciar a proporção e distribuição dos ácidos graxos nos músculos (VENKATA REDDY et al., 2015). Essas diferenças determinam que a carne de fêmeas apresente maior deposição de gordura intramuscular, a qual é relacionada com melhores maciez, suculência e sabor (CHRIKI et al., 2012).

Dessa forma, é possível estabelecer a condição sexual a ser produzida, de acordo com o objetivo da produção, como em qual mercado a carne será

comercializada: nacional, internacional ou nicho de mercado; e o tipo de produto que se espera obter no final, a carne do dia a dia ou a carne especial ou *premium*.

Assim, objetivou-se comparar características de carcaça, bem como atributos de qualidade da carne de bovinos cruzados *Bos taurus* x *Bos indicus* machos não castrados, machos castrados e fêmeas no músculo *Longissimus*, em diferentes períodos de maturação (dois, sete, 14 e 21 dias); determinar o período de maturação ideal para cada condição sexual e inferir a condição sexual mais adequada para produção de carne mais macia, com menor período de maturação.

3.2 MATERIAL E MÉTODOS

O projeto foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo (FMVZ/USP) sob o protocolo CEUA nº 1643171218.

3.2.1 Instalações, manejo dos animais e dietas

O estudo foi realizado em fazenda de confinamento comercial, localizada em Rio Verde de Mato Grosso - MS, sendo utilizados 150 bovinos F1 Angus x Nelore com idade média de abate de 16 meses, pertencentes ao mesmo grupo contemporâneo, divididos em três condições sexuais (50 machos não castrados, 50 machos castrados e 50 fêmeas), pertencentes ao Programa Carne Angus Certificada do Brasil (Figura 1).

Figura 1 - Animais ao início do período experimental

Fonte: Arquivo LCC (2018).

A castração dos animais do grupo experimental “machos castrados” foi realizada aos nove meses de idade, pela técnica cirúrgica de orquiectomia bilateral por método fechado (PADUA, 2003), com aplicação de 10 ml de anestésico local (Lidocaína) por testículo. No pós-operatório aplicou-se anti-inflamatório não esteroide (Flunixinina Meglumina) em dose única de 2,2 mg/kg de peso vivo. Os bovinos foram previamente adaptados à dieta por oito dias, antes do início do experimento, e o concentrado foi inicialmente ofertado considerando-se 1,6% do peso vivo, sendo aumentado gradativamente até atingir o consumo *ad libitum*, como utilizado em fazendas comerciais. Destaca-se que durante a recria os animais já recebiam suplemento proteico a pasto, desde o nascimento (*creep feeding*), portanto a microbiota dos animais já estava, de certa forma, adaptada.

A fazenda dispunha de 94 animais de cada condição sexual, os quais foram individualmente pesados para determinação dos 50 animais que compuseram cada grupo experimental (Figura 2). Após a pesagem, calculou-se o peso médio de cada condição sexual e foram selecionados 25 animais com peso imediatamente abaixo e 25 animais com peso imediatamente acima do peso médio, calculado para a respectiva condição sexual, para composição do grupo experimental. Ou seja, o grupo experimental foi composto pelos animais que tinham peso o mais próximo possível do peso médio da respectiva condição sexual. Dessa forma, o total foi de 150 animais divididos em três condições sexuais (50 machos não castrados, 50 machos castrados e 50 fêmeas), as quais tiveram os pesos médios iniciais (PVI) de $239,6 \pm 14,9$ kg, $227,6 \pm 12,1$ kg e $231,8 \pm 8,8$ kg, respectivamente.

Figura 2 - Animais após pesagem para determinação dos 50 animais que compuseram cada grupo experimental

Fonte: Arquivo LCC (2018).

Os animais foram mantidos nas mesmas condições de manejo, pesados, desverminados, vacinados (clostridioses e aftosa), identificados individualmente em relação às condições sexuais. Os animais foram mantidos em baias com 37 m² por animal, com cochos e bebedouros e ausência de sombra (o que é usual em confinamentos comerciais na região centro-oeste do Brasil), onde receberam alimentação *ad libitum* com a mesma dieta (Figura 3).

Durante o período de confinamento de 150 dias foi utilizada ração formulada segundo as exigências do *National Research Council* (NRC, 2016), adaptada às condições tropicais, estimada pelo Programa RLM 3.2[®]. A ração foi composta de 86% de concentrado e 14% de volumoso na matéria seca (Tabela 1), tendo como alimento volumoso o feno de *Brachiaria*, e oferecida em três períodos ao longo do dia.

Figura 3 - Acesso dos animais aos cochos

Fonte: Arquivo LCC (2019).

Tabela 1 - Composição percentual da dieta (na matéria seca)

Ingrediente (% matéria seca)	Terminação
Milho grão moído fino	55,0
Melaço líquido	17,0
Feno	14,0
Farelo de milho 48%	9,5
Núcleo ¹	3,0
Ureia pecuária	0,75
Prote-n ²	0,75
Nutriente (% matéria seca)	Níveis nutricionais
Matéria seca (%)	86,27
Proteína bruta	15,83
Extrato etéreo	3,49
Carboidratos não fibrosos ³	8,35
Cálcio	0,82
Fósforo	0,29
Potássio	1,16
Monensina (ppm)	25,00

Fonte: elaborada pela autora (2021).

¹Cloreto calcítico, cloreto de sódio, enxofre, veículo, fosfato monobásico, óxido de magnésio, aroma de frutas, extrato de semente de uva, iodato de cálcio, monensina sódica, monóxido de manganês, óxido de zinco, selenito de sódio, sulfato de cobalto, sulfato de cobre, sulfato de ferro, vitamina A, vitamina D3, vitamina E. Níveis de garantia por quilograma de núcleo: Cálcio (mín.) 210 g (máx.) 220 g; Cobalto (mín.) 10 mg; Cobre (mín.) 500 mg; Enxofre (mín.) 22 g; Ferro (mín.) 333 mg; Fósforo (mín.) 7500 mg; Iodo (mín.) 25 mg; Magnésio (mín.) 17 g; Manganês (mín.) 1500 mg; Monensina (mín.) 835 mg; Selênio (mín.) 6,6 mg; Sódio (mín.) 55 g; Vitamina A (mín.) 83300 UI; Vitamina D3 (mín.) 13300 UI; Vitamina E (mín.) 150 UI; Zinco (mín.) 2000 mg.

²Ureia pecuária, oleosina de pimenta e veículo. Níveis de garantia por quilograma de Prote-n: Nitrogênio (mín.) 410 g; Nitrogênio não Proteico - equivalente proteína (mín.) 2562,5 g.

³Amido, sacarose e pectina.

Estimada pelo Programa Ração de Lucro Máximo 3.2® (RLM) ESALQ-USP;

Ao final do período experimental de 150 dias (Figura 4), critério de abate, os animais foram pesados e os pesos médios finais (PVF) foram de $488,0 \pm 31,0$ kg, $452,5 \pm 25,2$ kg e $431,3 \pm 26,6$ kg, respectivamente para machos não castrados, machos castrados e fêmeas. Os animais foram submetidos ao jejum sólido de 16 horas, tendo acesso à dieta hídrica (conforme a recomendação de bem-estar animal) e transportados para o abate, em caminhões separados, de acordo com as condições sexuais, a fim de não ocorrer mistura de lotes no transporte, até o frigorífico comercial, sob Serviço de Inspeção Federal (SIF) (Figura 5). A distância da fazenda ao frigorífico comercial, localizado em Terenos - MS, é de 255 km. Os caminhões eram pertencentes à fazenda e os motoristas eram treinados para o transporte de animais para abate. No frigorífico, os animais permaneceram separados por condição sexual e tiveram acesso à dieta hídrica nos currais (Figura 6).

Figura 4 - Animais ao final do período experimental

Fonte: Arquivo LCC (2019).

Figura 5 - Embarque dos animais para transporte até o frigorífico comercial

Fonte: Arquivo LCC (2019).

Figura 6 - Animais separados por condição sexual no curral de espera do frigorífico

Fonte: Arquivo LCC (2019).

3.2.2 Abate, desossa e coleta de amostras

O abate dos animais foi realizado de acordo com os procedimentos de abate humanitário, seguindo os padrões do Regulamento de Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal - RIISPOA (BRASIL, 2017) e o Regulamento Técnico de Métodos de Insensibilização para o Abate Humanitário de Animais de Açougue (BRASIL, 2000), sob fiscalização do Serviço de Inspeção Federal (SIF 1646). Os animais foram insensibilizados por meio de atordoamento com pistola pneumática penetrante, seguido imediatamente da sangria pela secção dos grandes vasos do pescoço.

Durante o abate, no momento da sangria dos animais, foram coletadas amostras de sangue para quantificação hormonal (QH - níveis de estrógeno, testosterona e cortisol) (Figura 7).

Figura 7 - Coleta das amostras de sangue

Fonte: Arquivo LCC (2019).

Após o abate, as carcaças foram pesadas para determinação do peso de carcaça quente (PCQ), resfriadas por 24 horas e posteriormente foi avaliado o pH. Durante a desossa, realizada 48 horas após o abate, também foram avaliadas a AOL, a EGS e o MAR no músculo *Longissimus*, entre a 12^a e 13^a costelas. Ainda, foram coletados oito bifes de 2,54 cm de espessura do músculo *Longissimus*, embalados individualmente a vácuo em sacos de polietileno (Cryovac®, Charlotte, NC, EUA) e maturadas sob temperatura entre 0 e 2 °C para análises de CS (dois e sete dias de maturação), cor, PPC, FC (dois, sete, 14 e 21 dias de maturação) e AS (14 dias de maturação) (Figura 8).

Figura 8 - Coleta dos bifes para a realização das análises

Fonte: Arquivo LCC (2019).

3.2.3 Análises quantitativas e qualitativas da carcaça e qualitativas da carne

3.2.3.1 Ganho de peso médio diário e rendimento de carcaça quente

O ganho de peso médio diário (GPD) foi calculado por meio da relação entre os pesos médios inicial e final dos animais e os dias de confinamento, em quilogramas, conforme a equação:

$$\text{GPD (kg)} = \frac{\text{Peso médio final (kg)} - \text{Peso médio inicial (kg)}}{150}$$

O rendimento de carcaça quente (RCQ) foi calculado por meio da relação entre o peso de carcaça quente e o peso médio final dos animais, em porcentagem, conforme a equação:

$$\text{RCQ (\%)} = \frac{\text{Peso de carcaça quente (kg)}}{\text{Peso médio final (kg)}} \times 100$$

3.2.3.2 pH

Foi determinado o pH (pH 24h) no músculo *Longissimus* de cada meia carcaça direita, na altura da 12ª costela, utilizando-se um medidor de pH digital com sonda de penetração (modelo HI 99163, Hanna Instruments Inc®, Woonsocket, RI, EUA).

3.2.3.3 Área de olho de lombo, espessura de gordura subcutânea e escore de marmorização

Cada meia-carcaça direita foi serrada entre a 12ª e a 13ª costelas para avaliar a AOL (cm²), a EGS (mm) e o MAR.

Para AOL foi utilizada régua quadriculada específica, com escala em centímetros quadrados, pelo método de quadrante de pontos.

A EGS foi avaliada utilizando um paquímetro digital 6" (modelo ZAAS *Precision*, Amatools®, Piracicaba, SP, Brasil). A referência para avaliar a EGS foi em $\frac{3}{4}$ da distância entre a borda medial da espinha dorsal e a borda lateral da AOL.

O MAR foi realizado por meio de uma análise de escore visual subjetivo, com a utilização de padrões fotográficos do *Meat Evaluation Handbook* (SMITH; GRIFFIN; JOHNSON, 2013), considerando a existência de depósitos de gordura entre as fibras musculares no músculo *Longissimus*, cuja classificação foi determinada por uma escala de pontos. De acordo com Smith, Griffin e Johnson (2013), os graus em ordem decrescente de qualidade consistem em *prime* (dividido em *abundant*, *moderately abundant* e *slightly abundant*), *choice* (dividido em *moderate*, *modest* e *small*), *select* (*slight*) e *standard* (dividido em *traces* e *practically devoid*).

3.2.3.4 Comprimento de sarcômero

A preparação das amostras para a análise de CS foi realizada de acordo com o método descrito por Koolmees, Korteknie e Smulders (1986), em amostras cruas de bifes maturados por dois e sete dias. Para a análise foram usados, de cada bife, seis cilindros de 13 mm de diâmetro, retirados com um vazador elétrico, dos quais foram selecionadas seis fibras por cilindro e medido um sarcômero por fibra. Dessa forma, foram medidos trinta e seis sarcômeros por amostra. As medidas foram

realizadas por meio do método de difração a laser descrito por Cross, West e Dutson (1981), com equipamento Helium Neon Laser (modelo 05-LHR-021, Melles Griot, Carlsbad, CA, EUA), com um comprimento de onda de 632-8 nm (Figura 9).

Figura 9 - Análise de comprimento de sarcômero por meio do método de difração a laser

Fonte: Arquivo LCC (2019).

3.2.3.5 Cor

Para avaliação da cor, as amostras de carne foram expostas ao oxigênio por 30 minutos, em temperatura controlada (0 a 2 °C), com a finalidade de *blooming*, conforme descrito no guia *Meat Color Measurements Guidelines Handbook* (AMSA, 2012). Foi utilizado um colorímetro portátil (modelo MiniScan EZ, Hunter Lab®, Reston, Virginia, EUA) para realização das leituras em três pontos distintos da amostra, para avaliação dos componentes L* (luminosidade), a* (componente vermelho-verde) e b* (componente amarelo-azul) (CIE, 1986) (Figura 10). Os valores de cor foram considerados como a média das três leituras (HOUBEN et al., 2000).

Figura 10 - Avaliação da cor, com uso de colorímetro portátil

Fonte: Arquivo LCC (2019).

Por meio do uso de funções trigonométricas foi possível calcular o ângulo da tonalidade (*Hue angle*) pela fórmula $h_{ab} = \arctan(b^*/a^*)$ e o índice de saturação (*Chroma*), a partir dos valores a^* e b^* pela fórmula $Chroma = (a^{*2} + b^{*2})^{1/2}$ (AMSA, 2012).

3.2.3.6 Perdas totais por cocção

Durante a preparação das amostras de carne para a análise de FC foram coletados os dados de peso das amostras para os cálculos das PPC. As PPC foram calculadas em porcentagem, conforme a equação:

$$PPC (\%) = \frac{\text{Peso cru da amostra (g)} - \text{Peso da amostra após cocção (g)}}{\text{Peso cru da amostra (g)}} \times 100$$

3.2.3.7 Força de cisalhamento

Os procedimentos para cocção dos bifes destinados à análise de FC foram realizados segundo AMSA (2016). As amostras foram assadas em forno elétrico a

163 °C, até atingirem a temperatura interna de 71 °C. As temperaturas internas foram determinadas por meio de um sistema de termopares com termômetros individuais, que foram inseridos nos bifes até sua parte central (Figura 11). Após serem assados e esfriarem, os bifes foram embalados individualmente e acondicionados em refrigerador doméstico por 24 horas. Então, foram retirados seis cilindros de 13 mm de diâmetro de cada bife, com um vazador elétrico. A análise de maciez objetiva foi realizada com equipamento texturômetro (modelo CT-3 *Texture Analyser*, AMETEK Brookfield®, Middleborough, MA, EUA), equipado com lâmina Warner-Bratzler e a FC foi determinada pela média dos seis cilindros (WHEELER; SHACKELFORD; KOOHMARAIE, 2005) (Figura 12).

Figura 11 - Amostras sendo assadas com controle individual da temperatura interna dos bifes por termopares

Fonte: Arquivo LCC (2019).

Figura 12 - Lâmina Warner-Bratzler acoplada ao texturômetro para realização da análise da força de cisalhamento

Fonte: Arquivo LCC (2019).

3.2.3.8 Análise sensorial da carne *in natura*

Foram oferecidas três amostras do músculo *Longissimus* para cada provador, referentes às três condições sexuais (machos inteiros, machos castrados e fêmeas) no período de maturação de 14 dias. As amostras foram codificadas com número de três dígitos e fornecidas uma de cada vez aos provadores, de acordo com o balanceamento das mesmas. A ordem de apresentação foi balanceada entre os provadores, com o objetivo de minimizar o efeito da ordem de apresentação nos julgamentos dos provadores (AMSA, 2016).

Os bifes foram assados seguindo o protocolo de cocção para maciez objetiva (AMSA, 2016). Posteriormente, as amostras foram cortadas em cubos de 1 cm³ e entregues aos provadores, de forma monádica (uma amostra de cada grupo/provador), em copos plásticos codificados com números de três dígitos. Um copo de água e uma bolacha tipo cracker foram disponibilizados aos provadores, que permaneceram em cabines individuais (AMSA, 2016).

Foi aplicado um teste sensorial quantitativo de aceitação do consumidor (n = 126 provadores) para as características de aceitação global, sabor, maciez e suculência. Para aceitação global e para o quanto os provadores gostaram ou desgostaram das outras características avaliadas, foi utilizada uma escala hedônica estruturada de nove pontos, variando de “detestei” (nota 1) a “adorei” (nota 9). Para a intensidade dos atributos foi aplicado o teste *just-about-right* (do inglês, sob medida), variando de “muito fraco, muito duro ou muito seco” (nota 1) a “muito forte, muito macio ou muito úmido” (nota 5), de acordo com o sabor, maciez e suculência, respectivamente (AMSA, 2016).

3.2.4 Quantificação hormonal

As amostras de sangue foram coletadas em tubos contendo gel ativador de coágulo (AB Medical, Jeolla do Sul, Coreia do Sul) e foram centrifugadas por 10 min a 3500 rpm em centrífuga BABY I modelo 206 (Fanem, São Paulo, Brasil). As concentrações plasmáticas de testosterona, estrógeno e cortisol foram medidas nas amostras utilizando kits de imunoensaio de eletroquimioluminescência (Roche Cobas ensaio: testosterona, estrógeno e cortisol, Roche Diagnostics). Todas as amostras foram reensaiadas quando as duplicatas apresentaram uma diferença de

mais de 10%. Os kits foram validados pela demonstração de curvas paralelas entre as concentrações padrão e amostras diluídas em série.

3.2.5 Análise estatística

Para as variáveis PVI, PVF, GPD, QH, PCQ, RCQ, pH 24 h, AOL, EGS e MAR foi considerado o efeito fixo da condição sexual, e os efeitos aleatórios do animal e o erro residual. Os dados foram submetidos à ANOVA e a significância foi declarada quando $P \leq 0,05$, sendo as médias então comparadas pelo teste de Tukey.

Para avaliação do efeito da condição sexual no período de maturação, a unidade experimental foi representada por cada animal, totalizando 50 repetições por grupo (condição sexual). Os dados foram analisados considerando um delineamento experimental inteiramente casualizado, com parcelas subdivididas no tempo e modelos mistos, utilizando-se o procedimento MIXED do software SAS®, em um arranjo fatorial 3x4, sendo os efeitos fixos a condição sexual (machos não castrados, machos castrados e fêmeas), os períodos de maturação (dois, sete, 14 e 21 dias) e suas interações; os efeitos aleatórios do animal e o erro residual. Os dados foram submetidos à ANOVA e a significância foi declarada quando $P \leq 0,05$, sendo as médias então comparadas pelo teste de Tukey.

Para as características obtidas na AS foi utilizado um delineamento em blocos casualizados, utilizando um modelo linear misto, incluindo o efeito fixo de condição sexual (machos não castrados, machos castrados e fêmeas), os efeitos aleatórios de bloco (provador) e resíduo. Os efeitos significativos para condição sexual foram avaliados pela opção PDIFF.

3.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados referentes à QH encontram-se na Tabela 2. Foi observado efeito significativo ($P < 0,0001$) da condição sexual sobre o hormônio cortisol. As fêmeas apresentaram maior concentração plasmática de cortisol em 74,9%, quando comparadas aos machos castrados, e 93,8% em relação aos machos não castrados. Não foi observada diferença na concentração plasmática de cortisol entre machos castrados e machos não castrados. Não foi observada diferença significativa ($P =$

0,333) entre as condições sexuais para a concentração plasmática do hormônio estradiol. Já, em relação à quantificação de testosterona, somente os machos não castrados apresentaram concentrações plasmáticas detectáveis desse hormônio, diferindo das outras duas condições sexuais ($P < 0,0001$).

Devido à influência do ciclo estral na ativação e inibição do eixo do estresse, sendo o estradiol um dos hormônios que influenciam diretamente a forma como as fêmeas reagem a estímulos estressantes (VIAU; MEANEY, 1991), a maior concentração plasmática de cortisol nas fêmeas pode ser justificada pela sua maior concentração plasmática de estradiol, interferindo no eixo HPA.

O valor apresentado para a QH de estradiol no plasma dos machos castrados pode ser explicado pelo limite inferior de detecção hormonal do teste aplicado, que é de 20 pg/mL, ou seja, o teste não quantifica a concentração hormonal inferior a esse valor. Todos os machos castrados amostrados para quantificação de estradiol apresentaram concentração < 20 pg/mL. O mesmo ocorreu com a QH de testosterona no plasma dos machos castrados e das fêmeas. Entretanto, para esse hormônio o limite inferior de detecção hormonal do teste aplicado é 10 ng/dL, ou seja, todos os machos castrados e fêmeas amostrados para quantificação de testosterona apresentaram concentração < 10 pg/mL. Mesmo que a quantificação exata de testosterona não tenha sido possível nos machos castrados, de acordo com esses resultados, indica-se a efetividade da castração cirúrgica, haja vista não ter sido possível quantificar a testosterona plasmática nesses animais e os machos não castrados terem apresentado média de 96,01 ng/dL na quantificação desse mesmo hormônio.

Tabela 2 - Quantificação hormonal de bovinos Angus x Nelore de diferentes condições sexuais (MC, F e MNC) terminados em confinamento

Variável	Condição sexual			EPM	Valor de P
	Macho castrado	Fêmea	Macho não castrado		
Cortisol, µg/dL	4,3 B	7,52 A	3,88 B	0,23	<0,0001
Estradiol, pg/mL	0,00	34,00	22,50	0,71	0,333
Testosterona, ng/dL	0,00 B	0,00 B	96,01 A	19,17	<0,0001

Fonte: elaborada pela autora (2021).

Médias seguidas pela mesma letra não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey a $P \leq 0,05$.

Os valores de $P \leq 0,05$ apresentam-se em negrito.

EPM: Erro Padrão da Média.

Os resultados referentes ao desempenho e às características de carcaça estão apresentados na Tabela 3. Os machos não castrados apresentaram PVI superior em 3,4%, quando comparados às fêmeas e 5,3%, quando comparados aos machos castrados ($P < 0,0001$), os quais não diferiram entre si. Para PVF, os machos não castrados foram 7,8% mais pesados, quando comparados aos machos castrados e 13,1% comparados às fêmeas e, ainda, as fêmeas foram mais leves, quando comparadas às outras condições sexuais ($P < 0,0001$). Os machos não castrados apresentaram GPD superior em 10,2%, quando comparados aos machos castrados e 23,7%, quando comparados às fêmeas e, ainda, as fêmeas apresentaram o menor GPD, quando comparadas às outras condições sexuais ($P < 0,0001$).

Para PCQ, a superioridade em peso dos machos não castrados em relação aos machos castrados foi de 12,1% e em relação às fêmeas foi de 17,2%; as fêmeas apresentaram o menor valor de PCQ, quando comparadas às demais condições sexuais ($P < 0,0001$). O RCQ dos machos não castrados foi 3,6% superior em relação às fêmeas e 3,9% superior em comparação aos machos castrados, os quais não diferiram entre si.

A carne dos machos não castrados apresentou maior valor de pH 24 horas em 1,9%, quando comparada à carne das fêmeas e 4,1% quando comparada à carne dos machos castrados, a qual apresentou o menor valor de pH 24 horas dentre as três condições sexuais, sendo esses valores 5,78, 5,67 e 5,55, respectivamente. Em relação às medidas de crescimento, os machos não castrados apresentaram AOL superior em 12%, quando comparados às fêmeas e 12,2 % em relação aos machos castrados ($P < 0,0001$), os quais não diferiram entre si. Para EGS, as fêmeas tiveram valor 18,4% maior quando comparadas aos machos castrados e 70,1% maior quando comparadas aos machos não castrados ($P < 0,0001$), que apresentaram a menor EGS entre as três condições sexuais. Dessa forma, os animais atenderam à recomendação da indústria brasileira de espessura mínima de gordura de 3 mm (RIBEIRO et al., 2004; GÓMEZ et al., 2017), independentemente da condição sexual, sendo classificados como animais jovens, com acabamento mediano (3 a 6 mm de EGS), para machos não castrados; e animais jovens com acabamento uniforme (6 a 10 mm de EGS), para fêmeas e machos castrados. Para o MAR, a carne das fêmeas apresentou o maior escore de classificação, sendo considerada *choice moderate*, seguida pela carne dos machos

castrados, classificada como *choice modest* e então pela carne dos machos não castrados, a qual foi classificada como *choice small* ($P < 0,0001$).

Os resultados de PVF, GPD, AOL e EGS deste estudo condizem com os resultados de Mueller et al. (2019), que observaram maiores valores de PVF e de GPD para machos não castrados, seguidos pelos machos castrados e, por último, pelas fêmeas; verificaram que os machos não castrados apresentaram maior AOL enquanto os machos castrados e fêmeas não diferem entre si nessa variável. Para a variável EGS, verificaram que as fêmeas depositam mais gordura subcutânea em espessura, seguidas pelos machos castrados e, por último, pelos machos não castrados. Os resultados em comum de todas essas variáveis entre os dois estudos podem ser explicados pelo desenvolvimento muscular pronunciado e consequente deposição tardia de gordura na carcaça dos machos não castrados devido à ação do hormônio androgênico testosterona (LEE et al., 1990; ANTONELO et al., 2017) no anabolismo de proteínas musculares (MORGAN et al., 1993; DAYTON; WHITE, 2008), fazendo com que esses animais cresçam mais rapidamente (SEIDEMAN et al., 1982), bem como pela maior deposição de gordura nas fêmeas (VENKATA REDDY et al., 2015). Ainda, a maior deposição de gordura também é ocasionada pela castração nos machos, haja vista o favorecimento da deposição de gordura pela baixa produção de testosterona (DESTEFANIS et al., 2003; VENKATA REDDY et al., 2015); bem como a testosterona aumentar a massa muscular sem o aumento concomitante do tecido adiposo (DAYTON; WHITE, 2008). Além disso, geralmente os machos não castrados são maiores e mais tardios; as fêmeas são mais precoces, depositando gordura subcutânea mais cedo, e apresentam menor tamanho corporal; e os machos castrados encontram-se entre as condições sexuais fêmeas e machos não castrados, o que é determinado pelas diferenças na curva de crescimento entre as condições sexuais (OWENS; DUBESKI; HANSON, 1993). Os resultados deste estudo para PCQ são consistentes com os resultados de PVF.

Os resultados deste estudo para RCQ também foram observados por Mberema et al. (2016), ao avaliarem bovinos cruzados Hereford. Os autores observaram maior RCQ nos machos não castrados (55,93%) e menor nas fêmeas (54,59%) e machos castrados (54,27%), os quais não diferiram entre si. Segundo Miguel et al. (2014), essa característica de carcaça é influenciada pelos órgãos e sistemas que são retirados durante o abate, ou seja, não fazem parte da composição da carcaça. Ao observar a maior EGS nas fêmeas e machos castrados,

pode-se inferir que esses animais também depositaram mais gordura visceral, a qual, no entanto, pode ter sido removida juntamente com os órgãos e sistemas que não compõem a carcaça, resultando em menores valores de RCQ em fêmeas e machos castrados. No Brasil, os pecuaristas não são recompensados pelo peso vivo dos animais, mas sim pelo PCQ, por isso o RCQ é tão relevante na lucratividade da produção de carne brasileira (MIGUEL et al., 2014), o que faz com que muitas vezes a opção seja pela produção de bovinos não castrados, que apresentam maior RCQ, especialmente quando há incentivos ou bonificações por parte dos frigoríficos. Ainda, podemos destacar que os resultados deste estudo para RCQ estão de acordo com os resultados de AOL, a qual é um fator de predição do RCQ, haja vista ser indicador da musculatura da carcaça.

Os valores de pH 24 horas das carnes foram menores que 5,79, independente da condição sexual, o que é desejável, de acordo com a classificação de Lomiwes et al. (2014). Dessa forma, pode-se destacar que o pH das carnes desses animais reflete as boas práticas usadas no carregamento, transporte e manejo nos currais do frigorífico; ainda, a reatividade ao estresse é influenciada pela raça dos animais, como demonstrado por Bourguet et al. (2015) ao compararem machos não castrados das raças Blond d'Aquitaine, Limousin e Angus.

Também é importante destacar que o maior valor de pH na carne de machos não castrados, em comparação com as carnes das outras duas condições sexuais, pode ser em decorrência da maior suscetibilidade ao estresse desses animais (VOISINET et al., 1997), o que se deve ao efeito secundário da testosterona no temperamento de machos não castrados (LEE et al., 1990). Mesmo que os manejos de carregamento na fazenda, transporte e de pré-abate no frigorífico tenham sido realizados da melhor forma possível, são manejos vivenciados pela primeira vez por esses animais, podendo ser categorizados como novos estímulos (GRANDIN; SHIVLEY, 2015), os quais geram desconforto e estresse, que podem ter sido mais percebidos pelos machos não castrados. Apesar do pH da carne dos machos não castrados ter sido mais elevado, em comparação com as carnes de machos castrados e fêmeas, o que sugere a maior reatividade dos machos não castrados ao estresse, a quantificação plasmática de cortisol nesses animais foi menor do que nas fêmeas. No entanto, como já comentado anteriormente, existe influência do ciclo estral na ativação e inibição do eixo do estresse, sendo o estradiol um dos hormônios que influencia diretamente a forma como as fêmeas reagem a estímulos

estressantes (VIAU; MEANEY, 1991). Devido ao limite inferior de detecção de estradiol do teste aplicado, não foi possível quantificar a concentração plasmática de estradiol nos machos castrados.

Em relação ao MAR, os resultados obtidos neste estudo condizem com a diferença na taxa de engorda das três condições sexuais, haja vista as fêmeas depositarem gordura precocemente, sendo seguidas por machos castrados e, então, por machos não castrados (JONES, 2014). As carnes das três condições sexuais foram classificadas na categoria *choice*, de acordo com Smith, Griffin e Johnson (2013), atingindo o escore desejável para atender à demanda do consumidor exigente. A classificação das carnes das três condições sexuais em uma mesma categoria pode ser atribuída à influência do touro, no conteúdo de gordura intramuscular do músculo *Longissimus*, haja vista a raça Angus ocupar a terceira posição na lista de raças que apresentam o maior conteúdo de marmorização nesse músculo, segundo Park et al. (2018). No entanto, dentro da categoria *choice*, as carnes das três condições sexuais receberam classificações distintas. A carne de machos não castrados obteve a pior classificação de MAR neste estudo, o que já era esperado. Apesar disso, apresentou considerável melhora, haja vista sua classificação na categoria *choice*. Segundo CHOAT et al. (2006) e CHRIKI et al. (2013), carnes de fêmeas e machos castrados normalmente apresentam escore superior de marmorização, em comparação com a carne de machos não castrados. Ainda, como a gordura intramuscular é a última a ser depositada à medida que os animais crescem e se desenvolvem (MILLER, 2014), e como a EGS também foi menor nos machos não castrados, em comparação com as outras duas condições sexuais, justifica-se o menor MAR obtido por machos não castrados. A carne de fêmeas foi classificada com o maior MAR, o que é usual, haja vista a habilidade das fêmeas em depositar gordura intramuscular e elas apresentarem genes favoráveis à deposição de gordura (LEE et al. 2009), bem como seu perfil hormonal influenciar a proporção e distribuição dos ácidos graxos nos músculos (VENKATA REDDY et al., 2015). Dessa forma, as fêmeas bovinas podem produzir carne de melhor qualidade devido às suas diferenças em deposição de gordura (BONNY et al., 2016).

Tabela 3 - Desempenho e características de carcaça de bovinos Angus x Nelore de diferentes condições sexuais (MC, F e MNC) terminados em confinamento

Variável	Condição sexual			EPM	Valor de P
	Macho castrado	Fêmea	Macho não castrado		
PVI, kg	227,6 B	231,8 B	239,6 A	1,722	<0,0001
PVF, kg	452,5 B	431,3 C	488,0 A	3,915	<0,0001
GPD, kg	1,47 B	1,31 C	1,62 A	0,022	<0,0001
PCQ, kg	246,1 B	235,4 C	275,8 A	2,332	<0,0001
RCQ, %	54,4 B	54,56 B	56,51 A	0,179	<0,0001
pH 24 h	5,55 C	5,67 B	5,78 A	0,011	<0,0001
AOL, cm²	66,26 B	66,38 B	74,34 A	1,086	<0,0001
EGS, mm	7,3 B	8,64 A	5,08 C	0,353	<0,0001
MAR	6,45 B	7,01 A	5,15 C	0,112	<0,0001

Fonte: elaborada pela autora (2021).

Médias seguidas pela mesma letra não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey a $P \leq 0,05$.

Os valores de $P \leq 0,05$ apresentam-se em negrito.

EPM: Erro Padrão da Média; PVI: Peso Médio Inicial; PVF: Peso Médio Final; GPD: Ganho de Peso Médio Diário; PCQ: Peso de Carcaça Quente; RCQ: Rendimento de Carcaça Quente; AOL: Área de Olho de Lombo; EGS: Espessura de Gordura Subcutânea; MAR: Escore de Marmorização (*Select slight*: 4,0-4,9; *Choice small*: 5,0-5,9; *Choice modest*: 6,0-6,9; *Choice moderate*: 7,0-7,9; *Prime*: 8,0-9,0).

Os resultados referentes à análise de cor (L^* , a^* , b^*), *Chroma*, *Hue angle* e O/M, encontram-se na Tabela 4. Para o componente de cor L^* , foi observada interação significativa entre condição sexual e período de maturação ($P = 0,001$). A carne dos machos castrados não apresentou mudança do componente L^* nos diferentes períodos de maturação. Já, para a carne das fêmeas, foi observado menor valor de L^* no período de maturação de dois dias, quando comparado aos outros períodos de maturação. Ainda, para a carne dos machos não castrados, foi observado menor valor de L^* para a maturação de dois dias comparada aos outros períodos de maturação; e menor valor de L^* para sete dias de maturação, quando comparado aos 21 dias de maturação. A carne dos machos não castrados apresentou menores valores de L^* nos períodos dois e sete dias de maturação quando comparada às outras condições sexuais. Ainda, aos 14 dias de maturação foi observado menor valor de L^* para a carne de machos não castrados, quando comparado à carne das fêmeas. Aos 21 dias de maturação não foram observadas diferenças nos valores de L^* para as carnes das diferentes condições sexuais.

Em relação ao componente de cor a^* , também foi observada interação significativa entre condição sexual e período de maturação ($P = 0,041$). A carne dos machos castrados não apresentou mudança nesse componente nos diferentes

períodos de maturação. No entanto, para a carne de fêmeas houve diferença entre os períodos de maturação, haja vista no período de maturação de 21 dias ter-se obtido o maior valor de a^* , quando comparado aos períodos de maturação de dois e sete dias. Assim como para a carne dos machos castrados, a carne dos machos não castrados não apresentou mudança no componente a^* nos diferentes períodos de maturação. Nos períodos dois, 14 e 21 dias de maturação, a carne das fêmeas apresentou maiores valores de a^* , quando comparada à carne de machos não castrados. Já, no período de maturação de sete dias, não houve diferença entre as três condições sexuais para o componente a^* .

Para o componente de cor b^* , não foi observado efeito significativo para a interação entre condição sexual e período de maturação. No entanto, foi observado efeito significativo para condição sexual ($P < 0,0001$), no qual a carne de machos não castrados apresentou valor de b^* inferior quando comparada às carnes das outras condições sexuais. O período de maturação também afetou ($P < 0,0001$) o componente b^* , sendo o menor valor para o período de maturação de dois dias, seguido do período de maturação de sete dias, e maiores valores para os períodos de maturação de 14 e 21 dias.

Não foi observado efeito significativo para a interação entre condição sexual e período de maturação para *Chroma*. Foi observado efeito significativo para condição sexual ($P < 0,0001$), sendo que a carne dos machos não castrados apresentou menor valor de *Chroma* quando comparada às carnes das demais condições sexuais. O período de maturação também influenciou *Chroma* ($P < 0,0001$), haja vista o menor valor para o período de maturação de dois dias, seguido do período de maturação de sete dias e maiores valores para os períodos de maturação de 14 e 21 dias.

Foi observada interação significativa ($P = 0,006$) entre condição sexual e período de maturação para *Hue angle*. A carne dos machos castrados apresentou diferença em relação a *Hue angle* nos períodos de maturação de dois e 21 dias, sendo o maior valor verificado aos 21 dias de maturação. Em relação à carne das fêmeas, houve menor valor de *Hue angle* aos dois dias de maturação em comparação aos demais dias de maturação. Verificou-se o maior valor de *Hue angle* aos 21 dias de maturação para a carne de machos não castrados em comparação com o valor de *Hue angle* aos dois dias de maturação. Nos períodos de maturação de dois e 14 dias, a carne dos machos não castrados apresentou menores valores

de *Hue angle* quando comparada à carne dos machos castrados. Já, nos períodos de maturação de 7 e 21 dias, a carne dos machos castrados apresentou menores valores de *Hue angle* quando comparada às carnes das demais condições sexuais.

Para O/M também foi observada interação significativa ($P = 0,008$) entre condição sexual e período de maturação. A carne dos machos castrados apresentou diferença em relação à O/M nos períodos dois e 21 dias de maturação, sendo o maior valor verificado aos dois dias. Houve maior valor de O/M na carne das fêmeas aos dois dias de maturação, quando comparada aos demais dias de maturação. Houve diferença em relação à O/M na carne dos machos não castrados nos períodos de maturação de dois, sete e 21 dias, sendo o maior valor verificado aos dois dias de maturação, seguido de sete dias e o menor valor verificado aos 21 dias de maturação.

Os valores do componente de cor L^* no presente estudo, no geral, aumentaram com o decorrer da maturação para as carnes das três condições sexuais, o que pode ser explicado pela diminuição da capacidade de retenção de água da carne que, ao ficar na superfície da amostra, causa maior reflexão da luz (JOO et al., 1995); bem como pela desintegração do disco Z, que faz com que a luz incidente se espalhe em maior quantidade, causando a aparência de uma carne mais clara (SWATLAND, 1982). Em relação às condições sexuais, a carne dos machos não castrados apresentou menores valores de L^* . Essa característica pode ser associada ao fato das outras condições sexuais apresentarem maior deposição de gordura intramuscular, que também causa influência na reflexão de luz, determinando maiores valores de luminosidade (FIEMS et al., 2000).

Os valores encontrados nesta pesquisa para o componente de cor a^* encontram-se acima do limite mínimo de 14,5 para aceitação do consumidor para esse componente, determinado por Holman et al. (2017), o que significa que a cor das carnes deste estudo seria percebida positivamente pelos consumidores. Ao observar o efeito dos períodos de maturação sobre o componente a^* , apenas para a carne das fêmeas verificou-se aumento nesse componente com o decorrer dos períodos de maturação, ou seja, houve incremento na tonalidade de cor vermelha na carne das fêmeas, haja vista o componente a^* ser relativo à cor vermelha (AMSA, 2012). Mueller et al. (2019) também observaram esse aumento dos valores de a^* na carne de fêmeas com o decorrer dos períodos de maturação. Isso possivelmente se deve ao fato de o componente a^* ser relacionado com a formação superficial de

metamioglobina (PAGE; WULF; SCHWOTZER, 2001). Dessa forma, sugere-se, com base no valor do componente a^* da carne das fêmeas aos dois dias de maturação, que essa carne apresenta maior concentração de mioglobina, quando comparada às carnes das outras duas condições sexuais e, por isso, com o decorrer da maturação, essa carne apresentou mais metamioglobina, acentuando o seu valor para o componente a^* . Ao analisar o efeito da condição sexual em cada período de maturação, a ausência de diferença entre as condições sexuais macho não castrado e macho castrado para o componente a^* observada neste estudo também foi observada por Costa et al. (2007).

Os períodos de maturação aumentaram os valores do componente de cor b^* , ou seja, a coloração da carne tornou-se mais amarelada. De acordo com Lindhal, Lundström e Tornberg (2001), isso está correlacionado com o *status* redox, o que pode ser explicado pelas frações de mioglobina e oximioglobina na carne. Entre as condições sexuais, as carnes de machos castrados e fêmeas não diferiram e a carne de machos não castrados apresentou o menor valor quanto ao componente b^* , o que pode ser explicado pelo seu maior valor de pH 24 horas, haja vista esse componente ser influenciado pelo pH da carne, sendo que maiores valores de pH determinam menores valores do componente b^* (ABRIL et al., 2001).

Os valores encontrados no presente estudo para *Chroma* encontram-se acima do valor limite mínimo de 18, para aceitação do consumidor determinado por Macdougall (1982), o que significa que o brilho da cor vermelha na carne seria percebido positivamente pelos consumidores. Houve aumento do *Chroma* com o decorrer da maturação, o que também foi observado por Oliet et al. (2005). Isso pode ser explicado pelo aumento do componente de cor b^* . De acordo com Abril et al. (2001), o pH da carne também influencia o *Chroma*, da mesma forma que influencia o componente de cor b^* , ou seja, maiores valores de pH determinam menores valores do *Chroma*, o que explica o menor valor de *Chroma* verificado na carne dos machos não castrados, haja vista o seu maior valor de pH 24 horas.

Hue angle, assim como *Chroma*, apresentou aumento com o decorrer dos períodos de maturação, o que também foi observado por Oliet et al. (2005) e que, da mesma forma, pode ser explicado pelo aumento do componente de cor b^* ; ainda, da mesma forma que o maior pH da carne dos machos não castrados pode ser a causa da diferença do *Hue angle* entre a carne deles e das outras duas condições sexuais (ABRIL et al., 2001).

A formação de metamioglobina causa a diminuição da vermelhidão da carne, a qual é a mudança de cor mais importante, haja vista a preferência do consumidor ser a carne de cor vermelha cereja brilhante. Ao ser cortada, a carne apresenta cor vermelha-arroxeadada e ao ser exposta ao ar muda para a cor vermelha cereja brilhante da oximioglobina, que então muda para a cor marrom oxidada da metamioglobina, a qual é pouco atraente. Esse processo acontece devido à instabilidade da cor da carne (MACDOUGALL, 1982). O O/M é maior quando há maiores concentrações de oximioglobina e/ou quando há menores concentrações de metamioglobina, o que é desejável, haja vista a preferência do consumidor pela carne de cor vermelha cereja brilhante. Neste estudo, a maturação influenciou negativamente essa variável, o que era esperado, pois, com o decorrer da maturação, ocorre perda da estabilidade da cor da carne, devido ao aumento da concentração de metamioglobina (HOOD, 1975). Entre as condições sexuais, a diferença no O/M pode ocorrer devido à quantidade de gordura, bem como ao pH inicial do músculo. A relação entre a gordura e a oxidação de mioglobina foi sugerida devido à co-oxidação mútua quando ocorre a quebra celular e há o contato entre a mioglobina e a gordura. Em relação ao pH, a oxidação da mioglobina é induzida e acontece mais rapidamente quando a carne apresenta baixos valores de pH (GOVINDARAJAN; SNYDER, 1973), o que justifica a diminuição dos valores de O/M com o decorrer da maturação, bem como os menores valores de O/M observados nas carnes de machos castrados e fêmeas.

Tabela 4 - Cor da carne de bovinos Angus x Nelore de diferentes condições sexuais (MC, F e MNC) terminados em confinamento

Variável	Condição sexual	Período de maturação (dias)				Média	EPM	Valor de P		
		2	7	14	21			CS	Maturação	CS*M
L*	Macho castrado	40,64 A, a	40,53 A, a	41,13 A, ab	40,92 A, a	40,81	0,1	<0,0001	<0,0001	0,001
	Fêmea	39,79 B, a	40,65 A, a	41,19 A, a	40,89 A, a	40,63				
	Macho não castrado	38,2 C, b	38,94 B, b	39,39 AB, b	39,72 A, a	39,06				
	Média	39,54	40,04	40,57	40,51					
a*	Macho castrado	17,97 A, ab	17,79 A, a	18,01 A, ab	18,39 A, ab	18,04	0,05	<0,0001	<0,0001	0,041
	Fêmea	18,12 B, a	18,01 B, a	18,42 AB, a	19,05 A, a	18,4				
	Macho não castrado	17,47 A, b	17,67 A, a	17,61 A, b	17,76 A, b	17,63				
	Média	17,85	17,82	18,01	18,4					
b*	Macho castrado	15,45	15,37	15,67	16,16	15,66 a	0,05	<0,0001	<0,0001	0,121
	Fêmea	15,28	15,42	16,02	16,52	15,81 a				
	Macho não castrado	14,22	14,57	14,77	15,26	14,71 b				
	Média	14,98 C	15,12 B	15,49 A	15,98 A					
Chroma	Macho castrado	23,7	23,47	23,71	24,33	23,8 a	0,07	<0,0001	<0,0001	0,079
	Fêmea	23,71	23,68	24,42	25,2	24,25 a				
	Macho não castrado	22,51	22,83	22,96	23,43	22,93 b				
	Média	23,31 C	23,33 B	23,7 A	24,32 A					
Hue angle	Macho castrado	40,67 C, a	40,91 BC, a	41,39 AB, a	41,66 A, a	41,16	0,08	<0,0001	<0,0001	0,006
	Fêmea	40,1 B, ab	40,87 A, a	40,86 A, ab	40,97 A, a	40,7				
	Macho não castrado	39,06 C, b	39,65 BC, b	40 AB, b	40,7 A, a	39,85				
	Média	39,94	40,47	40,75	41,11					
O/M	Macho castrado	1,17 A, b	1,16 AB, b	1,14 BC, b	1,13 C, a	1,15	0,01	<0,0001	<0,0001	0,008
	Fêmea	1,19 A, b	1,16 B, b	1,16 B, ab	1,15 B, a	1,17				
	Macho não castrado	1,23 A, a	1,21 B, a	1,19 BC, a	1,16 C, a	1,2				
	Média	1,2	1,17	1,16	1,15					

Fonte: elaborada pela autora (2021).

Médias seguidas pela mesma letra maiúscula nas linhas e minúscula nas colunas não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey a $P \leq 0,05$.

Os valores de $P \leq 0,05$ apresentam-se em negrito.

EPM: Erro Padrão da Média. CS: Condição Sexual. CS*M: interação entre Condição Sexual e Maturação. O/M: teor de Oximioglobina e Metamioglobina.

Na tabela 5 estão apresentados os resultados de CS aos dois e sete dias de maturação. Não foi observado efeito significativo para a interação entre condição sexual e período de maturação em relação ao CS. No entanto, foi observado efeito significativo para maturação ($P = 0,004$), sendo que o CS aos sete dias de maturação foi 1,3% menor, quando comparado ao CS aos dois dias de maturação.

Os valores observados de CS no presente estudo encontram-se na faixa de variação normal entre 1,0 e 3,0 μm , referida por Ertbjerg e Puolanne (2017). No entanto, não condizem com a relação negativa entre comprimentos de sarcômero menores que 2 μm e dureza da carne (HERRING et al., 1967; BOUTON et al., 1973; WHEELER; SHACKELFORD; KOOHMARAIE, 2000), haja vista a força média de cisalhamento da carne aos sete dias de maturação (75,54 N) ter sido menor que aos dois dias de maturação (83,68 N), o que deveria ter sido acompanhado pelo resultado de maior CS da carne aos sete dias de maturação em relação aos dois dias de maturação, ao contrário do observado neste estudo. No entanto, Kilgannon et al. (2019) relataram resultados semelhantes, com a diminuição do CS à medida que a maturação da carne acontecia até o décimo dia de maturação, o que foi atribuído ao aumento do pH no decorrer dos períodos de maturação (PURCHAS, 1990) e à possibilidade de as carcaças terem sido desossadas antes da conclusão do *rigor mortis*, o que poderia resultar em encurtamento natural dos sarcômeros, como foi sugerido por Silva, Patarata e Martins (1999). A primeira explicação pode ser plausível para esta pesquisa, entretanto, a segunda explicação não o é, pois a desossa das carcaças neste estudo foi realizada 48 horas *post mortem*, o que caracteriza tempo suficiente para a conclusão do *rigor mortis* antes da desossa.

Tabela 5 - Comprimento de sarcômero da carne de bovinos Angus x Nelore de diferentes condições sexuais (MC, F e MNC) terminados em confinamento nos períodos de maturação de dois e sete dias

Variável	Categoria sexual	Período de maturação (dias)		Média	EPM	Valor de P		
		2	7			CS	Maturação	CS*M
Comprimento de sarcômero, μm	Macho castrado	1,61	1,60	1,60	0,005	0,074	0,004	0,845
	Fêmea	1,60	1,58	1,59				
	Macho não castrado	1,59	1,58	1,58				
	Média	1,60	1,58					

Fonte: elaborada pela autora (2021).

Os valores de $P \leq 0,05$ apresentam-se em negrito.

EPM: Erro Padrão da Média. CS: Condição Sexual. CS*M: interação entre Condição Sexual e Maturação.

Na Tabela 6 encontram-se os resultados de PPC e FC. Para PPC, foi observada interação significativa entre condição sexual e período de maturação ($P = 0,044$). A carne dos machos castrados não apresentou mudança em PPC nos diferentes períodos de maturação. Já, para a carne das fêmeas, foi observado valor de PPC 9,0% menor no período de maturação de dois dias, quando comparado aos sete dias de maturação. Ainda, para a carne dos machos não castrados, não houve mudança em PPC nos diferentes períodos de maturação, assim como ocorreu com os machos castrados. Não foram observadas diferenças em PPC entre as condições sexuais nos quatro períodos de maturação.

Também foi observada interação significativa entre condição sexual e período de maturação para FC ($P = 0,014$). A carne dos machos castrados apresentou maior valor de FC aos dois dias de maturação, o qual foi 17,2% maior, quando comparado aos sete dias de maturação. Ainda, o valor de FC aos sete dias de maturação foi 9,1% maior, em relação aos 14 dias de maturação; e, por fim, entre os períodos de maturação de 14 e 21 dias houve uma diferença de 14,4% no valor de maciez, sendo o menor valor de maciez aos 21 dias, quando comparado com todos os outros períodos de maturação para machos castrados.

Já, em relação à carne das fêmeas, não houve diferença entre a FC aos dois e sete dias de maturação, os quais foram os maiores valores encontrados, quando comparados com os outros dois períodos de maturação. O valor de FC aos sete dias de maturação foi 14,1% maior em relação aos 14 dias de maturação. Entre os períodos de maturação de 14 e 21 dias houve uma diferença de 13,4% no valor de maciez, sendo o menor valor de maciez aos 21 dias, quando comparado aos outros períodos de maturação da carne de fêmeas.

A carne de machos não castrados apresentou maior valor de FC aos dois dias de maturação, o qual foi 11,4% maior, quando comparado aos sete dias de maturação. Ainda, o valor de FC aos sete dias de maturação foi 15,7% maior, quando comparado aos 14 dias de maturação e, por fim, entre os períodos de maturação de 14 e 21 dias houve uma diferença de 17,0% na maciez, sendo o menor valor observado aos 21 dias de maturação, quando comparado com os demais períodos de maturação, para machos não castrados.

Para PPC, o intervalo normal determinado por Muchenje et al. (2009) para carne bovina é de 13,1% a 34,54%. Todos os valores de PPC neste estudo se encontraram nesse intervalo. Apenas a carne das fêmeas apresentou variação no

valor de PPC entre os períodos de maturação de dois e sete dias. Isso pode ser explicado pelas mudanças estruturais da carne com o seu cozimento, o que determina diminuição da capacidade de retenção de água, devido às alterações nas proteínas e gordura por efeito do calor (TORNBERG, 2005). Ainda, como a maior parte da água do músculo se encontra entre as miofibrilas actina e miosina (OFFER et al., 1989), as mudanças no espaçamento entre elas causam alterações na distribuição da água presente na carne (TORNBERG, 2005), essas mudanças no espaçamento podem ser devidas ao processo de maturação e, por isso, houve maiores PPC na carne das fêmeas maturada por sete dias em comparação com dois dias. Outra hipótese plausível pode ser levantada em relação à quantidade de gordura presente nos bifes das fêmeas, haja vista a maior deposição de gordura intramuscular verificada na carne das fêmeas; dessa forma, as PPC da carne das fêmeas compreenderiam perdas de água e de gordura por efeito do calor do cozimento.

A carne dos machos não castrados apresentou maiores valores de FC nos períodos de maturação de dois, sete e 14 dias quando comparada às carnes das outras duas condições sexuais, que não diferiram entre si. Ainda, aos 21 dias de maturação verificou-se maior valor de FC para a carne de machos não castrados, quando comparada à carne dos machos castrados. Ou seja, independentemente do período de maturação, a FC da carne de machos não castrados permaneceu alta, quando comparada à FC das carnes das outras condições sexuais.

Nossos resultados podem ser explicados pela relação entre a maciez da carne e a deposição de gordura intramuscular (WHEELER et al., 1994; CHRICKI et al., 2012), visto que as carnes de fêmeas e machos castrados normalmente apresentam escore superior de marmorização em comparação com a carne de machos não castrados (CHOAT et al., 2006; CHRICKI et al., 2013), assim como foi observado neste estudo. Por outro lado, a marmorização explica apenas entre 5% e 10% da variação em maciez (WHEELER; CUNDIFF; KOCH, 1994) e sabe-se que a marmorização contribui com o amaciamento da carne em raças que depositam grandes quantidades de gordura intramuscular, com pelo menos 8% de marmorização (NISHIMURA et al., 1999).

No entanto, outros fatores podem justificar a carne mais macia das fêmeas, como o menor diâmetro das fibras musculares e a menor quantidade de colágeno no músculo (SEIDEMAN et al., 1989). Os resultados deste estudo se assemelham com

os resultados de Mueller et al. (2019) em relação à carne das fêmeas, que geralmente apresenta maciez equivalente à maciez da carne de machos castrados. Entretanto, no estudo desses pesquisadores a carne das fêmeas diferiu da carne dos machos castrados, quando essas carnes não foram submetidas à maturação, sendo que a carne de machos castrados foi considerada macia, independentemente do período de maturação. Ou seja, quando sem maturação, a carne de machos castrados ficou abaixo do limiar americano de FC para WBSF, enquanto a carne das fêmeas ficou acima desse limiar. Resultado que diferiu do nosso estudo, haja vista nenhum dos valores de FC desta pesquisa ter atingido o limiar americano para maciez da carne.

O limiar americano de FC para WBSF da carne bovina é de 43,1 N (ASTM, 2011) e nenhum dos resultados de FC desta pesquisa está abaixo desse limiar, ou seja, as carnes das três condições sexuais nos quatro períodos de maturação avaliados seriam consideradas duras para o consumidor americano de carne. Da mesma forma, em relação à classificação da carne por Platter et al. (2005), até mesmo a carne com o menor valor médio de FC encontrado nesta pesquisa (53,17 N) seria considerada muito dura, estando próximo ao limite superior da classificação levemente dura, de 52,97 N. Assim, seria necessário maturar a carne de todas as condições sexuais durante períodos superiores a 21 dias, para alcance do limiar americano de FC para WBSF. No entanto, cabe destacar que o padrão americano pode não ser correspondente à sensibilidade do consumidor brasileiro, o que indica necessidade de se instituir um padrão brasileiro para maciez da carne.

Ainda mais necessário que maturar as carnes de fêmeas e machos castrados durante períodos superiores a 21 dias, podemos afirmar que a carne de machos não castrados é a que tem maior necessidade de ser submetida ao processo de maturação, haja vista a carne dos machos não castrados ter sido a menos macia em todos os períodos de maturação, quando comparadas às de machos castrados e fêmeas.

Com o decorrer dos períodos de maturação observou-se que o valor da FC da carne diminuiu para todas as condições sexuais, ou seja, a carne tornou-se mais macia, o que já era esperado, devido à ação das enzimas proteolíticas endógenas na degradação das proteínas miofibrilares, o que acontece durante a maturação da carne, resultando em carne mais macia (OUALI et al., 2013; DEVINE, 2014; CONTRERAS-CASTILLO et al., 2016; KIM et al., 2018).

Tabela 6 - Perdas totais por cocção e força de cisalhamento da carne de bovinos Angus x Nelore de diferentes condições sexuais (MC, F, MCN) terminados em confinamento

Variável	Condição sexual	Período de maturação (dias)				Média	EPM	Valor de P		
		2	7	14	21			CS	Maturação	CS*M
PPC, %	Macho castrado	26,1 A, a	26,0 A, a	27,9 A, a	28,03 A, a	27,01	0,14	0,001	<0,0001	0,044
	Fêmea	25,56 B, a	28,1 A, a	27,41 AB, a	27,71 AB, a	27,19				
	Macho não castrado	27,92 A, a	28,27 A, a	28,76 A, a	28,56 A, a	28,38				
	Média	26,53	27,46	28,02	28,1					
FC, N	Macho castrado	77,70 A, b	66,32 B, b	60,8 C, b	53,17 D, b	64,45	0,78	<0,0001	<0,0001	0,014
	Fêmea	76,32 A, b	73,38 AB, b	64,3 C, b	56,71 D, ab	67,59				
	Macho não castrado	96,92 A, a	87,01 B, a	75,2 C, a	64,26 D, a	80,83				
	Média	83,68	75,54	66,8	57,98					

Fonte: elaborada pela autora (2021).

Médias seguidas pela mesma letra maiúscula nas linhas e minúscula nas colunas não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey a $P \leq 0,05$.

Os valores de $P \leq 0,05$ apresentam-se em negrito.

EPM: Erro Padrão da Média. CS: Condição Sexual. CS*M: interação entre Condição Sexual e Maturação. PPC: Perdas Totais por Cocção. FC: Força de Cisalhamento.

Na Tabela 7 estão apresentados os resultados da AS da carne *in natura*. Para a característica aceitação global, a carne de machos castrados foi mais bem avaliada, quando comparada à carne dos machos não castrados ($P = 0,0295$). Não foram observadas diferenças significativas para os atributos sabor ($P = 1,1707$) e intensidade de sabor ($P = 0,2936$). A carne de machos castrados foi mais bem avaliada quando comparada à carne dos machos não castrados para as características maciez ($P = 0,0002$), intensidade de maciez ($P = 0,0005$) e suculência ($P = 0,0178$). Em relação à intensidade de suculência, a carne dos machos castrados foi mais bem avaliada quando comparada com as carnes de fêmeas e machos não castrados ($P = 0,0003$).

De modo geral, os provadores perceberam diferenças entre as carnes de machos não castrados e castrados, e a carne de fêmeas foi classificada pelos provadores em posição intermediária entre as carnes das outras duas condições sexuais, assemelhando-se a ambas. Apenas no atributo intensidade de suculência, a carne de fêmeas obteve avaliação semelhante somente à carne do macho não castrado, diferindo da carne do macho castrado.

Para aceitação global, que diz, em geral, o quanto os provadores desgostaram ou gostaram da carne, concluiu-se que eles preferiram a carne mais macia e mais suculenta de machos castrados, em relação às demais, haja vista a carne dos machos castrados ter sido mais bem avaliada em relação a essas características e em relação à aceitação global. Similarmente, Mueller et al. (2019) verificaram a preferência de provadores pela carne de machos castrados, a qual também foi mais bem classificada em relação à maciez e suculência. Font-I-Furnols e Guerrero (2014), também relataram a influência positiva de maciez e suculência na preferência do consumidor.

A maciez diz respeito ao quanto os provadores desgostaram ou gostaram da maciez da carne. Os provadores preferiram a maciez da carne dos machos castrados, em detrimento da carne dos machos não castrados e a carne das fêmeas obteve classificação intermediária. A intensidade de maciez corresponde ao quão dura ou macia é a carne, sob a percepção dos provadores. Assim, a carne de machos não castrados obteve a pior classificação para intensidade de maciez, o que pode ser explicado pelo maior valor de FC da carne desses animais aos 14 dias de maturação, o qual foi 75,2 N. Nesse mesmo período de maturação, as carnes de machos castrados e fêmeas obtiveram valores semelhantes para FC, 60,8 N e 64,26 N, respectivamente.

A diferença entre esses dois valores é de apenas 3,46 N, ou seja, é menor que o limiar de diferença em WBSF de 4,9 N, que o consumidor médio de carne consegue detectar, definido pela ASTM (2011), embasada no estudo de Miller et al. (1995). Dessa forma, os provadores não foram capazes de diferenciar a intensidade de maciez entre as carnes de machos castrados e fêmeas.

No entanto, haja vista a diferença entre os valores de FC das carnes de machos não castrados e fêmeas ser de 10,94 N, os provadores poderiam perceber essa diferença, ao avaliarem a intensidade de maciez das carnes. Portanto, os provadores preferiram a carne dos machos castrados, em detrimento da carne dos machos não castrados, porque a carne dos machos castrados foi comprovadamente a mais macia pelo valor de FC.

A suculência diz respeito ao quanto os provadores desgostaram ou gostaram da suculência da carne. Os provadores também preferiram a suculência da carne dos machos castrados, em detrimento da carne dos machos não castrados, o que pode ser explicado pela diferença observada no MAR entre essas duas condições sexuais, haja vista a influência da gordura intramuscular sobre a suculência da carne (HOCQUETTE et al., 2010; CHRIKI et al., 2012; MAGALHÃES et al., 2016). No entanto, ao mesmo tempo em que a carne das fêmeas obteve a melhor classificação de marmorização entre as três condições sexuais, foi intermediariamente classificada em relação à suculência, o que diverge das nossas expectativas de que a carne das fêmeas também obteria a melhor classificação em relação à suculência.

A intensidade de suculência diz o quão seca ou suculenta é a carne sob a percepção dos provadores. Essa foi a única característica avaliada na qual as fêmeas se assemelharam unicamente ao macho não castrado, diferindo ambos dos machos castrados. A diferença indicada pelos provadores pode ser devida a alguma interferência da maciez na percepção de suculência da carne, haja vista não ter havido diferença nas PPC entre as três condições sexuais no período de maturação de 14 dias, o que fez com que esperássemos que também não houvesse diferença na intensidade de suculência entre machos castrados, fêmeas e machos não castrados.

Tabela 7 - Características avaliadas na análise sensorial da carne aos 14 dias de maturação de bovinos Angus x Nelore de diferentes condições sexuais (MC, F e MNC) terminados em confinamento

Variável	Condição sexual			EPM	Valor de P
	Macho castrado	Fêmea	Macho não castrado		
Aceitação global	7,24 A	6,97 AB	6,83 B	0,08	0,0295
Sabor	7,08	6,83	6,84	0,08	0,1707
Intensidade de sabor	3,14	3,11	3,03	0,03	0,2936
Maciez	7,32 A	6,87 AB	6,56 B	0,09	0,0002
Intensidade de maciez	4,02 A	3,80 AB	3,58 B	0,05	0,0005
Suculência	7,03 A	6,81 AB	6,63 B	0,08	0,0178
Intensidade de suculência	3,87 A	3,60 B	3,55 B	0,04	0,0003

Fonte: elaborada pela autora (2021).

Médias seguidas pela mesma letra não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey a $P \leq 0,05$.

Os valores de $P \leq 0,05$ apresentam-se em negrito.

EPM: Erro Padrão da Média.

3.4 CONCLUSÃO

A condição sexual influencia as características de carcaça e os atributos de qualidade de carne, podendo ser usada como uma estratégia pelos produtores, dependendo do propósito da produção dos animais. Portanto, se o objetivo é produzir carne em volume, ou carne do dia a dia, a melhor condição sexual a ser produzida é o macho não castrado. Mas, se o objetivo é produzir carne especial ou *premium*, para atender aos nichos de mercado e atender às demandas dos consumidores que desejam carne de qualidade extra, fêmeas e machos castrados são as condições sexuais mais favoráveis a serem produzidas.

No que diz respeito à maciez, machos castrados e fêmeas são as condições sexuais que resultam em carne mais macia, com menor período de maturação. No entanto, ressalta-se que nenhuma das condições sexuais estudadas atingiu o valor americano padrão para maciez da carne, o que seria essencial para a determinação do período de maturação ideal da carne de cada condição sexual.

Haja vista a percepção de qualidade da carne não ser igual entre todos os consumidores e diferir entre grupos demográficos, a atitude, predileção e sensação do consumidor brasileiro podem ser bastante distintas do consumidor americano ou de outras nacionalidades. Portanto, sugere-se que seja determinado um padrão brasileiro para maciez da carne, o qual corresponda à expectativa do consumidor nacional.

Os consumidores de carne preferem a carne de machos castrados, a qual

eles julgaram como mais macia e mais succulenta, em relação às demais. Portanto, propõe-se aproveitar o potencial do macho castrado para a produção de carcaças e de carne com melhor qualidade, atendendo às exigências dos consumidores, principalmente quanto a maciez e succulência da carne.

3.5 AGRADECIMENTOS

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) (processo nº 2011/21241-0, processo nº 2012/50788-0 e processo nº 2018/24624-7) pelo apoio financeiro, bem como à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES). Agradecemos à empresa parceira VPJ Alimentos, que nos forneceu as amostras de carne e ao Grupo Piveta pelo acesso às suas instalações. Os agradecimentos se estendem também à Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia (FMVZ/USP), em nome do Laboratório de Ciência da Carne (LCC) e de seus integrantes, pelo auxílio na execução do projeto de pesquisa. Ainda, agradecemos à Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos (FZEA/USP), em nome do Laboratório de Avaliação Animal e Qualidade da Carne (LAAQC), pela parceria no desenvolvimento da análise de comprimento de sarcômero.

REFERÊNCIAS

ABRIL, M. et al. Beef colour evolution as a function of ultimate pH. **Meat Science**, v. 58, n. 1, p. 69–78, maio 2001. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0309174000001339>>.

AMERICAN MEAT SCIENCE ASSOCIATION (AMSA). **Meat Color Measurements Guidelines Handbook**. Champaign, Illinois: AMSA, 2012. 136p.

AMERICAN MEAT SCIENCE ASSOCIATION (AMSA). **Research Guidelines for Cookery, Sensory Evaluation, and Instrumental Tenderness Measurements of Meat**. 2. ed. Champaign, Illinois: AMSA, 2016. 105p.

AMERICAN SOCIETY FOR TESTING AND MATERIALS (ASTM). **Standard Specification for Tenderness Marketing Claims Associated with Meat Cuts Derived from Beef**. 1. ed. West Conshohocken, Pensilvania: ASTM International, 2011. 3p.

ANTONELO, D. S. et al. Effects of immunocastration and β -adrenergic agonists on the performance and carcass traits of feedlot finished Nellore cattle. **animal**, v. 11, n. 11, p. 2103–2110, 26 nov. 2017. Disponível em: <https://www.cambridge.org/core/product/identifier/S1751731117000842/type/journal_article>.

BEEF POINT. **Conheça as tendências no mercado de carnes e cortes nobres**. Beef Point. 2020. Disponível em: <<https://www.beefpoint.com.br/conheca-as-tendencias-no-mercado-de-carnes-e-cortes-nobres/>>. Acesso em: 08 jul. 2021.

BONNY, S. P. F. et al. The variation in the eating quality of beef from different sexes and breed classes cannot be completely explained by carcass measurements. **animal**, v. 10, n. 6, p. 987–995, 11 jun. 2016. Disponível em: <https://www.cambridge.org/core/product/identifier/S175173111500292X/type/journal_article>.

BOURGUET, C. et al. Young Blond d'Aquitaine, Angus and Limousin bulls differ in emotional reactivity: Relationships with animal traits, stress reactions at slaughter and *post mortem* muscle metabolism. **Applied Animal Behaviour Science**, v. 164, p. 41–55, mar. 2015. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.applanim.2014.12.009>>.

BOUTON, P. E. et al. A COMPARISON OF THE EFFECTS OF AGING, CONDITIONING AND SKELETAL RESTRAINT ON THE TENDERNESS OF MUTTON. **Journal of Food Science**, v. 38, n. 6, p. 932–937, set. 1973. Disponível

em: <<http://doi.wiley.com/10.1111/j.1365-2621.1973.tb02117.x>>.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Regulamento de Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal - RIISPOA. Brasília, DF, 2017.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Regulamento Técnico de Métodos de Insensibilização para o Abate Humanitário de Animais de Açougue. Brasília, DF, 2000.

BRASIL. Ministério da Indústria, Comércio Exterior e Serviços. **ComexVis - Importações de carne bovina fresca, refrigerada ou congelada**, 2021. Disponível em: <<http://comexstat.mdic.gov.br/pt/comex-vis>>. Acesso em: 07 jul. 2021.

CARVALHO, M. E. et al. Heat shock and structural proteins associated with meat tenderness in Nellore beef cattle, a *Bos indicus* breed. **Meat Science**, v. 96, n. 3, p. 1318–1324, mar. 2014. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.meatsci.2013.11.014>>.

CHOAT, W. T. et al. The effects of cattle sex on carcass characteristics and longissimus muscle palatability^{1,2}. **Journal of Animal Science**, v. 84, n. 7, p. 1820–1826, 1 jul. 2006. Disponível em: <<https://academic.oup.com/jas/article/84/7/1820/4778810>>.

CHRIKI, S. et al. Cluster analysis application identifies muscle characteristics of importance for beef tenderness. **BMC Biochemistry**, v. 13, n. 1, p. 29, 2012. Disponível em: <<http://www.biomedcentral.com/1471-2091/13/29>>.

CHRIKI, S. et al. Meta-analysis of the relationships between beef tenderness and muscle characteristics. **Livestock Science**, v. 155, n. 2–3, p. 424–434, 2013. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.livsci.2013.04.009>>.

CONTRERAS-CASTILLO, C. J. et al. The effect of electrical stimulation on post mortem myofibrillar protein degradation and small heat shock protein kinetics in bull beef. **Meat Science**, v. 113, p. 65–72, 2016.

COSTA, C. et al. Efeito da castração sobre a qualidade da carne de bovinos superprecoces. **Veterinária e Zootecnia**, v. 14, n. 1, p. 115–123, 2007.

CROUSE, J. D. et al. Comparisons of and Inheritance for Carcass Beef Characteristics and Meat Palatability. **Journal of Animal Science**, v. 67, n. 10, p. 2661, 1989. Disponível em: <<https://academic.oup.com/jas/article/67/10/2661>>.

2668/4697042>.

DAYTON, W. R.; WHITE, M. E. Cellular and molecular regulation of muscle growth and development in meat animals. **Journal of Animal Science**, v. 86, n. suppl_14, p. E217–E225, 1 abr. 2008. Disponível em: <https://academic.oup.com/jas/article/86/suppl_14/E217/4789997>.

DESTEFANIS, G. et al. Effect of castration on meat quality in Piemontese cattle. **Meat Science**, v. 64, n. 2, p. 215–218, jun. 2003. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0309174002001845>>.

DEVINE, C. E. Conversion of Muscle to Meat: Aging. In: Dikeman, M; Devine, C. **Encyclopedia of Meat Sciences**. 2. ed. Londres: Academic Press, 2014. v. I, p. 329-338.

ELZO, M. A. et al. Carcass and meat palatability breed differences and heterosis effects in an Angus–Brahman multibreed population. **Meat Science**, v. 90, n. 1, p. 87–92, jan. 2012. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.meatsci.2011.06.010>>.

ERTBJERG, P.; PUOLANNE, E. Muscle structure, sarcomere length and influences on meat quality: A review. **Meat Science**, v. 132, n. April, p. 139–152, 2017.

FAVERO, R. et al. Crossbreeding applied to systems of beef cattle production to improve performance traits and carcass quality. **animal**, v. 13, n. 11, p. 2679–2686, 8 nov. 2019. Disponível em: <https://www.cambridge.org/core/product/identifier/S1751731119000855/type/journal_article>.

FERRAZ, J. B. S.; FELÍCIO, P. E. de. Production systems – An example from Brazil. **Meat Science**, v. 84, n. 2, p. 238–243, fev. 2010. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.meatsci.2009.06.006>>.

FIEMS, L. O. et al. Relationship between fat depots in carcasses of beef bulls and effect on meat colour and tenderness. **Meat Science**, v. 56, n. 1, p. 41–47, set. 2000. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0309174000000176>>.

FONT-I-FURNOLS, M.; GUERRERO, L. Consumer preference, behavior and perception about meat and meat products: An overview. **Meat Science**, v. 98, n. 3, p. 361–371, nov. 2014. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.meatsci.2014.06.025>>.

GÓMEZ, J. F. M. et al. Effects of immunocastration on the performance and meat

quality traits of feedlot-finished *Bos indicus* (Nellore) cattle. **Animal Production Science**, v. 59, n. 1, p. 183, 2017. Disponível em: <<http://www.publish.csiro.au/?paper=AN17102>>.

GOVINDARAJAN, S.; SNYDER, H. E. Fresh meat color. **C R C Critical Reviews in Food Technology**, v. 4, n. 1, p. 117–140, set. 1973. Disponível em: <<http://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/10408397309527154>>.

GRANDIN, T.; SHIVLEY, C. How Farm Animals React and Perceive Stressful Situations Such As Handling, Restraint, and Transport. **Animals**, v. 5, n. 4, p. 1233–1251, 1 dez. 2015. Disponível em: <<http://www.mdpi.com/2076-2615/5/4/0409>>.

HERRING, H. K. et al. Tenderness and Associated Characteristics of Stretched and Contracted Bovine Muscles. **Journal of Food Science**, v. 32, n. 3, p. 317–323, 28 jun. 1967. Disponível em: <http://doi.wiley.com/10.1111/j.1365-2621.1967.tb01321_32_3.x>.

HOCQUETTE, J. F. et al. Intramuscular fat content in meat-producing animals: development, genetic and nutritional control, and identification of putative markers. **animal**, v. 4, n. 02, p. 303–319, 23 fev. 2010. Disponível em: <http://www.journals.cambridge.org/abstract_S1751731109991091>.

HOLMAN, B. W. B. et al. Effect of Beef Pre-Cooking Status (Frozen V. Thawed) and Sample Weight on Shear Force Evaluation. **Food Analytical Methods**, v. 10, n. 10, p. 3235–3238, 8 out. 2017. Disponível em: <<http://link.springer.com/10.1007/s12161-017-0895-1>>.

HOOD, D. E. Pre-slaughter injection of sodium ascorbate as a method of inhibiting metmyoglobin formation in fresh beef. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 26, n. 1, p. 85–90, jan. 1975. Disponível em: <<http://doi.wiley.com/10.1002/jsfa.2740260110>>.

HOUBEN, J. H. et al. Effect of dietary vitamin E supplementation, fat level and packaging on colour stability and lipid oxidation in minced beef. **Meat Science**, v. 55, n. 3, p. 331–336, jul. 2000. Disponível em: <<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0309174099001618>>.

INTERNATIONAL COMMISSION ON ILLUMINATION. **International Commission on Illumination**: Colorimetry. 2.ed. Viena, Austria: CIE, 1986. 85p.

JEREMIAH, L. E.; TONG, A. K. W.; GIBSON, L. L. The usefulness of muscle color and pH for segregating beef carcasses into tenderness groups. **Meat Science**, v. 30, n. 2, p. 97–114, jan. 1991. Disponível em:

<<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0309174091900017>>.

JONES, S. J. Growth of Meat Animals: Growth Patterns. In: Dikeman, M; Devine, C. **Encyclopedia of Meat Sciences**. 2. ed. Londres: Academic Press, 2014. v. II, p. 56-61.

JOO, S.-T. et al. THE RELATIONSHIP BETWEEN COLOR AND WATER-HOLDING CAPACITY IN POSTRIGOR PORCINE LONGISSIMUS MUSCLE. **Journal of Muscle Foods**, v. 6, n. 3, p. 211–226, out. 1995. Disponível em: <<http://doi.wiley.com/10.1111/j.1745-4573.1995.tb00568.x>>.

KILGANNON, A. K. et al. The effect of different temperature-time combinations when ageing beef: Sensory quality traits and microbial loads. **Meat Science**, v. 150, n. August 2018, p. 23–32, abr. 2019. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0309174018307824>>.

KIM, Y. H. B. et al. Understanding postmortem biochemical processes and post-harvest aging factors to develop novel smart-aging strategies. **Meat Science**, v. 144, n. April, p. 74–90, out. 2018. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0309174018302018>>.

KOOLMEES, P. A.; KORTEKNIE, F.; SMULDERS, F. J. M. Accuracy and Utility of Sarcomere Length Assessment by Laser Diffraction. **Food Structure**, v. 5, n. 1, p. 71–76, 1986. Disponível em: <<http://digitalcommons.usu.edu/foodmicrostructure>>.

LAGE, J. F. et al. Influence of genetic type and level of concentrate in the finishing diet on carcass and meat quality traits in beef heifers. **Meat Science**, v. 90, n. 3, p. 770–774, mar. 2012. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0309174011003676>>.

LEE, C. Y. et al. Growth and hormonal response of intact and castrate male cattle to trenbolone acetate and estradiol. **Journal of Animal Science**, v. 68, n. 9, p. 2682, 1990. Disponível em: <<https://academic.oup.com/jas/article/68/9/2682-2689/4705407>>.

LEE, M. R. F. et al. A comparison between red clover silage and grass silage feeding on fatty acid composition, meat stability and sensory quality of the M. Longissimus muscle of dairy cull cows. **Meat Science**, v. 81, n. 4, p. 738–744, abr. 2009. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0309174008003823>>.

LINDAHL, G.; LUNDSTRÖM, K.; TORNBERG, E. Contribution of pigment content, myoglobin forms and internal reflectance to the colour of pork loin and ham from pure breed pigs. **Meat Science**, v. 59, n. 2, p. 141–151, out. 2001. Disponível em:

<<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S030917400100064X>>.

LISTRAT, A. et al. Contribution of connective tissue components, muscle fibres and marbling to beef tenderness variability in longissimus thoracis, rectus abdominis, semimembranosus and semitendinosus muscles. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 100, n. 6, p. 2502–2511, 9 abr. 2020. Disponível em: <<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/jsfa.10275>>.

LOMIWES, D. et al. The development of meat tenderness is likely to be compartmentalised by ultimate pH. **Meat Science**, v. 96, n. 1, p. 646–651, 2014.

MACDOUGALL, D. B. Changes in the colour and opacity of meat. **Food Chemistry**, v. 9, n. 1–2, p. 75–88, jul. 1982. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/030881468290070X>>.

MAGALHÃES, A. F. B. et al. Genome-Wide Association Study of Meat Quality Traits in Nellore Cattle. **PLOS ONE**, v. 11, n. 6, p. e0157845, 30 jun. 2016. Disponível em: <<https://dx.plos.org/10.1371/journal.pone.0157845>>.

MALHEIROS, J. M. et al. Influence of oxidative damage to proteins on meat tenderness using a proteomics approach. **Meat Science**, v. 148, n. August 2018, p. 64–71, fev. 2019. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2018.08.016>>.

MBEREMA, C. H. H. et al. The effects of gender and muscle type on the mRNA levels of the calpain proteolytic system and beef tenderness during *post mortem* aging. **Livestock Science**, v. 185, p. 123–130, 2016. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.livsci.2016.01.020>>.

MIGUEL, G. Z. et al. Immunocastration improves carcass traits and beef color attributes in Nellore and Nellore×Aberdeen Angus crossbred animals finished in feedlot. **Meat Science**, v. 96, n. 2, p. 884–891, fev. 2014. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.meatsci.2013.08.030>>.

MILLER, M. F. et al. Consumer Acceptability of Beef Steak Tenderness in the Home and Restaurant. **Journal of Food Science**, v. 60, n. 5, p. 963–965, set. 1995. Disponível em: <<http://doi.wiley.com/10.1111/j.1365-2621.1995.tb06271.x>>.

MILLER, M. F. et al. Consumer thresholds for establishing the value of beef tenderness. **Journal of Animal Science**, v. 79, n. 12, p. 3062–3068, 2001.

MILLER, R. K. Chemical and Physical Characteristics of Meat: Palatability. In: Dikeman, M; Devine, C. **Encyclopedia of Meat Sciences**. 2. ed. Londres: Academic

Press, 2014. v. I, p. 252-262.

MOITINHO, F. **Brasil, maior exportador global de carne bovina, importou 50,8 mil toneladas premium em 2020**. Portal DBO. 2021. Disponível em: <<https://www.portaldbo.com.br/brasil-maior-exportador-global-de-carne-bovina-importou-508-mil-toneladas-premium-em-2020/>>. Acesso em: 08 jul. 2021.

MORGAN, J. B. et al. Meat tenderness and the calpain proteolytic system in longissimus muscle of young bulls and steers¹. **Journal of Animal Science**, v. 71, n. 6, p. 1471–1476, 1 jun. 1993. Disponível em: <<https://academic.oup.com/jas/article/71/6/1471-1476/4718951>>.

MUCHENJE, V. et al. Some biochemical aspects pertaining to beef eating quality and consumer health: A review. **Food Chemistry**, v. 112, n. 2, p. 279–289, jan. 2009. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0308814608006432>>.

MUELLER, L. F. et al. Gender status effect on carcass and meat quality traits of feedlot Angus × Nellore cattle. **Animal Science Journal**, v. 90, n. 8, p. 1078–1089, 25 ago. 2019. Disponível em: <<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/asj.13250>>.

NISHIMURA, T.; HATTORI, A.; TAKAHASHI, K. Structural changes in intramuscular connective tissue during the fattening of Japanese black cattle: effect of marbling on beef tenderization. **Journal of Animal Science**, v. 77, n. 1, p. 93, 1999. Disponível em: <<https://academic.oup.com/jas/article/77/1/93-104/4625332>>.

NRC. **Nutrient Requirements of Beef Cattle, 8th Revised Edition**. Washington, D.C.: National Academies Press, 2016.

OFFER, G. et al. The structural basis of the water-holding, appearance and toughness of meat and meat products. **Food Microstructure**, v. 8, n. 1, p. 151–170, 1989.

OLIETE, B. et al. Influence of ageing time on the quality of yearling calf meat under vacuum. **European Food Research and Technology**, v. 220, n. 5–6, p. 489–493, 21 maio 2005. Disponível em: <<http://link.springer.com/10.1007/s00217-004-1071-6>>.

OLIVEIRA JÚNIOR, G. A. et al. Genotype imputation in a tropical crossbred dairy cattle population. **Journal of Dairy Science**, v. 100, n. 12, p. 9623–9634, dez. 2017. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.3168/jds.2017-12732>>.

OLIVEIRA, M. M.; SANTANA, M. L.; CARDOSO, F. F. Multiple-breed reaction norm animal model accounting for robustness and heteroskedastic in a Nelore–Angus crossed population. **Animal**, v. 10, n. 7, p. 1093–1100, 12 jul. 2016. Disponível em: <https://www.cambridge.org/core/product/identifier/S1751731115002815/type/journal_article>.

OUALI, A. et al. Biomarkers of meat tenderness: Present knowledge and perspectives in regards to our current understanding of the mechanisms involved. **Meat Science**, v. 95, n. 4, p. 854–870, dez. 2013. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.meatsci.2013.05.010>>.

OWENS, F. N.; DUBESKI, P.; HANSON, C. F. Factors that alter the growth and development of ruminants. **Journal of Animal Science**, v. 71, n. 11, p. 3138–3150, 1 nov. 1993. Disponível em: <<https://academic.oup.com/jas/article/71/11/3138-3150/4719016>>.

PAGE, J. K.; WULF, D. M.; SCHWOTZER, T. R. A survey of beef muscle color and pH. **Journal of Animal Science**, v. 79, n. 3, p. 678, 2001. Disponível em: <<https://academic.oup.com/jas/article/79/3/678-687/4625888>>.

PARK, S. J. et al. Genetic, management, and nutritional factors affecting intramuscular fat deposition in beef cattle - A review. **Asian-Australasian Journal of Animal Sciences**, v. 31, n. 7, p. 1043–1061, 2018.

PEREIRA, A. S. C. et al. Growth performance, and carcass and meat quality traits in progeny of Poll Nellore, Angus and Brahman sires under tropical conditions. **Animal Production Science**, v. 55, n. 10, p. 1295, 2015. Disponível em: <<http://www.publish.csiro.au/?paper=AN13505>>.

PLATTER, W. J. et al. Effects of marbling and shear force on consumers' willingness to pay for beef strip loin steaks. **Journal of Animal Science**, v. 83, n. 4, p. 890–899, 1 abr. 2005. Disponível em: <<https://academic.oup.com/jas/article/83/4/890/4790769>>.

PURCHAS, R. W. An assessment of the role of pH differences in determining the relative tenderness of meat from bulls and steers. **Meat Science**, v. 27, n. 2, p. 129–140, jan. 1990. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/030917409090061A>>.

RIBEIRO, E. L. d. A. et al. Growth and carcass characteristics of pasture fed LHRH immunocastrated, castrated and intact Bos indicus bulls. **Meat Science**, v. 68, n. 2, p. 285–290, out. 2004. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0309174004000786>>.

RODRIGUES, R. T. de S. et al. Differences in Beef Quality between Angus (*Bos taurus taurus*) and Nellore (*Bos taurus indicus*) Cattle through a Proteomic and Phosphoproteomic Approach. **PLOS ONE**, v. 12, n. 1, p. e0170294, 19 jan. 2017. Disponível em: <<https://dx.plos.org/10.1371/journal.pone.0170294>>.

SEIDEMAN, S. C. et al. Utilization of the Intact Male for Red Meat Production : a Review. **Journal of Animal Science**, v. 55, p. 826–840, 1982.

SEIDEMAN, S. C.; CROSS, H. R.; CROUSE, J. D. CARCASS CHARACTERISTICS, SENSORY PROPERTIES AND MINERAL CONTENT OF MEAT FROM BULLS AND STEERS. **Journal of Food Quality**, v. 11, n. 6, p. 497–507, fev. 1989. Disponível em: <<http://doi.wiley.com/10.1111/j.1745-4557.1989.tb00912.x>>.

SILVA, J. A.; PATARATA, L.; MARTINS, C. Influence of ultimate pH on bovine meat tenderness during ageing. **Meat Science**, v. 52, n. 4, p. 453–459, ago. 1999. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0309174099000297>>.

SMITH, G.; GRIFFIN, D.; JOHNSON, K. **Meat Evaluation Handbook**. 2. Ed. Champaign, Illinois: American Meat Science Association, 2013. 160 p.

SWATLAND, H. J. Fiber Optic Spectrophotometry and the Wetness of Meat. **Journal of Food Science**, v. 47, n. 6, p. 1940–1942, nov. 1982. Disponível em: <<http://doi.wiley.com/10.1111/j.1365-2621.1982.tb12918.x>>.

TORNBERG, E. Effects of heat on meat proteins – Implications on structure and quality of meat products. **Meat Science**, v. 70, n. 3, p. 493–508, jul. 2005. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0309174005000434>>.

UNITED STATES DEPARTMENT OF AGRICULTURE (USDA). **Livestock and Poultry: World Markets and Trade**, 2020. Disponível em: <https://apps.fas.usda.gov/psdonline/circulars/livestock_poultry.pdf>. Acesso em: 26 mai. 2020.

VENKATA REDDY, B. et al. Beef quality traits of heifer in comparison with steer, bull and cow at various feeding environments. **Animal Science Journal**, v. 86, n. 1, p. 1–16, jan. 2015. Disponível em: <<http://doi.wiley.com/10.1111/asj.12266>>.

VIAU, V.; MEANEY, M. J. Variations in the Hypothalamic-Pituitary-Adrenal Response to Stress during the Estrous Cycle in the Rat. **Endocrinology**, v. 129, n. 5, p. 2503–2511, nov. 1991. Disponível em: <<https://academic.oup.com/endo/article-lookup/doi/10.1210/endo-129-5-2503>>.

VOISINET, B. D. et al. Bos indicus-cross feedlot cattle with excitable temperaments have tougher meat and a higher incidence of borderline dark cutters. **Meat Science**, v. 46, n. 4, p. 367–377, ago. 1997. Disponível em: <<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0309174097000314>>.

WARNER, R. D. et al. Genetic and environmental effects on meat quality. **Meat Science**, v. 86, n. 1, p. 171–183, set. 2010. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.meatsci.2010.04.042>>.

WHEELER, T. L.; CUNDIFF, L. V.; KOCH, R. M. Effect of marbling degree on beef palatability in Bos taurus and Bos indicus cattle. **Journal of Animal Science**, v. 72, n. 12, p. 3145–3151, 1 dez. 1994. Disponível em: <<https://academic.oup.com/jas/article/72/12/3145-3151/4719312>>.

WHEELER, T. L.; SHACKELFORD, S. D.; KOOHMARAIE, M. Variation in proteolysis, sarcomere length, collagen content, and tenderness among major pork muscles. **Journal of Animal Science**, v. 78, n. 4, p. 958–965, 2000.

WHEELER, T. L.; SHACKELFORD, S. D.; KOOHMARAIE, M. **Shear Force Procedures for Meat Tenderness Measurement**, 2005. 7p.

XU, M. et al. Effects of active immunization with newly modified GnRH peptides on spermatogenesis and production performance of Holstein bulls†. **Biology of Reproduction**, v. 99, n. 2, p. 461–472, 1 ago. 2018. Disponível em: <<https://academic.oup.com/biolreprod/article/99/2/461/4768000>>.

4 A MACIEZ DA CARNE BOVINA É INFLUENCIADA POR ALTERAÇÕES NO PROTEOMA DO MÚSCULO *LONGISSIMUS* DEVIDO À CONDIÇÃO SEXUAL E PROTEÓLISE

RESUMO

Os mecanismos moleculares que contribuem para as variações na maciez da carne, causadas pela condição sexual dos bovinos, não são totalmente conhecidos. Acredita-se que a condição sexual dos bovinos altera o perfil proteico do músculo, o que pode influenciar a proteólise *post mortem*, afetando a maciez da carne. Portanto, a fim de elucidar os principais mecanismos biológicos que possivelmente controlam a maciez da carne, de acordo com cada condição sexual, objetivou-se: (i) comparar a maciez da carne de bovinos cruzados *Bos taurus* x *Bos indicus* entre as condições sexuais (fêmeas, machos castrados e machos não castrados) em diferentes períodos de maturação (dois, sete, 14 e 21 dias); (ii) avaliar as diferenças no perfil proteico do músculo *Longissimus*, entre as condições sexuais; e (iii) identificar as alterações no proteoma da carne ao longo dos períodos de maturação, em cada condição sexual. Foram utilizados 150 bovinos F1 Angus x Nelore, divididos nas três condições sexuais. Os animais foram confinados e receberam a mesma dieta durante 150 dias. Posteriormente, os animais foram abatidos e durante a desossa, 48 horas após o abate, amostras de carne do músculo *Longissimus* foram coletadas e maturadas sob temperatura entre 0 e 2 °C para análise da força de cisalhamento aos dois, sete, 14 e 21 dias de maturação. Para a análise do perfil proteico diferencial, as alíquotas do músculo *Longissimus* foram coletadas no abate e ao final dos períodos de maturação de dois e setes dias. As bandas diferencialmente abundantes entre as condições sexuais e ao longo dos períodos de maturação, em cada condição sexual, foram analisadas por LC-MS/MS para identificação das proteínas. O perfil de abundância de bandas foi mais contrastante entre machos não castrados e machos castrados. Os machos não castrados e fêmeas apresentaram maior abundância de bandas onde constam proteínas estruturais do músculo (DES, LDB3 e MYL2), enquanto os machos castrados e fêmeas apresentaram maior abundância de bandas que contém enzimas glicolíticas (ENO3 e PKM). Ao longo dos períodos de maturação, as análises proteômicas revelaram mudanças na abundância para as proteínas pertencentes ao metabolismo energético, incluindo principalmente ATP5F1A, PFKM, GPI, ALDOA e LDHA, destacando particularidades dentro de cada condição sexual. Contudo, os resultados

sugerem que a maior abundância de enzimas glicolíticas deve estar associada a uma carne mais macia para machos castrados e fêmeas, bem como a um aumento da maciez durante o armazenamento *post mortem*.

Palavras-chave: Categoria sexual. Maturação. Degradação muscular. Força de cisalhamento. Perfil proteico do músculo. Proteômica muscular.

4.1 INTRODUÇÃO

Dentre os atributos de qualidade da carne, a maciez é considerada uma característica sensorial muito importante (LISTRAT et al., 2020), devido à sua influência na intenção de compra do consumidor (MILLER et al., 2001; FONT-I-FURNOLS; GUERRERO, 2014; HOLMAN et al., 2017; MALHEIROS et al., 2019). No entanto, os processos biológicos e fisiológicos que afetam as diferenças na maciez da carne, entre as condições sexuais em bovinos, ainda não são claramente entendidos. Presume-se que diferenças na atividade da calpastatina, associadas ao amaciamento *post mortem* (WULF et al., 1996; O'CONNOR et al., 1997); diferenças no temperamento e nas reações ao estresse pré-abate (VOISINET et al., 1997) e efeitos hormonais, incluindo aqueles associados com os níveis de testosterona em machos não castrados (ANDREO et al., 2013), estão entre os fatores associados à maciez da carne e à condição sexual dos animais. Ademais, sabe-se que a condição sexual afeta a deposição de músculo e gordura na carcaça (ZHANG et al., 2010).

Apesar das vantagens de melhor desempenho dos bovinos, a qualidade da carne produzida por machos não castrados pode ser desfavorável, apresentando cor indesejável, carne mais dura e pouca deposição de gordura (MUELLER et al., 2019). Por outro lado, bovinos fêmeas e machos castrados, em geral, produzem carne mais macia, com maior deposição de gordura intramuscular, melhor qualidade da carcaça e de características sensoriais, do que machos não castrados (SEIDEMAN et al., 1982; DOS SANTOS et al., 2015). Já, em comparação entre as fêmeas e os machos não castrados, as fêmeas apresentam carne mais macia, atributos sensoriais e escore de marmorização superiores (ZHANG et al., 2010).

Além da condição sexual dos animais, a raça e a idade também têm ampla influência sobre a qualidade da carne produzida. *Bos indicus*, em geral, apresentam alguns atributos desfavoráveis, quando comparados certas raças taurinas, como menor taxa de deposição de gordura subcutânea, pouca ou ausência de deposição de gordura intramuscular (marmorização) (CROUSE et al., 1989; PEREIRA et al., 2015; RODRIGUES et al., 2017) e uma taxa reduzida de degradação das proteínas miofibrilares durante o armazenamento *post mortem*, devido a uma maior atividade da calpastatina (WHIPPLE et al., 1990; KOOHMARAIE, 1992), o que pode determinar uma carne menos macia.

Nesse sentido, uma das estratégias a fim de minimizar o problema da falta de padronização e qualidade, muitas vezes, desfavorável da carne dos animais

zebuínos é o cruzamento com animais taurinos, onde se aproveitam as características desejáveis de ambas subespécies, com uma maior eficiência (CROUSE et al., 1989; WHIPPLE et al., 1990; LAGE et al., 2012; MODZELEWSKA-KAPITUŁA; NOGALSKI, 2014), explorando a heterose e a variação genética aditiva entre diferentes raças (CROUSE et al., 1989). Dessa forma, o cruzamento entre as raças Nelore e Aberdeen Angus é um dos mais utilizados atualmente no Brasil (ASBIA, 2017).

A proteólise *post mortem* é um dos principais fatores responsáveis pelo amaciamento da carne e o sistema de calpaínas tem papel fundamental na degradação muscular e, conseqüentemente, na maciez do produto final (KOOHMARAIE, 1996; HOPKINS; THOMPSON, 2002). O sistema de calpaínas, dependente de cálcio e com atividade ótima em pH neutro, é composto principalmente por duas proteases: μ -calpaína e m -calpaína, além de um inibidor específico, a calpastatina (GOLL et al., 2003; WENDT; THOMPSON; GOLL, 2004). A μ -calpaína é a mais relacionada com a fragmentação miofibrilar (DE OLIVEIRA et al., 2019) e, conseqüentemente, com a maciez da carne, devido a sua atuação sobre várias proteínas miofibrilares, como a titina, nebulina, filamina, desmina e troponina-T (HUFF-LONERGAN; PARRISH; ROBSON, 1995). Já, a calpastatina é relacionada negativamente com o amaciamento da carne, devido ao seu papel na inibição da ação enzimática das calpaínas (DELGADO; SANTOS, 2010).

Além do sistema das calpaínas, os sistemas das caspases, catepsinas, proteassomas e proteínas de choque térmico também foram apontados como possíveis responsáveis pelo amaciamento da carne *post mortem* (SENTANDREU; COULIS; OUALI, 2002; OUALI et al., 2006, 2013; LANA; ZOLLA, 2016). Segundo Herrera-Mendez et al. (2006), as caspases provavelmente degradam primeiro as principais proteínas envolvidas na organização espacial das miofibrilas dentro das células musculares e, posteriormente, a hidrólise dos componentes celulares e organelas, ocorre devido à ação de outros sistemas proteolíticos, como as calpaínas, catepsinas e proteassomas. Dessa forma, as caspases seriam, provavelmente, facilitadoras da ação desses outros sistemas proteolíticos.

Diante do exposto, distintos sistemas de proteólise estão relacionados à maciez da carne e as diferentes condições sexuais dos bovinos podem influenciar a ação desses sistemas proteolíticos, conferindo diferentes perfis de degradação proteica. Dessa forma, ferramentas de análise de proteínas, metodologias de proteômica, como eletroforese, cromatografia líquida, espectrometria de massas,

análise de imagens e bioinformática têm sido combinadas para prever proteínas associadas com maciez e aprofundar os conhecimentos sobre os mecanismos biológicos que controlam essa característica (SAWDY et al., 2004; ZAPATA; ZERBY; WICK, 2009). Nesse sentido, a proteômica pode gerar amplos conjuntos de dados, que podem ser analisados com ferramentas bioinformáticas de alto rendimento, permitindo a identificação de interações de moléculas e análises de vias moleculares, além de possibilitar a identificação de biomarcadores (PICARD et al., 2010).

Apesar de a condição sexual ser um dos fatores que podem interferir na qualidade da carne (SEIDEMAN et al., 1982; ZHANG et al., 2010; MIGUEL et al., 2014; DOS SANTOS et al., 2015; MUELLER et al., 2019), pouco se sabe sobre a influência das diferentes condições sexuais no proteoma muscular de bovinos cruzados em condições tropicais. Assim, acredita-se que a condição sexual dos bovinos altera o perfil proteico do músculo, o que pode influenciar a proteólise *post mortem*, afetando a maciez da carne.

Portanto, a fim de elucidar os principais mecanismos biológicos que possivelmente controlam a maciez da carne, de acordo com cada condição sexual, objetivou-se: (i) comparar a maciez da carne de bovinos cruzados *Bos taurus* x *Bos indicus* entre as condições sexuais (fêmeas, machos castrados e machos não castrados) aos dois, sete, 14 e 21 dias de maturação; (ii) avaliar as diferenças no perfil proteico do músculo *Longissimus*, entre as condições sexuais; e (iii) identificar as alterações no proteoma da carne ao longo dos períodos de maturação, em cada condição sexual.

4.2 MATERIAL E MÉTODOS

O projeto foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo (FMVZ/USP) sob o protocolo CEUA nº 1643171218.

4.2.1 Animais, manejo e dieta

Foram utilizados 150 bovinos F1 Angus x Nelore com idade média de abate de 16 meses, pertencentes ao mesmo grupo contemporâneo, divididos em três

condições sexuais (50 fêmeas, 50 machos castrados e 50 machos não castrados), pertencentes ao Programa Carne Angus Certificada do Brasil.

Os animais foram mantidos nas mesmas condições de manejo, pesados, desverminados, vacinados (clostridioses e aftosa), identificados individualmente em relação às condições sexuais. Durante o período de confinamento de 150 dias, foi utilizada ração formulada segundo as exigências do *National Research Council* (NRC, 2016), adaptada às condições tropicais, estimada pelo Programa RLM 3.2[®]. A ração foi composta de 86% de concentrado e 14% de volumoso na matéria seca, tendo como alimento volumoso o feno de *Brachiaria*, e oferecida em três períodos ao longo do dia.

4.2.2 Abate e coleta de amostras

Ao final do período experimental de 150 dias, critério de abate, os animais foram abatidos em frigorífico comercial. Durante a desossa, realizada 48 horas após o abate, foram coletados quatro bifes de 2,54 cm de espessura do músculo *Longissimus*, embalados individualmente a vácuo em sacos de polietileno (Cryovac[®], Charlotte, NC, EUA) e maturados sob temperatura entre 0 a 2 °C para análise da força de cisalhamento (dois, sete, 14 e 21 dias de maturação), a qual avaliou o efeito da condição sexual e da maturação sobre a maciez da carne. Para a análise do perfil proteico muscular entre as condições sexuais e ao longo dos períodos de maturação, em cada condição sexual, alíquotas do músculo *Longissimus* foram coletadas no momento do abate e ao final dos períodos de maturação de dois e sete dias, imediatamente congeladas em nitrogênio líquido, transportadas e posteriormente armazenadas a -80 °C.

4.2.3 Análises laboratoriais

4.2.3.1 Força de cisalhamento

Os procedimentos para cocção dos bifes destinados à análise de FC foram realizados segundo AMSA (2016). As amostras foram assadas em forno elétrico a 163 °C, até atingirem a temperatura interna de 71 °C. As temperaturas internas foram determinadas por meio de um sistema de termopares com termômetros individuais, que foram inseridos nos bifes até sua parte central. Após serem assados

e esfriarem, os bifes foram embalados individualmente e acondicionados em refrigerador doméstico por 24 horas. Então, foram retirados seis cilindros de 13 mm de diâmetro de cada bife, com um vazador elétrico. A análise de maciez objetiva foi realizada com equipamento texturômetro (modelo CT-3 Texture Analyser, AMETEK Brookfield®, Middleborough, MA, EUA), equipado com lâmina Warner-Bratzler e a FC foi determinada pela média dos seis cilindros (WHEELER; SHACKELFORD; KOOHMARAIE, 2005).

4.2.3.2 Análise do perfil proteico

Foram selecionadas aleatoriamente 12 amostras do músculo *Longissimus* de cada condição sexual (N = 108), coletadas no momento do abate e ao final dos períodos de maturação de dois e sete dias para avaliação da diferença no perfil proteico muscular. As etapas seguidas foram extração de proteínas, eletroforese unidimensional (SDS/PAGE), análise das imagens dos géis, análises estatísticas para identificação das bandas diferencialmente abundantes, digestão das bandas “*in gel*”, identificação das proteínas por cromatografia líquida acoplada à espectrometria de massas (LC-MS/MS), e análises de bioinformática de enriquecimento funcional e rede de interação proteína-proteína.

Para extrair as proteínas, foi pesado aproximadamente 0,5 g de músculo *Longissimus* e homogeneizado em 2 mL de tampão de extração contendo 150 mM NaCl, 1% Triton X-100, 0,5% desoxicolato de sódio, 2% SDS, 50 mM Tris pH 8,0, 1% do coquetel de inibidores de protease (Sigma-Aldrich, San Luis, MO, EUA), 1 mM ortovanadato de sódio, 25 mM fluoreto de sódio. As amostras foram homogeneizadas em gelo quatro vezes durante 5 segundos cada vez, a 30.000 rpm com o auxílio de Turrax (modelo T 10 *basic* ULTRA-TURRAX®, IKA, Staufen, Baden-Württemberg, Alemanha). Após, as amostras foram centrifugadas a 4 °C a 10.000 g por 30 min. O sobrenadante resultante foi armazenado a -80 °C para posterior análise. A concentração de proteína de cada amostra foi determinada utilizando o reagente de *Bradford* (Bio-Rad, Hercules, CA, EUA), sendo a albumina bovina utilizada como padrão.

Para realização da eletroforese unidimensional (SDS/PAGE), o extrato proteico foi misturado na proporção de 1:1 em tampão de amostra (50 mM Tris-HCl pH 6.8, 10% glicerol, 2% SDS, 5% 2-mercaptoetanol, 1% azul de bromofenol) e aquecido a 95 °C por 5 min. Foram utilizados gel de empilhamento a 4% (125 mM de

Tris-HCl pH 6,8; 0,1% SDS; 4% 30% acrilamida/0,8% bisacrilamida; 0,05% persulfato de amônio e 0,1% TEMED) e gel de separação a 12% (375 mM Tris-HCl pH 8,8, 0,1% SDS, 12% de 30% acrilamida/0,8% bisacrilamida, 0,05%, persulfato de amônio e 0,1% e TEMED). As amostras (50 µg) foram corridas no gel de empilhamento a 15 mA por gel a 100 V e no gel de separação a 25 mA por gel a 600 V usando o sistema SE600 Ruby (GE Healthcare, Chicago, IL, EUA). Foi utilizado um padrão com proteínas de peso molecular conhecido, o qual foi corrido no gel junto com as amostras. Após o término da corrida, os géis foram corados utilizando uma solução de *Coomassie Blue*. O gel foi digitalizado por meio do *Image Scanner III* (GE Healthcare, Chicago, IL, EUA) e a análise quantitativa das bandas foi realizada com auxílio do programa *Image Lab™* (Bio-Rad, Hercules, CA, EUA). As bandas foram identificadas e então analisadas para determinar a porcentagem de contribuição de cada banda em relação ao total do volume das bandas em cada coluna.

Para prosseguir com a digestão dos *spots "in gel"*, as bandas detectadas como diferencialmente abundantes nas análises estatísticas foram retiradas dos géis, picotadas em fragmentos de aproximadamente 1 mm³ e colocadas em microtubos de 1,5 mL. A digestão foi realizada segundo metodologia descrita por Shevchenko et al. (2006).

Para identificação das proteínas por LC-MS/MS, as amostras foram ressuspensas em 30 µl de uma solução de 1% de ácido fórmico. Para análise, uma alíquota de 4,5 µl foi separada por meio de coluna de fase reversa C18 (100 µm x 100 mm), utilizando-se um cromatógrafo de alto desempenho *nanoAcquity* (nanoACQUITY UPLC, Waters, Milford, MA, EUA) acoplado ao espectrômetro de massas Q-TOF Premier (Waters, Milford, MA, EUA) com fonte de ionização tipo *nanoelectrospray*, a uma taxa de fluxo de 0,6 µl/min. Foi utilizado um gradiente de 2-90% de acetonitrila em ácido fórmico 0,1% por 50 min. A tensão de *nanoelectrospray* foi ajustada para 3,5 kV com voltagem de cone de 30 V e temperatura de fonte de 100 °C. O instrumento foi operado no modo "*topthree*", em que um espectro de MS é adquirido seguido por MS/MS dos três principais picos mais intensos detectados.

Os espectros foram adquiridos utilizando o *software MassLynx v.4.1*, sendo os arquivos de dados brutos (.raw) convertidos para o formato "*peak list*" (.mgf) pelo *software Mascot Distiller v.2.3.02* (Matrix Science, Londres, Inglaterra), onde as proteínas foram identificadas. A carbamidometilação foi utilizada como modificação

fixa, a oxidação de metionina como modificação variável, máximo de um sítio de clivagem de tripsina perdido e tolerância de 0,1 Da para fragmentação (MS/MS). Os resultados encontrados foram confrontados com o banco de dados do *Uniprot Bos taurus* e *Bos indicus*. As proteínas candidatas foram consideradas válidas quando o escore global do *software* Mascot foi maior do que 78, com um nível de significância de $P \leq 0,0001$.

A fim de entender os processos biológicos nos quais as proteínas identificadas estão envolvidas, as análises de enriquecimento funcional, bem como a construção da rede de interação proteína-proteína foram realizadas por meio da ferramenta online *Search Tool for the Retrieval of Interacting Genes/Proteins* (STRING 11.0). A lista de proteínas diferencialmente abundantes identificadas nas bandas foi utilizada como *input*.

4.2.4 Análise estatística

Para avaliação do efeito da condição sexual no período de maturação, a unidade experimental foi representada por cada animal, totalizando 50 repetições por grupo (condição sexual). Os dados foram analisados considerando um delineamento experimental inteiramente casualizado, com parcelas subdivididas no tempo e modelos mistos, utilizando-se o procedimento MIXED do *software* SAS®, em um arranjo fatorial 3x4, sendo os efeitos fixos a condição sexual (fêmeas, machos castrados e machos não castrados), os períodos de maturação (dois, sete, 14 e 21 dias) e suas interações; os efeitos aleatórios do animal e o erro residual. Os dados foram submetidos à ANOVA e a significância foi declarada quando $P \leq 0,05$, sendo as médias então comparadas pelo teste de Tukey.

Para avaliar o efeito da condição sexual sobre intensidade das bandas dos géis (N = 36), os dados foram analisados considerando um delineamento experimental inteiramente casualizado, sendo considerados os efeitos fixos da condição sexual, os efeitos aleatórios do animal e o erro residual. Os dados foram submetidos à ANOVA e a significância foi declarada quando $P \leq 0,05$, sendo as médias comparadas pelo teste de Tukey.

Para avaliar o efeito da maturação em cada condição sexual sobre a intensidade das bandas dos géis (N = 108), os dados foram analisados considerando um delineamento experimental inteiramente casualizado em um arranjo fatorial 3x3, sendo os efeitos fixos os períodos de maturação (zero, dois e

sete dias), a condição sexual (fêmeas, machos castrados e machos não castrados), e suas interações; os efeitos aleatórios do animal e o erro residual. Os dados foram submetidos à ANOVA e a significância foi declarada quando $P \leq 0,05$, sendo as médias do desdobramento da maturação dentro de cada condição sexual então comparadas pelo teste de Tukey.

4.3 RESULTADOS

4.3.1 Efeito da condição sexual e maturação sobre a maciez da carne

Foi observada interação significativa entre a condição sexual e período de maturação para FC ($P = 0,014$) (Gráfico 1). A carne dos machos não castrados foi mais dura, em comparação às demais condições sexuais, independentemente do período de maturação. Em geral, a carne das fêmeas apresentou maciez similar à carne de machos castrados nos períodos de maturação de dois, sete e 14 dias. Porém, somente aos 21 dias, a carne das fêmeas não diferiu dos machos em maciez, independentemente da castração.

A carne de machos não castrados apresentou maior valor de FC aos dois dias de maturação, o qual foi 11,4% maior, quando comparado aos sete dias de maturação. Ainda, o valor de FC aos sete dias de maturação foi 15,7% maior, quando comparado aos 14 dias de maturação. Por fim, entre os períodos de maturação de 14 e 21 dias houve uma diferença de 17,0% no valor de maciez, sendo o menor valor de maciez observado aos 21 dias de maturação, quando comparado com todos os outros períodos de maturação, para machos não castrados.

A carne dos machos castrados apresentou maior valor de FC aos dois dias de maturação, o qual foi 17,2% maior, quando comparado aos sete dias de maturação. Ainda, o valor de FC aos sete dias de maturação foi 9,1% maior, quando comparado aos 14 dias de maturação. Além disso, entre os períodos de maturação de 14 e 21 dias houve uma diferença de 14,4% no valor de maciez, sendo o menor valor de maciez aos 21 dias, quando comparado com todos os outros períodos de maturação para machos castrados.

Já, em relação à carne das fêmeas, não houve diferença entre os valores de FC aos dois e sete dias de maturação, os quais foram os maiores valores encontrados, quando comparados com os outros dois períodos de maturação. O

valor de FC aos sete dias de maturação foi 14,1% maior em relação aos 14 dias de maturação. Entre os períodos de maturação de 14 e 21 dias houve uma diferença de 13,4% no valor de maciez, sendo o menor valor de maciez aos 21 dias, quando comparado aos outros períodos de maturação da carne de fêmeas.

Gráfico 1 - Força de cisalhamento da carne de bovinos *Bos taurus* x *Bos indicus* de diferentes condições sexuais (MC, F e MNC) terminados em confinamento

Fonte: elaborada pela autora (2021).

Médias seguidas pela mesma letra maiúscula, ao longo dos períodos de maturação, e minúscula, entre as condições sexuais, não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey a $P \leq 0,05$.

CS*M: interação entre Condição Sexual e Maturação.

4.3.2 Efeito da condição sexual no perfil proteico do músculo *Longissimus* e efeito dos períodos de maturação no proteoma da carne, em cada condição sexual

Conforme observado nos resultados anteriores, a condição sexual e os períodos de maturação influenciaram a maciez da carne. A fim de melhor entender os mecanismos que levaram a essas diferenças, ferramentas proteômicas foram utilizadas neste estudo. Após o procedimento de eletroforese unidimensional, 47 bandas proteicas foram detectadas e comparadas entre todas as amostras (Figura 13).

Figura 13 - Gel de eletroforese unidimensional de amostras de músculo *Longissimus* de bovinos *Bos taurus* x *Bos indicus* de diferentes condições sexuais (F, MNC e MC) demonstrando o número de bandas detectadas e comuns entre as condições sexuais

Fonte: elaborada pela autora (2021).

A análise quantitativa das bandas dos géis de eletroforese unidimensional, referente à avaliação da diferença no perfil proteico entre as condições sexuais no

músculo *Longissimus* coletado no momento do abate, detectou dez bandas diferencialmente abundantes (Tabela 8). Portanto, observou-se neste estudo alteração no perfil proteico do músculo *Longissimus* entre machos não castrados, machos castrados e fêmeas.

As principais diferenças foram encontradas entre o perfil proteico, bem como a força de cisalhamento, de machos castrados em relação a machos não castrados, sendo oito bandas (3, 11, 12, 16, 22, 32, 39 e 46) com perfil alterado entre ambas condições, enquanto a carne das fêmeas apresentou um perfil proteico muscular similar àquela de machos não castrados e castrados. Apenas a banda 7 foi mais abundante somente na carne das fêmeas. Já, a banda 3 foi menos abundante em fêmeas, comparadas a machos não castrados, enquanto as bandas 18 e 39 foram, respectivamente, mais e menos abundantes em fêmeas, em relação ao observado no músculo dos machos castrados (Tabela 8).

Tabela 8 - Bandas dos géis de eletroforese unidimensional diferencialmente abundantes entre as condições sexuais (F, MC e MNC) de bovinos cruzados *Bos taurus* x *Bos indicus* terminados em confinamento

Banda	Condição sexual										Valor de P		
	Fêmea				Macho castrado			Macho não castrado					
3	1,34	±	0,09	B	1,27	±	0,09	B	1,70	±	0,10	A	0,004
7	3,85	±	0,12	A	3,29	±	0,12	B	2,87	±	0,13	B	<0,0001
11	0,42	±	0,03	AB	0,38	±	0,03	B	0,51	±	0,03	A	0,021
12	0,55	±	0,03	AB	0,64	±	0,03	A	0,51	±	0,03	B	0,004
16	4,57	±	0,29	AB	4,81	±	0,28	A	3,70	±	0,31	B	0,026
18	0,61	±	0,04	A	0,46	±	0,03	B	0,58	±	0,04	AB	0,010
22	3,97	±	0,15	AB	4,11	±	0,15	A	3,45	±	0,17	B	0,012
32	1,30	±	0,12	AB	0,93	±	0,12	B	1,57	±	0,13	A	0,002
39	1,94	±	0,23	B	2,74	±	0,21	A	1,98	±	0,23	B	0,013
46	1,00	±	0,08	AB	0,93	±	0,08	B	1,24	±	0,08	A	0,035

Fonte: elaborada pela autora (2021).

Médias seguidas pela mesma letra maiúscula nas linhas não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey a $P \leq 0,05$.

Os valores de $P \leq 0,05$ apresentam-se em negrito.

A análise quantitativa das bandas dos géis de eletroforese unidimensional, referente à avaliação da diferença no perfil proteico ao longo dos períodos de maturação, em cada condição sexual, no músculo *Longissimus* coletado no momento do abate e ao final dos dois e sete dias de maturação, detectou doze bandas diferencialmente abundantes (Tabela 9). De acordo com os resultados deste estudo, houve alteração no perfil proteico da carne ao longo dos períodos de maturação, em cada condição sexual.

Em relação aos resultados das fêmeas, sete bandas (1, 2, 6, 13, 19, 30 e 31) foram diferencialmente abundantes ao longo dos períodos de maturação, das quais as bandas 1, 2 e 6 tiveram suas abundâncias aumentadas, enquanto as bandas 13, 19 e 31 tiveram suas abundâncias diminuídas. Em machos castrados, seis bandas (10, 17, 19, 27, 28 e 31) apresentaram abundância diferente, ao longo dos períodos de maturação, das quais as bandas 10 e 17 tiveram suas abundâncias aumentada e diminuída, respectivamente. Já, os machos não castrados apresentaram sete bandas (1, 2, 6, 13, 25, 30 e 31) diferencialmente abundantes, ao longo dos períodos de maturação, das quais as bandas 1, 2 e 6 tiveram suas abundâncias aumentadas e as bandas 13, 25, 30 e 31 tiveram suas abundâncias diminuídas (Tabela 9).

Tabela 9 - Bandas dos géis de eletroforese unidimensional diferencialmente abundantes ao longo dos períodos de maturação (zero, dois e sete dias), em cada condição sexual (F, MC e MNC), de bovinos cruzados *Bos taurus* x *Bos indicus* terminados em confinamento

Banda	Período de maturação	Condição sexual								Valor de P
		Fêmea		Macho castrado		Macho não castrado				
1	0	13,28 ± 0,77	b	16,78 ± 0,77	a	13,32 ± 0,77	b	0,0071		
	2	16,89 ± 0,77	a	16,85 ± 0,77	a	17,75 ± 0,77	a			
	7	18,28 ± 0,77	a	17,90 ± 0,67	a	20,04 ± 0,94	a			
2	0	0,30 ± 0,18	b	0,95 ± 0,21	a	0,31 ± 0,18	b	0,0085		
	2	0,98 ± 0,19	ab	1,25 ± 0,26	a	1,06 ± 0,18	b			
	7	1,20 ± 0,18	a	1,18 ± 0,18	a	2,05 ± 0,22	a			
6	0	1,77 ± 0,21	b	2,05 ± 0,21	a	1,57 ± 0,21	b	0,0249		
	2	3,09 ± 0,21	a	2,46 ± 0,21	a	3,25 ± 0,21	a			
	7	3,02 ± 0,21	a	2,83 ± 0,18	a	3,50 ± 0,26	a			
10	0	1,34 ± 0,09	a	1,15 ± 0,09	b	1,14 ± 0,09	a	0,0113		
	2	1,40 ± 0,09	a	1,10 ± 0,09	b	1,34 ± 0,09	a			
	7	1,42 ± 0,09	a	1,62 ± 0,08	a	1,30 ± 0,11	a			
13	0	1,35 ± 0,08	a	1,12 ± 0,08	a	1,34 ± 0,08	a	0,0019		
	2	1,05 ± 0,08	b	1,05 ± 0,08	a	0,92 ± 0,08	b			
	7	0,87 ± 0,08	b	0,96 ± 0,07	a	0,67 ± 0,09	b			
17	0	2,20 ± 0,20	a	2,41 ± 0,20	a	1,72 ± 0,20	a	0,0192		
	2	2,15 ± 0,20	a	1,59 ± 0,20	ab	2,11 ± 0,20	a			
	7	1,48 ± 0,20	a	1,61 ± 0,17	b	1,20 ± 0,24	a			
19	0	0,62 ± 0,04	a	0,54 ± 0,04	a	0,53 ± 0,04	a	0,0014		
	2	0,43 ± 0,04	ab	0,34 ± 0,04	b	0,58 ± 0,04	a			
	7	0,42 ± 0,04	b	0,48 ± 0,04	ab	0,39 ± 0,05	a			
25	0	5,66 ± 0,30	a	4,96 ± 0,30	a	5,31 ± 0,31	a	0,0253		
	2	4,85 ± 0,30	a	5,60 ± 0,30	a	4,29 ± 0,30	ab			
	7	4,97 ± 0,30	a	4,90 ± 0,26	a	3,77 ± 0,37	b			
27	0	2,79 ± 0,27	a	2,35 ± 0,27	b	3,30 ± 0,27	a	0,0192		
	2	3,12 ± 0,27	a	3,94 ± 0,27	a	3,27 ± 0,27	a			
	7	2,99 ± 0,27	a	2,63 ± 0,23	b	3,35 ± 0,33	a			
28	0	4,45 ± 0,40	a	4,02 ± 0,40	ab	3,76 ± 0,40	a	0,0139		
	2	3,82 ± 0,40	a	4,79 ± 0,40	a	2,99 ± 0,40	a			
	7	3,43 ± 0,40	a	2,50 ± 0,35	b	3,62 ± 0,49	a			
30	0	2,66 ± 0,11	a	2,16 ± 0,11	a	2,36 ± 0,11	a	0,0206		
	2	2,09 ± 0,11	b	2,07 ± 0,11	a	1,89 ± 0,11	b			
	7	2,25 ± 0,11	ab	2,26 ± 0,10	a	1,83 ± 0,14	b			
31	0	3,20 ± 0,28	a	2,91 ± 0,35	a	3,67 ± 0,28	a	0,0186		
	2	0,71 ± 0,28	b	0,59 ± 0,28	b	0,70 ± 0,28	b			
	7	1,03 ± 0,28	b	1,68 ± 0,24	ab	0,32 ± 0,35	b			

Fonte: elaborada pela autora (2021).

Médias seguidas pela mesma letra minúscula nas colunas não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey a $P \leq 0,05$.

Os valores de $P \leq 0,05$ apresentam-se em negrito.

A Tabela 10 apresenta as proteínas identificadas nas bandas com abundância diferencial entre as condições sexuais e a Tabela 11 apresenta as proteínas

identificadas nas bandas com abundância diferencial ao longo dos períodos de maturação, em cada condição sexual. Encontram-se no Apêndice A os processos biológicos nos quais todas essas as proteínas estão envolvidas.

As proteínas são conhecidas por trabalharem em conjunto, possibilitando o funcionamento das células, bem como de todo o organismo. Logo, um estudo da rede de interação das proteínas identificadas neste estudo foi realizado para visualizar como elas se relacionaram no desenvolvimento do fenótipo de maciez entre as condições sexuais (Apêndice B, Figura 18) e ao longo dos períodos de maturação, em cada condição sexual (Apêndice C, Figura 19).

Tabela 10 - Proteínas identificadas nas bandas diferencialmente abundantes dos géis SDS-PAGE entre as condições sexuais (F, MC e MNC) de bovinos cruzados *Bos taurus* x *Bos indicus* terminados em confinamento

Banda	Nome do gene	Acesso Uniprot	Nome da proteína	Escore ¹	Massa ²
3	AGL	F1MHT1	4-alfa-glucanotransferase	1067	176199
	PYGM	F1MJ28	Alfa-1,4 glucano fosforilase	2258	97674
7	PYGB	PYGB	Glicogênio fosforilase, forma cerebral	361	96907
	HSP90AA1	HS90A	Proteína de choque térmico HSP 90-alfa	62	85077
	TF	G3X6N3	Transferrina	593	79855
11	DLAT	F1N690	Componente acetiltransferase do complexo piruvato desidrogenase	348	69593
	NDUFS1	NDUS1	Subunidade de 75 kDa da NADH-ubiquinona oxidoreductase, mitocondrial	230	80418
	CAPN1	A0A3Q1M124	Subunidade catalítica da Calpaína-1	165	82796
	HSPA8	HSP7C	Proteína cognata de choque térmico de 71 kDa	1601	71424
	KLHL41	A4FV78	BTB domain-containing protein	410	68865
12	HSPA1B	HS71B	Proteína 1B de choque térmico de 70 kDa	232	70470
	BIN1	F6R9I4	Integrador de ponte 1	217	62932
	HSPA5	BIP	Chaperona BiP do retículo endoplasmático	134	72470
16	PKM	A5D984	Piruvato quinase	3002	58482
	CASQ1	A0A3Q1LN23	Calsequestrina	407	42584
	DES	DESM	Desmina	1622	53556
	TUBB4B	TBB4B	Cadeia beta-4B da tubulina	401	50255
	ALDH1A1	AL1A1	Desidrogenase retinal 1	394	55398
	TUBB5	TBB5	Cadeia beta-5 da tubulina	356	50095
	TUBB2A	E1BJB1	Cadeia beta da tubulina	332	50274
	TUBB4A	TBB4A	Cadeia beta-4A da tubulina	308	50010
18	ALDH2	ALDH2	Aldeído desidrogenase, mitocondrial	280	57073
	TUBA4A	A0A452DIH7	Cadeia alfa da tubulina	211	50133
	TUBB3	TBB3	Cadeia beta-3 da tubulina	195	50856
	N/A	TBA1B	Cadeia alfa-1B da tubulina	168	50804
	ALDH7A1	E1BFG0	Alfa-aminoadípico semialdeído desidrogenase	165	58623
	TUBA1D	TBA1D	Cadeia alfa-1D da tubulina	151	50935
	TUBA8	TBA8	Cadeia alfa-8 da tubulina	150	50706

	MAP3K20	A0A3Q1N590	Proteína contendo domínio de proteína quinase	119	52134
	LAP3	AMPL	Citosol aminopeptidase	107	54402
	VIM	VIME	Vimentina	104	53752
	SNTB1	F1MDV3	Beta-1 sintrofina	88	56515
	CAVIN1	E1BNE7	Proteína 1 associada à caveolina	80	50153
22	ENO3	A0A452DI31	2-fosfo-D-glicerato hidro-liase	1378	48679
	ENO1	ENOA	Alfa-enolase	1123	47639
	NDRG2	NDRG2	Proteína NDRG2	113	39526
	EIF4A2	A0A3Q1M0L3	RNA helicase	89	42162
	TUFM	EFTU	Fator de alongamento Tu, mitocondrial	86	49709
32	LDB3	Q3ZBC9	Proteína 3 de ligação ao domínio LIM	977	35535
	FHL1	G3MZ95	Four and a half LIM domains 1	769	37897
	MYOZ3	Q08DI7	Miozenina 3	111	27020
	CAPZB	A0A3Q1N8A3	F-actin-capping protein subunit beta	100	31558
	PSMA1	PSA1	Subunidade alfa tipo 1 do proteassoma	87	29852
	CYB5R1	NB5R1	NADH-citocromo b5 redutase 1	85	34010
39	MYL1	MYL1	Cadeia leve 1/3 da miosina, isoforma de músculo esquelético	1052	21033
	MYL3	A0A3Q1MBD4	Cadeia leve 3 da miosina	160	21109
	MYL6	A0A3Q1MDB1	Polipeptídeo leve 6 da miosina	160	16885
	PRDX2	PRDX2	Peroxiredoxina-2	156	22217
	ATP5PO	A0A3Q1MVM8	Subunidade de haste periférica OSCP da ATP sintase	115	22393
46	MYL2	F1ME15	Cadeia leve regulatória 2 da miosina, isoforma ventricular/músculo cardíaco	1771	18892
	RTN2	A0A3Q1M129	Reticulon	379	22045
	MYLPF	A0A452DJW7	Cadeia leve regulatória 2 da miosina, isoforma do músculo esquelético	137	18956
	TPPP3	A0A452DJS8	Membro 3 da família de proteínas promotoras de polimerização de tubulina	93	18392
	CALM	F1MLH6	Calmodulina	87	16835
	TNNC1	TNNC1	Troponina C, músculos esqueléticos lentos e cardíacos	86	18519

Fonte: elaborada pela autora (2021).

¹Descritor numérico da probabilidade de que a identificação da proteína esteja correta a um valor de $P < 0,0001$.

²Peso molecular da proteína, em kDa.

Tabela 11 - Proteínas identificadas nas bandas diferencialmente abundantes dos géis SDS-PAGE ao longo dos períodos de maturação (zero, dois e sete dias), em cada condição sexual, de bovinos cruzados *Bos taurus* x *Bos indicus* terminados em confinamento

Banda	Nome do gene	Acesso Uniprot	Nome da proteína	Escore ¹	Massa ²
1	MYH1	MYH1	Miosina-1	5589	223764
	MYH2	F1MRC2	Miosina-2	4545	224106
	MYH8	A0A3Q1LVZ9	Cadeia pesada 8 da miosina	3223	223762
	MYH4	E1BP87	Cadeia pesada 4 da miosina	3176	223310
	MYH7	F1MM07	Miosina-7	1087	223898
	MYH6	F1N2G0	Cadeia pesada 6 da miosina	1044	224284
	MYH3	A6QPA6	Proteína MYH3	928	224576
	MYH13	F1MZX6	Cadeia pesada 13 da miosina	504	224933
2	MYOM2	E1BF23	Miomesina 2	3607	169442
	MYOM1	F1MME6	Miomesina-1	306	175782
	MYOM3	E1BCU2	Miomesina 3	85	161645
6	ACTN2	ACTN2	Alfa-actinina-2	3109	104284
	ACTN3	ACTN3	alfa-actinina-3	2858	103713
	ACTN1	A0A3Q1MBS5	Isoforma do citoesqueleto de alfa-actinina	689	102930
	ACTN4	A0A3Q1MFS2	Alfa-actinina-4	465	115448
10	PFKM	PFKAM	Fosfofrutocinase-6 dependente de ATP, tipo muscular	3583	86095
	AMPD1	F1MLX6	AMP deaminase	986	88264
	HADHA	Q3SZ00	Enoil-CoA hidratase	226	83880
	HSPA5	BIP	Chaperona BiP do retículo endoplasmático	134	72470
13	HSPA1A	HS71A	Proteína 1A de choque térmico de 70 kDa	1493	70500
	ALB	ALBU	Albumina	1439	71244
	HSPA1L	HS71L	Proteína semelhante-1 de choque térmico de 70 kDa	866	70744
	HSPA6	F1MWU9	Membro 6 da família A (HSP70) de proteína de choque térmico	324	70983
	A1BG	A1BG	Alfa-1B-glicoproteína	109	54091
	SDHA	G3MY67	Subunidade da flavoproteína da succinato desidrogenase (ubiquinona), mitocondrial	107	74101
	KLHL40	A6H7I0	Proteína KBTBD5	84	70476
17	GPI	G6PI	Glicose-6-fosfato isomerase	2246	63043
	DLD	F1N206	Diidrolipoil desidrogenase	268	54723

	CACNB1	CACB1-2	Isoforma 2 da subunidade beta-1 do canal de cálcio tipo L dependente de voltagem	82	53231
	CACNB4	A0A3Q1LT41	Subunidade auxiliar beta 4 do canal controlado por voltagem de cálcio	82	54402
	CACNB3	A0A3Q1LQ06	Subunidade beta 3 do canal de cálcio dependente da voltagem	82	62018
19	ATP5F1A	F1MLB8	ATP sintetase subunidade alfa	1669	59767
	TRIM72	E1BE77	Mitsugumina-53	347	54094
	ATP5F1B	ATPB	ATP sintetase subunidade beta, mitocondrial	342	56249
	UGP2	A0A3Q1M010	UTP - glicose-1-fosfato uridililtransferase	291	55776
	DLST	F1MEQ3	Diidrolipoilisina-resíduo succiniltransferase componente do complexo 2-oxoglutarato desidrogenase, mitocondrial	185	47302
	YBX3	F6PS38	Proteína 3 de ligação a Y-box	145	39481
	FGG	A0A3Q1MV91	Cadeia gama-B de fibrinogênio	115	47850
	ADSL	F1MHP6	Adenilossuccinato liase	115	56227
	SMYD1	A0A3Q1LV38	Proteína 1 contendo domínios SET e MYND	81	55779
25	ALDOA	A6QLL8	Frutose-bisfosfato aldolase	2534	39925
	GOT2	AATM	Aspartato aminotransferase, mitocondrial	268	47882
27	TNNT1	A0A3Q1M430	Troponina T, músculo esquelético lento	123	31109
	TPM4	A0A3Q1MLV0	Tropomiosina 4	108	32916
	NDUFA10	A0A3Q1LPX6	NADH desidrogenase (ubiquinona) subcomplexo alfa subunidade 10, mitocondrial	101	39313
	STBD1	E1BAJ4	Domínio 1 de ligação de amido	93	36274
	MPST	F6QGM3	Sulfurtransferase	85	36421
28	GAPDH	G3P	Gliceraldeído-3-fosfato desidrogenase	2402	36073
30	LDHA	LDHA	Cadeia A de L-lactato desidrogenase	3765	36916
	N/A	A0A3Q1LY19	L-lactato desidrogenase	2391	36901
	LDHAL6B	LDH6B	L-lactato desidrogenase A-like 6B	491	42022
	GPD1	GPDA	Glicerol-3-fosfato desidrogenase [NAD (+)], citoplasmático	358	38194
	PDHB	ODPB	Subunidade beta do componente E1 da piruvato desidrogenase, mitocondrial	242	39443
	ANXA5	ANXA5	Anexina A5	197	36124
	ANXA2	ANXA2	Anexina A2	187	38873
	DHRS7C	DRS7C-2	Isoforma 2 do membro 7C da família SDR desidrogenase/redutase	101	28916

31	VDAC1	A0A3Q1MS21	Proteína 1 do canal seletivo de ânions dependente de voltagem	218	31768
	ATP5F1C	ATPG	ATP sintetase subunidade gama, mitocondrial	125	33108
	VDAC2	VDAC2	Proteína 2 do canal seletivo de ânions dependente de voltagem	108	32113
	GLOD4	A7MBI6	Proteína 4 contendo domínio de glioxalase	95	33631

Fonte: elaborada pela autora (2021).

¹Descritor numérico da probabilidade de que a identificação da proteína esteja correta a um valor de $P < 0,0001$.

²Peso molecular da proteína, em KDa.

As análises de enriquecimento funcional baseadas na *Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes* (KEGG) indicaram dez vias relacionadas com as proteínas diferencialmente abundantes entre as condições sexuais (Tabela 12), bem como ao longo dos períodos de maturação, em cada condição sexual (Tabela 13).

Tabela 12 - Vias KEGG enriquecidas das proteínas identificadas nas bandas diferencialmente abundantes entre as condições sexuais (F, MC e MNC) de bovinos cruzados *Bos taurus* x *Bos indicus* terminados em confinamento

Termo ID	Descrição	FDR ¹	Proteínas
bta00500	Metabolismo de amido e sacarose	0,026348	AGL, PYGB e PYGM
bta00620	Metabolismo do piruvato	0,028052	ALDH2, ALDH7A1 e PKM
bta00010	Glicólise/gliconeogênese	8,8569e-4	ALDH2, ALDH7A1, ENO1, ENO3 e PKM
bta04540	Junções Gap	3,4786e-5	TUBA1D, TUBA4A, TUBA8, TUBB2A, TUBB3, TUBB4A e TUBB4B
bta00330	Metabolismo de arginina e prolina	0,039046	ALDH2, ALDH7A1 e LAP3
bta05410	Cardiomiopatia hipertrófica (HCM)	0,026348	DES, MYL2, MYL3 e TNNC1
bta05414	Cardiomiopatia dilatada (DCM)	0,028052	DES, MYL2, MYL3 e TNNC1
bta04145	Fagossomo	8,8569e-4	TUBA1D, TUBA4A, TUBA8, TUBB2A, TUBB3, TUBB4A e TUBB4B
bta04922	Via de sinalização do glucagon	0,036902	CALM, PKM, PYGB e PYGM
bta04530	Junções Tight	0.037753	MYL2, MYL6, TUBA1D, TUBA4A e TUBA8

Fonte: elaborada pela autora (2021).

¹False Discovery Rate - valor de P corrigido para múltiplos testes dentro de cada categoria usando o procedimento de Benjamini e Hochberg (1995).

Tabela 13 - Vias KEGG enriquecidas das proteínas identificadas nas bandas diferencialmente abundantes ao longo dos períodos de maturação, em cada condição sexual de bovinos cruzados *Bos taurus* x *Bos indicus* terminados em confinamento

Termo ID	Descrição	FDR ¹	Proteínas
bta00020	Ciclo do citrato (ciclo TCA)	8,4522e-4	DLD, DLST, PDHB e SDHA
bta00640	Metabolismo de propanoato	8,4579e-4	DLD, HADHA, LDHA e LDHAL6B
bta00010	Glicólise/gliconeogênese	2,1648e-7	ALDOA, DLD, GAPDH, GPI, LDHA, LDHAL6B, PDHB e PFKM
bta00620	Metabolismo do piruvato	0,0015441	DLD, LDHA, LDHAL6B e PDHB
bta01200	Metabolismo de carbono	9,0192e-8	ALDOA, DLD, DLST, GAPDH, GOT2, GPI, HADHA, PDHB, PFKM e SDHA
bta04260	Contração do músculo cardíaco	3,1693e-4	CACNB1, CACNB3, CACNB4, MYH6, MYH7 e TPM4
bta05412	Cardiomiopatia arritmogênica do ventrículo direito (ARVC)	0,0010618	ACTN2, ACTN3, CACNB1, CACNB3 e CACNB4
bta04530	Junções <i>Tight</i>	3,7587e-7	ACTN1, ACTN4, MYH1, MYH13, MYH2, MYH3, MYH4, MYH8 e YBX3
bta05012	Doença de Parkinson	7,3634e-4	ATPF1A, ATP5F1B, ATP5F1C, NDUFA10, SDHA, VDAC1 e VDAC2
bta01100	Vias metabólicas	3,7111e-4	ADSL, ALDOA, AMPD1, ATP5F1A, ATP5F1B, ATP5F1C, DLD, DLST, GAPDH, GOT2, GPI, HADHA, LDHA, LDHAL6B, MPST, NDUFA10, PDHB, PFKM, SDHA e UGP2

Fonte: elaborada pela autora (2021).

¹False Discovery Rate - valor de P corrigido para múltiplos testes dentro de cada categoria usando o procedimento de Benjamini e Hochberg (1995).

Dentro de cada banda, de modo geral, foi possível a identificação de mais de uma proteína. Por isso, as proteínas identificadas em cada banda foram selecionadas de acordo com o escore, o qual é o descritor numérico da probabilidade de que a identificação da proteína esteja correta a um valor de $P < 0,0001$. Ou seja, o escore nos permite inferir a principal proteína de cada banda, de acordo com a representatividade das proteínas dentro das bandas. Dessa forma, foi realizado um novo estudo da rede de interação das principais proteínas identificadas em cada banda, bem como um enriquecimento de *cluster* String, o qual é o agrupamento dos conjuntos de proteínas funcionalmente associadas. Portanto, foram apresentadas a rede de interação proteína-proteína, com enriquecimento de *cluster* String, das principais proteínas identificadas nas bandas diferencialmente abundantes entre as condições sexuais (Figura 14) e a rede de interação proteína-proteína, com enriquecimento de *cluster* String, das principais proteínas identificadas

nas bandas diferencialmente abundantes ao longo dos períodos de maturação, em cada condição sexual (Figura 15).

Figura 14 - Rede de interação proteína-proteína, com enriquecimento de *cluster* String, das principais proteínas identificadas nas bandas diferencialmente abundantes, de acordo com o escore, entre as condições sexuais (F, MC e MNC) de bovinos cruzados *Bos taurus* x *Bos indicus* terminados em confinamento

Fonte: elaborada pela autora (2021).

Legenda: As esferas da rede são proteínas e as linhas representam associações funcionais previstas, ou seja, as proteínas vinculadas por uma linha contribuem conjuntamente para uma função partilhada (o que não significa que essas proteínas estão fisicamente vinculadas umas às outras). As linhas contínuas que vinculam duas proteínas indicam que essas proteínas fazem parte de um mesmo *cluster*. As linhas entrecortadas que vinculam duas proteínas indicam que essas proteínas fazem parte de *clusters* distintos. A espessura da linha indica a força do suporte de dados: quanto mais espessa é a linha, maior é a confiança da associação funcional, a qual varia entre 0,150 (baixa confiança), 0,400 (média confiança), 0,700 (alta confiança) e 0,900 (altíssima confiança). Os *clusters* estão identificados de acordo com a cor das esferas em: verde, estrutura e contração muscular; vermelho, metabolismo energético; azul, chaperona e transporte.

Figura 15 - Rede de interação proteína-proteína, com enriquecimento de *cluster* String, das principais proteínas identificadas nas bandas diferencialmente abundantes, de acordo com o escore, ao longo dos períodos de maturação, em cada condição sexual (F, MC e MNC) de bovinos cruzados *Bos taurus* x *Bos indicus* terminados em confinamento

Fonte: elaborada pela autora (2021).

Legenda: As esferas da rede são proteínas e as linhas representam associações funcionais previstas, ou seja, as proteínas vinculadas por uma linha contribuem conjuntamente para uma função compartilhada (o que não significa que essas proteínas estão fisicamente vinculadas umas às outras). As linhas contínuas que vinculam duas proteínas indicam que essas proteínas fazem parte de um mesmo *cluster*. As linhas entrecortadas que vinculam duas proteínas indicam que essas proteínas fazem parte de *clusters* distintos. A espessura da linha indica a força do suporte de dados: quanto mais espessa é a linha, maior é a confiança da associação funcional, a qual varia entre 0,150 (baixa confiança), 0,400 (média confiança), 0,700 (alta confiança) e 0,900 (altíssima confiança). Os *clusters* estão identificados de acordo com a cor das esferas em: azul, estrutura e contração muscular; vermelho, metabolismo energético; verde, chaperona, transporte e apoptose.

4.4 DISCUSSÃO

4.4.1 Efeito da condição sexual e maturação sobre a maciez da carne

Os resultados observados para a força de cisalhamento podem ser explicados pela relação entre a maciez da carne e a deposição de gordura intramuscular (WHEELER; CUNDIFF; KOCH, 1994; CHRICKI et al., 2012), haja vista as carnes de

fêmeas e machos castrados normalmente apresentarem escore superior de marmorização, em comparação com a carne de machos não castrados (CHOAT et al., 2006; CHRICKI et al., 2013), assim como foi observado em outro estudo do nosso grupo de pesquisa (GARBOSSA et al., 2021, dados não publicados), ao avaliarem os mesmos animais deste grupo experimental. Por outro lado, a marmorização explica apenas entre 5% e 10% da variação em maciez (WHEELER; CUNDIFF; KOCH, 1994) e sabe-se que a marmorização contribui com o amaciamento da carne em raças que depositam maiores quantidades de gordura intramuscular, com pelo menos 8% de marmorização (NISHIMURA; HATTORI; TAKAHASHI, 1999).

No entanto, outros fatores podem justificar a carne mais macia das fêmeas, em comparação com a carne dos machos não castrados, como o menor diâmetro das fibras musculares e a menor quantidade de colágeno no músculo (SEIDEMAN; CROSS; CROUSE, 1989). Os resultados deste estudo se assemelham com os resultados de Mueller et al. (2019), que observaram maciez equiparada entre as carnes de fêmeas e de machos castrados no decorrer dos períodos de maturação. Entretanto, no estudo desses pesquisadores, a carne das fêmeas diferiu da carne dos machos castrados, quando essas carnes não foram submetidas à maturação, sendo que a carne de machos castrados foi considerada macia, independentemente do período de maturação. Ou seja, quando sem maturação, a carne de machos castrados ficou abaixo do limiar americano de FC para WBSF, enquanto a carne das fêmeas ficou acima desse limiar. Resultado que diferiu do nosso estudo, haja vista nenhum dos valores de FC desta pesquisa ter atingido o limiar americano para maciez da carne.

O limiar americano de FC para WBSF da carne bovina é de 43,1 N (ASTM, 2011). Como todos os resultados de FC desta pesquisa se encontram acima desse limiar, as carnes foram consideradas duras para o consumidor americano de carne, independente da categoria animal e do período de maturação. Da mesma forma, em relação à classificação da carne por Platter et al. (2005), até mesmo a carne com o menor valor médio de FC encontrado nesta pesquisa (53,17 N) seria considerada muito dura, estando próximo ao limite superior da classificação levemente dura, de 52,97 N.

Assim, seria necessário maturar a carne de todas as condições sexuais durante períodos superiores a 21 dias, para alcance do limiar americano de FC para WBSF. No entanto, cabe destacar que o padrão americano pode não ser

correspondente à sensibilidade do consumidor brasileiro, o que indica necessidade de se instituir um padrão brasileiro para maciez da carne. Ainda mais necessário que maturar as carnes de fêmeas e machos castrados durante períodos superiores a 21 dias, podemos afirmar que a carne de machos não castrados é a que tem maior necessidade de ser submetida ao processo de maturação, haja vista a carne dos machos não castrados ter sido a menos macia em todos os períodos de maturação, quando comparadas às de machos castrados e fêmeas.

Com o decorrer dos períodos de maturação, observou-se que o valor da FC da carne diminuiu para todas as condições sexuais, ou seja, a carne tornou-se mais macia. Esse resultado já era esperado, devido à ação das enzimas proteolíticas endógenas na degradação das proteínas miofibrilares, o que acontece durante a maturação da carne, resultando em carne mais macia (OUALI et al., 2013; DEVINE, 2014; CONTRERAS-CASTILLO et al., 2016; KIM et al., 2018).

4.4.2 Efeito da condição sexual no perfil proteico do músculo *Longissimus*

Em relação às proteínas com maior escore identificadas nas bandas com abundância diferencial entre as condições sexuais, quatro proteínas estão envolvidas em processos de estruturação do citoesqueleto e contração do músculo esquelético (DES, LDB3, MYL1 e MYL2). Quatro proteínas estão envolvidas em processos metabólicos do músculo (AGL, PYGM, PKM e ENO3), uma envolvida no transporte de ferro (TF) e uma na resposta ao estresse celular (HSPA8).

Portanto, foram reveladas neste estudo proteômico, proteínas essenciais para organização, estrutura e funcionamento do músculo. Os eventos que modificam as proteínas envolvidas na estrutura miofibrilar e o enfraquecimento dessa estrutura, são provavelmente os pontos mais críticos no desenvolvimento da maciez (GAGAOUA et al., 2021).

As isoformas de miosinas de cadeia leve são localizadas próximas à região das cabeças das moléculas de miosina e sua função é modular o motor da miosina, interagindo com a actina no complexo actomiosina (ANDERSON; LONERGAN; HUFF-LONERGAN, 2012). Neste estudo, foram identificadas duas isoformas da miosina de cadeia leve (MYL1 e MYL2). Em estudos anteriores, observou-se uma maior abundância da MYL1 no músculo *Longissimus* de bovinos Nelore com carne menos macia (RODRIGUES et al., 2017; ROSA et al., 2018). Contudo, outros

autores encontraram uma maior abundância da MYL1 em carne mais macia (BJARNADÓTTIR et al., 2012; PICARD; GAGAOUA, 2020), corroborando com os resultados deste estudo, no qual houve maior abundância da banda onde essa proteína foi identificada, em machos castrados que tiveram carne mais macia. Segundo Anderson et al. (2012), a MYL1 é liberada da miofibrila para a fração sarcoplasmática durante o processo de maturação da carne, como consequência da proteólise induzida pela μ -calpaína, portanto, melhorando a maciez da carne.

A banda na qual a proteína MYL2 foi encontrada apresentou maior abundância no músculo *Longissimus* de bovinos machos não castrados e fêmeas, em relação a machos castrados. Boudon et al. (2020) verificaram uma maior abundância da MYL2 no músculo *Longissimus* de novilhas cruzadas Charolais x Aubrac que apresentaram carne mais macia. A abundância diferencial de outras isoformas de MYL2 em músculo *Longissimus* já foi descrita em diferentes raças bovinas (ZAPATA; ZERBY; WICK, 2009; RODRIGUES et al., 2017; RODRÍGUEZ-VÁZQUEZ et al., 2020).

Adicionalmente, uma outra proteína do sarcômero, encontrada na banda 32, a qual apresentou maior abundância em machos não castrados e fêmeas, foi a proteína 3 de ligação ao domínio LIM (LDB3), também conhecida como ZASP (*Z-band alternatively spliced PDZ-motif*). O domínio LIM presente nessa proteína, composto por dois domínios de dedos de zinco contínuos, tem importante função no desenvolvimento da miofibrila e na mecanotransdução durante a contração muscular (LEUNG et al., 2013). LIM foi relacionada com a maciez da carne, pela primeira vez, por Zapata, Zerby e Wick, (2009). Esses autores relataram a presença dessa proteína quando o músculo se encontra em crescimento hiperplásico, ou seja, tem seu número de células aumentado, o que leva a uma necessidade de reforço à estrutura muscular, causando acúmulo de perimísio. Então, ainda que proteólise *post mortem* cause o amaciamento da carne, o acúmulo de perimísio compensa a proteólise, no sentido de ir contra o resultado da proteólise, determinando uma menor amplitude de amaciamento do músculo. Os resultados deste estudo estão de acordo com a explanação de Zapata, Zerby e Wick, (2009), pois não foi observada diferença entre a FC na carne de fêmeas aos dois e sete dias de maturação, ou seja, a amplitude de amaciamento da carne de fêmeas, nesse período, foi sutil. Assim como, machos não castrados foi a condição que apresentou a maior FC aos dois e sete dias de maturação, quando comparada às demais.

As carnes de fêmeas e machos não castrados, em relação a machos castrados, tiveram uma maior abundância da banda 18, na qual foi identificada a proteína miofibrilar desmina (DES). A degradação precoce das principais proteínas miofibrilares, como a titina, nebulina, desmina e troponina durante a maturação, culmina com o amaciamento da carne (HUFF-LONERGAN, 2014). Contudo, não foram observadas diferenças entre a FC aos dois e sete dias de maturação na carne de fêmeas, os quais foram os períodos de maturação que apresentaram as maiores FC, quando comparados com os outros dois períodos, para essa condição sexual. Nesse sentido, sugere-se que uma maior abundância de proteínas estruturais, tais como MYL2, LDB3 e DES, no músculo de fêmeas, pode ter retardado o amaciamento da carne, nos primeiros sete dias de maturação.

Um resultado interessante a destacar é que o músculo *Longissimus* das fêmeas e machos não castrados apresentou um perfil similar de abundância de bandas, onde constam proteínas envolvidas na contração muscular e estrutura, tais como DES, LDB3 e MYL2, o que seria mais esperado entre fêmeas e machos castrados, haja vista essas condições sexuais terem apresentado maciez similar nos períodos de maturação de dois, sete e 14 dias. Por outro lado, a carne de machos castrados teve uma maior abundância de enzimas glicolíticas (PKM e ENO3). Segundo Okumura et al. (2005), fibras musculares de contração rápida têm maior quantidade de várias enzimas glicolíticas, incluindo piruvato quinase (PKM), glicogênio fosforilase (PYGM) e enolase-3 (ENO3), as quais foram encontradas no presente estudo.

A ENO3 é uma enzima que converte 2-fosfoglicerato em fosfoenolpiruvato, o qual é catalisado irreversivelmente pela enzima PKM em piruvato durante a glicólise (GAGAOUA et al., 2021). O piruvato pode entrar na mitocôndria para sua completa fosforilação ou ser convertido em lactato sob metabolismo anaeróbico. Portanto, ENO3 e PKM são importantes proteínas envolvidas no declínio do pH muscular e no metabolismo *post mortem* (FUENTE-GARCIA et al., 2020; ZHU et al., 2021). Gagaoua, Bonnet e Picard (2020) demonstraram que carnes mais macias de bovinos Maine-Anjou tiveram uma maior abundância de enzimas glicolíticas, entre elas a ENO3, e de proteínas contráteis rápida, tais como a MYL1, em acordo com este estudo. Malheiros et al. (2019), ao estudarem machos castrados cruzados Angus, relataram uma relação positiva entre a abundância da proteína PKM e a maciez da carne, o que corrobora com os resultados deste estudo, haja vista os

machos castrados terem apresentado a maior abundância da banda onde a PKM foi identificada.

Uma outra proteína do metabolismo energético, a glicogênio fosforilase (PYGM), foi identificada na banda 7, a qual foi mais abundante no músculo de fêmeas. A PYGM é uma enzima envolvida na glicogenólise, realizando a quebra das moléculas de glicogênio presentes no músculo, para disponibilizar glicose, quando necessário. No metabolismo *post mortem*, após as reservas de fosfocreatina serem exauridas, a energia muscular é provida por meio da degradação do glicogênio (D'ALESSANDRO; ZOLLA, 2013). Portanto, o papel inicial da enzima PYGM é extremamente importante, afetando a extensão da glicólise e o processo de conversão do músculo em carne. A proteína PYGM foi identificada em dois locos de características quantitativas (QTLs) que atuam na maciez da carne, um associado com análise sensorial por painel treinado e outro com método instrumental de força de cisalhamento Warner-Braztler (GAGAOUA et al., 2021). Então, embora o músculo de fêmeas apresente um perfil de proteínas da contração muscular similar ao de machos não castrados, a carne mais macia dessa condição sexual pode estar associada à maior disponibilização de glicose a partir da quebra do glicogênio, disponibilizando energia para a conversão do músculo em carne.

Ainda em relação às proteínas que fazem parte do metabolismo energético, a proteína AGL é uma das enzimas que fazem parte do sistema GDE (do inglês, *glycogen debranching enzyme*, ou enzima de desramificação do glicogênio). Esse sistema tem duas atividades: atividade da maltooligossacarídeo transferase, a qual realiza a quebra de uma ligação alfa-1,4 do glicogênio, deixando uma única unidade de glicose ligada à cadeia pela ligação alfa-1,6 e, então, a transferência dos três segmentos de unidade de glicose para uma cadeia adjacente; e a atividade amilo-1,6-glicosidase, a qual catalisa a hidrólise do resíduo único exposto de glicose, liberando-o, e a cadeia de glicose fica novamente suscetível a uma nova fosforilação (BROWN; ILLINGWORTH-BROWN, 1966). Ou seja, o GDE deixa as cadeias de glicose do glicogênio expostas a uma outra fosforilação, diminuindo então o número de cadeias de glicose. Dessa forma, quando se tem pouco glicogênio disponível, a atividade do GDE pode estar aumentada, na tentativa de expor a glicose à fosforilação para gerar energia na forma de ATP. Neste estudo, verificou-se, em machos não castrados, a maior abundância da banda na qual a proteína AGL foi identificada, o que pode ser explicado pela maior suscetibilidade dos animais dessa

condição sexual ao estresse pré-abate, que culmina com a diminuição da reserva muscular de glicogênio e com a necessidade de maior abundância das enzimas do sistema GDE para suprimir a necessidade de ATP. Apesar de normalmente serem mais suscetíveis ao estresse pré-abate, o pH final da carne dos machos não castrados, bem como das outras duas condições sexuais, encontra-se na faixa de normalidade (GARBOSSA et al., 2021, dados não publicados). No entanto, dentre as condições sexuais, machos não castrados apresentaram o maior valor de pH final, o que justifica a maior abundância da banda 3 nessa condição sexual.

As transferrinas (TF) são glicoproteínas que se ligam ao ferro e são responsáveis por transportá-lo para utilização e armazenamento pelas células (RECALCATI et al., 2017). Uma menor abundância dessa proteína foi observada em amostras de músculo *Longissimus* de touros jovens com carne mais macia (BJARNADÓTTIR et al., 2012), o que corrobora com nossos resultados de uma maior abundância da banda onde essa proteína foi identificada, em machos não castrados, que tiveram carne menos macia.

De acordo com a maioria dos estudos de proteômica em músculo bovino, as HSPs são descritas como potenciais preditoras para maciez da carne (BJARNADÓTTIR et al., 2012; CARVALHO et al., 2014; PICARD et al., 2018; GAGAOUA et al., 2021). As HSPs são uma família de chaperonas moleculares altamente homólogas que protegem as células de injúrias físicas e químicas (WANG et al., 2020). A proteína cognata de choque térmico de 71 kDa (HSPA8) é continuamente expressa nas células e desempenha função importante de controle de qualidade de proteínas, tais como translocação de proteínas, redobramento de proteínas e direcionamento de proteínas para lisossomos ou maquinaria de ubiquitina/proteassoma para degradação (SHEFFIELD; SHORE; RANDALL, 1990; TERLECKY et al., 1992; OHBA, 1994). Ouali et al. (2006) foram os primeiros a relatar a importância das HSPs no amaciamento da carne. Em anuência com nossos resultados de maior abundância da banda onde identificou-se a HSPA8, em machos castrados, tem sido observada uma relação positiva da HSPA8 com a maciez da carne (GRABEŽ et al., 2015; GAGAOUA et al., 2018, MALHEIROS et al., 2019; SILVA et al., 2019).

De acordo com nossas expectativas, a rede de interação proteína-proteína, com enriquecimento de *cluster* String, apresentada na Figura 14, claramente confirma as interconexões entre as vias biológicas, sendo as proteínas contráteis e

estruturais aquelas que ocupam o papel central na rede. A função das proteínas estruturais no desenvolvimento da maciez da carne, como consequência da proteólise, já é bem descrita na literatura (LANA & ZOLLA, 2016). Entretanto, foi relatado recentemente por Silva et al. (2019) que mudanças na maciez entre diferentes condições sexuais podem ser atribuídas a uma alteração na abundância prévia dessas proteínas no músculo. A PKM conecta as proteínas das vias metabólicas energéticas com as proteínas estruturais e também interage com as proteínas de choque térmico e transporte de ferro.

4.4.3 Efeito dos períodos de maturação no proteoma da carne, em cada condição sexual

Em relação às proteínas com maior escore identificadas nas bandas com abundância diferencial ao longo dos períodos de maturação, em cada condição sexual, quatro proteínas estão envolvidas em processos de estruturação do citoesqueleto e contração do músculo esquelético (MYH1, MYOM2, ACTN2 e TNNT1). Cinco proteínas estão envolvidas em processos metabólicos do músculo (PFKM, GPI, ATP5F1A, ALDOA, GAPDH e LDHA), duas envolvidas na apoptose (GAPDH e VDAC1), uma envolvida no transporte de íons (VDAC1) e uma na resposta ao estresse celular (HSPA1A).

Proteínas essenciais para organização, estrutura, funcionamento do músculo e resposta ao estresse celular foram reveladas neste estudo proteômico. Mais uma vez, o enfraquecimento da estrutura miofibrilar e os eventos que modificam as proteínas envolvidas nessa estruturação, são provavelmente os pontos mais críticos no desenvolvimento da maciez (GAGAOUA et al., 2021). A MYH1 (*Myosin-1*, *Myosin heavy chain 1* ou isoforma MyHC- IIX/d) é uma proteína contrátil (PICARD; GAGAOUA, 2020) que já foi considerada como proteína candidata para utilização na predição de maciez da carne (BOUDON et al., 2020). Guillemain et al. (2011), GAGAOUA et al. (2018) e Picardi e GAGAOUA (2020) relataram a associação positiva da MYH1 com a maciez da carne de touros, bem como Beldarrain et al. (2018) o fizeram, em relação à carne de fêmeas, o que corrobora com os resultados deste estudo. Nas carnes de fêmeas e de machos não castrados, houve maior abundância da banda 1, na qual foi identificada a proteína MYH1, com o decorrer dos períodos de maturação e consequente amaciamento da carne.

No centro dos filamentos fino (actina) e grosso (miosina) encontram-se, respectivamente, o disco Z e a banda M, estruturas essas que são importantes na formação do complexo actomiosina (AUERBACH et al., 1999). Dentre outras proteínas associadas à banda M do músculo estriado, como titina, miosina, proteína M e a isoforma muscular da creatina quinase, a MYOM2 (*Myomesin 2*) está relacionada com a estrutura da miofibrila. A MYOM2 é uma proteína da linha final, pertencente à banda M, que atua como ancoradouro para o filamento de miosina a outros filamentos, como a titina (AU, 2004; WU et al., 2020), colaborando com a estabilização e alinhamento da estrutura muscular (SCHOENAUER et al., 2008). Ao buscarem por proteínas do músculo *Longissimus dorsi* de bovinos, relacionadas com a maciez da carne, Anderson, Lonergan e Huff-Lonergan (2012) verificaram tendência ($P = 0,079$) da MYOM2 ser mais abundante em amostras de carne bovina mais macias, condizendo com os resultados deste estudo, no qual a proteína MYOM2 foi identificada na banda 2, diferencialmente abundante em carnes de fêmeas e machos não castrados, tendo a sua abundância aumentada ao longo dos períodos de maturação, ou seja, com o amaciamento da carne.

Neste sentido, o aumento da abundância de uma proteína, com o decorrer da maturação *post mortem*, pode ser causado pela degradação da estrutura à qual a proteína faz parte, por enzimas proteolíticas, o que deixa essa proteína livre. De acordo com a localização e função da miomesina e apesar de, no que diz respeito à qualidade da carne, pouco ser conhecido sobre essa proteína, existe potencial para a miomesina ser indicadora da proteólise *post mortem* e amaciamento da carne. Dessa forma, sugere-se pesquisas futuras para elucidar o papel da miomesina no amaciamento da carne.

De acordo com Boudon et al. (2020), a ACTN2, ou *alpha-actinin-2*, uma proteína de ligação à actina, expressa tanto em fibras musculares esqueléticas lentas, quanto em rápidas, também foi proposta como uma forte candidata a ser positivamente relacionada com a maciez da carne. Neste estudo, ao longo dos períodos de maturação, na carne de fêmeas e machos não castrados, houve maior abundância da banda na qual a proteína ACTN2 foi identificada, quando em comparação com o músculo no momento do abate. Os resultados de Boudon et al. (2020) corroboram com os resultados deste estudo, em relação à carne de fêmeas, e Gagaoua et al. (2018) também corroboram com os resultados deste estudo, em relação à carne de machos não castrados. Esses resultados de maior abundância

da banda na qual a proteína ACTN2 foi identificada na carne de fêmeas e machos não castrados, no decorrer dos períodos de maturação, e a relação positiva da ACTN2 com o amaciamento da carne, podem ser explicados pela liberação da ACTN por enzimas proteolíticas do proteassoma, o que ocorre na degradação da estrutura miofibrilar durante o desenvolvimento da proteólise *post mortem*. Isso indica que houve danos ao disco Z e aos filamentos intermediários (ZENG et al., 2017), os quais são elementos muito importantes para a integridade miofibrilar.

A TNNT1 (*Troponin T, slow skeletal muscle*) é a subunidade da troponina que se liga à tropomiosina. Sabe-se que a degradação da troponina causa danos na estrutura das células musculares, o que permite a associação entre a TNNT1 e a maciez da carne (CRUZEN et al., 2014; CONTRERAS-CASTILLO et al., 2016). Gagaoua, Bonnet e Picard (2020), ao avaliarem a carne de fêmeas Maine-Anjou, correlacionaram positivamente a TNNT1 com a FC, ou seja, verificaram maior abundância dessa proteína em carnes menos macias. Ainda, os autores correlacionaram positivamente a maior abundância da TNNT1 com a marmorização da carne, sendo maior o conteúdo de gordura intramuscular nas carnes com maior abundância dessa proteína. Essas relações poderiam explicar o resultado do presente estudo, de ausência de variação na abundância da banda onde essa proteína foi identificada, para a carne de fêmeas, haja vista, normalmente, essa condição sexual apresentar diferenças em deposição de gordura e maior conteúdo de gordura intramuscular (CHRIKI et al., 2012; BONNY et al., 2016), quando comparada às demais condições sexuais. Como os períodos de maturação não causam variação no conteúdo de gordura intramuscular, a abundância da banda onde essa proteína foi identificada, na carne de fêmeas, não apresentou diferenças. Além disso, essa ausência de variação na abundância da banda 27 na carne de fêmeas, pode explicar a ausência de variação na FC da carne de fêmeas, entre os períodos de maturação de dois e sete dias.

A PFKM atua no metabolismo de energia, catalisando a fosforilação da frutose-6-fosfato em frutose-1,6-bifosfato (TALPUR et al., 2018). Estudos mostraram que a PFKM pode ter relação direta no controle do metabolismo do glicogênio e na qualidade da carne, sendo vista como principal reguladora do músculo esquelético e da sensibilidade à insulina (KEILDLSON et al., 2014). Ainda, essa enzima foi relacionada com a maior expressão do seu gene, levando à melhor qualidade das carnes de frango (TALPUR et al. 2018) e de suínos (SHEN et al., 2014). De acordo

com (ZHU et al., 2021), a maior expressão de PFKM pode significar um processo de glicólise mais rápido, podendo resultar em maior amaciamento da carne. Os resultados desses autores mostraram expressão significativamente alta da PFKM em carnes macias e succulentas de bovinos Limousin, o que está de acordo com os resultados deste estudo. A banda onde identificou-se a proteína PFKM foi diferencialmente abundante no músculo *Longissimus* de machos castrados, apresentando sua maior abundância aos sete dias de maturação. Assim, para essa condição sexual, a PFKM pode ser relacionada com o amaciamento da carne, ao longo dos períodos de maturação.

A GPI está envolvida principalmente na via da glicólise e gliconeogênese. Zhang et al. (2018), determinaram a GPI como biomarcador relacionado com o conteúdo de gordura intramuscular e com a composição de ácidos graxos no músculo *Longissimus* de bovinos machos não castrados da raça Simental. No estudo desses pesquisadores, a GPI foi regulada positivamente, o que aumentou a taxa de metabolismo glicolítico nos animais da referida raça. Ainda, a maior abundância de genes e proteínas GPI foi estabelecida em animais que apresentaram crescimento muscular acelerado (LAMETSCH et al., 2006; LEHNERT et al., 2006), bem como em touros de alto crescimento, em comparação com touros de baixo crescimento (KEADY et al., 2013). Neste estudo, não houve diferença na abundância da banda na qual a GPI foi identificada, ao longo dos períodos de maturação, para as carnes de fêmeas e machos não castrados. Uma explicação plausível para a carne de fêmeas se relaciona com as diferenças em deposição de gordura e maior conteúdo de gordura intramuscular (CHRIKI et al., 2012; BONNY et al., 2016) para essa condição sexual. Em relação à carne dos machos não castrados, a ausência de variação na abundância da banda 17, pode ser explicada pela relação entre a maior abundância de genes e proteínas GPI em animais que apresentaram crescimento muscular acelerado, bem como em touros de alto crescimento. Isso se deve ao fato de, em geral, machos não castrados apresentarem as vantagens de melhor desempenho, caracterizado por conversão alimentar mais eficiente, crescimento mais rápido e maior rendimento de carcaça, produzindo mais tecido muscular do que gordura (SEIDEMAN et al., 1982; FRITSCHÉ; STEINHART, 1998).

As ATP sintases são macromoléculas capazes de transduzir diretamente um potencial de membrana em energia química biologicamente útil. Por meio da

catálise rotativa, a partir de difosfato de adenosina (ADP) e fosfato inorgânico, as sintases de ATP produzem trifosfato de adenosina (ATP), a principal energia das células. ATP5F1A, conhecida como ATP sintase subunidade alfa, é a maior das subunidades hidrofóbicas do complexo de ATP sintases, que permanece enigmática por décadas. A principal função da ATP5F1A é conduzir os prótons que movimentam a catálise rotativa do/para o rotor (KÜHLBRANDT, 2019). A ATP5B, conhecida como ATP sintase subunidade beta, outra subunidade das ATP sintases, foi regulada negativamente quando da castração de bovinos machos no estudo de Silva et al. (2019), indicando redução na via de fosforilação oxidativa. Os resultados do presente estudo revelaram diminuição da abundância da banda onde se encontra a proteína ATP5F1A na carne de fêmeas, o que, da mesma forma para os machos castrados do estudo de Silva et al. (2019), sugere redução da via de fosforilação oxidativa. Outro ponto relevante, é que foi demonstrado que a subunidade alfa apresenta homologia de sequência com uma proteína chaperona, sugerindo uma outra função para a ATP5F1A. Essa outra função foi nomeada atividade semelhante à chaperonina (do inglês, *chaperonin-like activity*), consistindo na manutenção do enovelamento da subunidade beta, à medida que essa subunidade sofre as mudanças conformacionais mais importantes durante a catálise (ALCONADA et al., 1994). No que diz respeito à qualidade da carne, apesar de pouco ser conhecido sobre essa proteína, sugere-se pesquisas futuras para elucidar a relação da ATP5F1A com a proteólise *post mortem*, pois a sua possível função semelhante à chaperonina pode demonstrar resultados interessantes para o amaciamento da carne. Além disso, a sua importância na fosforilação oxidativa já é justificativa suficiente para uma maior exploração do potencial dessa proteína.

A enzima ALDOA catalisa a conversão da frutose-1,6-bifosfato em gliceraldeído 3-fosfato (GAGAOUA et al., 2021), bem como em conjunto com as enzimas metabólicas PGM e GAPDH, auxilia na criação de ligações cruzadas entre os filamentos de actina adjacentes e, ainda, se liga à troponina nos filamentos de actina, com a função de aumentar o aporte de energia durante a contração, afetando a distância entre as miofibrilas (HUGHES et al., 2019), o que, segundo Gagaoua et al. (2021), explica a associação da ALDOA com a maciez da carne. Na metanálise publicada por Gagaoua et al. (2021), a associação positiva entre a ALDOA e a maciez da carne de bovinos machos castrados e não castrados foi demonstrada em três estudos (BALDASSINI et al., 2015; GAGAOUA et al., 2018; SILVA et al., 2019).

Além disso, foi demonstrada associação negativa entre a maciez da carne de fêmeas bovinas e a ALDOA (BOUDON et al., 2020). No entanto, no estudo de Silva et al. (2019), as enzimas glicolíticas ALDOA, GAPDH e PGK1 tiveram sua abundância correlacionada positivamente com a marmorização, o que, segundo eles, confirma a associação entre a síntese intramuscular de triglicerídeos e a glicólise. Dessa forma, o resultado do presente estudo, de menor abundância da banda da ALDOA, em machos não castrados, os quais apresentaram menor deposição de gordura intramuscular (GARBOSSA et al., 2021, dados não publicados), pode ser explicado pela correlação entre essa proteína e a gordura intramuscular, a qual, segundo Seideman et al. (1982) e Fritsche e Steinhart, (1998), geralmente, é menos depositada em machos não castrados.

A GAPDH catalisa a conversão do gliceraldeído-3-fosfato e NAD^+ em 1,3-bifosfoglicetato e NADH, a qual é reversível (GAGAOUA et al., 2021). Essa proteína está presente em diferentes compartimentos celulares, o que levou à caracterização de seu papel como multifuncional, estando envolvida tanto em ações pró-apoptóticas (TARZE et al., 2007), quanto em ações pró-sobrevivência (COLELL; GREEN; RICCI, 2009). A maior expressão da GAPDH foi relatada em fibras de contração rápida que exibiam alta atividade glicolítica (OKUMURA et al., 2005), o que potencializa a diminuição do pH *post mortem*, cursando com o desenvolvimento da maciez da carne (GAGAOUA et al., 2021). A GAPDH foi descrita como biomarcador de maciez da carne, somente para machos, independentemente da castração (GAGAOUA et al., 2021). Os resultados do nosso estudo, para a carne de fêmeas, estão de acordo com o exposto por Gagaoua et al. (2021), haja vista não ter sido observada diferença na abundância da banda 28, onde a proteína GAPDH foi identificada, para essa condição sexual.

Na etapa final da glicólise, a LDHA é responsável pela catálise da conversão de L-lactato e NAD^+ em piruvato e NADH, sendo encontrada majoritariamente no tecido muscular, onde a diminuição do pH, devido ao acúmulo de lactato, cursa com o aumento da sua atividade (POLATI et al., 2012). Nesse sentido, Krischek et al. (2011) relataram a relação entre a falta de glicogênio e de ATP e o início do *rigor mortis* com a diminuição da atividade da LDHA 12 horas *post mortem*. Os resultados deste estudo para a carne de machos não castrados condizem com o exposto, haja vista a maior abundância da banda da proteína LDHA

no músculo coletado ao abate, quando ainda era plausível a presença de ATP e glicogênio, e menor abundância com o decorrer dos períodos de maturação.

A VDAC1 é uma proteína pertencente a um canal seletivo de ânions dependente de voltagem, o qual é o principal canal dentro da membrana mitocondrial externa, relacionado com a apoptose induzida por espécies reativas de oxigênio (ROS, do inglês, *reactive oxygen species*), produto da respiração mitocondrial normal. Após o acúmulo de ROS, esse canal tem sua condutância aumentada, favorecendo o efluxo de proteínas apoptóticas que estavam acumuladas no espaço intermembrana da mitocôndria, resultando na morte da célula à qual a mitocôndria pertencia (SIERRA; OLIVÁN, 2013). De acordo com Laville et al. (2009), a presença de proteínas completas, ou de seus fragmentos, pertencentes a estruturas celulares, como sistemas de ancoragem do citoesqueleto ou membranas, sugere a degradação das estruturas celulares durante a proteólise *post mortem*. Dessa forma, esses pesquisadores relacionaram a maior abundância de VDAC1 com a carne mais macia de machos não castrados; o que também pode ser justificado pela maior suscetibilidade das células à apoptose, quando há a superexpressão de VDAC1 (POLETI et al., 2010). Além disso, a combinação na membrana mitocondrial entre VDAC1 e GAPH, proteína que foi identificada na banda 28, promove a liberação do citocromo C e de fatores causadores de apoptose, induzindo a apoptose (HUANG et al., 2020). Tendo em vista os resultados de Laville et al. (2009), esperava-se aumento da abundância da banda da VCAC1 ao longo dos períodos de maturação, ao menos para machos não castrados. No entanto, houve divergência entre o encontrado por esses pesquisadores e os resultados deste estudo, no qual observa-se a diminuição da abundância da banda na qual a VDAC1 foi identificada, ao longo dos períodos de maturação, tanto para machos não castrados, quanto para fêmeas. Apesar disso, a diminuição da abundância da banda 31 sugere a degradação das estruturas celulares durante a proteólise *post mortem*, como comentado anteriormente. Dessa forma, a diminuição da abundância encontrada nesse estudo pode ser relacionada positivamente com o amaciamento da carne. No entanto, não foram encontradas outras evidências que suportem essa teoria, relacionando a VDAC1 com essas variáveis. Devido à relação do processo de conversão do músculo em carne com a apoptose e a autofagia, sugere-se o direcionamento dos estudos para melhor compreensão da apoptose e da autofagia, as quais poderiam ser usadas pela indústria de carne, visando

influenciar a da maturação da carne para alcançar um alto nível de maciez (LANA; ZOLLA, 2015).

A HSPA1A, (do inglês, *Heat Shock 70 kDa protein 1A* ou HSP70) faz parte da família de proteínas de choque térmico, as quais são chaperonas moleculares intracelulares envolvidas na proteção celular, frente a uma condição estressante, e envolvidas na sobrevivência celular. Também são importantes na resposta autoimune do hospedeiro, na resposta a estressores desconhecidos (IZAWA et al., 2008; KAUR et al., 2011), e relacionadas com a apoptose (BJARNADÓTTIR et al. 2012). Sendo a apoptose das células musculares iniciada imediatamente após a morte do animal, esse processo teve seu envolvimento sugerido no amaciamento da carne (HERRERA-MENDEZ et al., 2006; BECILA et al., 2010). Na tentativa de manter a homeostase das proteínas intracelulares, as células reagem ao estresse sintetizando HSPA1A (FULDA et al. 2010), haja vista a HSPA1A ser conhecida por inibir a apoptose diretamente (BEERE et al. 2000). Dessa forma, a sua menor abundância indica um aumento da apoptose muscular e consequente degradação das proteínas, causando o amaciamento da carne. Assim, a HSPA1A foi positivamente relacionada com a WBSF (BJARNADÓTTIR et al. 2012; CARVALHO et al. 2014), ou seja, sua maior abundância foi relatada em carnes com maior WBSF (mais duras). Em nosso estudo houve diminuição da abundância da banda 13, onde a HSPA1A foi identificada, ao longo dos períodos de maturação das carnes de fêmeas e machos não castrados, o que está de acordo com os autores citados anteriormente, haja vista a diminuição da abundância de HSPA1A ter coincidido com o amaciamento da carne.

Em síntese, as carnes das fêmeas e dos machos não castrados, ao longo dos períodos de maturação, apresentaram um perfil similar de bandas, onde foram identificadas proteínas envolvidas na contração muscular e estrutura, tais como MYH1, MYOM2, ACTN2 e TNNT1; proteína de choque térmico, a HSPA1A; proteína do metabolismo energético, a GAPDH; proteínas envolvidas na apoptose: a GAPDH e a VDAC1; e proteína envolvida no transporte de íons, a VDAC1.

Já, as bandas que evidenciaram particularidades em cada condição sexual, ao longo dos períodos de maturação, foram aquelas nas quais constam proteínas principalmente do metabolismo energético, sendo elas a ATP5F1A em fêmeas, a PFKM e a GPI em machos castrados, a ALDOA e a LDHA em machos não castrados.

Haja vista as principais diferenças ao longo dos períodos de maturação, entre as três condições sexuais, terem sido relacionadas, principalmente, com proteínas do metabolismo energético, acredita-se que a chave da particularidade do desenvolvimento da proteólise *post mortem*, entre as condições sexuais de bovinos, encontre-se nessa via. Tal afirmação é amparada pela rede de interação proteína-proteína, com enriquecimento de *cluster* String, apresentada na Figura 15. De acordo com a rede, as proteínas GAPDH e ALDOA foram as principais responsáveis pelas interconexões das vias biológicas, o que justifica o papel central da rede ser ocupado pelo *cluster* do metabolismo energético (vale lembrar que a GAPDH participa do processo de glicólise, além do de apoptose). A GAPDH encontra-se vinculada a três proteínas do *cluster* do metabolismo energético, uma proteína do *cluster* de estrutura e contração muscular, além do vínculo com as outras duas proteínas que fazem parte do *cluster* no qual se encontra. Já, a ALDOA relaciona-se com três proteínas dos outros *clusters* e, ainda, com três proteínas do seu próprio *cluster*.

4.5 CONCLUSÃO

O perfil proteico do músculo *Longissimus* é alterado em função da condição sexual, sendo que fêmeas e machos não castrados apresentam um perfil similar de bandas, enquanto machos castrados possuem o perfil de bandas mais diferencial. Dessa forma, sugere-se que o fato de carnes de fêmeas e machos castrados serem mais macias, em relação a machos não castrados, deve-se principalmente ao metabolismo glicolítico desse músculo, e não tanto à estrutura muscular.

Ao longo dos períodos de maturação, fêmeas e machos não castrados apresentam, mais uma vez, um perfil similar de bandas. As bandas que evidenciam particularidades em cada condição sexual relacionam-se às proteínas do metabolismo energético. Assim sendo, acredita-se que se encontre também nessa via a chave da singularidade do desenvolvimento da proteólise *post mortem* entre as condições sexuais de bovinos.

Portanto, as condições sexuais fêmeas, machos castrados e machos não castrados de bovinos cruzados *Bos taurus* x *Bos indicus*, bem como os períodos de maturação, alteram o perfil proteico do músculo *Longissimus*, influenciando a proteólise *post mortem*, afetando, conseqüentemente, a maciez da carne.

4.6 AGRADECIMENTOS

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) (processo n° 2011/21241-0, processo n° 2012/50788-0 e processo n° 2018/24624-7) e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) (processo n° 409186/2018-0) pelo apoio financeiro, bem como à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES). Agradecemos à empresa parceira VPJ Alimentos, que nos forneceu as amostras de carne e ao Grupo Piveta pelo acesso às suas instalações. Os agradecimentos se estendem também à Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia (FMVZ/USP), em nome do Laboratório de Ciência da Carne (LCC) e de seus integrantes, pelo auxílio na execução do projeto de pesquisa. Ainda, agradecemos à Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos (FZEA/USP), em nome do Laboratório de Estudos Avançados em Ciência da Carne (LEACC), pela parceria no desenvolvimento desta pesquisa. Por fim, agradecemos ao Centro Nacional de Pesquisa em Energia e Materiais (CNPEM) pela colaboração na realização da análise de espectrometria de massas.

REFERÊNCIAS

ALCONADA, A. et al. Antibodies against F1-ATPase α -subunit recognize mitochondrial chaperones. Evidence for an evolutionary relationship between chaperonin and ATPase protein families. **Journal of Biological Chemistry**, v. 269, n. 18, p. 13670–13679, 1994.

AMERICAN MEAT SCIENCE ASSOCIATION (AMSA). **Research Guidelines for Cookery, Sensory Evaluation, and Instrumental Tenderness Measurements of Meat**. 2. ed. Champaign, Illinois: AMSA, 2016. 105p.

ANDERSON, M. J.; LONERGAN, S. M.; HUFF-LONERGAN, E. Myosin light chain 1 release from myofibrillar fraction during postmortem aging is a potential indicator of proteolysis and tenderness of beef. **Meat Science**, v. 90, n. 2, p. 345–351, 2012. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.meatsci.2011.07.021>>.

ANDREO, N. et al. Influência da imunocastração (Bopriva®) no ganho de peso, características de carcaça e qualidade da carne de bovinos Nelore. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 34, n. 6Supl2, p. 4121, 17 dez. 2013. Disponível em: <<http://www.uel.br/revistas/uel/index.php/semagrarias/article/view/16645>>.

AMERICAN SOCIETY FOR TESTING AND MATERIALS (ASTM). **Standard Specification for Tenderness Marketing Claims Associated with Meat Cuts Derived from Beef**. 1. ed. West Conshohocken, Pensilvânia: ASTM International, 2011. 3p.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE INSEMINAÇÃO ARTIFICIAL (ASBIA). **Index ASBIA 2017**. 2017. Disponível em: http://www.asbia.org.br/wp-content/uploads/2018/10/INDEX-ASBIA-2017_completo.pdf. Acesso em: 26 maio. 2020.

AU, Y. The muscle ultrastructure: A structural perspective of the sarcomere. **Cellular and Molecular Life Sciences**, v. 61, n. 24, p. 3016–3033, 2004.

AUERBACH, D. et al. Different domains of the M-band protein myomesin are involved in myosin binding and M-band targeting. **Molecular Biology of the Cell**, v. 10, n. 5, p. 1297–1308, 1999.

BECILA, S. et al. Postmortem muscle cells die through apoptosis. **European Food Research and Technology**, v. 231, n. 3, p. 485–493, 8 jul. 2010. Disponível em: <<http://link.springer.com/10.1007/s00217-010-1296-5>>.

BEERE, H. M. et al. Heat-shock protein 70 inhibits apoptosis by preventing recruitment of procaspase-9 to the Apaf-1 apoptosome. **Nature Cell Biology**, v. 2, n. 8, p. 469–475, 2000.

BELDARRAIN, L. R. et al. Use of liquid isoelectric focusing (OFFGEL) on the discovery of meat tenderness biomarkers. **Journal of Proteomics**, v. 183, n. April, p. 25–33, 2018. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.jprot.2018.05.005>>.

BENJAMINI, Y.; HOCHBERG, Y. Controlling the False Discovery Rate: A Practical and Powerful Approach to Multiple Testing. **Journal of the Royal Statistical Society: Series B (Methodological)**, v. 57, n. 1, p. 289–300, jan. 1995. Disponível em: <<http://doi.wiley.com/10.1111/j.2517-6161.1995.tb02031.x>>.

BJARNADÓTTIR, S. G. et al. Changes in protein abundance between tender and tough meat from bovine Longissimus thoracis muscle assessed by isobaric Tag for Relative and Absolute Quantitation (iTRAQ) and 2-dimensional gel electrophoresis analysis1. **Journal of Animal Science**, v. 90, n. 6, p. 2035–2043, 1 jun. 2012. Disponível em: <<https://academic.oup.com/jas/article/90/6/2035/4764702>>.

BONNY, S. P. F. et al. The variation in the eating quality of beef from different sexes and breed classes cannot be completely explained by carcass measurements. **animal**, v. 10, n. 6, p. 987–995, 11 jun. 2016. Disponível em: <https://www.cambridge.org/core/product/identifier/S175173111500292X/type/journal_article>.

BOUDON, S. et al. Label free shotgun proteomics for the identification of protein biomarkers for beef tenderness in muscle and plasma of heifers. **Journal of Proteomics**, v. 217, n. October 2019, p. 103685, 2020. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.jprot.2020.103685>>.

BROWN, D.H.; ILLINGWORTH-BROWN, B. Enzymes of glycogen debranching: amylo-1,6-glucosidase (I) and oligo-1,4 → 1,4-glucantransferase (II). In: Colowick, S.P.; Kaplan, N.O. **Methods in Enzymology**. Nova York: Academic Press, 1966. pp. 515-524.

CARVALHO, M. E. et al. Heat shock and structural proteins associated with meat tenderness in Nellore beef cattle, a Bos indicus breed. **Meat Science**, v. 96, n. 3, p. 1318–1324, mar. 2014. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.meatsci.2013.11.014>>.

CHOAT, W. T. et al. The effects of cattle sex on carcass characteristics and longissimus muscle palatability^{1,2}. **Journal of Animal Science**, v. 84, n. 7, p. 1820–1826, 1 jul. 2006. Disponível em: <<https://academic.oup.com/jas/article/84/7/1820/4778810>>.

CHRIKI, S. et al. Cluster analysis application identifies muscle characteristics of importance for beef tenderness. **BMC Biochemistry**, v. 13, n. 1, p. 29, 2012. Disponível em: <<http://www.biomedcentral.com/1471-2091/13/29>>.

CHRIKI, S. et al. Meta-analysis of the relationships between beef tenderness and muscle characteristics. **Livestock Science**, v. 155, n. 2–3, p. 424–434, 2013. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.livsci.2013.04.009>>.

COLELL, A.; GREEN, D. R.; RICCI, J. E. Novel roles for GAPDH in cell death and carcinogenesis. **Cell Death and Differentiation**, v. 16, n. 12, p. 1573–1581, 2009.

CONTRERAS-CASTILLO, C. J. et al. The effect of electrical stimulation on post mortem myofibrillar protein degradation and small heat shock protein kinetics in bull beef. **Meat Science**, v. 113, p. 65–72, 2016.

CROUSE, J. D. et al. Comparisons of and Inheritance for Carcass Beef Characteristics and Meat Palatability. **Journal of Animal Science**, v. 67, n. 10, p. 2661, 1989. Disponível em: <<https://academic.oup.com/jas/article/67/10/2661-2668/4697042>>.

CRUZEN, S. M. et al. Postmortem proteolysis in three muscles from growing and mature beef cattle. **Meat Science**, v. 96, n. 2, p. 854–861, 2014. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.meatsci.2013.09.021>>.

D’ALESSANDRO, A.; ZOLLA, L. Meat science: From proteomics to integrated omics towards system biology. **Journal of Proteomics**, v. 78, p. 558–577, jan. 2013. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.jprot.2012.10.023>>.

DELGADO, E. F.; SANTOS, C. C. Fatores anteriores e posteriores ao abate que influenciam a qualidade da carne. In: Pires, A.V. **Bovinocultura de corte**. 1. ed. Piracicaba: FEALQ, 2010. v. II, p. 761-1510.

DE OLIVEIRA, L. G. et al. Association of calpain and calpastatin activity to postmortem myofibrillar protein degradation and sarcoplasmic proteome changes in bovine Longissimus lumborum and Triceps brachii. **Meat Science**, v. 155, n. December 2018, p. 50–60, set. 2019. Disponível em:

<<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0309174018311847>>.

DEVINE, C. E. Conversion of Muscle to Meat: Aging. In: Dikeman, M; Devine, C. **Encyclopedia of Meat Sciences**. 2. ed. Londres: Academic Press, 2014. v. I, p. 329-338.

DOS SANTOS, P. R. et al. Tenderness and oxidative stability of Nellore bulls steaks packaged under vacuum or modified atmosphere during storage at 2°C. **Food Packaging and Shelf Life**, v. 4, p. 10–18, jun. 2015. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.fpsl.2015.03.002>>.

FONT-I-FURNOLS, M.; GUERRERO, L. Consumer preference, behavior and perception about meat and meat products: An overview. **Meat Science**, v. 98, n. 3, p. 361–371, nov. 2014. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.meatsci.2014.06.025>>.

FRITSCH, S.; STEINHART, H. Differences in Natural Steroid Hormone Patterns of Beef from Bulls and Steers. **Journal of Animal Science**, v. 76, n. 6, p. 1621–1625, 1998.

FUENTE-GARCIA, C. et al. Characterization of the Myofibrillar Proteome as a Way to Better Understand Differences in Bovine Meats Having Different Ultimate pH Values. **PROTEOMICS**, v. 20, n. 12, p. 2000012, 8 jun. 2020. Disponível em: <<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/pmic.202000012>>.

FULDA, S. et al. Cellular stress responses: Cell survival and cell death. **International Journal of Cell Biology**, v. 2010, 2010.

GAGAOUA, M. et al. Reverse phase protein arrays for the identification/validation of biomarkers of beef texture and their use for early classification of carcasses. **Food Chemistry**, v. 250, n. October 2017, p. 245–252, 2018. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.01.070>>.

GAGAOUA, M. et al. Molecular signatures of beef tenderness: Underlying mechanisms based on integromics of protein biomarkers from multi-platform proteomics studies. **Meat Science**, v. 172, n. September 2020, p. 108311, 2021. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2020.108311>>.

GAGAOUA, M.; BONNET, M.; PICARD, B. Protein array-based approach to evaluate biomarkers of beef tenderness and marbling in cows: Understanding of the underlying mechanisms and prediction. **Foods**, v. 9, n. 9, 2020.

GOLL, D. E. et al. The Calpain System. **Physiological Reviews**, v. 83, n. 3, p. 731–801, jul. 2003. Disponível em: <<http://www.physiology.org/doi/10.1152/physrev.00029.2002>>.

GRABEŽ, V. et al. Protein expression and oxygen consumption rate of early postmortem mitochondria relate to meat tenderness. **Journal of Animal Science**, v. 93, n. 4, p. 1967–1979, 1 abr. 2015. Disponível em: <<https://academic.oup.com/jas/article/93/4/1967/4703738>>.

GUILLEMIN, N. et al. Functional analysis of beef tenderness. **Journal of Proteomics**, v. 75, n. 2, p. 352–365, dez. 2011. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.jprot.2011.07.026>>.

HERRERA-MENDEZ, C. H. et al. Meat ageing: Reconsideration of the current concept. **Trends in Food Science and Technology**, v. 17, n. 8, p. 394–405, 2006.

HOLMAN, B. W. B. et al. Effect of Beef Pre-Cooking Status (Frozen V. Thawed) and Sample Weight on Shear Force Evaluation. **Food Analytical Methods**, v. 10, n. 10, p. 3235–3238, 8 out. 2017. Disponível em: <<http://link.springer.com/10.1007/s12161-017-0895-1>>.

HOPKINS, D. L.; THOMPSON, J. M. Factors contributing to proteolysis and disruption of myofibrillar proteins and the impact on tenderisation in beef and sheep meat. **Australian Journal of Agricultural Research**, v. 53, n. 2, p. 149–166, 2002.

HUANG, C. et al. Proteomics discovery of protein biomarkers linked to meat quality traits in *post mortem* muscles: Current trends and future prospects: A review. **Trends in Food Science and Technology**, v. 105, n. September, p. 416–432, 2020. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.tifs.2020.09.030>>.

HUFF-LONERGAN, E. Tenderizing Mechanisms: Enzymatic. In: Dikeman, M; Devine, C. **Encyclopedia of Meat Sciences**. 2. ed. Londres: Academic Press, 2014. v. III, p. 438-442.

HUFF-LONERGAN, E.; PARRISH, F. C.; ROBSON, R. M. Effects of postmortem aging time, animal age, and sex on degradation of titin and nebulin in bovine longissimus muscle. **Journal of animal science**, v. 73, n. 4, p. 1064–1073, 1995.

HUFF LONERGAN, E.; ZHANG, W.; LONERGAN, S. M. Biochemistry of postmortem

muscle — Lessons on mechanisms of meat tenderization. **Meat Science**, v. 86, n. 1, p. 184–195, set. 2010. Disponível em:
<<http://dx.doi.org/10.1016/j.meatsci.2010.05.004>>.

HUGHES, J. et al. Differences in light scattering between pale and dark beef longissimus thoracis muscles are primarily caused by differences in the myofilament lattice, myofibril and muscle fibre transverse spacings. **Meat Science**, v. 149, n. November 2018, p. 96–106, 2019.

IZAWA, S. et al. Heat shock and ethanol stress provoke distinctly different responses in 3'-processing and nuclear export of HSP mRNA in *Saccharomyces cerevisiae*. **Biochemical Journal**, v. 414, n. 1, p. 111–119, 2008.

KAUR, P. et al. Combined hyperthermia and radiotherapy for the treatment of cancer. **Cancers**, v. 3, n. 4, p. 3799–3823, 2011.

KEADY, S. M. et al. Proteomic profiling of bovine M. longissimus lumborum from Crossbred Aberdeen Angus and Belgian Blue sired steers varying in genetic merit for carcass weight. **Journal of Animal Science**, v. 91, n. 2, p. 654–665, 2013.

KEILDSON, S. et al. Expression of phosphofructokinase in skeletal muscle is influenced by genetic variation and associated with insulin sensitivity. **Diabetes**, v. 63, n. 3, p. 1154–1165, 2014.

KIM, Y. H. B. et al. Understanding postmortem biochemical processes and post-harvest aging factors to develop novel smart-aging strategies. **Meat Science**, v. 144, n. April, p. 74–90, out. 2018. Disponível em:
<<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0309174018302018>>.

KOOHMARAIE, M. The role of Ca²⁺-dependent proteases (calpains) in post mortem proteolysis and meat tenderness. **Biochimie**, v. 74, n. 3, p. 239–245, 1992.

KOOHMARAIE, M. Biochemical factors regulating the toughening and tenderization processes of meat. **Meat Science**, v. 43, n. SUPPL. 1, p. 193–201, 1996.

KRISCHEK, C. et al. Adenine nucleotide concentrations and glycolytic enzyme activities in longissimus muscle samples of different pig genotypes collected before and after slaughter. **Meat Science**, v. 89, n. 2, p. 217–220, 2011. Disponível em:
<<http://dx.doi.org/10.1016/j.meatsci.2011.04.022>>.

KÜHLBRANDT, W. Structure and Mechanisms of Formation. **Annual Review of Biochemistry**, v. 88, n. 7, p. 515–549, 2019.

LAGE, J. F. et al. Influence of genetic type and level of concentrate in the finishing diet on carcass and meat quality traits in beef heifers. **Meat Science**, v. 90, n. 3, p. 770–774, mar. 2012. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0309174011003676>>.

LAMETSCH, R. et al. Changes in the muscle proteome after compensatory growth in pigs. **Journal of Animal Science**, v. 84, n. 4, p. 918–924, 2006.

LANA, A.; ZOLLA, L. Apoptosis or autophagy, that is the question: Two ways for muscle sacrifice towards meat. **Trends in Food Science and Technology**, v. 46, n. 2, p. 231–241, 2015. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.tifs.2015.10.001>>.

LANA, A.; ZOLLA, L. Proteolysis in meat tenderization from the point of view of each single protein: A proteomic perspective. **Journal of Proteomics**, v. 147, p. 85–97, 2016. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.jprot.2016.02.011>>.

LAVILLE, E. et al. Proteome changes during meat aging in tough and tender beef suggest the importance of apoptosis and protein solubility for beef aging and tenderization. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 57, n. 22, p. 10755–10764, 2009.

LEHNERT, S. A. et al. Gene expression profiling of bovine skeletal muscle in response to and during recovery from chronic and severe undernutrition. **Journal of Animal Science**, v. 84, n. 12, p. 3239–3250, 2006.

LEUNG, M.-C. et al. Z-band Alternatively Spliced PDZ Motif Protein (ZASP) Is the Major O -Linked β - N -Acetylglucosamine-substituted Protein in Human Heart Myofibrils. **Journal of Biological Chemistry**, v. 288, n. 7, p. 4891–4898, 15 fev. 2013. Disponível em: <<http://www.jbc.org/lookup/doi/10.1074/jbc.M112.410316>>.

LISTRAT, A. et al. Contribution of connective tissue components, muscle fibres and marbling to beef tenderness variability in longissimus thoracis, rectus abdominis, semimembranosus and semitendinosus muscles. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 100, n. 6, p. 2502–2511, 9 abr. 2020. Disponível em: <<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/jsfa.10275>>.

LOMIWES, D. et al. The development of meat tenderness is likely to be compartmentalised by ultimate pH. **Meat Science**, v. 96, n. 1, p. 646–651, 2014.

MA, D.; KIM, Y. H. B. Proteolytic changes of myofibrillar and small heat shock proteins in different bovine muscles during aging: Their relevance to tenderness and water-holding capacity. **Meat Science**, v. 163, n. November 2019, p. 108090, 2020. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2020.108090>>.

MALHEIROS, J. M. et al. Influence of oxidative damage to proteins on meat tenderness using a proteomics approach. **Meat Science**, v. 148, n. August 2018, p. 64–71, fev. 2019. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2018.08.016>>.

MIGUEL, G. Z. et al. Immunocastration improves carcass traits and beef color attributes in Nellore and Nellore×Aberdeen Angus crossbred animals finished in feedlot. **Meat Science**, v. 96, n. 2, p. 884–891, fev. 2014. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.meatsci.2013.08.030>>.

MILLER, M. F. et al. Consumer thresholds for establishing the value of beef tenderness. **Journal of Animal Science**, v. 79, n. 12, p. 3062–3068, 2001.

MODZELEWSKA-KAPITUŁA, M.; NOGALSKI, Z. Effect of gender on collagen profile and tenderness of infraspinatus and semimembranosus muscles of Polish Holstein-Friesian x Limousine crossbred cattle. **Livestock Science**, v. 167, n. 1, p. 417–424, 2014.

MUELLER, L. F. et al. Gender status effect on carcass and meat quality traits of feedlot Angus × Nellore cattle. **Animal Science Journal**, v. 90, n. 8, p. 1078–1089, 25 ago. 2019. Disponível em: <<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/asj.13250>>.

NISHIMURA, T.; HATTORI, A.; TAKAHASHI, K. Structural changes in intramuscular connective tissue during the fattening of Japanese black cattle: effect of marbling on beef tenderization. **Journal of Animal Science**, v. 77, n. 1, p. 93, 1999. Disponível em: <<https://academic.oup.com/jas/article/77/1/93-104/4625332>>.

NRC. **Nutrient Requirements of Beef Cattle, 8th Revised Edition**. Washington, D.C.: National Academies Press, 2016.

O'CONNOR, S. F. et al. Genetic effects on beef tenderness in Bos indicus composite and Bos taurus cattle. **Journal of Animal Science**, v. 75, n. 7, p. 1822, 1997. Disponível em: <<https://academic.oup.com/jas/article/75/7/1822-1830/4625046>>.

OHBA, M. A 70-kDa heat shock cognate protein suppresses the defects caused by a proteasome mutation in *Saccharomyces cerevisiae*. **FEBS Letters**, v. 351, n. 2, p. 263–266, 5 set. 1994. Disponível em: <[http://doi.wiley.com/10.1016/0014-5793\(94\)900873-6](http://doi.wiley.com/10.1016/0014-5793(94)900873-6)>.

OKUMURA, N. et al. Proteomic analysis of slow- and fast-twitch skeletal muscles. **Proteomics**, v. 5, n. 11, p. 2896–2906, 2005.

OUALI, A. et al. Revisiting the conversion of muscle into meat and the underlying mechanisms. **Meat Science**, v. 74, n. 1, p. 44–58, 2006.

OUALI, A. et al. Biomarkers of meat tenderness: Present knowledge and perspectives in regards to our current understanding of the mechanisms involved. **Meat Science**, v. 95, n. 4, p. 854–870, dez. 2013. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.meatsci.2013.05.010>>.

PEREIRA, A. S. C. et al. Growth performance, and carcass and meat quality traits in progeny of Poll Nellore, Angus and Brahman sires under tropical conditions. **Animal Production Science**, v. 55, n. 10, p. 1295, 2015. Disponível em: <<http://www.publish.csiro.au/?paper=AN13505>>.

PICARD, B. et al. Skeletal muscle proteomics in livestock production. **Briefings in Functional Genomics and Proteomics**, v. 9, n. 3, p. 259–278, 2010.

PICARD, B. et al. Beef tenderness and intramuscular fat proteomic biomarkers: muscle type effect. **PeerJ**, v. 6, n. 6, p. e4891, 7 jun. 2018. Disponível em: <<https://peerj.com/articles/4891>>.

PICARD, B.; GAGAOUA, M. Proteomic Investigations of Beef Tenderness. In: **Proteomics in Food Science**. [s.l.] Elsevier, 2017. 9p. 177–197.

PICARD, B.; GAGAOUA, M. Meta-proteomics for the discovery of protein biomarkers of beef tenderness: An overview of integrated studies. **Food Research International**, v. 127, p. 108739, jan. 2020. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.foodres.2019.108739>>.

PICARD, B.; GAGAOUA, M.; HOLLUNG, K. Chapter 12 - Gene and protein expression as a tool to explain/predict meat (and fish) quality. In: Purslow, P. **New Aspects of Meat Quality: From Genes to Ethics**, 1. ed. Duxford: Woodhead Publishing, 2017. p. 321-54.

PLATTER, W. J. et al. Effects of marbling and shear force on consumers' willingness to pay for beef strip loin steaks. **Journal of Animal Science**, v. 83, n. 4, p. 890–899, 1 abr. 2005. Disponível em: <<https://academic.oup.com/jas/article/83/4/890/4790769>>.

POLATI, R. et al. Proteomic changes involved in tenderization of bovine Longissimus dorsi muscle during prolonged ageing. **Food Chemistry**, v. 135, n. 3, p. 2052–2069, 2012. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2012.06.093>>.

POLETI, M. D. et al. Relationship between expression of voltage-dependent anion channel (VDAC) isoforms and type of hexokinase binding sites on brain mitochondria. **Journal of Molecular Neuroscience**, v. 41, n. 1, p. 48–54, 2010.

RECALCATI, S. et al. Molecular regulation of cellular iron balance. **IUBMB Life**, v. 69, n. 6, p. 389–398, 7 jun. 2017. Disponível em: <<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/iub.1628>>.

RICO, E.; TOLDRÁ, F.; FLORES, J. Assay of Cathepsin D activity in fresh pork muscle and dry-cured ham. **Meat Science**, v. 29, n. 4, p. 287–293, jan. 1991. Disponível em: <<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/030917409190008E>>.

ROBERT, N. et al. The effect of proteasome on myofibrillar structures in bovine skeletal muscle. **Meat Science**, v. 51, n. 2, p. 149–153, fev. 1999. Disponível em: <<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0309174098001132>>.

RODRIGUES, R. T. de S. et al. Differences in Beef Quality between Angus (*Bos taurus taurus*) and Nellore (*Bos taurus indicus*) Cattle through a Proteomic and Phosphoproteomic Approach. **PLOS ONE**, v. 12, n. 1, p. e0170294, 19 jan. 2017. Disponível em: <<https://dx.plos.org/10.1371/journal.pone.0170294>>.

RODRÍGUEZ-VÁZQUEZ, R. et al. Measuring quantitative proteomic distance between Spanish beef breeds. **Food Chemistry**, v. 315, n. November 2019, p. 126293, jun. 2020. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.126293>>.

ROSA, A. F. et al. Proteome changes of beef in Nellore cattle with different genotypes for tenderness. **Meat Science**, v. 138, n. June 2017, p. 1–9, abr. 2018. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2017.12.006>>.

SAWDY, J. C. et al. Myofibrillar 1-D fingerprints and myosin heavy chain MS

analyses of beef loin at 36 h postmortem correlate with tenderness at 7 days. **Meat Science**, v. 67, n. 3, p. 421–426, jul. 2004. Disponível em: <<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0309174003003243>>.

SCHOENAUER, R. et al. Myomesin 3, a Novel Structural Component of the M-band in Striated Muscle. **Journal of Molecular Biology**, v. 376, n. 2, p. 338–351, 2008.

SEIDEMAN, S. C. et al. Utilization of the Intact Male for Red Meat Production : a Review. **Journal of Animal Science**, v. 55, p. 826–840, 1982.

SEIDEMAN, S. C.; CROSS, H. R.; CROUSE, J. D. CARCASS CHARACTERISTICS, SENSORY PROPERTIES AND MINERAL CONTENT OF MEAT FROM BULLS AND STEERS. **Journal of Food Quality**, v. 11, n. 6, p. 497–507, fev. 1989. Disponível em: <<http://doi.wiley.com/10.1111/j.1745-4557.1989.tb00912.x>>.

SENTANDREU, M. A.; COULIS, G.; OUALI, A. Role of muscle endopeptidases and their inhibitors in meat tenderness. **Trends in Food Science and Technology**, v. 13, n. 12, p. 398–419, 2002.

SHEFFIELD, W. P.; SHORE, G. C.; RANDALL, S. K. Mitochondrial precursor protein. Effects of 70-kilodalton heat shock protein on polypeptide folding, aggregation, and import competence. **Journal of Biological Chemistry**, v. 265, n. 19, p. 11069–11076, jul. 1990. Disponível em: <[http://dx.doi.org/10.1016/S0021-9258\(19\)38558-8](http://dx.doi.org/10.1016/S0021-9258(19)38558-8)>.

SHEN, L. et al. The comparison of energy metabolism and meat quality among three pig breeds. **Animal Science Journal**, v. 85, n. 7, p. 770–779, 2014.

SHEVCHENKO, A. et al. In-gel digestion for mass spectrometric characterization of proteins and proteomes. **Nature Protocols**, v. 1, n. 6, p. 2856–2860, jan. 2006. Disponível em: <<http://www.nature.com/doifinder/10.1038/nprot.2006.468>>.

SIERRA, V.; OLIVAN, M. Role of Mitochondria on Muscle Cell Death and Meat Tenderization. **Recent Patents on Endocrine, Metabolic & Immune Drug Discovery**, v. 7, n. 2, p. 120–129, 2013.

SILVA, D. R. G. et al. Effect of homogenisation speed and centrifugation on particle size analysis of beef and the relationship with shear force. **Meat Science**, v. 143, n. 2017, p. 219–222, 2018. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2018.05.006>>.

SILVA, L. H. P. et al. Explaining meat quality of bulls and steers by differential proteome and phosphoproteome analysis of skeletal muscle. **Journal of Proteomics**, v. 199, n. December 2018, p. 51–66, maio 2019. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.jprot.2019.03.004>>.

TALPUR, M. Z. et al. Chicken meat quality; association with different gene expression, physiochemical properties and muscle glycogen. **Pakistan Journal of Agricultural Sciences J**, v. 55, n. 4, p. 979–994, 2018.

TARZE, A. et al. GAPDH, a novel regulator of the pro-apoptotic mitochondrial membrane permeabilization. **Oncogene**, v. 26, n. 18, p. 2606–2620, 2007.

TAYLOR, R. G. et al. Is Z-disk degradation responsible for postmortem tenderization? **Journal of animal science**, v. 73, n. 5, p. 1351–67, maio 1995. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7665364>>.

TERLECKY, S. R. et al. Protein and peptide binding and stimulation of in vitro lysosomal proteolysis by the 73-kDa heat shock cognate protein. **Journal of Biological Chemistry**, v. 267, n. 13, p. 9202–9209, maio 1992. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0021925819504082>>.

TOLDRÁ, F. et al. Muscle and Adipose Tissue Aminopeptidase Activities in Raw and Dry-Cured Ham. **Journal of Food Science**, v. 57, n. 4, p. 816–818, jul. 1992. Disponível em: <<http://doi.wiley.com/10.1111/j.1365-2621.1992.tb14301.x>>.

VOISINET, B. D. et al. Bos indicus-cross feedlot cattle with excitable temperaments have tougher meat and a higher incidence of borderline dark cutters. **Meat Science**, v. 46, n. 4, p. 367–377, ago. 1997. Disponível em: <<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0309174097000314>>.

WANG, D. Y. et al. Proteolysis and cathepsin activities in the processing of dry-cured duck. **Poultry Science**, v. 93, n. 3, p. 687–694, 1 mar. 2014. Disponível em: <<http://academic.oup.com/ps/article/93/3/687/1556020/Proteolysis-and-cathepsin-activities-in-the>>.

WANG, Z. et al. Mechanism and Complex Roles of HSC70 in Viral Infections. **Frontiers in Microbiology**, v. 11, n. July, p. 1–8, 21 jul. 2020. Disponível em: <<https://www.frontiersin.org/article/10.3389/fmicb.2020.01577/full>>.

WENDT, A.; THOMPSON, V. F.; GOLL, D. E. Interaction of calpastatin with calpain:

A review. **Biological Chemistry**, v. 385, n. 6, p. 465–472, 2004.

WHEELER, T. L.; CUNDIFF, L. V.; KOCH, R. M. Effect of marbling degree on beef palatability in *Bos taurus* and *Bos indicus* cattle. **Journal of Animal Science**, v. 72, n. 12, p. 3145–3151, 1 dez. 1994. Disponível em: <<https://academic.oup.com/jas/article/72/12/3145-3151/4719312>>.

WHEELER, T. L.; SHACKELFORD, S. D.; KOOHMARAIE, M. **Shear Force Procedures for Meat Tenderness Measurement**, 2005. 7p.

WHIPPLE, G. et al. Evaluation of attributes that affect longissimus muscle tenderness in *Bos taurus* and *Bos indicus* cattle. **Journal of animal science**, v. 68, n. 9, p. 2716–2728, 1990.

WU, S. et al. Understanding the development of color and color stability of dark cutting beef based on mitochondrial proteomics. **Meat Science**, v. 163, n. November 2019, p. 108046, 2020. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2020.108046>>.

WULF, D. M. et al. Genetic influences on beef longissimus palatability in charolais- and limousin-sired steers and heifers. **Journal of Animal Science**, v. 74, n. 10, p. 2394, 1996. Disponível em: <<https://academic.oup.com/jas/article/74/10/2394-2405/4637419>>.

ZAPATA, I.; ZERBY, H. N.; WICK, M. Functional Proteomic Analysis Predicts Beef Tenderness and the Tenderness Differential. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 57, n. 11, p. 4956–4963, 10 jun. 2009. Disponível em: <<https://pubs.acs.org/doi/10.1021/jf900041j>>.

ZENG, Z.; LI, C.; ERTBJERG, P. Relationship between proteolysis and water-holding of myofibrils. **Meat Science**, v. 131, n. April, p. 48–55, 2017. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.meatsci.2017.04.232>>.

ZHANG, H. M. et al. Longissimus dorsi muscle transcriptomic analysis of Yunling and Chinese simmental cattle differing in intramuscular fat content and fatty acid composition. **Genome**, v. 61, n. 8, p. 549–558, 2018.

ZHANG, Y. Y. et al. Effect of sex on meat quality characteristics of Qinchuan cattle. **African Journal of Biotechnology**, v. 9, n. 28, p. 4504–4509, 2010.

ZHU, Y. et al. Shotgun proteomics for the preliminary identification of biomarkers of beef sensory tenderness, juiciness and chewiness from plasma and muscle of young Limousin-sired bulls. **Meat Science**, v. 176, n. February, p. 108488, 2021. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2021.108488>>.

5 ANÁLISE PROTEÔMICA APLICADA À CIÊNCIA DA CARNE: CARACTERIZAÇÃO DA PROTEÓLISE *POST MORTEM* EM BOVINOS *BOS TAURUS* X *BOS INDICUS*

RESUMO

Os mecanismos moleculares que contribuem para as variações na maciez da carne causadas pela proteólise *post mortem* ainda não são completamente entendidos. Portanto, acredita-se que a extensão da proteólise *post mortem* influencia diferenças no proteoma muscular, ao longo dos períodos de maturação, refletindo diretamente na maciez da carne. Nesse contexto, análises comparativas do proteoma do músculo *Longissimus* de animais *Bos taurus* x *Bos indicus* foram realizadas em diferentes períodos de maturação (zero, dois e sete dias), a fim de gerar resultados que permitam a melhor compreensão dessas variações no amaciamento da carne. Foram utilizados 150 bovinos F1 Angus x Nelore, os quais foram confinados e receberam a mesma dieta durante 150 dias. Posteriormente, os animais foram abatidos, e durante o abate foram coletadas alíquotas do músculo *Longissimus*, para análise do perfil proteico diferencial, por meio de SDS-PAGE. Durante a desossa, 48 horas após o abate, amostras do músculo *Longissimus* foram coletadas e maturadas sob temperatura entre 0 e 2 °C para análise da força de cisalhamento aos dois, sete, 14 e 21 dias de maturação. Ainda, ao final dos períodos de maturação de dois e sete dias, foram coletadas alíquotas do músculo *Longissimus* para análise do perfil proteico diferencial. As bandas diferencialmente abundantes entre os períodos de maturação foram analisadas por LC-MS/MS para identificação das proteínas. Com o decorrer dos períodos de maturação, observou-se diminuição do valor de WBSF, ou seja, a carne ficou mais macia. As análises proteômicas revelaram uma diminuição da abundância das bandas contendo as proteínas do metabolismo glicolítico, citoesqueléticas e de contração muscular, particularmente, PYGM, PKM, CA3, DES, ENO3, TNN1 e TNNC2, e o aumento das bandas contendo as proteínas envolvidas em transporte de íons e estresse celular, incluindo HSPA8 e TF. Portanto, esses processos associam-se ao desenvolvimento da maciez da carne bovina durante o processo de maturação. Ainda, foram reveladas novas proteínas (AGL, ANXA6, EEF1A2, LDB3, PGAM2, AK1 e TNNC2) com potencial para serem biomarcadoras de maciez da carne bovina.

Palavras-chave: Degradação muscular. Força de cisalhamento. Maciez da carne. Maturação. Biomarcadores de maciez da carne.

5.1 INTRODUÇÃO

Dentre os atributos de qualidade da carne, a maciez é considerada uma característica sensorial muito importante (LISTRAT et al., 2020) devido à sua influência na intenção de compra do consumidor (MILLER et al., 2001; FONT-I-FURNOLS; GUERRERO, 2014; HOLMAN et al., 2017; MALHEIROS et al., 2019). Sabe-se que vários sistemas proteolíticos intracelulares estão envolvidos na proteólise *post mortem* (KIM et al., 2018) e consequente amaciamento da carne. No entanto, os mecanismos desses sistemas ainda não são completamente entendidos (OUALI et al., 2013).

A proteólise *post mortem* é um dos principais fatores responsáveis pelo amaciamento da carne e o sistema de calpaínas tem papel fundamental na degradação de proteínas musculares e, consequentemente, na maciez do produto final (KOOHMARAIE, 1996; HOPKINS; THOMPSON, 2002). O sistema de calpaínas, dependente de cálcio e com atividade ótima em pH neutro, é composto principalmente por duas proteases: μ -calpaína e m-calpaína, além de um inibidor específico, a calpastatina (GOLL et al., 2003; WENDT; THOMPSON; GOLL, 2004). A μ -calpaína é a mais relacionada com a fragmentação miofibrilar (DE OLIVEIRA et al., 2019) e, consequentemente, com a maciez da carne, devido a sua atuação sobre várias proteínas miofibrilares, como a titina, nebulina, filamina, desmina e troponina-T (HUFF-LONERGAN; PARRISH; ROBSON, 1995). Já, a calpastatina é relacionada negativamente com o amaciamento da carne, devido ao seu papel na inibição da ação enzimática das calpaínas (DELGADO; SANTOS, 2010).

Além do sistema das calpaínas, os sistemas das caspases, catepsinas, proteassomas e proteínas de choque térmico também foram apontados como possíveis responsáveis pelo amaciamento da carne *post mortem* (SENTANDREU; COULIS; OUALI, 2002; OUALI et al., 2006, 2013; LANA; ZOLLA, 2016). Segundo Herrera-Mendez et al. (2006), as caspases provavelmente degradam primeiro as principais proteínas envolvidas na organização espacial das miofibrilas dentro das células musculares e, posteriormente, a hidrólise dos componentes celulares e organelas ocorre devido à ação de outros sistemas proteolíticos, como as calpaínas, catepsinas e proteassomas. Dessa forma, as caspases seriam, provavelmente, facilitadoras da ação desses outros sistemas proteolíticos.

Em relação à qualidade da carne, animais *Bos indicus*, em geral, apresentam alguns atributos desfavoráveis, quando comparados a certas raças taurinas, como menor taxa de deposição de gordura subcutânea, pouca ou ausência de deposição de gordura intramuscular (marmorização) (CROUSE et al., 1989; PEREIRA et al., 2015; RODRIGUES et al., 2017) e uma taxa reduzida de degradação das proteínas miofibrilares durante o armazenamento *post mortem*, devido a uma maior atividade da calpastatina (WHIPPLE et al., 1990; KOOHMARAIE, 1992), o que pode determinar uma carne menos macia.

Nesse sentido, uma das estratégias a fim de minimizar o problema da falta de padronização e qualidade, muitas vezes, desfavorável da carne dos animais zebuínos é o cruzamento com animais taurinos, onde se aproveitam as características desejáveis de ambas subespécies, com uma maior eficiência (CROUSE et al., 1989; WHIPPLE et al., 1990; LAGE et al., 2012; MODZELEWSKA-KAPITUŁA; NOGALSKI, 2014).

No entanto, os mecanismos dos sistemas proteolíticos que resultam no desenvolvimento da maciez da carne ainda não são completamente entendidos. Portanto, acredita-se que a extensão da proteólise *post mortem* influencia diferenças no proteoma muscular, ao longo dos períodos de maturação, refletindo diretamente na maciez da carne.

Assim, objetivou-se comparar a maciez da carne de bovinos cruzados *Bos taurus* x *Bos indicus* no músculo *Longissimus*, em diferentes períodos de maturação (dois, sete, 14 e 21 dias) e comparar as alterações no proteoma do mesmo músculo ao longo de sete dias de maturação, a fim de elucidar os principais mecanismos biológicos que possivelmente controlam a proteólise *post mortem* de bovinos cruzados.

5.2 MATERIAL E MÉTODOS

O projeto foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo (FMVZ/USP) sob o protocolo CEUA nº 1643171218.

5.2.1 Animais, manejo e dieta

Foram utilizados 150 bovinos F1 Angus x Nelore com idade média de abate de 16 meses, pertencentes ao mesmo grupo contemporâneo e ao Programa Carne Angus Certificada do Brasil.

Os animais foram mantidos nas mesmas condições de manejo, pesados, desverminados, vacinados (clostridioses e aftosa) e identificados individualmente. Durante o período de confinamento de 150 dias, foi utilizada ração formulada segundo as exigências do *National Research Council* (NRC, 2016), adaptado às condições tropicais, estimada pelo Programa RLM 3.2[®]. A ração foi composta de 86% de concentrado e 14% de volumoso na matéria seca, tendo como alimento volumoso o feno de *Brachiaria*, e oferecida em três períodos ao longo do dia.

5.2.2 Abate e coleta de amostras

Ao final do período experimental de 150 dias, critério de abate, os animais foram abatidos em frigorífico comercial. Durante a desossa, realizada 48 horas após o abate, foram coletados quatro bifes de 2,54 cm de espessura do músculo *Longissimus*, embalados individualmente a vácuo em sacos de polietileno (Cryovac[®], Charlotte, NC, EUA) e maturados sob temperatura entre 0 e 2 °C, para análise da força de cisalhamento (dois, sete, 14 e 21 dias de maturação), a qual avaliou o efeito da proteólise *post mortem* sobre a maciez da carne. Para a análise do perfil proteico muscular durante a proteólise *post mortem*, alíquotas do músculo *Longissimus* foram coletadas no momento do abate, e ao final dos períodos de maturação de dois e sete dias, imediatamente congeladas em nitrogênio líquido, transportadas e posteriormente armazenadas a -80 °C.

5.2.3 Análises laboratoriais

5.2.3.1 Força de cisalhamento

Para a realização da análise de FC, os procedimentos para cocção dos bifes foram realizados segundo AMSA (2016). As amostras foram assadas em forno elétrico a 163 °C, até atingirem a temperatura interna de 71 °C. As temperaturas

internas foram determinadas por meio de um sistema de termopares com termômetros individuais, que foram inseridos nos bifes até sua parte central. Após serem assados e esfriarem, os bifes foram embalados individualmente e acondicionados em refrigerador doméstico por 24 horas. Então, foram retirados seis cilindros de 13 mm de diâmetro de cada bife, com um vazador elétrico. A análise de maciez objetiva foi realizada com equipamento texturômetro (modelo CT-3 *Texture Analyser*, AMETEK Brookfield®, Middleborough, MA, EUA), equipado com lâmina Warner-Bratzler e a FC foi determinada pela média dos seis cilindros (WHEELER; SHACKELFORD; KOOHMARAIE, 2005).

5.2.3.2 Análise do perfil proteico

Para avaliar a diferença no perfil proteico muscular, foram selecionadas aleatoriamente 36 alíquotas do músculo *Longissimus*, coletadas no momento do abate e ao final dos períodos de dois e sete dias de maturação. As etapas seguidas foram extração de proteínas, eletroforese unidimensional (SDS/PAGE) para avaliar o perfil proteico, análise das imagens dos géis, análises estatísticas para identificação das bandas diferencialmente abundantes, digestão das bandas “*in gel*”, identificação das proteínas por cromatografia líquida acoplada à espectrometria de massas (LC-MS/MS), e análises de bioinformática de enriquecimento funcional e rede de interação proteína-proteína.

Para extrair as proteínas, foi pesado aproximadamente 0,5 g de músculo *Longissimus* e homogeneizado em 2 mL de tampão de extração contendo 150 mM NaCl, 1% Triton X-100, 0,5% desoxicolato de sódio, 2% SDS, 50 mM Tris pH 8,0, 1% do coquetel de inibidores de protease (Sigma-Aldrich, San Luis, MO, EUA), 1 mM ortovanadato de sódio, 25 mM fluoreto de sódio. As amostras foram homogeneizadas em gelo quatro vezes durante 5 segundos cada vez, a 30.000 rpm com o auxílio de Turrax (modelo T 10 *basic* ULTRA-TURRAX®, IKA, Staufen, Baden-Württemberg, Alemanha). Após, as amostras foram centrifugadas a 4 °C a 10.000 g por 30 min. O sobrenadante resultante foi armazenado a -80 °C para posterior análise. A concentração de proteína de cada amostra foi determinada utilizando o reagente de *Bradford* (Bio-Rad, Hercules, CA, EUA), sendo a albumina bovina utilizada como padrão.

Para realização da eletroforese unidimensional (SDS/PAGE), o extrato proteico foi misturado na proporção de 1:1 em tampão de amostra (50 mM Tris-HCl pH 6,8, 10% glicerol, 2% SDS, 5% 2-mercaptoetanol, 1% azul de bromofenol) e aquecido a 95 °C por 5 min. Foram utilizados gel de empilhamento a 4% (125 mM de Tris-HCl pH 6,8; 0,1% SDS; 4% 30% acrilamida/0,8% bisacrilamida; 0,05% persulfato de amônio e 0,1% TEMED) e gel de separação a 12% (375 mM Tris-HCl pH 8,8, 0,1% SDS, 12% de 30% acrilamida/0,8% bisacrilamida, 0,05%, persulfato de amônio e 0,1% e TEMED). As amostras (50 µg) foram corridas no gel de empilhamento a 15 mA por gel a 100 V e no gel de separação a 25 mA por gel a 600 V usando o sistema SE600 Ruby (GE Healthcare, Chicago, IL, EUA). Foi utilizado um padrão com proteínas de peso molecular conhecido, o qual foi corrido no gel junto com as amostras. Após o término da corrida, os géis foram corados utilizando uma solução de *Coomassie Blue*. O gel foi digitalizado por meio do *Image Scanner III* (GE Healthcare, Chicago, IL, EUA) e a análise quantitativa das bandas foi realizada com auxílio do programa *Image Lab™* (Bio-Rad, Hercules, CA, EUA). As bandas foram identificadas e então analisadas para determinar a porcentagem de contribuição de cada banda em relação ao total do volume das bandas em cada coluna.

Para prosseguir com a digestão dos *spots "in gel"*, as bandas detectadas como diferencialmente abundantes nas análises estatísticas foram retiradas dos géis, picotadas em fragmentos de aproximadamente 1 mm³ e colocadas em microtubos de 1,5 mL. A digestão foi realizada segundo metodologia descrita por Shevchenko et al. (2006).

Para identificar as proteínas por LC-MS/MS, as amostras foram ressuspensas em 30 µl de uma solução de 1% de ácido fórmico. Para análise, uma alíquota de 4,5 µl foi separada por meio de coluna de fase reversa C18 (100 µm x 100 mm), utilizando-se um cromatógrafo de alto desempenho *nanoAcquity* (nanoACQUITY UPLC, Waters, Milford, MA, EUA) acoplado ao espectrômetro de massas Q-TOF Premier (Waters, Milford, MA, EUA) com fonte de ionização tipo *nanoelectrospray*, a uma taxa de fluxo de 0,6 µl/min. Foi utilizado um gradiente de 2-90% de acetonitrila em ácido fórmico 0,1% por 50 min. A tensão de *nanoelectrospray* foi ajustada para 3,5 kV com voltagem de cone de 30 V e temperatura de fonte de 100 °C. O instrumento foi operado no modo "*topthree*", em

que um espectro de MS é adquirido seguido por MS/MS dos três principais picos mais intensos detectados.

Os espectros foram adquiridos utilizando o *software MassLynx* v.4.1, sendo os arquivos de dados brutos (.raw) convertidos para o formato “*peak list*” (.mgf) pelo *software Mascot Distiller* v.2.3.02 (Matrix Science, Londres, Inglaterra), onde as proteínas foram identificadas. A carbamidometilação foi utilizada como modificação fixa, a oxidação de metionina como modificação variável, máximo de um sítio de clivagem de tripsina perdido e tolerância de 0,1 Da para fragmentação (MS/MS). Os resultados encontrados foram confrontados com o banco de dados do *Uniprot Bos taurus* e *Bos indicus*. As proteínas candidatas foram consideradas válidas quando o escore global do *software* Mascot foi maior do que 78, com um nível de significância de $P \leq 0,0001$.

Para entender os processos biológicos nos quais as proteínas identificadas foram envolvidas, as análises de enriquecimento funcional, bem como a construção da rede de interação proteína-proteína, foram realizadas por meio da ferramenta online *Search Tool for the Retrieval of Interacting Genes/Proteins* (STRING 11.0). A lista de proteínas diferencialmente abundantes identificadas nas bandas foi utilizada como *input*.

5.2.4 Análise estatística

Para avaliação do efeito dos períodos de maturação sobre a força de cisalhamento, a unidade experimental foi representada por cada animal, totalizando 150 repetições. Os dados foram analisados considerando um delineamento experimental inteiramente casualizado, com parcelas subdivididas no tempo e modelos mistos, utilizando-se o procedimento MIXED do *software* SAS®, sendo os efeitos fixos os períodos de maturação (dois, sete, 14 e 21 dias), os efeitos aleatórios do animal, da condição sexual e o erro residual. Os dados foram submetidos à ANOVA e a significância foi declarada quando $P \leq 0,05$, sendo as médias então comparadas pelo teste de Tukey.

Para avaliar o efeito da proteólise *post mortem* na intensidade das bandas dos géis (N = 108), foram considerados os efeitos fixos dos períodos de maturação, os efeitos aleatórios do animal e o erro residual. Os dados foram submetidos à

ANOVA e a significância foi declarada quando $P \leq 0,05$, sendo as médias comparadas pelo teste de Tukey.

5.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.3.1 Efeito da proteólise *post mortem* sobre a maciez da carne

A FC da carne aos dois dias de maturação foi 10,40% superior em relação à FC aos sete dias de maturação ($P < 0,0001$). Já, em comparação entre os sete e 14 dias de maturação, a FC foi 12,17% superior aos 7 dias ($P < 0,0001$). Por fim, a FC aos 14 dias de maturação foi 15,42% superior, quando comparada com a FC aos 21 dias de maturação ($P < 0,0001$), sendo o menor valor de FC observado aos 21 dias de maturação ($P < 0,0001$) (Tabela 14).

Com o decorrer dos períodos de maturação, as médias de FC apresentaram queda, ou seja, a carne tornou-se mais macia, o que é condizente com o processo de maturação descrito por Ouali et al. (2013), Devine (2014); Contreras-Castillo et al. (2016) e Kim et al. (2018), devido à ação das enzimas proteolíticas endógenas na degradação das proteínas miofibrilares, resultando em carne mais macia.

O limiar americano de FC para WBSF da carne bovina é de 43,1 N (ASTM, 2011) e nenhum dos resultados de FC neste estudo foi inferior a 43,1 N, ou seja, as carnes, independente do período de maturação, foram consideradas duras para o consumidor americano. Da mesma forma, em relação à classificação da carne por Platter et al. (2005), até mesmo a carne com o menor valor médio de FC encontrado (57,64 N) foi considerado como carne muito dura.

No entanto, cabe destacar que o padrão americano pode não ser correspondente à sensibilidade do consumidor brasileiro, o que indica necessidade de se instituir um padrão brasileiro para maciez da carne, haja vista, de acordo com Troy e Kerry (2010), a percepção de qualidade da carne não ser igual entre todos os consumidores desse produto e, inclusive, ser afetada por fatores intrínsecos e extrínsecos que diferem entre grupos demográficos.

Tabela 14 - Força de cisalhamento da carne de bovinos cruzados *Bos taurus* x *Bos indicus* terminados em confinamento maturada por diferentes períodos de maturação (dois, sete, 14 e 21 dias)

Variável	Período de maturação (dias)								EPM	Valor de P
	2		7		14		21			
Força de cisalhamento, N	82,39	A	74,63	B	66,53	C	57,64	D	1,46	<0,0001

Fonte: elaborada pela autora (2021).

Médias seguidas pela mesma letra maiúscula nas linhas não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey a $P \leq 0,05$.

Os valores de $P \leq 0,05$ apresentam-se em negrito.

EPM: Erro Padrão da Média.

5.3.2 Efeito da proteólise *post mortem* sobre o proteoma do músculo

Conforme observado anteriormente, a força de cisalhamento da carne foi alterada com o decorrer dos períodos de maturação. Portanto, a fim de melhor entender os mecanismos que levaram a essa diferença, ferramentas proteômicas foram utilizadas nesse estudo. Após o procedimento de eletroforese, 47 bandas proteicas foram detectadas e comparadas entre todas as amostras (Figura 16). Os resultados da análise quantitativa das bandas dos géis de eletroforese unidimensional, referentes aos diferentes tempos de maturação da carne, detectaram 22 bandas diferencialmente abundantes (Tabela 15). De acordo com os resultados deste estudo, houve alteração no perfil proteico do músculo *Longissimus*, sem maturação (ao abate – zero dias) e nos períodos de maturação de dois e sete dias.

Figura 16 - Gel de eletroforese unidimensional de amostras de músculo *Longissimus* de bovinos cruzados *Bos taurus* x *Bos indicus* demonstrando o número de bandas detectadas e comuns entre os diferentes períodos de maturação

Fonte: Arquivo LCC (2019).

Como observado na Tabela 15, as principais mudanças foram observadas entre os períodos de 0 e 7 dias de maturação, sendo que 11 bandas (7, 14, 15, 16, 22, 24, 34, 35, 36, 40 e 44) tiveram suas abundâncias diminuídas e a banda 23 apresentou maior abundância aos sete dias de maturação. Quatro bandas sofreram mudanças de abundância apenas entre os dois e sete dias de maturação. Dessas, três bandas (3, 11 e 12) tiveram suas abundâncias aumentadas e a banda 21 teve sua abundância diminuída nesse período. Por fim, cinco bandas (4, 5, 29, 32 e 43) foram alteradas a cada período de maturação, das quais, a banda 32 apresentou sua menor abundância no músculo sem maturação (ao abate - zero dias), sua maior

abundância aos dois dias de maturação, diminuindo aos sete dias de maturação, mas, ainda assim, a abundância aos sete dias de maturação foi superior à abundância no músculo sem maturação; e apenas a banda 43 teve sua abundância diminuída.

De acordo com Gagaoua et al. (2021), a proteólise cursa com a diminuição da abundância relativa de proteínas intactas, o que acarreta o aumento da abundância de fragmentos de proteínas e/ou peptídeos menores, os quais têm menor peso molecular. Portanto, as 14 bandas que tiveram suas abundâncias diminuídas com o decorrer dos períodos de maturação são provavelmente as bandas nas quais as proteínas foram degradadas durante a proteólise *post mortem*. Ainda, o aumento da abundância das sete bandas pode ser explicado pela degradação das proteínas presentes naquelas 14 bandas, bem como das proteínas de outras bandas, em peptídeos de menor peso molecular, os quais contribuíram com o aumento da abundância das bandas 3, 4, 5, 11, 12, 23 e 29. Em relação à banda 32, o aumento da sua abundância entre o músculo no momento do abate (zero dias) e a carne aos dois dias de maturação, pode também ser explicado pela degradação das proteínas presentes naquelas 14 bandas, que têm seus peptídeos de menor peso molecular corroborando com o aumento da banda 32, bem como, de acordo com Laville et al. (2009), pode ser devido à degradação da estrutura à qual suas proteínas fazem parte, por enzimas proteolíticas, o que libera essas proteínas da estrutura. Já, a seguinte diminuição da abundância dessa banda, entre as carnes aos dois e sete dias de maturação, pode ser explicada pela degradação das proteínas que foram então liberadas da estrutura a qual faziam parte.

Tabela 15 - Bandas dos géis de eletroforese unidimensional diferencialmente abundantes ao longo dos períodos de maturação (zero, dois e sete dias) da carne de bovinos cruzados *Bos taurus* x *Bos indicus* terminados em confinamento

Banda	Tempo de maturação (dias)										Valor de P		
	0			2			7						
3	1,26	±	0,09	B	1,35	±	0,09	B	1,71	±	0,09	A	0,0028
4	1,00	±	0,11	C	1,62	±	0,11	B	1,99	±	0,11	A	<0,0001
5	0,21	±	0,06	C	0,42	±	0,06	B	0,88	±	0,06	A	<0,0001
7	3,99	±	0,12	A	3,11	±	0,12	B	2,91	±	0,13	B	<0,0001
11	0,38	±	0,03	B	0,40	±	0,03	B	3,52	±	0,03	A	0,0002
12	0,49	±	0,02	B	0,54	±	0,02	B	0,67	±	0,02	A	<0,0001
14	2,40	±	0,12	A	1,75	±	0,12	B	1,71	±	0,13	B	0,0002
15	2,03	±	0,09	A	1,54	±	0,08	B	1,35	±	0,09	B	<0,0001
16	5,55	±	0,26	A	3,96	±	0,26	B	3,56	±	0,27	B	<0,0001
18	0,63	±	0,03	A	0,56	±	0,03	AB	0,46	±	0,03	B	0,0022
21	0,26	±	0,01	A	0,22	±	0,01	A	0,17	±	0,01	B	<0,0001
22	4,36	±	0,15	A	3,60	±	0,15	B	3,57	±	0,16	B	0,0007
23	3,17	±	0,47	B	7,89	±	0,47	A	9,15	±	0,49	A	<0,0001
24	4,39	±	0,17	A	3,68	±	0,17	B	3,66	±	0,18	B	0,0055
29	1,94	±	0,15	C	2,89	±	0,15	B	6,64	±	0,15	A	<0,0001
32	0,60	±	0,12	C	1,85	±	0,11	A	1,36	±	0,11	B	<0,0001
34	2,36	±	0,12	A	1,80	±	0,12	B	1,93	±	0,12	B	0,0016
35	1,89	±	0,07	A	1,54	±	0,06	B	1,47	±	0,07	B	<0,0001
36	2,32	±	0,09	A	1,95	±	0,09	B	1,69	±	0,09	B	<0,0001
40	0,50	±	0,03	A	0,36	±	0,03	B	0,42	±	0,03	AB	0,0010
43	3,14	±	0,16	A	2,20	±	0,16	B	1,53	±	0,17	C	<0,0001
44	2,41	±	0,16	A	1,86	±	0,16	B	1,27	±	0,20	B	0,0002

Fonte: elaborada pela autora (2021).

Médias seguidas pela mesma letra maiúscula nas linhas não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey a $P \leq 0,05$.

Os valores de $P \leq 0,05$ apresentam-se em negrito.

A Tabela 16 apresenta as proteínas identificadas nas bandas dos géis de eletroforese unidimensional diferencialmente abundantes entre os diferentes períodos de maturação. Encontram-se no Apêndice A os processos biológicos nos quais as proteínas estão envolvidas.

As proteínas são conhecidas por atuarem em conjunto, possibilitando o funcionamento das células, bem como de todo o organismo. Logo, um estudo da rede de interação dessas proteínas foi realizado (Apêndice D, Figura 20), para visualizar como elas se relacionaram no mecanismo da proteólise *post mortem*, o que culmina com alteração do proteoma muscular e desenvolvimento do fenótipo de maciez.

Tabela 16 - Proteínas identificadas nas bandas diferencialmente abundantes dos géis SDS-PAGE entre os diferentes períodos de maturação da carne de bovinos cruzados *Bos taurus* x *Bos indicus* terminados em confinamento

Banda	Nome do gene	Acesso Uniprot	Nome da proteína	Escore ¹	Massa ²
3	AGL	F1MHT1	4-alfa-glucanotransferase	1067	176199
4	MYBPC1	A6QP89	Proteína C1 de ligação à miosina	2318	134923
	MYBPC2	E1BNV1	Proteína C2 de ligação à miosina	1544	128471
5	ATP2A1	AT2A1	Cálcio ATPase 1 do retículo sarcoendoplasmático	811	110532
	OGDH	ODO1	2-oxoglutarato desidrogenase, mitocondrial	360	116875
	ATP2A2	A0A3Q1N8S4	ATPase transportadora de cálcio	286	104759
	UBA1	UBA1	Enzima 1 de ativação de modificador semelhante à ubiquitina	98	118839
	NPEPPS	E1BP91	Aminopeptidase	81	104218
7	PYGM	F1MJ28	Alfa-1,4 glucano fosforilase	2258	97674
	PYGB	PYGB	Glicogênio fosforilase, forma cerebral	361	96907
	HSP90AA1	HS90A	Proteína de choque térmico HSP 90-alfa	62	85077
11	TF	G3X6N3	Transferrina	593	79855
	DLAT	F1N690	Componente acetiltransferase do complexo piruvato desidrogenase	348	69593
	NDUFS1	NDUS1	Subunidade de 75 kDa da NADH-ubiquinona oxidoreductase, mitocondrial	230	80418
	CAPN1	A0A3Q1M124	Subunidade catalítica da Calpaína-1	165	82796
12	HSPA8	HSP7C	Proteína cognata de choque térmico de 71 kDa	1601	71424
	KLHL41	A4FV78	Proteína contendo domínio BTB	410	68865
	HSPA1B	HS71B	Proteína 1B de choque térmico de 70 kDa	232	70470
	BIN1	F6R9I4	Integrador de ponte 1	217	62932
	HSPA5	BIP	Chaperona BiP do retículo endoplasmático	134	72470
14	ANXA6	ANXA6	Anexina A6	714	76202
	SLC25A12	A6QNM9	Proteína SLC25A12	198	74882
	SERPINA3-1	A0A0A0MP88	Serpina A3-1	101	45331
	SLC25A13	A0A3Q1MJF5	Membro 13 da família 25 de carreador de soluto	100	74674
15	PGM1	PGM1	Fosfoglicomutase-1	2383	61836
	ACADVL	ACADV	Acil-CoA desidrogenase específica de cadeia muito longa, mitocondrial	381	71003
	HSPD1	F1MUZ9	Chaperonina de 60 kDa	160	61110
	CRAT	A0A3Q1LYY4	Carnitina O-acetiltransferase	136	71539

16	PKM	A5D984	Piruvato quinase	3002	58482
	CASQ1	A0A3Q1LN23	Calsequestrina	407	42584
18	DES	DESM	Desmina	1622	53556
	TUBB4B	TBB4B	Cadeia beta-4B da tubulina	401	50255
	ALDH1A1	AL1A1	Desidrogenase retinal 1	394	55398
	TUBB5	TBB5	Cadeia beta-5 da tubulina	356	50095
	TUBB2A	E1BJB1	Cadeia beta da tubulina	332	50274
	TUBB4A	TBB4A	Cadeia beta-4A da tubulina	308	50010
	ALDH2	ALDH2	Aldeído desidrogenase, mitocondrial	280	57073
	TUBA4A	A0A452DIH7	Cadeia alfa da tubulina	211	50133
	TUBB3	TBB3	Cadeia beta-3 da tubulina	195	50856
	N/A	TBA1B	Cadeia alfa-1B da tubulina	168	50804
	ALDH7A1	E1BFG0	Alfa-aminoadípico semialdeído desidrogenase	165	58623
	TUBA1D	TBA1D	Cadeia alfa-1D da tubulina	151	50935
	TUBA8	TBA8	Cadeia alfa-8 da tubulina	150	50706
	MAP3K20	A0A3Q1N590	Proteína contendo domínio de proteína quinase	119	52134
	LAP3	AMPL	Citosol aminopeptidase	107	54402
	VIM	VIME	Vimentina	104	53752
	SNTB1	F1MDV3	Beta-1 sintrofina	88	56515
	CAVIN1	E1BNE7	Proteína 1 associada à caveolina	80	50153
21	EEF1A2	EF1A2	Fator de alongamento 1-alfa 2	725	50780
	AHCY	A0A3Q1LW27	Adenosil-homocisteinase	174	47715
	DNPEP	DNPEP	Aspartilaminopeptidase	116	52366
	ST13	A0A3Q1MQM3	Proteína ST13 que interage com Hsp70	104	42515
22	ENO3	A0A452DI31	2-fosfo-D-glicerato hidro-liase	1378	48679
	ENO1	ENOA	Alfa-enolase	1123	47639
	NDRG2	NDRG2	Proteína NDRG2	113	39526
	EIF4A2	A0A3Q1M0L3	RNA helicase	89	42162
	TUFM	EFTU	Fator de alongamento Tu, mitocondrial	86	49709
23	ACTA1	ACTS	Actina, músculo esquelético alfa	3788	42366

24	ACTC1	ACTC	Actina, músculo alfa cardíaco 1	1590	42334
	PGK1	PGK1	Fosfoglicerato quinase 1	559	44908
	CKM	KCRM	Creatina quinase tipo M	2610	43190
	CKMT2	KCRS	Creatina quinase tipo S, mitocondrial	143	47714
	IDH2	IDHP	Isocitrato desidrogenase [NADP], mitocondrial	83	51163
29	MDH2	MDHM	Malato desidrogenase, mitocondrial	1319	36102
	MYOZ1	E1BDJ9	Myozenina-1	896	36276
	FBP2	F16P2	Frutose-1,6-bifosfatase isoenzima 2	339	37029
	AKR1B1	A0A493UA87	Membro B1 da família 1 de aldo-ceto redutase	238	36427
	CAPZA2	A0A3Q1LXG3	Subunidade alfa da proteína F-actina	141	37720
	CRYZ	QOR	Zeta-cristalina	115	35532
32	LDB3	Q3ZBC9	Proteína 3 de ligação ao domínio LIM	977	35535
	FHL1	G3MZ95	Proteína 1 de quatro domínios e meio LIM	769	37897
	MYOZ3	Q08DI7	Miozenina 3	111	27020
	CAPZB	A0A3Q1N8A3	Subunidade beta da proteína F-actina	100	31558
	PSMA1	PSA1	Subunidade alfa tipo 1 do proteassoma	87	29852
	CYB5R1	NB5R1	NADH-citocromo b5 redutase 1	85	34010
34	CA3	CAH3	Anidrase carbônica 3	1072	29637
	PRDX6	PRDX6	Peroxiredoxina-6	597	25108
	SLC25A4	ADT1	ADP/ATP translocase 1	510	33174
	SLC25A6	ADT3	ADP/ATP translocase 3	420	33084
	CYC1	CY1	Citocromo c1, proteína heme, mitocondrial	142	35616
	YWHAH	1433F	Proteína 1 inibidora da proteína quinase C	127	28365
	SYPL2	Q0VBZ3	Proteína 2 semelhante a sinaptofisina	107	29598
	YWHAB	A0A140T894	Protein beta/alpha 14-3-3	91	28179
	CA2	CAH2	Anidrase carbônica 2	81	29096
35	PGAM2	PGAM2	Fosfoglicerato mutase 2	1834	28838
	YWHAE	A0A3Q1M119	Proteína epsilon 14-3-3	493	27573
	MACROD1	MACD1	ADP-ribose glicohidrolase MACROD1	199	36060
	CHCHD3	MIC19	Subunidade MIC19 do complex MICOS	127	26312

	CAPNS1	CPNS1	Subunidade menor 1 da calpaína	117	28028
	DCUN1D1	A0A3Q1MAB7	Proteína semelhante a DCN1	116	30306
	UCHL3	UCHL3	Isoenzima L3 da hidrolase do terminal carboxila da ubiquitina	108	26336
	SDHB	A0A3Q1LZ07	Subunidade ferro-enxofre da succinato desidrogenase (ubiquinona), mitocondrial	100	32770
	PSMA6	PSA6	Subunidade alfa tipo 6 do proteassoma	90	27838
	NDUFV2	NDUV2	Flavoproteína 2 da NADH desidrogenase (ubiquinona), mitocondrial	82	27575
36	TPI1	TPIS	Triosefosfato isomerase	1024	26901
	H2BC14	A0A3Q1M4L6	Proteína 14 agrupada à histona H2B	480	17249
	HSPB1	HSPB1	Proteína beta-1 de choque térmico	287	22436
	MT-CO2	COX2	Subunidade 2 da enzima citocromo c oxidase	187	26118
	GSTM1	A0A3Q1MQV0	Glutathione transferase	173	25996
	GSTM1	GSTM1	Glutathione S-transferase Mu 1	162	25789
	PDLIM5	Q3ZBU0	Proteína 5 dos domínios PDZ e LIM	133	26023
	LOC510369	G3N0T0	Hipoxantina fosforibosiltransferase	80	24788
40	AK1	KAD1	Isoenzima 1 de adenilato quinase	825	21764
	ASPH	A0A3Q1M7J2	Aspartil/asparaginil beta-hidroxilase	179	20635
	ATP5PD	ATP5H	Subunidade d da ATP sintase, mitocondrial	123	18738
	SOD2	SODM	Superóxido dismutase (Mn), mitocondrial	116	24794
	TNNI1	G3MYN5	Troponina I1, tipo esquelético lento	83	21830
43	TNNI2	F6QIC1	Troponina I2, tipo esquelético rápido	817	21128
	DUSP3	A7YY43	Fosfatase de proteína de especificidade dupla	150	20719
44	TNNC2	G3MZK7	Troponina C2, tipo esquelético rápido	671	18313
	PEBP1	PEBP1	Proteína 1 de ligação à fosfatidiletanolamina	433	21087
	CRYAB	CRYAB	Cadeia alfa-cristalina B	389	20024
	HSPB6	HSPB6	Proteína beta-6 de choque térmico	169	17515
	CSRP3	CSRP3	Proteína 3 rica em cisteína e glicina	99	21851

Fonte: elaborada pela autora (2021).

¹Descritor numérico da probabilidade de que a identificação da proteína esteja correta a um valor de $P < 0,0001$.

²Peso molecular da proteína, em KDa.

As análises de enriquecimento funcional baseadas na *Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes* (KEGG) indicaram dez vias relacionadas com as proteínas diferencialmente abundantes entre os diferentes períodos de maturação (Tabela 17).

Tabela 17 - Vias KEGG enriquecidas das proteínas identificadas nas bandas diferencialmente abundantes ao longo dos períodos de maturação da carne de bovinos cruzados *Bos taurus* x *Bos indicus* terminados em confinamento

Termo ID	Descrição	FDR ¹	Proteínas
bta00010	Glicólise/gliconeogênese	3,8253e-9	ALDH2, ALDH7A1, DLAT, ENO1, ENO3, FBP2, PGAM2, PGK1, PGM1, PKM e TPI1
bta00020	Ciclo de citrato (ciclo TCA)	4,8406e-4	DLAT, IDH2, MDH2, OGDH e SDHB
bta00620	Metabolismo do piruvato	1,1485e-3	ALDH2, ALDH7A1, DLAT, MDH2 e PKM
bta01200	Metabolismo de carbono	6,4950e-8	DLAT, ENO1, ENO3, FBP2, IDH2, MDH2, OGDH, PGAM2, PGK1, PKM, SDHB e TPI1
bta00330	Metabolismo de arginina e prolina	2,5490e-3	ALDH2, ALDH7A1, CKM, CKMT2 e LAP3
bta01230	Biossíntese de aminoácidos	3,8591e-4	ENO1, ENO3, IDH2, PGAM2, PGK1, PKM e TPI1
bta04540	Junções <i>gap</i>	1,0385e-3	TUBA1D, TUBA4A, TUBA8, TUBB2A, TUBB3, TUBB4A e TUBB4B
bta05012	Doença de Parkinson	2,5490e-3	ATP5PD, CYC1, NDUFS1, NDUFV2, SDHB, SLC25A4, SLC25A6 e UBA1
bta05010	Doença de Alzheimer	1,7257e-3	ATP2A1, ATP2A2, ATP5PD, CALM, CAPN1, CYC1, NDUFS1, NDUFV2 e SDHB
bta01100	Vias metabólicas	1,0493e-5	ACADVL, AGL, AHCY, AK1, AKR1B1, ALDH1A1, ALDH2, ALDH7A1, ATP5PD, CKM, CKMT2, CYC1, DLAT, ENO1, ENO3, FBP2, IDH2, LAP3, LOC510369, MDH2, NDUFS1, NDUFV2, OGDH, PGAM2, PGK1, PGM1, PKM, PRDX6, PYGB, PYGM, SDHB e TPI1

Fonte: elaborada pela autora (2021).

¹False Discovery Rate - valor de P corrigido para múltiplos testes dentro de cada categoria usando o procedimento de Benjamini e Hochberg (1995).

Dentro de cada banda, geralmente, foi possível a identificação de mais de uma proteína. Por isso, as proteínas identificadas em cada banda foram selecionadas de acordo com o escore, o qual é o descritor numérico da probabilidade de que a identificação da proteína esteja correta a um valor de $P < 0,0001$. Ou seja, o escore nos permite inferir a principal proteína de cada banda, de acordo com a representatividade das proteínas dentro das bandas. Dessa forma, foi realizado um novo estudo da rede de interação das principais proteínas identificadas

em cada banda, bem como um enriquecimento de *cluster* String, o qual é o agrupamento dos conjuntos de proteínas funcionalmente associadas. Então, foi apresentada a rede de interação proteína-proteína, com enriquecimento de *cluster* String, das principais proteínas identificadas nas bandas diferencialmente abundantes ao longo dos períodos de maturação (Figura 17).

Figura 17 - Rede de interação proteína-proteína, com enriquecimento de *cluster* String, das principais proteínas identificadas nas bandas diferencialmente abundantes, de acordo com o escore, ao longo dos períodos de maturação da carne de bovinos cruzados *Bos taurus* x *Bos indicus* terminados em confinamento

Fonte: Arquivo LCC (2021).

Legenda: As esferas da rede são proteínas e as linhas representam associações funcionais previstas, ou seja, as proteínas vinculadas por uma linha contribuem conjuntamente para uma função partilhada (o que não significa que essas proteínas estão fisicamente vinculadas umas às outras). As linhas contínuas que vinculam duas proteínas indicam que essas proteínas fazem parte de um mesmo *cluster*. As linhas entrecortadas que vinculam duas proteínas indicam que essas proteínas fazem parte de *clusters* distintos. A espessura da linha indica a força do suporte de dados: quanto mais espessa é a linha, maior é a confiança da associação funcional, a qual varia entre 0,150 (baixa confiança), 0,400 (média confiança), 0,700 (alta confiança) e 0,900 (altíssima confiança). Os *clusters* estão identificados de acordo com a cor das esferas em: amarelo e roxo, estrutura e contração muscular; vermelho, verde claro e azul: metabolismo energético; verde escuro, chaperona, apoptose e transporte;

Em relação às proteínas com maior escore identificadas nas bandas com abundância diferencial ao longo dos períodos de maturação, oito proteínas estão envolvidas em processos de estruturação do citoesqueleto e contração do músculo esquelético (MYBPC1, ANXA6, DES, EEF1A2, ACTA1, LDB3, TNNI2 e TNNC2). Onze proteínas estão envolvidas em processos metabólicos do músculo (AGL, PYGM, PGM1, PKM, ENO3, CKM, MDH2, CA3, PGAM2, TPI1 e AK1), três envolvidas no transporte íons (ATP2A1, ANXA6 e TF; sendo as duas primeiras transportadoras de cálcio e a última transportadora de ferro), duas na resposta ao estresse celular (HSPA8 e CKM) e uma na apoptose (ANXA6).

A proteína C de ligação à miosina (MYBPC1) interage diretamente com ambos os filamentos finos e grossos da unidade contrátil da fibra muscular, o sarcômero, no músculo esquelético lento (OFFER et al., 1973; SATO et al., 2003). Suas interações são altamente dinâmicas e reguladas via fosforilação, modulando a geração da força contrátil, e contribuindo para velocidade da contração muscular dirigida pela miosina (BAREFIELD; SADAYAPPAN, 2010; HARRIS et al., 2011), haja vista essa proteína atuar como um adaptador que permite a conexão entre a miosina (consumidora de ATP) e o MM-KC (regenerador), mantendo a homeostase e a eficiência do metabolismo energético (CHEN et al., 2011). Estudos sobre a isoforma cardíaca da MYBPC1 relataram que sua ligação direta aos filamentos de actina e miosina contribui para uma montagem e estabilização do complexo actomiosina (GEIST; KONTROGIANNI-KONSTANTOPOULOS, 2016) e consequente contração muscular. Liu et al. (2020), em seu estudo de identificação e caracterização de circRNAs no músculo *Longissimus* de diferentes raças bovinas, demonstraram o maior enriquecimento da MYBPC1 no crescimento e desenvolvimento muscular. Ainda, a MYBPC1 foi relacionada com o aumento da produtividade de carne bovina (TONG et al., 2015) e, em aves, foi relacionada com a distrofia de músculo esquelético (CUI et al., 2012). Apesar de não terem sido encontrados estudos relacionando a MYBPC1 com a proteólise *post mortem*, podemos nos basear no achado de Cui et al. (2012) para inferir que a maior abundância da banda que abriga a MYBPC1 neste estudo, se deve ao aumento da fragilidade e consequente degradação do músculo esquelético, ao longo dos períodos de maturação.

A ANXA6 é o maior membro da família anexina (LOCATE et al., 2008), sendo uma proteína de ligação a fosfolipídeos, dependente de cálcio, e implicada no transporte desse íon (PACHECO et al., 2018). Essa família pode desempenhar

papel regulador na liberação de cálcio dos estoques intracelulares, haja vista estar associada às membranas do retículo sarcoplasmático no músculo esquelético (GERKE; MOSS, 2002). Estudos relataram a diferença esperada na progênie (DEP) de cabras e bovinos com o aumento da expressão da ANXA6 (WEI et al., 2019), como também indicaram a influência positiva da ANXA6 na deposição de gordura intramuscular (MA et al., 2020). Em relação à maciez da carne, Bjarnadóttir et al. (2012) avaliaram a abundância de proteínas entre carnes duras e macias do músculo *Longissimus* e encontraram menor abundância da ANXA6 nas amostras de carne macia, o que foi explicado pela liberação acelerada de cálcio e consequente maior atividade das calpaínas, responsáveis pela proteólise *post mortem* (KOOHMARAIE, 1994; TAYLOR et al., 1995). Esse resultado corrobora com os achados deste estudo, haja vista a diminuição da abundância da banda 14, onde a ANXA6 foi identificada, ao longo dos períodos de maturação, o que também pode ser devido à relação negativa da ANXA6 com o influxo de cálcio e a relação positiva desse influxo com a maior atividade das calpaínas, cursando com o amaciamento da carne durante a proteólise *post mortem*. Bjarnadóttir et al. (2012) declararam que a ANXA6 ainda não havia sido relacionada com a maciez da carne, até a publicação do trabalho deles. Ainda, na recente metanálise publicada por Gagaoua et al. (2021), o único trabalho que relata essa proteína é o de Bjarnadóttir et al. (2012). Portanto, mais estudos são necessários para verificar a ação da ANXA6 no amaciamento da carne durante a proteólise *post mortem*.

A DES é a principal proteína do filamento intermediário específico do músculo, localizada, principalmente, no disco Z dos músculos estriados, desempenhando papel essencial na manutenção da estrutura muscular e do seu aparelho contrátil (PAULIN; LI, 2004). A banda que contém a desmina, neste estudo, teve sua abundância diminuída com o decorrer dos períodos de maturação, o que provavelmente se deve à degradação precoce das principais proteínas miofibrilares, como a titina, nebulina, desmina e troponina durante a maturação, culminando com o amaciamento da carne (HUFF-LONERGAN, 2014).

EEF1A2, conhecido como fator de alongamento 1-alfa 2, é uma proteína de ligação ao GTP (trifosfato de guanosina), que faz parte do aparelho eucariótico de tradução, atuando na síntese de proteínas (TAKSUDA et al., 1992). De acordo com Guo et al. (2020), estudos recentes levantaram a hipótese de que a EEF1A2 apresente uma função em processos metabólicos. Porém, isso ainda não foi

completamente entendido. Nos resultados deste estudo, a banda que teve a EEF1A2 como principal proteína identificada, apresentou abundância diminuída ao longo dos períodos de maturação da carne. Em contraste, Laville et al. (2009) observaram relação positiva entre a abundância dessa proteína e a maciez da carne, bem como Boudon et al., (2020).

A ACTA1, ou actina, é a proteína miofibrilar que ocupa a segunda posição em abundância no músculo e é amplamente considerada como biomarcadora positiva de maciez da carne bovina (GAGAOUA et al., 2021). A actina é uma das proteínas estruturais que é conhecida por ser degradada durante a proteólise *post mortem*, juntamente com outras proteínas estruturais, como miosina e troponina, o que se dá por ação das calpaínas, caspases e catepsinas (HUFF LONERGAN; ZHANG; LONERGAN, 2010; KEMP et al., 2010). A ACTA1 foi a principal proteína identificada na banda 23, neste estudo. Essa banda teve a sua abundância aumentada com o decorrer dos períodos de maturação da carne. Haja vista a ACTA1 ter sido negativamente associada à WBSF por inúmeros pesquisadores (BELDARRAIN et al., 2018; GAGAOUA et al., 2018; MALHEIROS et al., 2019; BOUDON et al., 2020; PICARD; GAGAOUA, 2020), ela é uma proteína positivamente associada ao fenótipo de maciez da carne bovina, o que justifica aumento da abundância de sua banda, neste estudo.

A proteína 3 de ligação ao domínio LIM (LDB3), também conhecida como ZASP (*Z-band alternatively spliced PDZ-motif*), foi a principal proteína encontrada na banda 32, a qual apresentou um comportamento distinto de todas as outras bandas diferencialmente abundantes deste estudo. Essa banda apresentou aumento da sua abundância entre o músculo no momento do abate (zero dias) e a carne aos dois dias de maturação e, ainda, teve sua abundância diminuída, entre as carnes aos dois e sete dias de maturação. O comportamento inicial de aumento da abundância pode ser devido à degradação de outras proteínas de maior peso molecular, por enzimas proteolíticas, o que liberou essas proteínas da estrutura, permitindo que se juntassem na banda 32, intensificando a sua abundância. A seguinte diminuição da abundância dessa banda, pode ser explicada então pela degradação das proteínas que, anteriormente, se juntaram na banda 32 (GAGAOUA et al., 2021).

TNN-I é uma das subunidades da troponina, conhecida como troponina I inibitória, a qual inibe a actomiosina ATPase e, portanto, está envolvida na contração muscular, por meio da regulação sensível ao cálcio. As outras subunidades são

TNN-T, troponina T de ligação à tropomiosina, e TNN-C, troponina C de ligação ao cálcio. O papel estrutural da TNN-T se dá pois ela liga as outras duas subunidades, C e I, à tropomiosina e, portanto, aos filamentos de actina (WILKINSON, GRAND, 1978). A metanálise de integrômica de Gagaoua et al. (2021) mostrou que todas essas subunidades já foram identificadas como biomarcadoras de maciez da carne. Isso confirma a relação entre todas as subunidades da troponina e o amaciamento da carne. As subunidades TNNI2 e TNNC2, ambas de fibras esqueléticas rápidas, foram as principais proteínas identificadas, respectivamente, nas bandas 43 e 44 deste estudo. Ambas bandas tiveram suas abundâncias diminuídas ao longo dos períodos de maturação, o que também foi observado por Silva et al. (2019) em relação à TNNI2, ao longo de 14 dias de maturação da carne, e por Kim et al. (2021) em relação à TNNC2, ao longo de 21 dias de maturação da carne. Esses resultados indicam que a quebra da troponina é importante para o amaciamento da carne durante o período maturação.

Em relação às proteínas que fazem parte do metabolismo energético, a proteína AGL é uma das enzimas que fazem parte do sistema GDE (*glycogen debranching enzyme*, ou enzima de desramificação do glicogênio). Esse sistema tem duas atividades: atividade da maltooligossacarídeo transferase, a qual realiza a quebra de uma ligação alfa-1,4 do glicogênio, deixando uma única unidade de glicose ligada à cadeia pela ligação alfa-1,6 e, então, a transferência dos três segmentos de unidade de glicose para uma cadeia adjacente; e a atividade amilo-1,6-glicosidase, a qual catalisa a hidrólise do resíduo único exposto de glicose, liberando-o, e a cadeia de glicose fica novamente suscetível a uma nova fosforilação (BROWN; ILLINGWORTH-BROWN, 1966). Ou seja, a GDE expõe as cadeias de glicose do glicogênio a uma outra fosforilação, diminuindo então o número de cadeias de glicose, comandando a degradação completa do glicogênio. Dessa forma, quando se tem pouco glicogênio disponível, a atividade da GDE pode estar aumentada, na tentativa de expor a glicose à fosforilação, para geração de energia na forma de ATP. Neste estudo, até os dois dias de maturação, não houve diferença na abundância da banda 3, na qual a proteína AGL foi identificada. No entanto, entre os períodos de maturação de dois e de sete dias, verificou-se o aumento da abundância dessa banda. O resultado de manutenção da abundância da banda referente à proteína AGL também foi encontrado por Fadda et al. (2008). Já, o aumento dessa abundância entre os dois últimos períodos de maturação avaliados

neste estudo, podem se dever à degradação sofrida pelas proteínas pertencentes às bandas 1 e 2, haja vista a possibilidade de os peptídeos resultantes dessa degradação terem colaborado com o aumento da abundância da banda 3.

Uma outra proteína do metabolismo energético, a glicogênio fosforilase (PYGM), foi identificada na banda 7, a qual teve sua abundância diminuída durante os períodos maturação. A PYGM é uma enzima envolvida na glicogenólise, realizando a quebra das moléculas de glicogênio presentes no músculo, para disponibilizar glicose, quando necessário. No metabolismo *post mortem*, após as reservas de fosfocreatina serem exauridas, a energia muscular é provida por meio da degradação do glicogênio (D'ALESSANDRO; ZOLLA, 2013). Portanto, a função inicial da enzima PYGM é extremamente importante, afetando a extensão da glicólise, bem como a taxa de queda do pH muscular, e, conseqüentemente, o processo de conversão do músculo em carne e a qualidade do produto final. A proteína PYGM foi identificada em dois locos de características quantitativas (QTLs) que atuam na maciez da carne, um associado com análise sensorial por painel treinado e outro com método instrumental de força de cisalhamento Warner-Bratzler (GAGAOUA et al., 2021). Laville et al., (2009) e Picard e Gagaoua (2020) relacionaram negativamente a PYGM com a WBSF, o que corrobora com os nossos resultados, haja vista a diminuição da abundância da banda onde essa proteína foi identificada com o decorrer dos períodos de maturação e conseqüente amaciamento da carne.

A fosfoglicomutase-1 (PGM1) é uma enzima que tem papel essencial na regulação do metabolismo do glicogênio, sendo responsável por catalisar a interconversão da glicose-1-fosfato em glicose-6-fosfato, a qual pode ser usada, por exemplo, na glicólise (CORI; CORI, 1936). A PGM1 foi a principal proteína identificada na banda 15, a qual teve sua abundância diminuída ao longo dos períodos de maturação. Da mesma forma, ao compararem proteínas extraídas de carnes mais e menos macias, Picard et al. (2010) reportaram a menor abundância de PGM1 nas carnes mais macias. Ainda, os resultados apresentados por Boudon et al. (2009) e Picard e Gagoua (2020), demonstram a menor abundância de PGM1 em carne bovina macia, corroborando com os resultados deste estudo.

A ENO3 é uma enzima que converte 2-fosfoglicerato em fosfoenolpiruvato, o qual é catalisado irreversivelmente pela enzima PKM em piruvato durante a glicólise (GAGAOUA et al., 2021). O piruvato pode entrar na mitocôndria para sua

completa fosforilação ou ser convertido em lactato sob metabolismo anaeróbico. Portanto, ENO3 e PKM são importantes proteínas envolvidas no declínio do pH muscular e no metabolismo *post mortem* (FUENTE-GARCIA et al., 2020; ZHU et al., 2021). Malheiros et al. (2019) relataram uma relação negativa entre a abundância da proteína ENO3 e a maciez da carne, assim como Guillemín et al. (2011), o que corrobora com os resultados deste estudo, haja vista a diminuição da abundância da banda onde a ENO3 foi identificada, ao longo dos períodos de maturação. Os resultados deste estudo também mostraram diminuição da abundância da banda 16, na qual a PKM foi identificada, ao longo dos períodos de maturação, ou seja, essa banda teve o mesmo comportamento da banda onde a ENO3 encontra-se. No entanto, outros estudos mostraram que enquanto algumas enzimas glicolíticas foram positivamente correlacionadas com o amaciamento da carne, outras foram negativamente correlacionadas (GUILLEMIN et al., 2011; GAGAOUA et al., 2021).

De acordo com a maioria dos estudos de proteômica em músculo bovino, as proteínas de choque térmico (do inglês, *Heat Shock Proteins* - HSPs) são descritas como potenciais preditoras para maciez da carne (BJARNADÓTTIR et al., 2012; CARVALHO et al., 2014; PICARD et al., 2018; GAGAOUA et al., 2021). As HSPs são uma família de chaperonas moleculares altamente homólogas que protegem as células de injúrias físicas e químicas (WANG et al., 2020). A proteína cognata de choque térmico de 71 kDa (HSPA8) é continuamente expressa nas células e desempenha função importante de controle de qualidade de proteínas, tais como translocação de proteínas, redobramento de proteínas e direcionamento de proteínas para lisossomos ou maquinaria de ubiquitina/proteassoma para degradação (SHEFFIELD et al., 1990; TERLECKY et al., 1992; OHBA, 1994). Ouali et al. (2006) foram os primeiros a relatar a importância das HSPs no amaciamento da carne, desde então, tem sido observada uma relação positiva da HSPA8 com a maciez da carne (GRABEŽ et al., 2015; GAGAOUA et al., 2018, MALHEIROS et al., 2019; SILVA et al., 2019), o que está em anuência com nossos resultados de aumento da abundância da banda em que foi identificada a HSPA8, ao longo dos períodos de maturação.

A enzima creatina quinase tem como função auxiliar na hidrólise do ATP, apresentando-se, normalmente, em tecidos que demandam alto nível de energia, como os músculos e o cérebro, sendo a CKM a isoenzima da creatina quinase, que se localiza do músculo esquelético (SUMIEN; SHETTY; GONZALES, 2018). Durante

o metabolismo anaeróbico *post mortem*, a CKM pode agir como eliminadora de radicais livres, tendo relação positiva com o amaciamento da carne (BJARNADÓTTIR et al., 2012; POLATI et al., 2012; ZAPATA et al., 2009). Neste estudo, a banda onde a proteína CKM foi identificada teve a sua abundância diminuída ao longo dos períodos de maturação; resultados semelhantes foram observados por Malheiros et al. (2019). Dessa forma, no período inicial *post mortem*, a maior presença da CKM pode ter atuado como fator antioxidante, o que, pode ter favorecido o amaciamento da carne, com o decorrer dos dias de maturação.

As enzimas MDH (malato desidrogenase) apresentam função relacionada tanto para a gliconeogênese, bem como para o ciclo do ácido tricarboxílico. Dessa forma, são essenciais para o metabolismo energético e celular (SASAKI; NAKAMURA; SOETA, 2014). Neste estudo, a banda onde a proteína MDH2 foi identificada teve sua abundância aumentada ao longo dos períodos de maturação. No entanto, no estudo de Kim et al. (2021), durante o período de maturação de 21 dias foi verificada a diminuição da abundância dessa enzima, de forma contrária ao que observamos neste estudo. A proteína MDH1 foi relatada como uma consistente biomarcadora de maciez da carne por Gagaoua et al. (2021) e, para esses pesquisadores, ela é a única enzima do Ciclo de Krebs que pode ser considerada como biomarcadora na maciez da carne. No entanto, de acordo com os nossos resultados, a MDH2 também pode ser apontada como provável biomarcadora de maciez da carne, o que demanda maiores estudos para verificar essa hipótese.

A isoenzima anidrase carbônica 3, CA3, é responsável pela modulação de prótons durante a conversão reversível do bicarbonato em água e dióxido de carbono, gerando prótons e íons bicarbonato para o transporte celular e homeostase do pH (WU et al., 2008), sendo diferencialmente expressa em vários tipos celulares e em altas concentrações no músculo esquelético (SOWDEN et al., 1998). A repulsão eletrostática de proteínas miofibrilares é diminuída pelas alterações na homeostase de prótons, o que facilita o encolhimento lateral das fibras musculares (Pearce et al., 2011). Coté et al. (1993) relacionaram a atividade e o conteúdo de CA3 com o aumento da taxa de utilização do glicogênio pelo músculo. Ainda, Zimmerman et al. (2004) evidenciaram o papel que a CA3 apresenta na proteção das células musculares contra o dano oxidativo. Dessa forma, Wang et al. (2006) consideraram a CA3 como importante candidata a ser relacionada com a qualidade da carne. De acordo com Zhao et al. (2014), Laville et al. (2009), Choi et al. (2010),

D'Alessandro et al. (2012) e Gonçalves et al. (2018), a presença de CA3 foi positivamente relacionada com o fenótipo de maciez da carne. No presente estudo, no músculo logo após o abate, observou-se uma maior abundância da banda onde a CA3 foi identificada, o que pode indicar o potencial de amaciamento da carne no decorrer dos períodos de maturação.

PGAM2 apresenta importante função na coordenação da produção de energia, catalisando a interconversão de 2-fosfoglicerato e 3-fosfoglicerato, uma das últimas etapas da via glicolítica, antes da transformação anaeróbica do piruvato em lactato (FONTANESI et al., 2008). Nossos resultados mostram a diminuição da banda onde a PGAM2 foi identificada, com o decorrer da maturação, o que está de acordo com o exposto por Boudon et al. (2020). Esses pesquisadores verificaram a abundância diferencial da PGMA2 entre grupos extremos de maciez da carne, correlacionando negativamente a PGAM2 com a maciez, demonstrando a menor abundância da PGAM2 em carnes mais macias. Haja vista o amaciamento da carne em função da maturação, a PGAM2 pode ser relacionada com esse processo.

TPI1 são enzimas glicolíticas que desempenham um papel importante na geração de energia para células musculares, catalisando a interconversão de fosfato de diidroxiacetona (DHAP) e gliceraldeído-3-fosfato (G3P) (Chang et al., 1993). Tanto Malheiros et al. (2019), quanto Picard e Gagaoua (2020), demonstraram a menor abundância da TPI1 em carne macia, corroborando com os nossos resultados, nos quais o decorrer dos períodos de maturação levaram a uma diminuição da abundância da banda onde a TPI1 se localiza.

A adenilato quinase é uma enzima envolvida na manutenção da composição do nucleotídeo da adenina. Essa enzima apresenta três isoenzimas, das quais a AK1 é uma enzima citoplasmática presente em células de alta renovação, como as células do cérebro, sangue e do músculo esquelético, que tem atividade dependente de íons magnésio (TANABE et al., 1993). Neste estudo, a banda onde essa proteína se encontra teve sua abundância diminuída no decorrer dos períodos de maturação. No entanto, Laville et al. (2009) e Malheiros et al. (2019) observaram o contrário, relacionando a maior abundância da AK1 com carnes mais macias. Não foram encontrados outros estudos que apresentem resultados que relacionam a AK1 com o amaciamento ou maturação da carne. Acredita-se que outros estudos sejam necessários para que se entenda melhor a relação dessa proteína com a maciez da carne.

A ATP2A1 é uma proteína relacionada com a via de transporte de cálcio, responsável pela recaptação desse íon do citoplasma para dentro do retículo sarcoplasmático, o que é feito com o gasto de energia, por meio da hidrólise de ATP (PERIASAMY; KALYANASUNDARAM, 2007). A banda na qual está proteína foi identificada teve sua abundância aumentada no decorrer dos períodos de maturação. Também não foram encontrados outros estudos que apresentam resultados que relacionam a ATP2A1 com o amaciamento ou maturação da carne. Dessa forma, para que se entenda melhor a relação dessa proteína com o amaciamento da carne, outros estudos são necessários.

As transferrinas (TF) são glicoproteínas que se ligam ao ferro e são responsáveis por transportá-lo para utilização e armazenamento pelas células (RECALCATI et al., 2017). Uma menor abundância dessa proteína foi observada em amostras de músculo *Longissimus* de touros jovens com carne mais macia (BJARNADÓTTIR et al., 2012), o que não foi observado em nossos resultados. Em nosso estudo foi observada uma maior abundância da banda em que essa proteína foi identificada, ao longo dos períodos de maturação. Ou seja, a TF deveria ser positivamente relacionada com a maturação e, conseqüentemente, com o amaciamento da carne.

De acordo com as expectativas, a rede de interação proteína-proteína, com enriquecimento de *cluster* String, apresentada na Figura 17, claramente demonstra que as vias biológicas envolvidas no amaciamento da carne são distintas, mas encontram-se interconectadas. Ainda, justifica-se a complexidade dos resultados encontrados neste estudo, que refletem o multifacetado processo de proteólise *post mortem*, o qual envolve inúmeras proteínas e seus processos biológicos, sendo um processo multifatorial, cursando com o amaciamento da carne, em função dos períodos de maturação. No entanto, acreditamos que ainda há muito a ser descoberto para que possamos realmente compreender e manipular a proteólise *post mortem*.

5.1 CONCLUSÃO

O perfil proteico do músculo *Longissimus* é alterado em função da proteólise *post mortem*, culminando com o amaciamento da carne. As principais alterações no proteoma ocorrem entre o momento do abate e o segundo dia de maturação,

demonstrando a importância dos primeiros dias de maturação para a obtenção da maciez. A diminuição da abundância das bandas contendo as proteínas do metabolismo glicolítico, citoesqueléticas e de contração muscular, particularmente, PYGM, PKM, CA3, DES, ENO3, TNN1 e TNNC2, e o aumento das bandas contendo as proteínas envolvidas em transporte de íons e estresse celular, incluindo HSPA8 e TF, sugerem a essencialidade desses processos para o desenvolvimento da maciez na carne bovina. Por fim, o presente estudo revela novas proteínas (AGL, ANXA6, EEF1A2, LDB3, PGAM2, AK1 e TNNC2) como potenciais biomarcadoras para maciez de carne bovina.

5.2 AGRADECIMENTOS

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) (processo nº 2011/21241-0, processo nº 2012/50788-0 e processo nº 2018/24624-7) e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) (processo 409186/2018-0) pelo apoio financeiro, bem como à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES). Agradecemos à empresa parceira VPJ Alimentos, que nos forneceu as amostras de carne e ao Grupo Piveta pelo acesso às suas instalações. Os agradecimentos se estendem também à Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia (FMVZ/USP), em nome do Laboratório de Ciência da Carne (LCC) e de seus integrantes, pelo auxílio na execução do projeto de pesquisa. Ainda, agradecemos à Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos (FZEA/USP), em nome do Laboratório de Estudos Avançados em Ciência da Carne (LEACC), pela parceria no desenvolvimento desta pesquisa. Por fim, agradecemos ao Centro Nacional de Pesquisa em Energia e Materiais (CNPEM) pela colaboração na realização da análise de espectrometria de massas.

REFERÊNCIAS

AMERICAN MEAT SCIENCE ASSOCIATION (AMSA). **Research Guidelines for Cookery, Sensory Evaluation, and Instrumental Tenderness Measurements of Meat**. 2. ed. Champaign, Illinois: AMSA, 2016. 105p.

AMERICAN SOCIETY FOR TESTING AND MATERIALS (ASTM). **Standard Specification for Tenderness Marketing Claims Associated with Meat Cuts Derived from Beef**. 1. ed. West Conshohocken, Pensilvânia: ASTM International, 2011. 3p.

BAREFIELD, D.; SADAYAPPAN, S. Phosphorylation and function of cardiac myosin binding protein-C in health and disease. **Journal of Molecular and Cellular Cardiology**, v. 48, n. 5, p. 866–875, maio 2010. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0022282809004891>>.

BELDARRAIN, L. R. et al. Use of liquid isoelectric focusing (OFFGEL) on the discovery of meat tenderness biomarkers. **Journal of Proteomics**, v. 183, n. April, p. 25–33, 2018. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.jprot.2018.05.005>>.

BENJAMINI, Y.; HOCHBERG, Y. Controlling the False Discovery Rate: A Practical and Powerful Approach to Multiple Testing. **Journal of the Royal Statistical Society: Series B (Methodological)**, v. 57, n. 1, p. 289–300, jan. 1995. Disponível em: <<http://doi.wiley.com/10.1111/j.2517-6161.1995.tb02031.x>>.

BJARNADÓTTIR, S. G. et al. Changes in protein abundance between tender and tough meat from bovine Longissimus thoracis muscle assessed by isobaric Tag for Relative and Absolute Quantitation (iTRAQ) and 2-dimensional gel electrophoresis analysis1. **Journal of Animal Science**, v. 90, n. 6, p. 2035–2043, 1 jun. 2012. Disponível em: <<https://academic.oup.com/jas/article/90/6/2035/4764702>>.

BOUDON, S. et al. Label free shotgun proteomics for the identification of protein biomarkers for beef tenderness in muscle and plasma of heifers. **Journal of Proteomics**, v. 217, n. October 2019, p. 103685, 2020. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.jprot.2020.103685>>.

BROWN, D.H.; ILLINGWORTH-BROWN, B. Enzymes of glycogen debranching: amylo-1,6-glucosidase (I) and oligo-1,4 → 1,4-glucantransferase (II). In: Colowick, S.P.; Kaplan, N.O. **Methods in Enzymology**. Nova York: Academic Press, 1966. pp. 515-524.

CARVALHO, M. E. et al. Heat shock and structural proteins associated with meat

tenderness in Nellore beef cattle, a *Bos indicus* breed. **Meat Science**, v. 96, n. 3, p. 1318–1324, mar. 2014. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.meatsci.2013.11.014>>.

CHANG, M. et al. Human Triosephosphate Isomerase Deficiency Resulting from Mutation of Phe-240. p. 1260–1269, 1993.

CHEN, Z. et al. Slow skeletal muscle myosin-binding protein-C (MyBPC1) mediates recruitment of muscle-type creatine kinase (CK) to myosin. **Biochemical Journal**, v. 436, n. 2, p. 437–445, 1 jun. 2011. Disponível em: <<https://portlandpress.com/biochemj/article/436/2/437/88368/Slow-skeletal-muscle-myosinbinding-proteinC-MyBPC1>>.

CHOI, Y. M. et al. Protein solubility is related to myosin isoforms, muscle fiber types, meat quality traits, and postmortem protein changes in porcine longissimus dorsi muscle. **Livestock Science**, v. 127, n. 2–3, p. 183–191, 2010. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.livsci.2009.09.009>>.

CONTRERAS-CASTILLO, C. J. et al. The effect of electrical stimulation on post mortem myofibrillar protein degradation and small heat shock protein kinetics in bull beef. **Meat Science**, v. 113, p. 65–72, 2016.

CORI, C. F.; CORI, G. T. Mechanism of Formation of Hexosemonophosphate in Muscle and Isolation of a New Phosphate Ester. **Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine**, v. 34, n. 5, p. 702–705, 1936.

COTE, C. et al. Effect of carbonic anhydrase III inhibition on substrate utilization and fatigue in rat soleus. **Canadian Journal of Physiology and Pharmacology**, v. 71, n. 3–4, p. 277–283, 1993.

CROUSE, J. D. et al. Comparisons of and Inheritance for Carcass Beef Characteristics and Meat Palatability. **Journal of Animal Science**, v. 67, n. 10, p. 2661, 1989. Disponível em: <<https://academic.oup.com/jas/article/67/10/2661-2668/4697042>>.

CUI, H. et al. Identification of differentially expressed genes and pathways for intramuscular fat deposition in pectoralis major tissues of fast-and slow-growing chickens. **BMC Genomics**, v. 13, n. 1, p. 213, 18 fev. 2012. Disponível em: <<http://www.mdpi.com/2073-4425/10/2/155>>.

D'ALESSANDRO, A. et al. Chianina beef tenderness investigated through integrated

Omics. **Journal of Proteomics**, v. 75, n. 14, p. 4381–4398, 2012. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.jprot.2012.03.052>>.

D'ALESSANDRO, A.; ZOLLA, L. Meat science: From proteomics to integrated omics towards system biology. **Journal of Proteomics**, v. 78, p. 558–577, jan. 2013. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.jprot.2012.10.023>>.

DELGADO, E. F.; SANTOS, C. C. Fatores anteriores e posteriores ao abate que influenciam a qualidade da carne. In: Pires, A.V. **Bovinocultura de corte**. 1. ed. Piracicaba: FEALQ, 2010. v. II, p. 761-1510.

DE OLIVEIRA, L. G. et al. Association of calpain and calpastatin activity to postmortem myofibrillar protein degradation and sarcoplasmic proteome changes in bovine Longissimus lumborum and Triceps brachii. **Meat Science**, v. 155, n. December 2018, p. 50–60, set. 2019. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0309174018311847>>.

DEVINE, C. E. Conversion of Muscle to Meat: Aging. In: Dikeman, M; Devine, C. **Encyclopedia of Meat Sciences**. 2. ed. Londres: Academic Press, 2014. v. I, p. 329-338.

FADDA, S. et al. Lactobacillus role during conditioning of refrigerated and vacuum-packaged Argentinean meat. **Meat Science**, v. 79, n. 3, p. 603–610, 2008.

FONT-I-FURNOLS, M.; GUERRERO, L. Consumer preference, behavior and perception about meat and meat products: An overview. **Meat Science**, v. 98, n. 3, p. 361–371, nov. 2014. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.meatsci.2014.06.025>>.

FONTANESI, L. et al. Investigation of candidate genes for glycolytic potential of porcine skeletal muscle: Association with meat quality and production traits in Italian Large White pigs. **Meat Science**, v. 80, n. 3, p. 780–787, 2008.

FUENTE-GARCIA, C. et al. Characterization of the Myofibrillar Proteome as a Way to Better Understand Differences in Bovine Meats Having Different Ultimate pH Values. **PROTEOMICS**, v. 20, n. 12, p. 2000012, 8 jun. 2020. Disponível em: <<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/pmic.202000012>>.

GAGAOUA, M. et al. Reverse phase protein arrays for the identification/validation of biomarkers of beef texture and their use for early classification of carcasses. **Food Chemistry**, v. 250, p. 245–252, jun. 2018. Disponível em:

<<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.01.070>>.

GAGAOUA, M. et al. Molecular signatures of beef tenderness: Underlying mechanisms based on integromics of protein biomarkers from multi-platform proteomics studies. **Meat Science**, v. 172, n. September 2020, p. 108311, fev. 2021. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2020.108311>>.

GEIST, J.; KONTROGIANNI-KONSTANTOPOULOS, A. MYBPC1, an Emerging Myopathic Gene: What We Know and What We Need to Learn. **Frontiers in Physiology**, v. 7, n. SEP, p. 1–8, 14 set. 2016. Disponível em: <<http://journal.frontiersin.org/Article/10.3389/fphys.2016.00410/abstract>>.

GERKE, V.; MOSS, S. E. Annexins: From structure to function. **Physiological Reviews**, v. 82, n. 2, p. 331–371, 2002.

GOLL, D. E. et al. The Calpain System. **Physiological Reviews**, v. 83, n. 3, p. 731–801, jul. 2003. Disponível em: <<http://www.physiology.org/doi/10.1152/physrev.00029.2002>>.

GONÇALVES, T. M. et al. Gene co-expression analysis indicates potential pathways and regulators of beef tenderness in Nellore cattle. **Frontiers in Genetics**, v. 9, n. OCT, p. 1–18, 2018.

GRABEŽ, V. et al. Protein expression and oxygen consumption rate of early postmortem mitochondria relate to meat tenderness. **Journal of Animal Science**, v. 93, n. 4, p. 1967–1979, 1 abr. 2015. Disponível em: <<https://academic.oup.com/jas/article/93/4/1967/4703738>>.

GUILLEMIN, N. et al. Functional analysis of beef tenderness. **Journal of Proteomics**, v. 75, n. 2, p. 352–365, dez. 2011. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.jprot.2011.07.026>>.

GUO, M. et al. eEF1A2 exacerbated insulin resistance in male skeletal muscle via PKC β and ER stress. **Journal of Endocrinology**, v. 244, n. 1, p. 25–40, 2020.

HARRIS, S. P.; LYONS, R. G.; BEZOLD, K. L. In the Thick of It. **Circulation Research**, v. 108, n. 6, p. 751–764, 18 mar. 2011. Disponível em: <<https://www.ahajournals.org/doi/10.1161/CIRCRESAHA.110.231670>>.

HERRERA-MENDEZ, C. H. et al. Meat ageing: Reconsideration of the current

concept. **Trends in Food Science and Technology**, v. 17, n. 8, p. 394–405, 2006.

HOLMAN, B. W. B. et al. Effect of Beef Pre-Cooking Status (Frozen V. Thawed) and Sample Weight on Shear Force Evaluation. **Food Analytical Methods**, v. 10, n. 10, p. 3235–3238, 8 out. 2017. Disponível em: <<http://link.springer.com/10.1007/s12161-017-0895-1>>.

HOPKINS, D. L.; THOMPSON, J. M. Factors contributing to proteolysis and disruption of myofibrillar proteins and the impact on tenderisation in beef and sheep meat. **Australian Journal of Agricultural Research**, v. 53, n. 2, p. 149–166, 2002.

HUFF-LONERGAN, E. Tenderizing Mechanisms: Enzymatic. In: Dikeman, M; Devine, C. **Encyclopedia of Meat Sciences**. 2. ed. Londres: Academic Press, 2014. v. III, p. 438-442.

HUFF-LONERGAN, E.; PARRISH, F. C.; ROBSON, R. M. Effects of postmortem aging time, animal age, and sex on degradation of titin and nebulin in bovine longissimus muscle. **Journal of animal science**, v. 73, n. 4, p. 1064–1073, 1995.

HUFF LONERGAN, E.; ZHANG, W.; LONERGAN, S. M. Biochemistry of postmortem muscle — Lessons on mechanisms of meat tenderization. **Meat Science**, v. 86, n. 1, p. 184–195, set. 2010. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.meatsci.2010.05.004>>.

KEMP, C. M. et al. Tenderness – An enzymatic view. **Meat Science**, v. 84, n. 2, p. 248–256, fev. 2010. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.meatsci.2009.06.008>>.

KIM, G. D. et al. Quantitative changes in peptides derived from proteins in beef tenderloin (psoas major muscle) and striploin (longissimus lumborum muscle) during cold storage. **Food Chemistry**, v. 338, n. November 2019, p. 128029, 2021. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.128029>>.

KIM, Y. H. B. et al. Understanding postmortem biochemical processes and post-harvest aging factors to develop novel smart-aging strategies. **Meat Science**, v. 144, n. April, p. 74–90, out. 2018. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0309174018302018>>.

KOOHMARAIE, M. The role of Ca²⁺-dependent proteases (calpains) in post mortem proteolysis and meat tenderness. **Biochimie**, v. 74, n. 3, p. 239–245, 1992.

KOOHMARAIE, M. Muscle proteinases and meat aging. **Meat Science**, v. 36, n. 1–2, p. 93–104, 1994.

KOOHMARAIE, M. Biochemical factors regulating the toughening and tenderization processes of meat. **Meat Science**, v. 43, n. SUPPL. 1, p. 193–201, 1996.

LAGE, J. F. et al. Influence of genetic type and level of concentrate in the finishing diet on carcass and meat quality traits in beef heifers. **Meat Science**, v. 90, n. 3, p. 770–774, mar. 2012. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0309174011003676>>.

LANA, A.; ZOLLA, L. Proteolysis in meat tenderization from the point of view of each single protein: A proteomic perspective. **Journal of Proteomics**, v. 147, p. 85–97, 2016. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.jprot.2016.02.011>>.

LAVILLE, E. et al. Proteome changes during meat aging in tough and tender beef suggest the importance of apoptosis and protein solubility for beef aging and tenderization. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 57, n. 22, p. 10755–10764, 2009.

LISTRAT, A. et al. Contribution of connective tissue components, muscle fibres and marbling to beef tenderness variability in longissimus thoracis, rectus abdominis, semimembranosus and semitendinosus muscles. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 100, n. 6, p. 2502–2511, 9 abr. 2020. Disponível em: <<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/jsfa.10275>>.

LIU, R. et al. Identification and Characterization of circRNA in Longissimus Dorsi of Different Breeds of Cattle. **Frontiers in Genetics**, v. 11, n. November, p. 1–14, 2020.

LOCATE, S. et al. Annexin A6 at the cardiac myocyte sarcolemma-Evidence for self-association and binding to actin. **Cell Biology International**, v. 32, n. 11, p. 1388–1396, nov. 2008. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.cellbi.2008.08.009>>.

MA, C. et al. TMT-labeled quantitative proteomic analyses on the longissimus dorsi to identify the proteins underlying intramuscular fat content in pigs. **Journal of Proteomics**, v. 213, n. March 2019, p. 103630, 2020. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.jprot.2019.103630>>.

MALHEIROS, J. M. et al. Influence of oxidative damage to proteins on meat tenderness using a proteomics approach. **Meat Science**, v. 148, n. August 2018, p.

64–71, fev. 2019. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2018.08.016>>.

MILLER, M. F. et al. Consumer thresholds for establishing the value of beef tenderness. **Journal of Animal Science**, v. 79, n. 12, p. 3062–3068, 2001.

MODZELEWSKA-KAPITUŁA, M.; NOGALSKI, Z. Effect of gender on collagen profile and tenderness of infraspinatus and semimembranosus muscles of Polish Holstein-Friesian x Limousine crossbred cattle. **Livestock Science**, v. 167, n. 1, p. 417–424, 2014.

NRC. **Nutrient Requirements of Beef Cattle, 8th Revised Edition**. Washington, D.C.: National Academies Press, 2016.

OFFER, G.; MOOS, C.; STARR, R. A new protein of the thick filaments of vertebrate skeletal myofibrils. **Journal of Molecular Biology**, v. 74, n. 4, p. 653–676, mar. 1973. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/0022283673900557>>.

OHBA, M. A 70-kDa heat shock cognate protein suppresses the defects caused by a proteasome mutation in *Saccharomyces cerevisiae*. **FEBS Letters**, v. 351, n. 2, p. 263–266, 5 set. 1994. Disponível em: <<http://doi.wiley.com/10.1016/0014-5793%2894%2900873-6>>.

OUALI, A. et al. Revisiting the conversion of muscle into meat and the underlying mechanisms. **Meat Science**, v. 74, n. 1, p. 44–58, 2006.

OUALI, A. et al. Biomarkers of meat tenderness: Present knowledge and perspectives in regards to our current understanding of the mechanisms involved. **Meat Science**, v. 95, n. 4, p. 854–870, dez. 2013. Disponível em: <dx.doi.org/10.1016/j.meatsci.2013.05.010>.

PACHECO, H. A. et al. Gene mapping and gene-set analysis for milk fever incidence in holstein dairy cattle. **Frontiers in Genetics**, v. 9, n. OCT, p. 1–8, 2018.

PAULIN, D.; LI, Z. Desmin: A major intermediate filament protein essential for the structural integrity and function of muscle. **Experimental Cell Research**, v. 301, n. 1, p. 1–7, 2004.

PEARCE, K. L. et al. Water distribution and mobility in meat during the conversion of muscle to meat and ageing and the impacts on fresh meat quality attributes - A

review. **Meat Science**, v. 89, n. 2, p. 111–124, 2011. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.meatsci.2011.04.007>>.

PEREIRA, A. S. C. et al. Growth performance, and carcass and meat quality traits in progeny of Poll Nellore, Angus and Brahman sires under tropical conditions. **Animal Production Science**, v. 55, n. 10, p. 1295, 2015. Disponível em: <<http://www.publish.csiro.au/?paper=AN13505>>.

PERIASAMY, M.; KALYANASUNDARAM, A. SERCA pump isoforms: Their role in calcium transport and disease. **Muscle & Nerve**, v. 35, n. 4, p. 430–442, abr. 2007. Disponível em: <<http://doi.wiley.com/10.1002/mus.20745>>.

PICARD, B. et al. Skeletal muscle proteomics in livestock production. **Briefings in Functional Genomics and Proteomics**, v. 9, n. 3, p. 259–278, 2010.
 PICARD, B. et al. Beef tenderness and intramuscular fat proteomic biomarkers: muscle type effect. **PeerJ**, v. 6, n. 6, p. e4891, 7 jun. 2018. Disponível em: <<https://peerj.com/articles/4891>>.

PICARD, B.; GAGAOUA, M. Meta-proteomics for the discovery of protein biomarkers of beef tenderness: An overview of integrated studies. **Food Research International**, v. 127, p. 108739, jan. 2020. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.foodres.2019.108739>>.

PLATTER, W. J. et al. Effects of marbling and shear force on consumers' willingness to pay for beef strip loin steaks. **Journal of Animal Science**, v. 83, n. 4, p. 890–899, 1 abr. 2005. Disponível em: <<https://academic.oup.com/jas/article/83/4/890/4790769>>.

POLATI, R. et al. Proteomic changes involved in tenderization of bovine Longissimus dorsi muscle during prolonged ageing. **Food Chemistry**, v. 135, n. 3, p. 2052–2069, 2012. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2012.06.093>>.

RECALCATI, S. et al. Molecular regulation of cellular iron balance. **IUBMB Life**, v. 69, n. 6, p. 389–398, 7 jun. 2017. Disponível em: <<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/iub.1628>>.

RICO, E.; TOLDRÁ, F.; FLORES, J. Assay of Cathepsin D activity in fresh pork muscle and dry-cured ham. **Meat Science**, v. 29, n. 4, p. 287–293, jan. 1991. Disponível em: <<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/030917409190008E>>.

ROBERT, N. et al. The effect of proteasome on myofibrillar structures in bovine

skeletal muscle. **Meat Science**, v. 51, n. 2, p. 149–153, fev. 1999. Disponível em: <<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0309174098001132>>.

RODRIGUES, R. T. de S. et al. Differences in Beef Quality between Angus (*Bos taurus taurus*) and Nellore (*Bos taurus indicus*) Cattle through a Proteomic and Phosphoproteomic Approach. **PLOS ONE**, v. 12, n. 1, p. e0170294, 19 jan. 2017. Disponível em: <<https://dx.plos.org/10.1371/journal.pone.0170294>>.

SASAKI, N.; NAKAMURA, M.; SOETA, S. Molecular analysis of cytosolic and mitochondrial malate dehydrogenases isolated from domestic cats (*Felis catus*). **Genetics and Molecular Research**, v. 13, n. 3, p. 6855–6864, 2014. Disponível em: <<http://www.funpecrp.com.br/gmr/year2014/vol13-3/pdf/gmr3722.pdf>>.

SATO, N. et al. A Novel Variant of Cardiac Myosin-binding Protein-C That Is Unable to Assemble into Sarcomeres Is Expressed in the Aged Mouse Atrium. **Molecular Biology of the Cell**, v. 14, n. 8, p. 3180–3191, ago. 2003. Disponível em: <<https://www.molbiolcell.org/doi/10.1091/mbc.e02-10-0685>>.

SAWDY, J. C. et al. Myofibrillar 1-D fingerprints and myosin heavy chain MS analyses of beef loin at 36 h postmortem correlate with tenderness at 7 days. **Meat Science**, v. 67, n. 3, p. 421–426, jul. 2004. Disponível em: <<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0309174003003243>>.

SENTANDREU, M. A.; COULIS, G.; OUALI, A. Role of muscle endopeptidases and their inhibitors in meat tenderness. **Trends in Food Science and Technology**, v. 13, n. 12, p. 398–419, 2002.

SHEFFIELD, W. P.; SHORE, G. C.; RANDALL, S. K. Mitochondrial precursor protein. Effects of 70-kilodalton heat shock protein on polypeptide folding, aggregation, and import competence. **Journal of Biological Chemistry**, v. 265, n. 19, p. 11069–11076, jul. 1990. Disponível em: <[http://dx.doi.org/10.1016/S0021-9258\(19\)38558-8](http://dx.doi.org/10.1016/S0021-9258(19)38558-8)>.

SHEVCHENKO, A. et al. In-gel digestion for mass spectrometric characterization of proteins and proteomes. **Nature Protocols**, v. 1, n. 6, p. 2856–2860, jan. 2006. Disponível em: <<http://www.nature.com/doifinder/10.1038/nprot.2006.468>>.

SILVA, L. H. P. et al. Explaining meat quality of bulls and steers by differential proteome and phosphoproteome analysis of skeletal muscle. **Journal of Proteomics**, v. 199, n. December 2018, p. 51–66, maio 2019. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.jprot.2019.03.004>>.

SOWDEN, J. et al. Sequence comparisons and functional studies of the proximal promoter of the carbonic anhydrase 3 (CA3) gene. **Gene**, v. 214, n. 1–2, p. 157–165, 1998.

SUMIEN N., SHETTY R. A., GONZALES E. B. Creatine, Creatine Kinase, and Aging. In: Harris J., Korolchuk V. **Biochemistry and Cell Biology of Ageing: Part I Biomedical Science**. Singapura: Springer, 2018. vol 90. p. 145-168.
<https://doi.org/10.1007/978-981-13-2835-0_6>

TANABE, T. et al. Tissue-specific and developmentally regulated expression of the genes encoding adenylate kinase isozymes. **Journal of Biochemistry**, v. 113, n. 2, p. 200–207, 1993.

TATSUKA, M. et al. Elongation factor-1 α gene determines susceptibility to transformation. **Nature**, v. 359, n. 6393, p. 333–336, set. 1992. Disponível em: <<http://www.nature.com/articles/359333a0>>.

TAYLOR, R. G. et al. Is Z-disk degradation responsible for postmortem tenderization? **Journal of animal science**, v. 73, n. 5, p. 1351–67, maio 1995. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7665364>>.

TERLECKY, S. R. et al. Protein and peptide binding and stimulation of in vitro lysosomal proteolysis by the 73-kDa heat shock cognate protein. **Journal of Biological Chemistry**, v. 267, n. 13, p. 9202–9209, maio 1992. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0021925819504082>>.

TOLDRÁ, F. et al. Muscle and Adipose Tissue Aminopeptidase Activities in Raw and Dry-Cured Ham. **Journal of Food Science**, v. 57, n. 4, p. 816–818, jul. 1992. Disponível em: <<http://doi.wiley.com/10.1111/j.1365-2621.1992.tb14301.x>>.

TONG, B. et al. Association of the expression level of the MYBPC1 gene in skeletal muscle with marbling trait in Japanese Black beef cattle. **Annals of Animal Science**, v. 15, n. 2, p. 349–358, 2015.

TROY, D. J.; KERRY, J. P. Consumer perception and the role of science in the meat industry. **Meat Science**, v. 86, n. 1, p. 214–226, set. 2010. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.meatsci.2010.05.009>>.

WANG, D. Y. et al. Proteolysis and cathepsin activities in the processing of dry-cured duck. **Poultry Science**, v. 93, n. 3, p. 687–694, 1 mar. 2014. Disponível em:

<<http://academic.oup.com/ps/article/93/3/687/1556020/Proteolysis-and-cathepsin-activities-in-the>>.

WANG, H. L. et al. Molecular characterization and association analysis of porcine CA3. **Cytogenetic and Genome Research**, v. 115, n. 2, p. 129–133, 2006.

WANG, Z. et al. Mechanism and Complex Roles of HSC70 in Viral Infections. **Frontiers in Microbiology**, v. 11, n. July, p. 1–8, 21 jul. 2020. Disponível em: <<https://www.frontiersin.org/article/10.3389/fmicb.2020.01577/full>>.

WEI, Y. et al. Comparison of protein differences between high- and low-quality goat and bovine parts based on iTRAQ technology. **Food Chemistry**, v. 289, n. March, p. 240–249, 2019. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.03.052>>.

WENDT, A.; THOMPSON, V. F.; GOLL, D. E. Interaction of calpastatin with calpain: A review. **Biological Chemistry**, v. 385, n. 6, p. 465–472, 2004.

WHEELER, T. L.; SHACKELFORD, S. D.; KOOHMARAIE, M. **Shear Force Procedures for Meat Tenderness Measurement**, 2005. 7p.

WHIPPLE, G. et al. Evaluation of attributes that affect longissimus muscle tenderness in *Bos taurus* and *Bos indicus* cattle. **Journal of animal science**, v. 68, n. 9, p. 2716–2728, 1990.

WILKINSON, J. M.; GRAND, R. J. A. Comparison of amino acid sequence of troponin I from different striated muscles. **Nature**, v. 271, n. 5640, p. 31–35, 1978.

WU, J. et al. Expression pattern and polymorphism of three microsatellite markers in the porcine CA3 gene. **Genetics Selection Evolution**, v. 40, n. 2, p. 227–239, 2008.

ZAPATA, I.; ZERBY, H. N.; WICK, M. Functional proteomic analysis predicts beef tenderness and the tenderness differential. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 57, n. 11, p. 4956–4963, 2009a.

ZAPATA, I.; ZERBY, H. N.; WICK, M. Functional Proteomic Analysis Predicts Beef Tenderness and the Tenderness Differential. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 57, n. 11, p. 4956–4963, 10 jun. 2009b. Disponível em: <<http://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/jf900041j>>.

ZHAO, C. et al. Functional proteomic and interactome analysis of proteins associated with beef tenderness in Angus cattle. **Livestock Science**, v. 161, n. 1, p. 201–209, mar. 2014. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.livsci.2013.11.030>>.

ZHU, Q. et al. Proteomics identification of differential S-nitrosylated proteins between the beef with intermediate and high ultimate pH using isobaric iodoTMT switch assay. **Meat Science**, v. 172, p. 108321, fev. 2021. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2020.108321>>.

ZIMMERMAN, U. J. P. et al. Anti-oxidative response of carbonic anhydrase III in skeletal muscle. **IUBMB Life**, v. 56, n. 6, p. 343–347, 2004.

6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

As condições sexuais fêmeas, machos castrados e machos não castrados de bovinos cruzados *Bos taurus* x *Bos indicus*, bem como os períodos de maturação, alteram o perfil proteico do músculo *Longissimus*, influenciando a proteólise *post mortem*, afetando, conseqüentemente, a maciez da carne.

As condições sexuais dos bovinos que permitem a produção de carne mais macia, com menor período de maturação, são machos castrados e fêmeas. Os bovinos machos não castrados apresentam carne mais dura, independentemente do período de maturação. De modo geral, os provadores percebem diferenças entre as carnes de machos não castrados e castrados e a carne de fêmeas é classificada em posição intermediária entre as demais, assemelhando-se a ambas. Assim sendo, os provadores consumidores preferem a carne de machos castrados, a qual eles julgaram como mais macia e mais succulenta, em relação às demais.

Dessa forma, a condição sexual a ser usada pelos produtores depende do propósito da produção. A condição sexual mais adequada para produzir carne em volume, ou seja, para atender ao consumo do dia a dia, é o macho não castrado. Mas, se o objetivo é produzir carne para atender aos nichos de mercado e atender às demandas dos consumidores que requerem carne de qualidade extra, fêmeas e machos castrados são as condições sexuais mais favoráveis a serem produzidas.

No que diz respeito à diferença do perfil proteico entre as condições sexuais, bovinos castrados, bem como fêmeas, em relação a machos não castrados, apresentam um metabolismo enérgico da fibra muscular mais exacerbado, o qual interfere na maciez da carne, tornando-a mais macia.

Em relação à diferença do perfil proteico ao longo dos períodos de maturação, em cada condição sexual, as bandas que evidenciam particularidades são as que contêm proteínas principalmente pertencentes, mais uma vez, ao metabolismo energético. Assim, a chave do desenvolvimento da proteólise *post mortem* entre as condições sexuais de bovinos encontra-se nessa via.

Com o decorrer dos períodos de maturação, a carne fica mais macia. Em relação ao efeito da proteólise *post mortem* sobre o proteoma do músculo *Longissimus*, os resultados deste estudo sugerem a importância dos processos biológicos de estruturação e contração muscular, metabolismo glicolítico, transporte de íons e resposta ao estresse celular, para o desenvolvimento da maciez da carne

bovina, ao longo dos períodos de maturação. Ainda, nos permitem apontar as proteínas AGL, ANXA6, EEF1A2, LDB3, PGAM2, AK1 e TNNC2 como potenciais biomarcadores para maciez de carne bovina.

Haja vista a percepção de qualidade da carne não ser igual entre todos os consumidores e diferir entre grupos demográficos, a atitude, predileção e sensação do consumidor brasileiro podem ser bastante distintas do consumidor americano ou de outras nacionalidades. Portanto, sugere-se que seja determinado um padrão brasileiro para maciez da carne, o qual corresponda à expectativa do consumidor nacional.

Por fim, é importante salientar a relevância deste estudo para a ciência da carne, no que diz respeito, principalmente, ao aprimoramento da nossa compreensão acerca dos mecanismos biológicos que influenciam o amaciamento da carne e à busca por biomarcadores de maciez da carne bovina. Aqui, foram avaliadas as três condições sexuais em um mesmo grupo experimental, o que não foi feito em nenhum dos trabalhos relatados na mais recente metanálise integrômica publicada. Haja vista as particularidades apresentadas dentro de cada condição sexual, destaca-se a necessidade de aprofundamento dos estudos em ciência da carne, em relação às condições sexuais, para decifrar os fatores subjacentes que contribuem para as variações em maciez. Ainda, este estudo corrobora com a lista dos preditores de maciez da carne já identificados, candidatos a serem avaliados profundamente, para validar suas relações com a maciez, o que pode ser de ampla utilidade para a indústria de carne bovina.

REFERÊNCIAS

ALLEN, P. Classification of Carcasses: Beef Carcass Classification and Grading. In: Dikeman, M; Devine, C. **Encyclopedia of Meat Sciences**. 2. ed. Londres: Academic Press, 2014. v. I, p. 307-315.

AMANN, R. P.; SCHANBACHER, B. D. PHYSIOLOGY OF MALE REPRODUCTION. **Journal of Animal Science**, v. 57, p. 380–403, 1983.

AMERICAN MEAT SCIENCE ASSOCIATION (AMSA). **Meat Color Measurements Guidelines Handbook**. Champaign, Illinois: AMSA, 2012. 136p.

AMERICAN MEAT SCIENCE ASSOCIATION (AMSA). **Research guidelines for cookery, sensory evaluation, and instrumental tenderness Measurements of fresh meat**. Chicago, Illinois: AMSA, 1995. 47p.

AMERICAN MEAT SCIENCE ASSOCIATION (AMSA). **Research Guidelines for Cookery, Sensory Evaluation, and Instrumental Tenderness Measurements of Meat**. 2. ed. Champaign, Illinois: AMSA, 2016. 105p.

AMERICAN SOCIETY FOR TESTING AND MATERIALS (ASTM). **Standard Specification for Tenderness Marketing Claims Associated with Meat Cuts Derived from Beef**. 1. ed. West Conshohocken, Pensilvania: ASTM International, 2011. 3p.

ANDREO, N. et al. Influência da imunocastração (Bopriva®) no ganho de peso, características de carcaça e qualidade da carne de bovinos Nelore. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 34, n. 6Supl2, p. 4121, 17 dez. 2013. Disponível em: <<http://www.uel.br/revistas/uel/index.php/semagrarias/article/view/16645>>.

ANDRÉS, S. et al. The use of visible and near infrared reflectance spectroscopy to predict beef *M. longissimus thoracis et lumborum* quality attributes. **Meat Science**, v. 78, n. 3, p. 217–224, mar. 2008. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0309174007002070>>.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE INSEMINAÇÃO ARTIFICIAL (ASBIA). **Index ASBIA 2017**. 2017. Disponível em <http://www.asbia.org.br/wp-content/uploads/2018/10/INDEX-ASBIA-2017_completo.pdf>. Acesso em: 26 maio. 2020.

BALE, T. L.; EPPERSON, C. N. Sex differences and stress across the lifespan. **Nature Neuroscience**, v. 18, n. 10, p. 1413–1420, 25 out. 2015. Disponível em: <<http://www.nature.com/articles/nn.4112>>.

BATTAGLIA, C. et al. Comparison of methods for measuring shear force and sarcomere length and their relationship with sensorial tenderness of longissimus muscle in beef. **Journal of Texture Studies**, v. 51, n. 2, p. 252–262, abr. 2019. Disponível em: <<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/jtxs.12473>>.

BECILA, S. et al. Postmortem muscle cells die through apoptosis. **European Food Research and Technology**, v. 231, n. 3, p. 485–493, 8 jul. 2010. Disponível em: <<http://link.springer.com/10.1007/s00217-010-1296-5>>.

BECKER, T. Consumer perception of fresh meat quality: a framework for analysis. **British Food Journal**, v. 102, n. 3, p. 158–176, abr. 2000. Disponível em: <<https://www.emerald.com/insight/content/doi/10.1108/00070700010371707/full/html>>.

BEEF POINT. **Conheça as tendências no mercado de carnes e cortes nobres**. Beef Point. 2020. Disponível em: <<https://www.beefpoint.com.br/conheca-as-tendencias-no-mercado-de-carnes-e-cortes-nobres/>>. Acesso em: 08 jul. 2021.

BOITO, B. et al. Perception of beef quality for Spanish and Brazilian consumers. **Meat Science**, v. 172, n. September 2020, p. 108312, 2021. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2020.108312>>.

BONNY, S. P. F. et al. The variation in the eating quality of beef from different sexes and breed classes cannot be completely explained by carcass measurements. **animal**, v. 10, n. 6, p. 987–995, 11 jun. 2016. Disponível em: <https://www.cambridge.org/core/product/identifier/S175173111500292X/type/journal_article>.

BOUDIDA, Y. et al. Serine Protease Inhibitors as Good Predictors of Meat Tenderness: Which Are They and What Are Their Functions? **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 56, n. 6, p. 957–972, 2016.

BOUTON, P. E. et al. A COMPARISON OF THE EFFECTS OF AGING, CONDITIONING AND SKELETAL RESTRAINT ON THE TENDERNESS OF MUTTON. **Journal of Food Science**, v. 38, n. 6, p. 932–937, set. 1973. Disponível em: <<http://doi.wiley.com/10.1111/j.1365-2621.1973.tb02117.x>>.

BRANDSTETTER, A. M. et al. Effects of muscle type, castration, age, and compensatory growth rate on androgen receptor mRNA expression in bovine skeletal muscle. **Journal of Animal Science**, v. 78, n. 3, p. 629, jun. 2000. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0301622601003189>>.

BRASIL. Ministério da Indústria, Comércio Exterior e Serviços. **ComexVis - Importações de carne bovina fresca, refrigerada ou congelada**, 2021. Disponível em: <<http://comexstat.mdic.gov.br/pt/comex-vis>>. Acesso em: 07 jul. 2021.

BRATZLER, L. J. Determining the tenderness of meat by use of the Warner-Bratzler method. In: Reciprocal Meat Conference, 2., 1949, Chicalo, Illinois, **Proceedings of the 2nd Annual Reciprocal Meat Conference**. Chicago: RMC, 1949. p. 117-121.

BRATZLER, L. J. **Measuring the tenderness of meat by means of a mechanical shear**. 1932. Dissertação de Mestrado. Kansas State University, Manhattan, 1932.

BRATZLER, L. J. Using the Warner-Bratzler Shear. In: Reciprocal Meat Conference, 7., 1954, Chicalo, Illinois, **Proceedings of the 7th Annual Reciprocal Meat Conference**. Chicago: RMC, 1954.

BUREŠ, D.; BARTON, L. Growth performance, carcass traits and meat quality of bulls and heifers slaughtered at different ages. **Czech Journal of Animal Science**, v. 57, n. 1, p. 34–43, 2012.

BUREŠ, D.; BARTON, L. Performance, carcass traits and meat quality of Aberdeen Angus, Gascon, Holstein and Fleckvieh finishing bulls. **Livestock Science**, v. 214, p. 231–237, ago. 2018. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1871141318301938>>.

CARRER, M. J.; SOUZA FILHO, H. M. de; VINHOLIS, M. de M. B. Determinants of feedlot adoption by beef cattle farmers in the state of São Paulo. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 42, n. 11, p. 824–830, nov. 2013. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1516-35982013001100009&lng=en&tling=en>.

CARVALHO, M. E. et al. Heat shock and structural proteins associated with meat tenderness in Nellore beef cattle, a *Bos indicus* breed. **Meat Science**, v. 96, n. 3, p. 1318–1324, mar. 2014. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.meatsci.2013.11.014>>.

CHOAT, W. T. et al. The effects of cattle sex on carcass characteristics and longissimus muscle palatability^{1,2}. **Journal of Animal Science**, v. 84, n. 7, p. 1820–1826, 1 jul. 2006. Disponível em:

<<https://academic.oup.com/jas/article/84/7/1820/4778810>>.

CHRIKI, S. et al. Cluster analysis application identifies muscle characteristics of importance for beef tenderness. **BMC Biochemistry**, v. 13, n. 1, p. 29, 2012. Disponível em: <<http://www.biomedcentral.com/1471-2091/13/29>>.

CONTRERAS-CASTILLO, C. J. et al. The effect of electrical stimulation on post mortem myofibrillar protein degradation and small heat shock protein kinetics in bull beef. **Meat Science**, v. 113, p. 65–72, 2016.

CROUSE, J. D. et al. Comparisons of and Inheritance for Carcass Beef Characteristics and Meat Palatability. **Journal of Animal Science**, v. 67, n. 10, p. 2661, 1989. Disponível em: <<https://academic.oup.com/jas/article/67/10/2661-2668/4697042>>.

DAYTON, W. R.; WHITE, M. E. Cellular and molecular regulation of muscle growth and development in meat animals. **Journal of Animal Science**, v. 86, n. suppl_14, p. E217–E225, 1 abr. 2008. Disponível em: <https://academic.oup.com/jas/article/86/suppl_14/E217/4789997>.

DAZA, A. et al. Effect of gender on growth performance, carcass characteristics and meat and fat quality of calves of Avileña-Negra Ibérica breed fattened under free-range conditions. **Spanish Journal of Agricultural Research**, v. 12, n. 3, p. 683, 16 jul. 2014. Disponível em: <<http://revistas.inia.es/index.php/sjar/article/view/4693>>.

DE KLOET, E. R.; JOËLS, M.; HOLLSBOER, F. Stress and the brain: from adaptation to disease. **Nature Reviews Neuroscience**, v. 6, n. 6, p. 463–475, 13 jun. 2005. Disponível em: <<http://www.nature.com/articles/nrn1683>>.

DE MOURA SOUZA, G. et al. Tough aged meat presents greater expression of calpastatin, which presents postmortem protein profile and tenderization related to Nellore steer temperament. **Meat Science**, v. 156, n. December 2018, p. 131–138, out. 2019. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2019.05.017>>.

DE OLIVEIRA, L. G. et al. Association of calpain and calpastatin activity to postmortem myofibrillar protein degradation and sarcoplasmic proteome changes in bovine Longissimus lumborum and Triceps brachii. **Meat Science**, v. 155, n. December 2018, p. 50–60, set. 2019. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0309174018311847>>.

DEL CAMPO, M. et al. Animal welfare and meat quality: The perspective of Uruguay,

a “small” exporter country. **Meat Science**, v. 98, n. 3, p. 470–476, nov. 2014. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.meatsci.2014.07.004>>.

DELGADO, E. F.; SANTOS, C. C. Fatores anteriores e posteriores ao abate que influenciam a qualidade da carne. In: Pires, A. V. **Bovinocultura de corte**. 1. ed. Piracicaba: FEALQ, 2010. v. II, p. 761-1510.

DESTEFANIS, G. et al. Relationship between beef consumer tenderness perception and Warner–Bratzler shear force. **Meat Science**, v. 78, n. 3, p. 153–156, mar. 2008. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0309174007001970>>.

DEVINE, C. E. Conversion of Muscle to Meat: Aging. In: Dikeman, M; Devine, C. **Encyclopedia of Meat Sciences**. 2. ed. Londres: Academic Press, 2014. v. I, p. 329-338.

DOS SANTOS, P. R. et al. Tenderness and oxidative stability of Nellore bulls steaks packaged under vacuum or modified atmosphere during storage at 2°C. **Food Packaging and Shelf Life**, v. 4, p. 10–18, jun. 2015. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.fpsl.2015.03.002>>.

EARNSHAW, W. C.; MARTINS, L. M.; KAUFMANN, S. H. Mammalian Caspases: Structure, Activation, Substrates, and Functions During Apoptosis. **Annual Review of Biochemistry**, v. 68, n. 1, p. 383–424, jun. 1999. Disponível em: <<http://www.annualreviews.org/doi/10.1146/annurev.biochem.68.1.383>>.

ELZO, M. A. et al. Carcass and meat palatability breed differences and heterosis effects in an Angus–Brahman multibreed population. **Meat Science**, v. 90, n. 1, p. 87–92, jan. 2012. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.meatsci.2011.06.010>>.

ERTBJERG, P.; PUOLANNE, E. Muscle structure, sarcomere length and influences on meat quality: A review. **Meat Science**, v. 132, n. April, p. 139–152, 2017.

FABRE, R. et al. Cooking method effect on Warner-Bratzler shear force of different beef muscles. **Meat Science**, v. 138, p. 10–14, abr. 2018. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.meatsci.2017.12.005>>.

FAVERO, R. et al. Crossbreeding applied to systems of beef cattle production to improve performance traits and carcass quality. **animal**, v. 13, n. 11, p. 2679–2686, 8 nov. 2019. Disponível em: <https://www.cambridge.org/core/product/identifier/S1751731119000855/type/journal_article>.

FERRAZ, J. B. S.; FELÍCIO, P. E. de. Production systems – An example from Brazil. **Meat Science**, v. 84, n. 2, p. 238–243, fev. 2010. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.meatsci.2009.06.006>>.

FONT-I-FURNOLS, M.; GUERRERO, L. Consumer preference, behavior and perception about meat and meat products: An overview. **Meat Science**, v. 98, n. 3, p. 361–371, nov. 2014. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.meatsci.2014.06.025>>.

FRITSCH, S.; STEINHART, H. Differences in Natural Steroid Hormone Patterns of Beef from Bulls and Steers. **Journal of Animal Science**, v. 76, n. 6, p. 1621–1625, 1998.

FUENTES-PRIOR, P.; SALVESEN, G. S. The protein structures that shape caspase activity, specificity, activation and inhibition. **Biochemical Journal**, v. 384, n. 2, p. 201–232, 2004. Disponível em: <<http://biochemj.org/lookup/doi/10.1042/BJ20041142>>.

GAGAOUA, M. et al. Caspases and Thrombin Activity Regulation by Specific Serpin Inhibitors in Bovine Skeletal Muscle. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, v. 177, n. 2, p. 279–303, 2015.

GAGAOUA, M. et al. Sensory quality of meat from eight different types of cattle in relation with their biochemical characteristics. **Journal of Integrative Agriculture**, v. 15, n. 7, p. 1550–1563, jul. 2016. Disponível em: <[http://dx.doi.org/10.1016/S2095-3119\(16\)61340-0](http://dx.doi.org/10.1016/S2095-3119(16)61340-0)>.

GAGAOUA, M. et al. Reverse phase protein arrays for the identification/validation of biomarkers of beef texture and their use for early classification of carcasses. **Food Chemistry**, v. 250, p. 245–252, jun. 2018. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.01.070>>.

GAGAOUA, M. et al. Molecular signatures of beef tenderness: Underlying mechanisms based on integromics of protein biomarkers from multi-platform proteomics studies. **Meat Science**, v. 172, n. September 2020, p. 108311, 2021. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2020.108311>>.

GAMA, L. T. et al. Heterosis for meat quality and fatty acid profiles in crosses among *Bos indicus* and *Bos taurus* finished on pasture or grain. **Meat Science**, v. 93, n. 1, p. 98–104, jan. 2013. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.meatsci.2012.08.005>>.

GOLL, D. E. et al. The Calpain System. **Physiological Reviews**, v. 83, n. 3, p. 731–801, jul. 2003. Disponível em: <<http://www.physiology.org/doi/10.1152/physrev.00029.2002>>.

GÓMEZ, J. F. M. et al. Effects of immunocastration on the performance and meat quality traits of feedlot-finished Bos indicus (Nellore) cattle. **Animal Production Science**, v. 59, n. 1, p. 183, 2017. Disponível em: <<http://www.publish.csiro.au/?paper=AN17102>>.

GRANDIN, T.; SHIVLEY, C. How Farm Animals React and Perceive Stressful Situations Such As Handling, Restraint, and Transport. **Animals**, v. 5, n. 4, p. 1233–1251, 1 dez. 2015. Disponível em: <<http://www.mdpi.com/2076-2615/5/4/0409>>.

HAN, X. et al. Effects of active immunization against GnRH versus surgical castration on hypothalamic-pituitary function in boars. **Theriogenology**, v. 97, p. 89–97, jul. 2017. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0093691X1730198X>>.

HERRERA-MENDEZ, C. H. et al. Meat ageing: Reconsideration of the current concept. **Trends in Food Science and Technology**, v. 17, n. 8, p. 394–405, 2006.

HERRING, H. K. et al. Tenderness and Associated Characteristics of Stretched and Contracted Bovine Muscles. **Journal of Food Science**, v. 32, n. 3, p. 317–323, 28 jun. 1967. Disponível em: <http://doi.wiley.com/10.1111/j.1365-2621.1967.tb01321_32_3.x>.

HOCQUETTE, J. F. et al. Intramuscular fat content in meat-producing animals: development, genetic and nutritional control, and identification of putative markers. **animal**, v. 4, n. 02, p. 303–319, 23 fev. 2010. Disponível em: <http://www.journals.cambridge.org/abstract_S1751731109991091>.

HOLMAN, B. W. B. et al. Effect of Beef Pre-Cooking Status (Frozen V. Thawed) and Sample Weight on Shear Force Evaluation. **Food Analytical Methods**, v. 10, n. 10, p. 3235–3238, 8 out. 2017. Disponível em: <<http://link.springer.com/10.1007/s12161-017-0895-1>>.

HOLMAN, B. W. B. et al. Using shear force, sarcomere length, particle size, collagen content, and protein solubility metrics to predict consumer acceptance of aged beef tenderness. **Journal of texture studies**, n. March, p. 1–8, 7 abr. 2020. Disponível em: <<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/jtxs.12523>>.

HONIKEL, K. O. Chemical and Physical Characteristics of Meat: pH Measurement. In: Dikeman, M; Devine, C. **Encyclopedia of Meat Sciences**. 2. ed. Londres: Academic Press, 2014a. v. I, p. 262-266.

HONIKEL, K. O. Conversion of Muscle to Meat: Rigor Mortis, Cold, and Rigor Shortening. In: Dikeman, M; Devine, C. **Encyclopedia of Meat Sciences**. 2. ed. Londres: Academic Press, 2014b. v. I, p. 358-365.

HOOD, D. E.; RIORDAN, E. B. Discolouration in pre-packaged beef: measurement by reflectance spectrophotometry and shopper discrimination. **International Journal of Food Science & Technology**, v. 8, n. 3, p. 333–343, 28 jun. 2007. Disponível em: <<http://doi.wiley.com/10.1111/j.1365-2621.1973.tb01721.x>>.

HOPKINS, D. L. The Eating Quality of Meat. In: **Lawrie's Meat Science**. [s.l.] Elsevier, 2017. p. 357–381.

HOPKINS, D. L.; TAYLOR, R. G. *Post mortem* muscle proteolysis and meat tenderisation. In: **Muscle Development of Livestock Animals: Physiology, Genetics, and Meat Quality**. CABI Publishing, 2002. p. 363–389.

HOPKINS, D. L.; THOMPSON, J. M. Factors contributing to proteolysis and disruption of myofibrillar proteins and the impact on tenderisation in beef and sheep meat. **Australian Journal of Agricultural Research**, v. 53, n. 2, p. 149–166, 2002.

HUFF-LONERGAN, E. Tenderizing Mechanisms: Enzymatic. In: Dikeman, M; Devine, C. **Encyclopedia of Meat Sciences**. 2. ed. Londres: Academic Press, 2014. v. III, p. 438-442.

HUFF-LONERGAN, E. et al. Proteolysis of specific muscle structural proteins by mu-calpain at low pH and temperature is similar to degradation in postmortem bovine muscle. **Journal of Animal Science**, v. 74, n. 5, p. 993, 1996. Disponível em: <<https://academic.oup.com/jas/article/74/5/993-1008/4639134>>.

HUFF-LONERGAN, E.; PARRISH, F. C.; ROBSON, R. M. Effects of postmortem aging time, animal age, and sex on degradation of titin and nebulin in bovine longissimus muscle. **Journal of animal science**, v. 73, n. 4, p. 1064–1073, 1995.

HUFF LONERGAN, E.; ZHANG, W.; LONERGAN, S. M. Biochemistry of postmortem muscle — Lessons on mechanisms of meat tenderization. **Meat Science**, v. 86, n. 1,

p. 184–195, set. 2010. Disponível em:
<<http://dx.doi.org/10.1016/j.meatsci.2010.05.004>>.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA (IBGE). **Número de informantes, quantidade e peso total das carcaças dos bovinos abatidos, no mês e no trimestre, por tipo de rebanho e tipo de inspeção**. 2020. Disponível em: <<https://sidra.ibge.gov.br/tabela/1092#resultado>>. Acesso em: 26 maio. 2020.

JEREMIAH, L. E. The influence of subcutaneous fat thickness and marbling on beef. **Food Research International**, v. 29, n. 5–6, p. 513–520, jun. 1996. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S096399699600049X>>.

JEREMIAH, L. E.; TONG, A. K. W.; GIBSON, L. L. The usefulness of muscle color and pH for segregating beef carcasses into tenderness groups. **Meat Science**, v. 30, n. 2, p. 97–114, jan. 1991. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/0309174091900017>>.

JIN, J.-M.; YANG, W.-X. Molecular regulation of hypothalamus–pituitary–gonads axis in males. **Gene**, v. 551, n. 1, p. 15–25, nov. 2014. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.gene.2014.08.048>>.

KEMP, C. M. et al. Tenderness – An enzymatic view. **Meat Science**, v. 84, n. 2, p. 248–256, fev. 2010. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.meatsci.2009.06.008>>.

KILGANNON, A. K. et al. The effect of different temperature-time combinations when ageing beef: Sensory quality traits and microbial loads. **Meat Science**, v. 150, n. August 2018, p. 23–32, abr. 2019. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0309174018307824>>.

KIM, M. et al. Effects of Aging and Aging Method on Physicochemical and Sensory Traits of Different Beef Cuts. **Food Science of Animal Resources**, v. 39, n. 1, p. 54–64, fev. 2019. Disponível em: <http://www.kosfaj.org/archive/view_article?doi=10.5851/kosfa.2019.e3>.

KIM, Y. H. B. et al. Understanding postmortem biochemical processes and post-harvest aging factors to develop novel smart-aging strategies. **Meat Science**, v. 144, n. April, p. 74–90, out. 2018. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0309174018302018>>.

KIM, Y. H. B.; KEMP, R.; SAMUELSSON, L. M. Effects of dry-aging on meat quality

attributes and metabolite profiles of beef loins. **Meat Science**, v. 111, p. 168–176, jan. 2016. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.meatsci.2015.09.008>>.

KING, D. A. et al. Influence of animal temperament and stress responsiveness on the carcass quality and beef tenderness of feedlot cattle. **Meat Science**, v. 74, n. 3, p. 546–556, nov. 2006. Disponível em: <<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0309174006001501>>.

KOOHMARAIE, M. The role of Ca²⁺-dependent proteases (calpains) in post mortem proteolysis and meat tenderness. **Biochimie**, v. 74, n. 3, p. 239–245, 1992.

KOOHMARAIE, M. Biochemical factors regulating the toughening and tenderization processes of meat. **Meat Science**, v. 43, n. SUPPL. 1, p. 193–201, 1996.

KOOLMEES, P. A.; KORTEKNIE, F.; SMULDERS, F. J. M. Accuracy and Utility of Sarcomere Length Assessment by Laser Diffraction. **Food Structure**, v. 5, n. 1, p. 71–76, 1986. Disponível em: <<http://digitalcommons.usu.edu/foodmicrostructure>>.

LACOURT, A.; TARRANT, P. V. Glycogen depletion patterns in myofibres of cattle during stress. **Meat Science**, v. 15, n. 2, p. 85–100, jan. 1985. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/030917408590049X>>.

LAGE, J. F. et al. Influence of genetic type and level of concentrate in the finishing diet on carcass and meat quality traits in beef heifers. **Meat Science**, v. 90, n. 3, p. 770–774, mar. 2012. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0309174011003676>>.

LANA, A.; ZOLLA, L. Apoptosis or autophagy, that is the question: Two ways for muscle sacrifice towards meat. **Trends in Food Science and Technology**, v. 46, n. 2, p. 231–241, 2015.

LANA, A.; ZOLLA, L. Proteolysis in meat tenderization from the point of view of each single protein: A proteomic perspective. **Journal of Proteomics**, v. 147, p. 85–97, 2016. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.jprot.2016.02.011>>.

LINDAHL, G.; LUNDSTRÖM, K.; TORNBERG, E. Contribution of pigment content, myoglobin forms and internal reflectance to the colour of pork loin and ham from pure breed pigs. **Meat Science**, v. 59, n. 2, p. 141–151, out. 2001. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S030917400100064X>>.

LISTRAT, A. et al. Contribution of connective tissue components, muscle fibres and marbling to beef tenderness variability in longissimus thoracis, rectus abdominis, semimembranosus and semitendinosus muscles. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 100, n. 6, p. 2502–2511, 9 abr. 2020. Disponível em: <<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/jsfa.10275>>.

LOCKER, R. H. DEGREE OF MUSCULAR CONTRACTION AS A FACTOR IN TENDERNESS OF BEEF. **Journal of Food Science**, v. 25, n. 2, p. 304–307, mar. 1960. Disponível em: <<http://doi.wiley.com/10.1111/j.1365-2621.1960.tb00335.x>>.

LOMIWES, D. et al. The development of meat tenderness is likely to be compartmentalised by ultimate pH. **Meat Science**, v. 96, n. 1, p. 646–651, 2014a.

LOMIWES, D. et al. Small heat shock proteins and their role in meat tenderness: A review. **Meat Science**, v. 96, n. 1, p. 26–40, 2014b. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.meatsci.2013.06.008>>.

LONG, C. R. Crossbreeding for beef production: experimental results. **Journal of Animal Science**, v. 51, n. 5, p. 1197–1223, 1 nov. 1980. Disponível em: <<https://academic.oup.com/jas/article/51/5/1197-1223/4661841>>.

LU, X. et al. Association of ultimate pH and stress-related blood variables in cattle. **Meat Science**, v. 139, p. 228–230, maio 2018. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.meatsci.2018.02.004>>.

MA, D.; KIM, Y. H. B. Proteolytic changes of myofibrillar and small heat shock proteins in different bovine muscles during aging: Their relevance to tenderness and water-holding capacity. **Meat Science**, v. 163, n. November 2019, p. 108090, maio 2020. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2020.108090>>.

MACDOUGALL, D. B. Changes in the colour and opacity of meat. **Food Chemistry**, v. 9, n. 1–2, p. 75–88, jul. 1982. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/030881468290070X>>.

MAGALHÃES, A. F. B. et al. Genome-Wide Association Study of Meat Quality Traits in Nellore Cattle. **PLOS ONE**, v. 11, n. 6, p. e0157845, 30 jun. 2016. Disponível em: <<https://dx.plos.org/10.1371/journal.pone.0157845>>.

MALHEIROS, J. M. et al. Influence of oxidative damage to proteins on meat tenderness using a proteomics approach. **Meat Science**, v. 148, n. August 2018, p. 64–71, fev. 2019. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2018.08.016>>.

MALTIN, C. et al. Determinants of meat quality: tenderness. **Proceedings of the Nutrition Society**, v. 62, n. 2, p. 337–347, 5 maio 2003. Disponível em: <https://www.cambridge.org/core/product/identifier/S0029665103000491/type/journal_article>.

MANCINI, R. A.; HUNT, M. C. Current research in meat color. **Meat Science**, v. 71, n. 1, p. 100–121, set. 2005. Disponível em: <<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S030917400500094X>>.

MIGUEL, G. Z. et al. Immunocastration improves carcass traits and beef color attributes in Nellore and Nellore×Aberdeen Angus crossbred animals finished in feedlot. **Meat Science**, v. 96, n. 2, p. 884–891, fev. 2014. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.meatsci.2013.08.030>>.

MILLER, M. F. et al. Consumer Acceptability of Beef Steak Tenderness in the Home and Restaurant. **Journal of Food Science**, v. 60, n. 5, p. 963–965, set. 1995. Disponível em: <<http://doi.wiley.com/10.1111/j.1365-2621.1995.tb06271.x>>.

MILLER, M. F. et al. Consumer thresholds for establishing the value of beef tenderness. **Journal of Animal Science**, v. 79, n. 12, p. 3062–3068, 2001.

MILLER, R. K. Chemical and Physical Characteristics of Meat: Palatability. In: Dikeman, M; Devine, C. Encyclopedia of Meat Sciences. 2. ed. Londres: Academic Press, 2014. v. I, p. 252-262.

MODZELEWSKA-KAPITUŁA, M.; NOGALSKI, Z. Effect of gender on collagen profile and tenderness of infraspinatus and semimembranosus muscles of Polish Holstein-Friesian x Limousine crossbred cattle. **Livestock Science**, v. 167, n. 1, p. 417–424, 2014.

MOITINHO, F. **Brasil, maior exportador global de carne bovina, importou 50,8 mil toneladas premium em 2020**. Portal DBO. 2021. Disponível em: <<https://www.portaldbo.com.br/brasil-maior-exportador-global-de-carne-bovina-importou-508-mil-toneladas-premium-em-2020/>>. Acesso em: 08 jul. 2021.

MONIN, G. Recent methods for predicting quality of whole meat. **Meat Science**, v. 49, n. SUPPL. 1, p. 231–243, 1998.

MORAN, L. et al. Effect of a grazing period prior to finishing on a high concentrate

diet on meat quality from bulls and steers. **Meat Science**, v. 125, p. 76–83, mar. 2017. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.meatsci.2016.11.021>>.

MORMÈDE, P. et al. Exploration of the hypothalamic–pituitary–adrenal function as a tool to evaluate animal welfare. **Physiology & Behavior**, v. 92, n. 3, p. 317–339, out. 2007. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0031938406005191>>.

MUCHENJE, V. et al. Some biochemical aspects pertaining to beef eating quality and consumer health: A review. **Food Chemistry**, v. 112, n. 2, p. 279–289, jan. 2009. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0308814608006432>>.

MUELLER, L. F. et al. Gender status effect on carcass and meat quality traits of feedlot Angus × Nellore cattle. **Animal Science Journal**, v. 90, n. 8, p. 1078–1089, 25 ago. 2019. Disponível em: <<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/asj.13250>>.

NUNES, J. L. et al. Beef quality parameters estimation using ultrasound and color images. **BMC Bioinformatics**, v. 16, n. 4, p. 1–12, 2015.
O'CONNOR, S. F. et al. Genetic effects on beef tenderness in Bos indicus composite and Bos taurus cattle. **Journal of Animal Science**, v. 75, n. 7, p. 1822, 1997. Disponível em: <<https://academic.oup.com/jas/article/75/7/1822-1830/4625046>>.

OFFER, G. Progress in the biochemistry, physiology and structure of meat. Bristol, Inglaterra, **Proceedings of the 30th European Meeting of Meat Research Workers**. 1984.

OFFER, G. et al. The structural basis of the water-holding, appearance and toughness of meat and meat products. **Food Microstructure**, v. 8, n. 1, p. 151–170, 1989.

OLIVEIRA JÚNIOR, G. A. et al. Genotype imputation in a tropical crossbred dairy cattle population. **Journal of Dairy Science**, v. 100, n. 12, p. 9623–9634, dez. 2017. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.3168/jds.2017-12732>>.

OLIVEIRA, M. M.; SANTANA, M. L.; CARDOSO, F. F. Multiple-breed reaction norm animal model accounting for robustness and heteroskedastic in a Nelore–Angus crossed population. **Animal**, v. 10, n. 7, p. 1093–1100, 12 jul. 2016. Disponível em: <https://www.cambridge.org/core/product/identifier/S1751731115002815/type/journal_article>.

OUALI, A. et al. Revisiting the conversion of muscle into meat and the underlying mechanisms. **Meat Science**, v. 74, n. 1, p. 44–58, 2006.

OUALI, A. et al. Biomarkers of meat tenderness: Present knowledge and perspectives in regards to our current understanding of the mechanisms involved. **Meat Science**, v. 95, n. 4, p. 854–870, dez. 2013. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.meatsci.2013.05.010>>.

OWENS, F. N.; DUBESKI, P.; HANSON, C. F. Factors that alter the growth and development of ruminants. **Journal of Animal Science**, v. 71, n. 11, p. 3138–3150, 1 nov. 1993. Disponível em: <<https://academic.oup.com/jas/article/71/11/3138-3150/4719016>>.

OYOLA, M. G.; HANDA, R. J. Hypothalamic–pituitary–adrenal and hypothalamic–pituitary–gonadal axes: sex differences in regulation of stress responsivity. **Stress**, v. 20, n. 5, p. 476–494, 3 set. 2017. Disponível em: <<https://doi.org/10.1080/10253890.2017.1369523>>.

PARK, B. Y. et al. Tenderization potential of Hanwoo beef muscles from carcasses with differed genders and loin intramuscular fat content levels during post mortem ageing. **Animal Science Journal**, v. 86, n. 6, p. 646–654, jun. 2015. Disponível em: <<http://doi.wiley.com/10.1111/asj.12339>>.

PARK, S. J. et al. Genetic, management, and nutritional factors affecting intramuscular fat deposition in beef cattle - A review. **Asian-Australasian Journal of Animal Sciences**, v. 31, n. 7, p. 1043–1061, 2018.

PEREIRA, A. S. C. et al. Growth performance, and carcass and meat quality traits in progeny of Poll Nellore, Angus and Brahman sires under tropical conditions. **Animal Production Science**, v. 55, n. 10, p. 1295, 2015. Disponível em: <<http://www.publish.csiro.au/?paper=AN13505>>.

PÉREZ-LINARES, C. et al. Effect of immunocastration with Bopriva on carcass characteristics and meat quality of feedlot Holstein bulls. **Meat Science**, v. 123, p. 45–49, 2017. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.meatsci.2016.08.006>>.

PICARD, B. et al. Skeletal muscle proteomics in livestock production. **Briefings in Functional Genomics and Proteomics**, v. 9, n. 3, p. 259–278, 2010.

PICARD, B.; GAGAOUA, M. Meta-proteomics for the discovery of protein biomarkers

of beef tenderness: An overview of integrated studies. **Food Research International**, v. 127, p. 108739, jan. 2020. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.foodres.2019.108739>>.

PICARD, B.; GAGAOUA, M. Proteomic Investigations of Beef Tenderness. In: **Proteomics in Food Science**. [s.l.] Elsevier, 2017. 9p. 177–197.

PLATTER, W. J. et al. Effects of marbling and shear force on consumers' willingness to pay for beef strip loin steaks. **Journal of Animal Science**, v. 83, n. 4, p. 890–899, 1 abr. 2005. Disponível em: <<https://academic.oup.com/jas/article/83/4/890/4790769>>.

POLKINGHORNE, R. J.; THOMPSON, J. M. Meat standards and grading. **Meat Science**, v. 86, n. 1, p. 227–235, set. 2010. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.meatsci.2010.05.010>>.

PURCHAS, R. W.; AUNGSUPAKORN, R. Further investigations into the relationship between ultimate pH and tenderness for beef samples from bulls and steers. **Meat Science**, v. 34, n. 2, p. 163–178, jan. 1993. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/030917409390025D>>.

PURCHAS, R. W.; TRIUMF, E. C.; EGELANDSDAL, B. Quality characteristics and composition of the longissimus muscle in the short-loin from male and female farmed red deer in New Zealand. **Meat Science**, v. 86, n. 2, p. 505–510, out. 2010. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.meatsci.2010.05.043>>.

PURSLOW, P. P. et al. The structural basis of cooking loss in beef: Variations with temperature and ageing. **Food Research International**, v. 89, p. 739–748, nov. 2016. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.foodres.2016.09.010>>.

REES, M. P.; TROUT, G. R.; WARNER, R. D. The influence of the rate of pH decline on the rate of ageing for pork. II: Interaction with chilling temperature. **Meat Science**, v. 65, n. 2, p. 805–818, out. 2003. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0309174002002851>>.

REUL, J. M. H. M.; KLOET, E. R. DE. Two Receptor Systems for Corticosterone in Rat Brain: Microdistribution and Differential Occupation. **Endocrinology**, v. 117, n. 6, p. 2505–2511, dez. 1985. Disponível em: <<https://academic.oup.com/endo/article-lookup/doi/10.1210/endo-117-6-2505>>.

RIBEIRO, E. L. d. A. et al. Growth and carcass characteristics of pasture fed LHRH

immunocastrated, castrated and intact *Bos indicus* bulls. **Meat Science**, v. 68, n. 2, p. 285–290, out. 2004. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0309174004000786>>.

RICO, E.; TOLDRÁ, F.; FLORES, J. Assay of Cathepsin D activity in fresh pork muscle and dry-cured ham. **Meat Science**, v. 29, n. 4, p. 287–293, jan. 1991. Disponível em: <<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/030917409190008E>>.

RIVIER, C.; VALE, W. Effects of corticotropin-releasing factor, neurohypophyseal peptides, and catecholamines on pituitary function. **Federation Proceedings**, v. 44(1 Pt 2), p. 189–195, 1985.

ROBERT, N. et al. The effect of proteasome on myofibrillar structures in bovine skeletal muscle. **Meat Science**, v. 51, n. 2, p. 149–153, fev. 1999. Disponível em: <<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0309174098001132>>.

RODAS-GONZÁLEZ, A. et al. Establishing tenderness thresholds of Venezuelan beef steaks using consumer and trained sensory panels. **Meat Science**, v. 83, n. 2, p. 218–223, out. 2009. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.meatsci.2009.04.021>>.

RODRIGUES, R. T. de S. et al. Differences in Beef Quality between Angus (*Bos taurus taurus*) and Nellore (*Bos taurus indicus*) Cattle through a Proteomic and Phosphoproteomic Approach. **PLOS ONE**, v. 12, n. 1, p. e0170294, 19 jan. 2017. Disponível em: <<https://dx.plos.org/10.1371/journal.pone.0170294>>.

ROSENVOLD, K.; BORUP, U.; THERKILDSEN, M. Stepwise chilling: Tender pork without compromising water-holding capacity1. **Journal of Animal Science**, v. 88, n. 5, p. 1830–1841, 1 maio 2010. Disponível em: <<https://academic.oup.com/jas/article/88/5/1830-1841/4745655>>.

ROTTA, P. P. et al. The Effects of Genetic Groups, Nutrition, Finishing Systems and Gender of Brazilian Cattle on Carcass Characteristics and Beef Composition and Appearance: A Review. **Asian-Australasian Journal of Animal Sciences**, v. 22, n. 12, p. 1718–1734, 21 out. 2009. Disponível em: <<http://ajas.info/journal/view.php?doi=10.5713/ajas.2009.90071>>.

SAÑUDO, C. et al. Fatty acid composition and sensory characteristics of lamb carcasses from Britain and Spain. **Meat Science**, v. 54, n. 4, p. 339–346, abr. 2000. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0309174099001084>>.

SAWDY, J. C. et al. Myofibrillar 1-D fingerprints and myosin heavy chain MS analyses of beef loin at 36 h postmortem correlate with tenderness at 7 days. **Meat Science**, v. 67, n. 3, p. 421–426, jul. 2004. Disponível em: <<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0309174003003243>>.

SCARLET, D. et al. Anti-Muellerian hormone, inhibin A, gonadotropins, and gonadotropin receptors in bull calves after partial scrotal resection, orchidectomy, and Burdizzo castration. **Theriogenology**, v. 87, p. 242–249, jan. 2016. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0093691X16303958>>.

SCHULZ, L.; SUNDRUM, A. Assessing marbling scores of beef at the 10th rib vs. 12th rib of longissimus thoracis in the slaughter line using camera grading technology in Germany. **Meat Science**, v. 152, n. February, p. 116–120, 2019.

SEIDEMAN, S. C. et al. Utilization of the Intact Male for Red Meat Production: a Review. **Journal of Animal Science**, v. 55, p. 826–840, 1982.

SEIDEMAN, S. C.; CROSS, H. R.; CROUSE, J. D. CARCASS CHARACTERISTICS, SENSORY PROPERTIES AND MINERAL CONTENT OF MEAT FROM BULLS AND STEERS. **Journal of Food Quality**, v. 11, n. 6, p. 497–507, fev. 1989. Disponível em: <<http://doi.wiley.com/10.1111/j.1745-4557.1989.tb00912.x>>.

SENTANDREU, M. A.; COULIS, G.; OUALI, A. Role of muscle endopeptidases and their inhibitors in meat tenderness. **Trends in Food Science and Technology**, v. 13, n. 12, p. 398–419, 2002.

SHACKELFORD, S. D. et al. Identification of threshold levels for warner-bratzler shear force in beef top loin steaks. **Journal of Muscle Foods**, v. 2, n. 4, p. 289–296, out. 1991. Disponível em: <<http://doi.wiley.com/10.1111/j.1745-4573.1991.tb00461.x>>.

SHACKELFORD, S. D.; WHEELER, T. L.; KOOHMARAIE, M. Relationship between shear force and trained sensory panel tenderness ratings of 10 major muscles from *Bos indicus* and *Bos taurus* cattle. **Journal of Animal Science**, v. 73, n. 11, p. 3333–3340, 1 nov. 1995. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8586592>>.

SILVA-VIGNATO, B. et al. Comparative muscle transcriptome associated with carcass traits of Nellore cattle. **BMC Genomics**, v. 18, n. 1, p. 1–13, 2017.

SILVA, L. H. P. et al. Explaining meat quality of bulls and steers by differential

proteome and phosphoproteome analysis of skeletal muscle. **Journal of Proteomics**, v. 199, n. December 2018, p. 51–66, maio 2019. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.jprot.2019.03.004>>.

SMITH, R. D. et al. Dry versus wet aging of beef: Retail cutting yields and consumer palatability evaluations of steaks from US Choice and US Select short loins. **Meat Science**, v. 79, n. 4, p. 631–639, ago. 2008. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0309174007003324>>.

SMITH, G.; GRIFFIN, D.; JOHNSON, K. **Meat Evaluation Handbook**. 2. Ed. Champaign, Illinois: American Meat Science Association, 2013. 160 p.

STAFFORD, K. J.; MELLOR, D. The welfare significance of the castration of cattle: A review. **New Zealand Veterinary Journal**, v. 53, n. 5, p. 271–278, 2005.

SUGIYAMA, Y. et al. Muscle Develops a Specific Form of Small Heat Shock Protein Complex Composed of MKBP/HSPB2 and HSPB3 during Myogenic Differentiation. **Journal of Biological Chemistry**, v. 275, n. 2, p. 1095–1104, jan. 2000. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1074/jbc.275.2.1095>>.

TAILLANDIER, D. et al. The role of ubiquitin–proteasome-dependent proteolysis in the remodelling of skeletal muscle. **Proceedings of the Nutrition Society**, v. 63, n. 2, p. 357–361, 1 maio 2004. Disponível em: <<http://www.ingentaselect.com/rpsv/cgi-bin/cgi?ini=xref&body=linker&reqdoi=10.1079/PAR2004358>>.

TAYLOR, R. G. et al. Is Z-disk degradation responsible for postmortem tenderization? **Journal of animal science**, v. 73, n. 5, p. 1351–67, maio 1995. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7665364>>.

TOLDRÁ, F. et al. Muscle and Adipose Tissue Aminopeptidase Activities in Raw and Dry-Cured Ham. **Journal of Food Science**, v. 57, n. 4, p. 816–818, jul. 1992. Disponível em: <<http://doi.wiley.com/10.1111/j.1365-2621.1992.tb14301.x>>.

TORNBERG, E. Effects of heat on meat proteins – Implications on structure and quality of meat products. **Meat Science**, v. 70, n. 3, p. 493–508, jul. 2005. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0309174005000434>>.

ULRICH-LAI, Y. M.; HERMAN, J. P. Neural regulation of endocrine and autonomic stress responses. **Nature Reviews Neuroscience**, v. 10, n. 6, p. 397–409, 13 jun. 2009. Disponível em: <<http://www.nature.com/articles/nrn2647>>.

UNITED STATES DEPARTMENT OF AGRICULTURE (USDA). **Livestock and Poultry: World Markets and Trade**, 2020. Disponível em: <https://apps.fas.usda.gov/psdonline/circulars/livestock_poultry.pdf>. Acesso em: 26 mai. 2020.

VAN BA, H. et al. Effect of marbling and chilled ageing on meat-quality traits, volatile compounds and sensory characteristics of beef longissimus dorsi muscle. **Animal Production Science**, v. 57, n. 5, p. 981, 2017. Disponível em: <<http://www.publish.csiro.au/?paper=AN15676>>.

VENKATA REDDY, B. et al. Beef quality traits of heifer in comparison with steer, bull and cow at various feeding environments. **Animal Science Journal**, v. 86, n. 1, p. 1–16, jan. 2015. Disponível em: <<http://doi.wiley.com/10.1111/asj.12266>>.

VIAU, V.; MEANEY, M. J. Variations in the Hypothalamic-Pituitary-Adrenal Response to Stress during the Estrous Cycle in the Rat. **Endocrinology**, v. 129, n. 5, p. 2503–2511, nov. 1991. Disponível em: <<https://academic.oup.com/endo/article-lookup/doi/10.1210/endo-129-5-2503>>.

VOISINET, B. D. et al. Bos indicus-cross feedlot cattle with excitable temperaments have tougher meat and a higher incidence of borderline dark cutters. **Meat Science**, v. 46, n. 4, p. 367–377, ago. 1997. Disponível em: <<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0309174097000314>>.

WANG, D. Y. et al. Proteolysis and cathepsin activities in the processing of dry-cured duck. **Poultry Science**, v. 93, n. 3, p. 687–694, 1 mar. 2014. Disponível em: <<http://academic.oup.com/ps/article/93/3/687/1556020/Proteolysis-and-cathepsin-activities-in-the>>.

WARNER, R. D. et al. Genetic and environmental effects on meat quality. **Meat Science**, v. 86, n. 1, p. 171–183, set. 2010. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.meatsci.2010.04.042>>.

WARNER, K. F. Adventures in testing meat for tenderness. In: Reciprocal Meat Conference, 5., 1952, Chicalo, Illinois, **Proceedings of the 5th Annual Reciprocal Meat Conference**. Chicago: RMC, 1952. p. 156-160.

WARNER, K. F. Progress report of the mechanical tenderness of meat. In: 1928, Pensilvânia, **Proceedings of the American Society of Animal Production** v. 21, p. 114-116.

WARNER, R. Measurement of Meat Quality: Measurements of Water-holding Capacity and Color: Objective and Subjective. In: Dikeman, M; Devine, C. **Encyclopedia of Meat Sciences**. 2. ed. Londres: Academic Press, 2014. v. II, p. 164-171.

WENDT, A.; THOMPSON, V. F.; GOLL, D. E. Interaction of calpastatin with calpain: A review. **Biological Chemistry**, v. 385, n. 6, p. 465–472, 2004.

WHEELER, T. L.; CUNDIFF, L. V.; KOCH, R. M. Effect of marbling degree on beef palatability in *Bos taurus* and *Bos indicus* cattle. **Journal of Animal Science**, v. 72, n. 12, p. 3145–3151, 1 dez. 1994. Disponível em: <<https://academic.oup.com/jas/article/72/12/3145-3151/4719312>>.

WHEELER, T. L.; SHACKELFORD, S. D.; KOOHMARAIE, M. **Standardizing collection and interpretation of Warner-Bratzler shear force and sensory tenderness data**. [s.l.: s.n.]v. 50

WHEELER, T. L.; SHACKELFORD, S. D.; KOOHMARAIE, M. Variation in proteolysis, sarcomere length, collagen content, and tenderness among major pork muscles. **Journal of Animal Science**, v. 78, n. 4, p. 958–965, 2000.

WHEELER, T. L.; SHACKELFORD, S. D.; KOOHMARAIE, M. The accuracy and repeatability of untrained laboratory consumer panelists in detecting differences in beef longissimus tenderness. **Journal of Animal Science**, v. 82, n. 2, p. 557–562, 1 fev. 2004. Disponível em: <<https://academic.oup.com/jas/article/82/2/557/4834437>>.

WHIPPLE, G. et al. Evaluation of attributes that affect longissimus muscle tenderness in *Bos taurus* and *Bos indicus* cattle. **Journal of animal science**, v. 68, n. 9, p. 2716–2728, 1990.

WULF, D. M. et al. Genetic influences on beef longissimus palatability in charolais- and limousin-sired steers and heifers. **Journal of Animal Science**, v. 74, n. 10, p. 2394, 1996. Disponível em: <<https://academic.oup.com/jas/article/74/10/2394-2405/4637419>>.

XU, M. et al. Effects of active immunization with newly modified GnRH peptides on spermatogenesis and production performance of Holstein bulls†. **Biology of Reproduction**, v. 99, n. 2, p. 461–472, 1 ago. 2018. Disponível em: <<https://academic.oup.com/biolreprod/article/99/2/461/4768000>>.

ZAPATA, I.; ZERBY, H. N.; WICK, M. Functional Proteomic Analysis Predicts Beef Tenderness and the Tenderness Differential. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 57, n. 11, p. 4956–4963, 10 jun. 2009. Disponível em: <<http://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/jf900041j>>.

ZHANG, Y. Y. et al. Effect of sex on meat quality characteristics of Qinchuan cattle. **African Journal of Biotechnology**, v. 9, n. 28, p. 4504–4509, 2010.

APÊNDICES

APÊNDICE A – Tabela suplementar

Tabela 18 - Proteínas identificadas nas bandas diferencialmente abundantes dos géis SDS-PAGE e seus respectivos processos biológicos descritos no Uniprot

Banda	Nome do gene	Acesso Uniprot	Nome da proteína	Processos biológicos descritos no Uniprot – Funções moleculares estão marcadas com asterisco
1	MYH1	MYH1	Miosina-1	Ligação ao filamento de actina*; ligação ao ATP*; ligação à calmodulina* e atividade motora*
	MYH2	F1MRC2	Miosina-2	Contração muscular
	MYH8	A0A3Q1LVZ9	Cadeia pesada 8 da miosina	Processo metabólico de ATP; deslizamento do filamento do músculo e contração do músculo esquelético
	MYH4	E1BP87	Cadeia pesada 4 da miosina	Ligação ao filamento de actina*; ligação ao ATP* e atividade motora*
	MYH7	F1MM07	Miosina-7	Desenvolvimento do coração adulto; processo metabólico de ATP; contração do músculo cardíaco; hipertrofia do músculo cardíaco em resposta ao estresse; deslizamento do filamento do músculo; regulação da frequência cardíaca; regulação da contração da fibra muscular esquelética de contração lenta; regulação da força de contração do coração; regulação da força de contração do músculo esquelético; contração do músculo esquelético; transição entre fibra rápida e lenta e morfogênese do tecido muscular cardíaco ventricular
	MYH6	F1N2G0	Cadeia pesada 6 da miosina	Desenvolvimento do coração adulto; processo metabólico de ATP; morfogênese do tecido do músculo cardíaco atrial; contração do músculo cardíaco; desenvolvimento da fibra muscular cardíaca; hipertrofia do músculo cardíaco em resposta ao estresse; desenvolvimento embrionário no útero; deslizamento dos filamentos musculares; regulação da atividade da ATPase; regulação da pressão sanguínea; regulação do crescimento do coração; regulação da frequência cardíaca; regulação da força de contração do coração; organização do sarcômero; morfogênese do tecido do músculo cardíaco ventricular e desenvolvimento do músculo visceral
	MYH3	A6QPA6	Proteína MYH3	Processo metabólico de ATP; contração do músculo esquelético
	MYH13	F1MZX6	Cadeia pesada 13 da miosina	Ligação ao filamento de actina*; ligação ao ATP* e atividade motora*
2	MYOM2	E1BF23	Miomesina 2	Contração muscular
	MYOM1	F1MME6	Miomesina-1	Contração muscular; regulação positiva da expressão gênica; regulação

positiva da secreção de proteínas e sinalização da proteína quinase A

	MYOM3	E1BCU2	Miomesina 3	-
3	AGL	F1MHT1	4-alfa-glucanotransferase	Processo biossintético de glicogênio e processo catabólico de glicogênio
4	MYBPC1	A6QP89	Proteína C1 de ligação à miosina	Contração muscular
	MYBPC2	E1BNV1	Proteína C2 de ligação à miosina	-
5	ATP2A1	AT2A1	Cálcio ATPase 1 do retículo sarcoendoplasmático	Alterações mitocondriais apoptóticas; importação de íons de cálcio para o retículo sarcoplasmático; transporte transmembrana de íons de cálcio; homeostase celular do íon cálcio; via de sinalização apoptótica intrínseca em resposta ao estresse do retículo endoplasmático; manutenção da localização da mitocôndria; regulação negativa da concentração de íons de cálcio no retículo endoplasmático; regulação positiva da atividade do transportador transmembrana de cálcio acoplado à ATPase; regulação positiva da importação de íons de cálcio para o retículo sarcoplasmático; regulação positiva da contração das células musculares cardíacas; regulação positiva da concentração de íons de cálcio no retículo endoplasmático; regulação positiva da contração da fibra muscular esquelética de contração rápida; regulação positiva da concentração mitocondrial de íons de cálcio e relaxamento do músculo esquelético
	OGDH	ODO1	2-oxoglutarato desidrogenase, mitocondrial	Processo metabólico do 2-oxoglutarato; processo glicolítico; succinilação de histona; processo metabólico succinil-CoA e ciclo do ácido tricarboxílico
	ATP2A2	A0A3Q1N8S4	ATPase transportadora de cálcio	Ligação ao ATP*; atividade do transportador transmembrana de cálcio*, mecanismo fosforilativo* e ligação ao íon metálico*
	UBA1	UBA1	Enzima 1 de ativação de modificador semelhante à ubiquitina	Resposta celular ao estímulo de dano ao DNA; modificação de proteínas por conjugação de pequenas proteínas; ubiquitinação de proteínas e processo catabólico de proteína dependente de ubiquitina
	NPEPPS	E1BP91	Aminopeptidase	Processo catabólico de peptídeo e proteólise
	ACTN2	ACTN2	Alfa-actinina-2	Ligação à actina* e ligação ao íon de cálcio*
6	ACTN3	ACTN3	alfa-actinina-3	Morfogênese óssea; contração muscular; regulação negativa da cascata de sinalização da calcineurina-NFAT; regulação negativa da termogênese induzida pelo frio; regulação negativa do processo glicolítico; regulação negativa da fosforilação oxidativa; regulação negativa do relaxamento do músculo; regulação positiva da mineralização óssea envolvida na maturação óssea; regulação positiva da contração das fibras musculares esqueléticas de contração rápida; regulação positiva do processo catabólico da glicose para lactato via piruvato; regulação positiva do desenvolvimento da fibra muscular

7	ACTN1	A0A3Q1MBS5	Isoforma do citoesqueleto de alfa-actinina	esquelética; regulação positiva do crescimento do tecido muscular esquelético; regulação da respiração aeróbia; regulação da força de contração do músculo esquelético; resposta à denervação envolvida na regulação da adaptação muscular; atrofia do músculo esquelético e transição entre fibra rápida e lenta. Estabelecimento da localização; regulação da atividade ATPase; regulação da secreção de neurotransmissores; organização do sarcômero e desenvolvimento de fibra muscular esquelética
	ACTN4	A0A3Q1MFS2	Alfa-actinina-4	Ligação à actina*; ligação aos íons de cálcio*
	PYGM	F1MJ28	Alfa-1,4 glucano fosforilase	Processo catabólico de glicogênio
	PYGB	PYGB	Glicogênio fosforilase, forma cerebral	Processo catabólico do glicogênio
	HSP90AA1	HS90A	Proteína de choque térmico HSP 90-alfa	Resposta celular ao calor; regulação positiva do processo biossintético do óxido nítrico; dobramento de proteínas; estabilização de proteínas; resposta ao antibiótico; resposta ao frio e resposta ao calor
	PFKM	PFKAM	Fosfofrutocinase-6 dependente de ATP, tipo muscular	Glicólise canônica; processo metabólico da frutose 1,6-bisfosfato; processo metabólico da frutose 6-fosfato; processo catabólico da glicose e homotetramerização de proteínas;
	AMPD1	F1MLX6	AMP deaminase	Processo metabólico de AMP; processo biossintético IMP e resgate de IMP
10	HADHA	Q3SZ00	Enoil-CoA hidratase	Beta-oxidação de ácido graxo
	HSPA5	BIP	Chaperona BiP do retículo endoplasmático	Resposta celular à “fome de glicose” (privação de glicose); resposta celular à interleucina-4; resposta celular à proteína desdobrada; desenvolvimento da camada de células de Purkinje do cerebelo; organização estrutural do cerebelo; redobramento de proteína dependente de cofator de chaperona; resposta de proteína não dobrada do retículo endoplasmático; Resposta de sobrecarga ER; manutenção da localização de proteínas no retículo endoplasmático; regulação negativa do processo apoptótico; regulação negativa da resposta da proteína não dobrada mediada por IRE1; regulação negativa da montagem do complexo contendo proteína; regulação negativa da via de sinalização do receptor do fator de crescimento transformador beta; regulação positiva da migração celular; regulação positiva da ubiquitinação de proteínas; proteína pós-tradução direcionada para membrana, translocação; redobramento de proteínas; resposta à proteína não dobrada; transporte de toxinas e via ERAD dependente de ubiquitina;
11	TF	G3X6N3	Transferrina	Organização do filamento de actina; ativação da atividade da JUN quinase; resposta humoral antibacteriana; homeostase celular do íon de ferro; resposta celular ao íon ferro; cascatas ERK1 e ERK2; transporte de

12	DLAT	F1N690	Componente acetiltransferase do complexo piruvato desidrogenase	íons de ferro; diferenciação de osteoclastos; regulação positiva da reabsorção óssea; regulação positiva da motilidade celular; regulação positiva de endocitose mediada por receptor; regulação positiva da transcrição, modelada por DNA; regulação do transporte de íons de ferro e transdução do sinal da proteína SMAD; Atividade de acetiltransferase de resíduo de di-hidrolipoilina*; ligação de proteína idêntica* e atividade da piruvato desidrogenase (NAD ⁺)*
	NDUFS1	NDUS1	Subunidade de 75 kDa da NADH-ubiquinona oxidoreductase, mitocondrial	alterações mitocondriais apoptóticas; processo metabólico de ATP; transporte de elétrons acoplado à síntese de ATP; respiração celular; processo metabólico de espécies reativas de oxigênio e regulação do potencial da membrana mitocondrial
	CAPN1	A0A3Q1M124	Subunidade catalítica da Calpaína-1	Atividade da endopeptidase do tipo cisteína dependente de cálcio* e ligação ao íon cálcio*
	HSPA8	HSP7C	Proteína cognata de choque térmico de 71 kDa	Transporte axodendrítico; resposta celular à proteína desdobrada; redobragem de proteína dependente de co-fator de chaperona; desmontagem do complexo de translocação de autofagia mediado por chaperona; transporte de proteínas mediado por chaperonas envolvido na autofagia mediada por chaperonas; microautofagia endossômica tardia; processamento de mRNA; regulação negativa da transcrição, modelada por DNA; redobrimento de proteínas; direcionamento de proteína para lisossoma envolvido na autofagia mediada por chaperonas; resposta à proteína não dobrada; emenda de RNA; transporte axonal lento; remoção da vesícula sináptica e transporte mediado por vesículas
	KLHL41	A4FV78	BTB domain-containing protein	Ubiquitinação de proteínas; regulação da diferenciação de mioblastos; regulação da proliferação de mioblastos; regulação da diferenciação das células musculares esqueléticas; organização do sarcômero; diferenciação de células musculares esqueléticas e desenvolvimento de fibra muscular esquelética;
	HSPA1B	HS71B	Proteína 1B de choque térmico de 70 kDa	Resposta celular à proteína não dobrada; redobragem de proteína dependente de cofator de chaperona; regulação positiva da nucleação de microtúbulos; regulação positiva do processo catabólico proteassomal da proteína dependente da ubiquitina; redobrimento de proteínas; regulação da montagem do fuso mitótico; resposta à proteína desdobrada e transporte mediado por vesículas;
	BIN1	F6R9I4	Integrador de ponte 1	Regulação da endocitose
	HSPA5	BIP	Chaperona BiP do retículo endoplasmático	Resposta celular à "fome de glicose" (privação de glicose); resposta celular à interleucina-4; resposta celular à proteína desdobrada; desenvolvimento da camada de células de Purkinje do cerebelo; organização estrutural do cerebelo; redobrimento de proteína

				dependente de cofator de chaperona; resposta de proteína não dobrada do retículo endoplasmático; Resposta de sobrecarga ER; manutenção da localização de proteínas no retículo endoplasmático; regulação negativa do processo apoptótico; regulação negativa da resposta da proteína não dobrada mediada por IRE1; regulação negativa da montagem do complexo contendo proteína; regulação negativa da via de sinalização do receptor do fator de crescimento transformador beta; regulação positiva da migração celular; regulação positiva da ubiquitinação de proteínas; proteína pós-tradução direcionada para membrana, translocação; redobramento de proteínas; resposta à proteína não dobrada; transporte de toxinas e via ERAD dependente de ubiquitina;
13	HSPA1A	HS71A	Proteína 1A de choque térmico de 70 kDa	Resposta celular à proteína não dobrada; redobragem de proteína dependente de cofator de chaperona; transporte lisossomal; regulação negativa da transcrição do promotor da RNA polimerase II em resposta ao estresse; regulação positiva da nucleação de microtúbulos; regulação positiva do processo catabólico proteassomal da proteína dependente da ubiquitina; redobramento de proteínas; regulação da montagem do fuso mitótico; resposta à proteína desdobrada e transporte mediado por vesículas;
	ALB	ALBU	Albumina	Resposta celular à fome; manutenção da localização da mitocôndria e regulação negativa do processo apoptótico
	HSPA1L	HS71L	Proteína semelhante-1 de choque térmico de 70 kDa	Ligação do espermatozoide à zona pelúcida; resposta celular à proteína desdobrada; redobragem de proteína dependente de cofator de chaperona; regulação positiva do direcionamento da proteína para a mitocôndria; redobramento de proteínas; resposta à proteína desdobrada e transporte mediado por vesículas
	HSPA6	F1MWU9	Membro 6 da família A (HSP70) de proteína de choque térmico	Resposta celular ao calor; resposta celular à proteína desdobrada; redobragem de proteína dependente de cofator de chaperona; redobramento de proteínas; resposta à proteína desdobrada e transporte mediado por vesículas
	A1BG	A1BG	Alfa-1B-glicoproteína	-
	SDHA	G3MY67	Subunidade da flavoproteína da succinato desidrogenase (ubiquinona), mitocondrial	Cadeia de transporte de elétrons e ciclo do ácido tricarboxílico
	KLHL40	A6H7I0	Proteína KBTBD5	Regulação negativa do processo catabólico da proteína dependente da ubiquitina proteassomal; regulação negativa da ubiquitinação de proteínas e desenvolvimento de fibra muscular esquelética
14	ANXA6	ANXA6	Anexina A6	Via de sinalização apoptótica, desenvolvimento de tecido biomineral importação de íons de cálcio, transporte transmembrana de íons de

				cálcio, transporte de íons de cálcio, diferenciação de condrócitos de cartilagem da placa de crescimento, homeostase de íons de cálcio mitocondrial, regulação negativa do sequestro de íons de cálcio, migração de células da crista neural, reparo da membrana plasmática e regulação da contração muscular
	SLC25A12	A6QNM9	Proteína SLC25A12	Transporte transmembrana
	SERPINA3-1	A0A0A0MP88	Serpina A3-1	-
	SLC25A13	A0A3Q1MJF5	Membro 13 da família 25 de carreador de soluto	Atividade do transportador transmembrana de aminoácidos* e ligação de íons de cálcio*
15	PGM1	PGM1	Fosfoglicomutase-1	Processo metabólico de carboidratos e processo metabólico da glicose
	ACADVL	ACADV	Acil-CoA desidrogenase específica de cadeia muito longa, mitocondrial	Diferenciação de células epiteliais; beta-oxidação de ácidos graxos usando acil-CoA desidrogenase; regulação negativa do processo biossintético de ácidos graxos; regulação negativa da oxidação de ácidos graxos; regulação do processo metabólico do colesterol; resposta ao frio e homeostase da temperatura;
	HSPD1	F1MUZ9	Chaperonina de 60 kDa	Alterações mitocondriais apoptóticas; resposta mitocondrial de proteína não dobrada; regulação positiva da produção de interferon-alfa; regulação positiva da produção de interferon-gama; regulação positiva da produção de interleucina-6; regulação positiva da ativação de células T; dobramento de proteínas; importação de proteínas para o espaço intermembranar mitocondrial; redobramento de proteínas; resposta ao frio e Ativação de células T;
	CRAT	A0A3Q1LYY4	Carnitina O-acetiltransferase	Processo metabólico da carnitina, ligado a CoA; beta-oxidação de ácido graxo usando acil-CoA oxidase; processo metabólico de ácido graxo de cadeia média e processo metabólico de ácido graxo de cadeia curta
				Resposta celular ao estímulo da insulina; processo glicolítico; regulação positiva da tradução citoplasmática; regulação positiva da angiogênese germinativa e morte celular programada
16	PKM	A5D984	Piruvato quinase	
	CASQ1	A0A3Q1LN23	Calsequestrina	Ligação a íons de cálcio*
17	GPI	G6PI	Glicose-6-fosfato isomerase	Gliconeogênese; processo metabólico de glicose 6-fosfato e processo glicolítico
	DLD	F1N206	Diidrolipoil desidrogenase	Homeostase redox celular; gastrulação; succinilação de histona; transporte mitocondrial de elétrons, NADH para ubiquinona; processo de oxidação-redução; proteólise; regulação do potencial de membrana e capacitação espermática
	CACNB1	CACB1-2	Isoforma 2 da subunidade beta-1 do canal de cálcio tipo L dependente de voltagem	Transmissão sináptica química; desenvolvimento da junção neuromuscular e regulação da atividade do canal de cálcio controlada por voltagem

18

CACNB4	A0A3Q1LT41	Subunidade auxiliar beta 4 do canal controlado por voltagem de cálcio	Atividade do canal de cálcio controlada por voltagem*
CACNB3	A0A3Q1LQ06	Subunidade beta 3 do canal de cálcio dependente da voltagem	Transmissão sináptica química; desenvolvimento da junção neuromuscular; regulação da atividade do canal de cálcio controlada por voltagem e via de sinalização do receptor de células T
DES	DESM	Desmina	Organização de filamento intermediário
TUBB4B	TBB4B	Cadeia beta-4B da tubulina	Processo baseado em microtúbulos
ALDH1A1	AL1A1	Desidrogenase retinal 1	Processo de oxidação-redução; processo metabólico de retinóide e processo metabólico de retinol
TUBB5	TBB5	Cadeia beta-5 da tubulina	Processo baseado em microtúbulos; organização do citoesqueleto de microtúbulos e ciclo celular mitótico
TUBB2A	E1BJB1	Cadeia beta da tubulina	Processo baseado em microtúbulos
TUBB4A	TBB4A	Cadeia beta-4A da tubulina	Processo baseado em microtúbulos; organização do citoesqueleto dos microtúbulos; ciclo celular mitótico e regulação negativa da polimerização de microtúbulos
ALDH2	ALDH2	Aldeído desidrogenase, mitocondrial	Processo catabólico do etanol
TUBA4A	A0A452DIH7	Cadeia alfa da tubulina	Processo baseado em microtúbulos
TUBB3	TBB3	Cadeia beta-3 da tubulina	Orientação do axônio; desenvolvimento do gânglio da raiz dorsal; processo baseado em microtúbulos; organização do citoesqueleto dos microtúbulos; ciclo celular mitótico; via de sinalização ativada por netrina e diferenciação de neurônios
N/A	TBA1B	Cadeia alfa-1B da tubulina	Processo baseado em microtúbulos; organização do citoesqueleto dos microtúbulos e ciclo celular mitótico
ALDH7A1	E1BFG0	Alfa-aminoadípico semialdeído desidrogenase	Atividade de oxidoredutase, agindo no aldeído ou grupo oxo de doadores, NAD ou NADP como aceitador*
TUBA1D	TBA1D	Cadeia alfa-1D da tubulina	Processo baseado em microtúbulos; organização do citoesqueleto dos microtúbulos e ciclo celular mitótico
TUBA8	TBA8	Cadeia alfa-8 da tubulina	Processo baseado em microtúbulos; organização do citoesqueleto dos microtúbulos e ciclo celular mitótico
MAP3K20	A0A3Q1N590	Proteína contendo domínio de proteína quinase	Ligação de ATP* e atividade da proteína quinase*
LAP3	AMPL	Citosol aminopeptidase	Atividade dipeptidase*; ligação específica de domínio desordenada*; ligação do íon manganês*; atividade de metaloaminopeptidase* e atividade de peptidase*
VIM	VIME	Vimentina	Desenvolvimento de astrócitos; diferenciação de células gliais de Bergmann; resposta celular ao interferon-gama; resposta celular ao lipopolissacarídeo; resposta celular ao dipeptídeo muramyl; organização

				de filamentos intermediários; desenvolvimento embrionário no útero; desenvolvimento de células de fibra de lente; regulação negativa do desenvolvimento de projeção de neurônios; regulação positiva de processo biossintético do colágeno; regulação positiva da geração do ânion superóxido; regulação positiva da tradução; regulação da estabilidade do mRNA e transdução do sinal da proteína SMAD
	SNTB1	F1MDV3	Beta-1 sintrofina	Atividade da molécula estrutural*
	CAVIN1	E1BNE7	Proteína 1 associada à caveolina	Regulação positiva da motilidade celular; secreção de proteínas; transcrição de rRNA; terminação da transcrição de RNA polimerase I e iniciação da transcrição do promotor de RNA polimerase I
19	ATP5F1A	F1MLB8	ATP sintetase subunidade alfa	Transporte de prótons acoplado à síntese de ATP; processo metabólico lipídico; síntese mitocondrial de ATP acoplada ao transporte de prótons; regulação negativa da proliferação de células endoteliais e regulação positiva da migração de células endoteliais dos vasos sanguíneos;
	TRIM72	E1BE77	Mitsugumina-53	Exocitose; desenvolvimento de órgãos musculares; processos do sistema muscular; regulação negativa da via de sinalização do receptor do fator de crescimento semelhante à insulina; regulação negativa da via de sinalização do receptor de insulina; regulação negativa da diferenciação do miotubo; reparo da membrana plasmática; processo catabólico de proteína dependente de ubiquitina mediado por proteassoma; homooligomerização de proteínas e ubiquitinação de proteínas;
	ATP5F1B	ATPB	ATP sintetase subunidade beta, mitocondrial	Síntese mitocondrial de ATP acoplada ao transporte de prótons
	UGP2	A0A3Q1M010	UTP - glicose-1-fosfato uridililtransferase	Processo biossintético de glicogênio e processo metabólico UDP-glicose
	DLST	F1MEQ3	Diidrolipoilisina-resíduo succiniltransferase componente do complexo 2-oxoglutarato desidrogenase, mitocondrial	Processo catabólico de L-lisina para acetil-CoA via sacaropina e ciclo do ácido tricarboxílico
	YBX3	F6PS38	Proteína 3 de ligação a Y-box	Ligação de ácido nucleico
	FGG	A0A3Q1MV91	Cadeia gama-B de fibrinogênio	Ativação plaquetária e polimerização de proteínas
	ADSL	F1MHP6	Adenilossuccinato liase	Processo biossintético de AMP 'de novo' e processo biossintético de IMP 'de novo'
	SMYD1	A0A3Q1LV38	Proteína 1 contendo domínios SET e MYND	-
	EEF1A2	EF1A2	Fator de alongamento 1-alfa 2	Regulação positiva do processo apoptótico; regulação positiva da atividade da quinase lipídica; tradução e alongamento translacional;
21	AHCY	A0A3Q1LW27	Adenosil-homocisteinase	Processo metabólico de “um carbono”

	DNPEP	DNPEP	Aspartilaminopeptidase	Atividade de aminopeptidase*; atividade de metalopeptidase* e ligação ao íon zinco*
	ST13	A0A3Q1MQM3	Proteína ST13 que interage com Hsp70	Redobramento de proteína dependente de cofator de chaperona, dobramento de proteína mediado por chaperona e montagem de complexo contendo proteína
22	ENO3	A0A452DI31	2-fosfo-D-glicerato hidro-liase	Processo glicolítico
	ENO1	ENOA	Alfa-enolase	Glicólise canônica; processo glicolítico e regulação da fusão vacúolo, não autofágica
	NDRG2	NDRG2	Proteína NDRG2	Diferenciação celular; regulação negativa da produção de citocinas; regulação negativa da cascata ERK1 e ERK2; regulação negativa da proliferação de células musculares lisas; desenvolvimento do sistema nervoso; regulação da produção de fator de crescimento derivado de plaquetas; regulação da produção do fator de crescimento endotelial vascular; transdução de sinal e via de sinalização Wnt
	EIF4A2	A0A3Q1M0L3	RNA helicase	Ligação de ATP*; ligação de ácido nucleico* e atividade de RNA helicase*
	TUFM	EFTU	Fator de alongamento Tu, mitocondrial	Alongamento translacional mitocondrial e alongamento translacional
23	ACTA1	ACTS	Actina, músculo esquelético alfa	migração do mesênquima; regulação positiva da expressão gênica; desenvolvimento de fibra muscular esquelética e conjunto de filamento fino de músculo esquelético
	ACTC1	ACTC	Actina, músculo alfa cardíaco 1	Organização do filamento de actina; deslizamento do filamento de actina-miosina; contração do coração; migração do mesênquima e regulação positiva da expressão gênica
	PGK1	PGK1	Fosfoglicerato quinase 1	Resposta celular à hipóxia; diferenciação de células epiteliais; gliconeogênese; processo glicolítico; regulação negativa da angiogênese; ativação do plasminogênio e regulação positiva da fosforilação oxidativa
24	CKM	KCRM	Creatina quinase tipo M	Processo biossintético da fosfocreatina e resposta ao calor
	CKMT2	KCRS	Creatina quinase tipo S, mitocondrial	Processo biossintético da fosfocreatina
	IDH2	IDHP	Isocitrato desidrogenase [NADP], mitocondrial	Processo metabólico do 2-oxoglutarato; ciclo de glioxilato; processo metabólico de isocitrato; processo metabólico NADP e ciclo do ácido tricarboxílico
25	ALDOA	A6QLL8	Frutose-bisfosfato aldolase	Processo glicolítico
	GOT2	AATM	Aspartato aminotransferase, mitocondrial	Processo metabólico do 2-oxoglutarato; processo biossintético do aspartato; processo catabólico do aspartato; processo metabólico do aspartato; transporte de ácidos graxos; processo catabólico do glutamato em 2-oxoglutarato; processo catabólico do glutamato em aspartato; processo metabólico do glutamato; processo metabólico de oxaloacetato

				e resposta ao etanol
27	TNNT1	A0A3Q1M430	Troponina T, músculo esquelético lento	Regulação da contração muscular
	TPM4	A0A3Q1MLV0	Tropomiosina 4	Organização do filamento de actina e contração muscular
	NDUFA10	A0A3Q1LPX6	NADH desidrogenase (ubiquinona) subcomplexo alfa subunidade 10, mitocondrial	Transporte mitocondrial de elétrons, NADH para ubiquinona
	STBD1	E1BAJ4	Domínio 1 de ligação de amido	Glicofagia e transporte intracelular
	MPST	F6QGM3	Sulfurtransferase	Atividade tiosulfato sulfurtransferase*
28	GAPDH	G3P	Gliceraldeído-3-fosfato desidrogenase	Processo metabólico da glicose; processo glicolítico; organização do citoesqueleto dos microtúbulos; processo apoptótico de neurônios; S-trans-nitrosilação de peptidil-cisteína; estabilização de proteínas; regulação do carregamento do neurotransmissor na vesícula sináptica e regulamentação da tradução
29	MDH2	MDHM	Malato desidrogenase, mitocondrial	Respiração aeróbica; processo metabólico de carboidratos; processo metabólico malato e ciclo do ácido tricarboxílico
	MYOZ1	E1BDJ9	Myozenina-1	Regulação negativa da cascata de sinalização de calcineurina-NFAT; regulação negativa da regeneração do tecido muscular esquelético; regulação negativa da transcrição pela RNA polimerase II; organização do sarcômero; adaptação da fibra muscular esquelética; desenvolvimento do tecido muscular esquelético e cicatrização de feridas
	FBP2	F16P2	Frutose-1,6-bifosfatase isoenzima 2	Processo metabólico de frutose 1,6-bisfosfato; processo metabólico de frutose 6-fosfato; processo metabólico da frutose; gliconeogênese; processo biossintético da sacarose;
	AKR1B1	A0A493UA87	Membro B1 da família 1 de aldo-ceto redutase	Atividade oxidorreductase*
	CAPZA2	A0A3Q1LXG3	Subunidade alfa da proteína F-actina	Proteção de filamento de actina com extremidade farpada
	CRYZ	QOR	Zeta-cristalina	Homotetramerização de proteínas e processo catabólico xenobiótico
30	LDHA	LDHA	Cadeia A de L-lactato desidrogenase	Processo metabólico de carboidratos e processo metabólico de ácido carboxílico
	N/A	A0A3Q1LY19	L-lactato desidrogenase	Processo metabólico de carboidratos e processo metabólico de ácido carboxílico
	LDHAL6B	LDH6B	L-lactato desidrogenase A-like 6B	Processo metabólico de carboidratos e processo metabólico de ácido carboxílico
	GPD1	GPDA	Glicerol-3-fosfato desidrogenase [NAD (+)], citoplasmático	Processo metabólico de carboidratos; gliconeogênese; processo catabólico de glicerol-3-fosfato; processo metabólico de glicerol-3-fosfato e oxidação de NADH

	PDHB	ODPB	Subunidade beta do componente E1 da piruvato desidrogenase, mitocondrial	Processo biossintético de acetil-CoA a partir do piruvato; processo metabólico da glicose e ciclo do ácido tricarboxílico
	ANXA5	ANXA5	Anexina A5	Coagulação do sangue; regulação negativa da coagulação e regulação negativa do sequestro do íon cálcio
	ANXA2	ANXA2	Anexina A2	Desenvolvimento de tecido biomineral; importação de íons de cálcio e transporte transmembrana de íons de cálcio
	DHRS7C	DRS7C-2	Isoforma 2 do membro 7C da família SDR desidrogenase/redutase	Regulação da liberação do íon de cálcio sequestrado no citosol pelo retículo sarcoplasmático
31	VDAC1	A0A3Q1MS21	Proteína 1 do canal seletivo de ânions dependente de voltagem	Processo apoptótico; resposta comportamental de medo; diferenciação de células epiteliais; Aprendendo; regulação negativa do processo apoptótico; regulação negativa da importação de cálcio na mitocôndria; regulação negativa do processo metabólico de espécies reativas de oxigênio; transmissão sináptica neurônio-neurônio e regulação positiva da mitofagia;
	ATP5F1C	ATPG	ATP sintetase subunidade gama, mitocondrial	Processo biossintético de ATP; síntese de ATP acoplada ao transporte de prótons e síntese mitocondrial de ATP acoplada ao transporte de prótons
	VDAC2	VDAC2	Proteína 2 do canal seletivo de ânions dependente de voltagem	Permeabilização da membrana mitocondrial externa
	GLOD4	A7MBI6	Proteína 4 contendo domínio de glioxalase	-
	LDB3	Q3ZBC9	Proteína 3 de ligação ao domínio LIM	Organização do citoesqueleto de actina
	FHL1	G3MZ95	Proteína 1 de quatro domínios e meio LIM	Desenvolvimento de órgão muscular
	MYOZ3	Q08DI7	Miozenina 3	Ligação de actina*; ligação FATZ* e ligação de teletonina*
32	CAPZB	A0A3Q1N8A3	Subunidade beta da proteína F-actina	Organização do citoesqueleto de actina e proteção de filamento de actina com extremidade farpada
	PSMA1	PSA1	Subunidade alfa tipo 1 do proteassoma	Processo do sistema imunológico; regulação negativa da resposta inflamatória ao estímulo antigênico; processo catabólico da proteína proteassomal; proteína catabólica independente da ubiquitina proteassomal e processo catabólico de proteína dependente de ubiquitina mediado por proteassoma
	CYB5R1	NB5R1	NADH-citocromo b5 redutase 1	Processo biossintético de esterol
34	CA3	CAH3	Anidrase carbônica 3	Processo metabólico de “um carbono” e resposta às bactérias
	PRDX6	PRDX6	Peroxiredoxina-6	Homeostase redox celular; processo catabólico lipídico e resposta a espécies reativas de oxigênio

35	SLC25A4	ADT1	ADP/ATP translocase 1	Transporte ADP; transporte transmembrana de ADP mitocondrial e transporte transmembrana de ATP mitocondrial
	SLC25A6	ADT3	ADP/ATP translocase 3	Processo apoptótico; transporte transmembrana de ADP mitocondrial e transporte transmembrana de ATP mitocondrial
	CYC1	CY1	Citocromo c1, proteína heme, mitocondrial	Síntese mitocondrial de ATP acoplado ao transporte de prótons e transporte mitocondrial de elétrons, ubiquinol para citocromo c
	YWHAH	1433F	Proteína 1 inibidora da proteína quinase C	Processo catabólico de glicocorticóide; via de sinalização do receptor de glicocorticóide; transporte de proteína intracelular; despolarização da membrana durante o potencial de ação; regulação negativa da morfogênese dendrítica; regulação positiva da transcrição, modelado por DNA e regulação da atividade do transportador transmembrana de íons de sódio
	SYPL2	Q0VBZ3	Proteína 2 semelhante a sinaptofisina	Homeostase celular do íon cálcio; desenvolvimento do coração e organização do túbulo T
	YWHAB	A0A140T894	Protein beta/alpha 14-3-3	sequestro citoplasmático de proteínas; regulação negativa da via de sinalização do receptor acoplado à proteína G; regulação negativa da desfosforilação de proteínas; regulação positiva da atividade catalítica e segmentação de proteína
	CA2	CAH2	Anidrase carbônica 2	Via de sinalização ativada por angiotensina; regulação positiva do transporte transmembrana de dipeptídeos; regulação do transporte de ânions e regulação do pH intracelular
	PGAM2	PGAM2	Fosfoglicerato mutase 2	Processo glicolítico
	YWHAE	A0A3Q1M119	Proteína epsilon 14-3-3	-
	MACROD1	MACD1	ADP-ribose glicohidrolase MACROD1	Resposta celular ao estímulo de dano ao DNA; peptidil-glutamato ADP-ribosilação; proteína de-ADP-ribosilação; processo metabólico de nucleosídeo de purina
	CHCHD3	MIC19	Subunidade MIC19 do complex MICOS	Organização da membrana mitocondrial interna
	CAPNS1	CPNS1	Subunidade menor 1 da calpaína	Atividade da endopeptidase do tipo cisteína dependente de cálcio* e ligação de íons de cálcio*
	DCUN1D1	A0A3Q1MAB7	Proteína semelhante a DCN1	-
	UCHL3	UCHL3	Isoenzima L3 da hidrolase do terminal carboxila da ubiquitina	Desubiquitinação de proteínas e processo catabólico de proteína dependente de ubiquitina
	SDHB	A0A3Q1LZ07	Subunidade ferro-enxofre da succinato desidrogenase (ubiquinona), mitocondrial	Respiração aeróbica; cadeia de transporte de elétrons respiratórios e ciclo do ácido tricarboxílico
	PSMA6	PSA6	Subunidade alfa tipo 6 do proteassoma	Processo catabólico da proteína proteassomal; processo catabólico de proteína independente de ubiquitina proteassomal e processo catabólico

				de proteína dependente de ubiquitina mediado por proteassoma
	NDUFV2	NDUV2	Flavoproteína 2 da NADH desidrogenase (ubiquinona), mitocondrial	Transporte mitocondrial de elétrons, NADH para ubiquinona e cadeia de transporte de elétrons respiratórios
36	TPI1	TPIS	Triosefosfato isomerase	Gliconeogênese; processo biossintético de gliceraldeído-3-fosfato; processo catabólico de glicerol; processo glicolítico e processo biossintético de metilglicoxal
	H2BC14	A0A3Q1M4L6	Proteína 14 agrupada à histona H2B	Montagem de nucleossomo
	HSPB1	HSPB1	Proteína beta-1 de choque térmico	Transporte anterógrado de proteína axonal; dobramento de proteína mediado por chaperone; regulação negativa da via de sinalização apoptótica intrínseca induzida pelo estresse oxidativo; regulação positiva da produção de beta de interleucina-1; regulação positiva da produção do fator de necrose tumoral; regulação da sinalização de I-kappaB quinase/NF-kappaB e regulação da fosforilação de proteínas
	MT-CO2	COX2	Subunidade 2 da enzima citocromo c oxidase	Ligação de íons de cobre e atividade da citocromo-c oxidase
	GSTM1	A0A3Q1MQV0	Glutathione transferase	Processo metabólico da glutathione
	GSTM1	GSTM1	Glutathione S-transferase Mu 1	Processo biossintético do derivado da glutathione; processo metabólico da glutathione; processo biossintético da hepoxilina e processo metabólico da prostaglandina
	PDLIM5	Q3ZBU0	Proteína 5 dos domínios PDZ e LIM	-
	LOC510369	G3N0T0	Hipoxantina fosforibosiltransferase	Resgate de adenina; resgate de GMP; resgate de guanina; processo metabólico de hipoxantina; resgate de IMP; resgate de ribonucleosídeo purina
	MYL1	MYL1	Cadeia leve 1/3 da miosina, isoforma de músculo esquelético	Contração muscular
	MYL3	A0A3Q1MBD4	Cadeia leve 3 da miosina	Ligação aos íons de cálcio*
39	MYL6	A0A3Q1MDB1	Polipeptídeo leve 6 da miosina	Ligação aos íons de cálcio*
	PRDX2	PRDX2	Peroxiredoxina-2	Ativação da atividade MAPK; homeostase redox celular; homeostase do número de células; processo catabólico de peróxido de hidrogênio; ativação de leucócitos; regulação negativa da via de sinalização apoptótica extrínseca na ausência de ligante; regulação negativa da via de sinalização mediada por lipopolissacarídeos; regulação negativa da atividade do fator de transcrição NF-kappaB; regulação negativa da diferenciação de células T; regulação positiva da coagulação do sangue; regulação do processo metabólico do peróxido de hidrogênio; remoção de radicais superóxido; explosão respiratória envolvida na resposta

	ATP5PO	A0A3Q1MVM8	Subunidade de haste periférica OSCP da ATP sintase	inflamatória; resposta ao lipopolissacarídeo; resposta ao estresse oxidativo; Proliferação de células T e desenvolvimento do timo;
40				Atividade ATP sintase transportador de prótons, mecanismo de rotação
	AK1	KAD1	Isoenzima 1 de adenilato quinase	Processo biossintético de ADP; processo metabólico de AMP; processo metabólico de ATP; fosforilação de difosfato de nucleosídeo; processo biossintético de trifosfato de nucleosídeo e processo metabólico de nucleotídeo de purina
	ASPH	A0A3Q1M7J2	Aspartil/asparaginil beta-hidroxilase	Hidroxilação de ácido peptidil-aspartico
	ATP5PD	ATP5H	Subunidade d da ATP sintase, mitocondrial	Transporte de prótons acoplado à síntese de ATP e síntese mitocondrial de ATP acoplada ao transporte de prótons
	SOD2	SODM	Superóxido dismutase (Mn), mitocondrial	Resposta dependente da idade a espécies reativas de oxigênio; regulação da transcrição pela RNA polimerase II e processo metabólico de superóxido
43	TNNI1	G3MYN5	Troponina I1, tipo esquelético lento	Contração do músculo cardíaco; contração muscular; contração do músculo esquelético; transição entre fibra rápida e lenta e morfogênese do tecido muscular cardíaco ventricular
	TNNI2	F6QIC1	Troponina I2, tipo esquelético rápido	Contração do músculo cardíaco; contração muscular; regulação positiva da transcrição, modelada por DNA e contração do músculo esquelético
	DUSP3	A7YY43	Fosfatase de proteína de especificidade dupla	Atividade fosfatase da proteína serina*; atividade fosfatase da proteína treonina*; atividade fosfatase de proteína tirosina/serina/treonina* e atividade fosfatase da proteína tirosina*
44	TNNC2	G3MZK7	Troponina C2, tipo esquelético rápido	Regulação da contração muscular e contração do músculo esquelético
	PEBP1	PEBP1	Proteína 1 de ligação à fosfatidiletanolamina	Regulação negativa da cascata MAPK
	CRYAB	CRYAB	Cadeia alfa-cristalina B	Regulação negativa do processo apoptótico; regulação negativa do transporte intracelular e regulação negativa da transcrição, modelado por DNA
	HSPB6	HSPB6	Proteína beta-6 de choque térmico	Atividade de homodimerização de proteínas*; constituinte estrutural da lente do olho* e resposta ao estresse
	CSRP3	Q4U0T9	Proteína 3 rica em cisteína e glicina	Organização do citoesqueleto de actina; contração do músculo cardíaco; hipertrofia do músculo cardíaco; montagem de miofibrilas cardíacas; homeostase celular do íon cálcio; detecção de alongamento muscular; homeostase da glicose; resposta inflamatória; via de sinalização do receptor de insulina; desenvolvimento de órgãos musculares; desenvolvimento de tecido muscular; regulação positiva da transcrição pela RNA polimerase II; sinalização de proteína quinase C; localização de proteína em organela; regulação da localização de proteínas na

				membrana plasmática; regulação da força de contração do coração; organização do sarcômero e organização do túbulo T
	MYL2	F1ME15	Cadeia leve regulatória 2 da miosina, isoforma ventricular/músculo cardíaco	Ligação aos íons de cálcio*
	RTN2	A0A3Q1M129	Reticulon	-
	MYLPF	A0A452DJW7	Cadeia leve regulatória 2 da miosina, isoforma do músculo esquelético	Ligação aos íons de cálcio*
46	TPPP3	A0A452DJS8	Membro 3 da família de proteínas promotoras de polimerização de tubulina	Decidualização; implantação de embriões; formação de feixe de microtúbulos; polimerização de microtúbulos e regulação positiva da polimerização de proteínas
	CALM	F1MLH6	Calmodulina	Sinalização mediada por cálcio e organização do citoesqueleto dos microtúbulos
	TNNC1	TNNC1	Troponina C, músculos esqueléticos lentos e cardíacos	Contração do músculo cardíaco; regulação da atividade ATPase; regulação da contração muscular; regulação da velocidade de deslizamento dos filamentos musculares; contração do músculo esquelético; transição entre fibra rápida e lenta e morfogênese do tecido muscular cardíaco ventricular

Fonte: elaborada pela autora (2021).

As proteínas que não têm os processos biológicos, nem funções moleculares, descritos no Uniprot estão marcadas com traço.

APÊNDICE B – Rede de interação proteína-proteína entre as condições sexuais

Figura 18 - Rede de interação proteína-proteína predita pelo software String 11.0 das proteínas identificadas nas bandas diferencialmente abundantes entre as condições sexuais (F, MC e MNC) de bovinos cruzados *Bos taurus* x *Bos indicus* terminados em confinamento

Fonte: elaborada pela autora (2021).

Legenda: As esferas da rede são proteínas e as linhas representam associações funcionais previstas, ou seja, as proteínas vinculadas por uma linha contribuem conjuntamente para uma função partilhada (o que não significa que essas proteínas estão fisicamente vinculadas umas às outras). A espessura da linha indica a força do suporte de dados: quanto mais espessa é a linha, maior é a confiança da associação funcional, a qual varia entre 0,150 (baixa confiança), 0,400 (média confiança), 0,700 (alta confiança) e 0,900 (altíssima confiança).

APÊNDICE C – Rede de interação proteína-proteína ao longo dos períodos de maturação, em cada condição sexual

Figura 19 - Rede de interação proteína-proteína predita pelo software String 11.0 das proteínas identificadas nas bandas diferencialmente abundantes ao longo dos períodos de maturação (zero, dois e sete dias), em cada condição sexual, de bovinos cruzados *Bos taurus* x *Bos indicus* terminados em confinamento

Fonte: elaborada pela autora (2021).

Legenda: As esferas da rede são proteínas e as linhas representam associações funcionais previstas, ou seja, as proteínas vinculadas por uma linha contribuem conjuntamente para uma função partilhada (o que não significa que essas proteínas estão fisicamente vinculadas umas às outras). A espessura da linha indica a força do suporte de dados: quanto mais espessa é a linha, maior é a confiança da associação funcional, a qual varia entre 0,150 (baixa confiança), 0,400 (média confiança), 0,700 (alta confiança) e 0,900 (altíssima confiança).

APÊNDICE D – Rede de interação proteína-proteína entre os períodos de maturação

Figura 20 - Rede de interação proteína-proteína predita pelo software String 11.0 das proteínas identificadas nas bandas diferencialmente abundantes entre os períodos de maturação da carne de bovinos cruzados *Bos taurus* x *Bos indicus* terminados em confinamento

Fonte: Arquivo LCC (2021).

Legenda: As esferas da rede são proteínas e as linhas representam associações funcionais previstas, ou seja, as proteínas vinculadas por uma linha contribuem conjuntamente para uma função compartilhada (o que não significa que essas proteínas estão fisicamente vinculadas umas às outras). A espessura da linha indica a força do suporte de dados: quanto mais espessa é a linha, maior é a confiança da associação funcional, a qual varia entre 0,150 (baixa confiança), 0,400 (média confiança), 0,700 (alta confiança) e 0,900 (altíssima confiança).