



UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
DEPARTAMENTO DE ZOOTECNIA
CURSO DE GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA

FLÁVIA FERREIRA TEODOSIO

DIFERENTES PERÍODOS DE SUPLEMENTAÇÃO DE RACTOPAMINA SOBRE A
EXPRESSÃO DE PROTEÍNAS NA CARNE SUÍNA

FORTALEZA

2026

FLÁVIA FERREIRA TEODOSIO

DIFERENTES PERÍODOS DE SUPLEMENTAÇÃO DE RACTOPAMINA SOBRE A
EXPRESSÃO DE PROTEÍNAS NA CARNE SUÍNA

Trabalho de conclusão de curso apresentado ao
Curso de Graduação em Zootecnia do Centro de
Ciências Agrárias da Universidade Federal do
Ceará, como requisito parcial à obtenção do
grau de Bacharelado em Zootecnia.

Orientador: Prof. Dr. Pedro Henrique
Watanabe.

FORTALEZA

2026

FLÁVIA FERREIRA TEODOSIO

DIFERENTES PERÍODOS DE SUPLEMENTAÇÃO DE RACTOPAMINA SOBRE A
EXPRESSÃO DE PROTEÍNAS NA CARNE SUÍNA

Trabalho de conclusão de curso apresentado ao
Curso de Graduação em Zootecnia do Centro de
Ciências Agrárias da Universidade Federal do
Ceará, como requisito parcial à obtenção do
grau de Bacharelado em Zootecnia.

Aprovada em: __/__/____

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Pedro Henrique Watanabe
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Me. Bruno Ramires Macedo Costa
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Ma. Kilvia Karoline de Souza Viveiros Melo
Universidade Federal do Ceará (UFC)

A Deus, aos meus pais e aos meus avós, que, com amor, dedicação e incontáveis esforços, investiram na minha educação e me sustentaram em cada etapa desta caminhada, tornando possível a realização deste sonho.

AGRADECIMENTOS

Agradeço, primeiramente, a Deus, que não apenas ouviu minhas orações, mas também me concedeu bênçãos que eu sequer sabia que precisava. Foi Ele quem sustentou minha caminhada, fortaleceu minha fé e honrou cada batalha com esta conquista.

À Nossa Senhora, minha eterna Mãe, agradeço por sua constante intercessão, por ter sido meu refúgio nos momentos mais difíceis e por representar, todos os dias, o maior exemplo de mulher que desejo ser.

Aos meus pais, Flávio e Ednete, que me criaram com amor, princípios e dignidade, guiando meus passos pelo caminho do bem e ensinando-me, desde cedo, o valor da honestidade, da coragem e do trabalho. Vocês são meus maiores exemplos de força, caráter e perseverança. Antes de qualquer título que eu venha a conquistar, sempre serei, com imenso orgulho, a filha do Seu Flávio e da Dona Ednete. Todas as minhas conquistas pertencem, antes de tudo, a vocês. Prometo honrar seus nomes e suas histórias por toda a minha vida.

Aos meus irmãos, Farley e Flaviane, meus primeiros companheiros de vida, agradeço pelo incentivo constante e pelo amor incondicional. Com vocês aprendi, ainda na infância, o significado de dividir, compartilhar e crescer em conjunto. Obrigada por fazerem da nossa irmandade uma escolha diária de amor, cumplicidade e amizade. Vocês são parte essencial de quem eu sou.

À minha madrinha, Mazé, minha segunda mãe, agradeço por sempre segurar minha mão, acreditar em mim e apoiar minhas escolhas. Seu carinho, sua dedicação e sua fé sempre alcançaram lugares onde os meus olhos não conseguiam enxergar. Ao seu esposo, Anselmo, agradeço pelo incentivo aos meus estudos e por contribuir, de tantas maneiras, para que eu pudesse realizar meus sonhos.

Aos meus avós, Eliane e Ilo, por terem aberto não apenas as portas da sua casa, mas também do seu coração para mim desde o primeiro dia da minha vida. Vocês foram os maiores incentivadores da minha educação e jamais duvidaram da minha capacidade. Desde criança me ensinaram a voar, mas sempre me lembrando de que haveria um lugar seguro para pousar. Ao meu querido Sargento Ilo (*in memoriam*), deixo minha eterna saudade. Sua ausência permanece presente em meus dias, mas foi justamente a lembrança do senhor que tantas vezes me deu forças para continuar quando pensei em desistir.

À minha tia Isabelly, por me ensinar, com seu exemplo, a ser uma mulher forte, determinada e independente. Obrigada por dedicar seu tempo, seus conselhos e seu carinho à minha formação. Ao meu tio Jonathan, por acreditar em mim, estender a mão em todos os

momentos e mostrar, por meio do diálogo e da confiança, que eu nunca estaria sozinha diante das dificuldades. À minha tia Fátima, por ter acompanhado minha trajetória desde a infância até a vida adulta, acolhendo-me com tanto amor e tornando-se, além de tia, uma grande amiga.

Ao meu tio Wagner, agradeço pelos ensinamentos que ultrapassaram a vida acadêmica. Obrigada por me orientar em relação à responsabilidade financeira, por incentivar meu crescimento profissional e por confiar em mim, tornando possível a realização de objetivos que contribuíram significativamente para minha formação.

À minha melhor amiga e irmã de coração, Kaillany, que acompanhou todas as fases da minha vida. Mesmo com a distância, nunca soltou minha mão. Nossa amizade é um dos maiores presentes que Deus me deu, e tenho certeza de que nossas almas foram feitas para caminhar juntas.

Às crianças da minha vida — John, Lara, Yegor, Henry e Celine —, por encherem meus dias de alegria, esperança e amor. Vocês me inspiram diariamente a ser uma pessoa melhor e fortalecem em mim o desejo de retribuir, por meio da minha dedicação, todo o carinho que recebi de suas famílias.

Aos meus pacientes Kamilly (*in memoriam*) e João Miguel, e às suas famílias, pelo carinho, acolhimento e apoio ao longo dessa jornada, tornando possível a realização deste sonho. Às minhas amigas da Enfermagem, Amanda e Carol, por todo o companheirismo, dedicação e cuidado nos momentos mais desafiadores. Agradeço por terem dividido comigo os desafios da profissão e por tornarem esta caminhada mais leve.

Aos meus amigos, pelo incentivo, apoio e compreensão ao longo desta jornada, especialmente à Marianna Pessoa, ao Paulo, à Mariana e ao Charles, por estarem presentes nos momentos mais desafiadores, acreditarem em mim e tornarem essa caminhada mais leve. Agradeço também pela confiança e pelo privilégio de fazer parte da vida da pequena Celine.

Ao meu amado Yuri, por todo o amor, apoio, paciência e cuidado. Obrigada por ser meu refúgio nos momentos mais difíceis, por renovar minhas forças e por me lembrar, todos os dias, com sua paixão pelos animais, do propósito que me trouxe até aqui. Sua presença na etapa final foi o combustível para a concretização deste sonho.

Ao meu professor e orientador, Prof. Dr. Pedro Watanabe, minha profunda gratidão por todos os ensinamentos, pela confiança e pelo exemplo profissional e humano. Muito mais do que orientar este trabalho, o senhor me ensinou o verdadeiro significado de ser zootecnista e, principalmente, de ser humano. Obrigada por compreender minhas dificuldades, celebrar minhas conquistas e dedicar-se integralmente à formação de seus alunos. Levo comigo cada

ensinamento e espero refletir, em minha trajetória, um pouco do profissional que o senhor é.

Ao Prof. Dr. Aderson, agradeço por me receber em seu setor, pelos valiosos conselhos, pela disponibilidade em compartilhar conhecimento e por toda a dedicação ao ensino. Sua competência e humildade despertam em mim profunda admiração.

Ao Núcleo de Estudos em Suinocultura (NES), por proporcionar um ambiente de crescimento profissional, científico e pessoal. Agradeço a todos os seus membros pelos ensinamentos, pelas experiências compartilhadas e pelos momentos de convivência que tornaram essa caminhada ainda mais especial. Às pós-graduandas Karol e Thatila, meu sincero agradecimento pela paciência, dedicação e disposição em ensinar, sempre prontas para auxiliar em cada dificuldade encontrada. A Ma. Rayssa, que me guia nos momentos das dificuldades, me acolhe e vibra nas conquistas.

Ao Laboratório de Fisiologia Animal (LAFAN), agradeço pela oportunidade de crescimento como bolsista e por despertar em mim o interesse pela pesquisa científica e pelo trabalho laboratorial. Aos amigos que conquistei nesse ambiente, especialmente Flávia e Ícaro, obrigada por tornarem os dias mais leves, mesmo diante das rotinas mais intensas. Aos pós-graduandos Bruno, Alan, Nágila, Wallison e Eduardo, agradeço pelos ensinamentos, pela paciência e por compartilharem seus conhecimentos com tanta generosidade. Ao professor Dr. Arlindo Moura e ao pesquisador de pós-doutorado Sheheryar, pela parceria, colaboração e valiosas contribuições para a realização deste trabalho.

Aos meus amigos da graduação — José, Eulália, Márlia, Sarah, Isabelly, Beatriz, João Pedro e Naíra —, obrigada por caminharem ao meu lado desde o primeiro dia. Compartilhamos sonhos, medos, desafios, alegrias e inúmeras conquistas. Levarei cada um de vocês comigo para sempre.

Aos servidores do Departamento de Zootecnia, especialmente Márcio, Constantino, Luís, Olavo e Revi, agradeço pela dedicação diária, pelo apoio aos estudantes e pelo cuidado com os animais, fundamentais para a realização das atividades de ensino, pesquisa e extensão.

À CAPES e ao CNPq, pelo apoio financeiro, por meio da concessão da bolsa de Iniciação Científica, que foi fundamental para a continuidade da minha formação acadêmica e para o desenvolvimento deste trabalho.

Por fim, agradeço ao Centro de Ciências Agrárias e à Universidade Federal do Ceará, por toda a estrutura, oportunidades e investimentos destinados à formação dos estudantes e ao fortalecimento da pesquisa científica.

A todos que, de alguma forma, fizeram parte desta caminhada, meu mais sincero muito obrigada.

“A vitória mais bela que se pode alcançar é a vitória sobre si mesmo.” (Santo Inácio de Loyola)

RESUMO

A ractopamina é um agonista β -adrenérgico amplamente utilizado na suinocultura por promover o redirecionamento de nutrientes para a síntese proteica, aumentando a deposição de tecido magro e melhorando a eficiência alimentar. Entretanto, os mecanismos moleculares envolvidos nessa resposta ainda não são completamente compreendidos. Assim, este estudo teve como objetivo avaliar os efeitos de diferentes regimes de suplementação com ractopamina sobre o perfil proteômico do músculo Longissimus dorsi de leitoas. Foram comparados quatro tratamentos: um grupo controle sem suplementação (SRAC), um grupo com suplementação contínua (RACC) e dois grupos submetidos à suplementação intermitente (RACD14 e RACD28). A caracterização do proteoma foi realizada por espectrometria de massas, seguida de processamento no software Progenesis QI for Proteomics e análises estatísticas multivariadas (PCA, PLS-DA e Kruskal-Wallis), além de análises de enriquecimento funcional. Foram identificadas 612 proteínas, das quais 460 apresentaram abundância confiável para as análises subsequentes. A análise de enriquecimento funcional evidenciou alterações em componentes celulares relacionados ao citoplasma, mitocôndrias, exossomos extracelulares e, principalmente, ao complexo de proteínas mitocondriais no tratamento T4, indicando uma reprogramação da bioenergética celular. A análise PLS-DA identificou ATP5F1B, GOT2 e FKBP1A como as proteínas com maior poder discriminatório entre os tratamentos, evidenciando modificações em processos relacionados à produção de ATP, metabolismo de aminoácidos e homeostase proteica. Os resultados demonstram que a ractopamina promove remodelação do proteoma muscular de forma dependente do regime de suplementação, sendo a exposição intermitente prolongada responsável pelas adaptações mitocondriais mais expressivas. A abordagem proteômica mostrou-se eficiente para elucidar os mecanismos moleculares associados à ação da ractopamina, contribuindo para a compreensão de seus efeitos sobre o metabolismo muscular e fornecendo subsídios para a otimização de estratégias nutricionais na produção de suínos.

Palavras-chave: ractopamina; proteômica; *Sus scrofa*; músculo Longissimus dorsi; espectrometria de massas; metabolismo muscular.

ABSTRACT

Ractopamine is a β -adrenergic agonist widely used in swine production to redirect nutrients toward protein synthesis, thereby increasing lean tissue deposition and improving feed efficiency. However, the molecular mechanisms underlying this response remain incompletely understood. Therefore, this study aimed to evaluate the effects of different ractopamine supplementation regimens on the proteomic profile of the *Longissimus dorsi* muscle of gilts. Four treatments were compared: a control group without ractopamine supplementation (SRAC), a continuous supplementation group (RACC), and two groups subjected to intermittent supplementation (RACD14 and RACD28). Proteome characterization was performed using mass spectrometry, followed by data processing with Progenesis QI for Proteomics software, multivariate statistical analyses (PCA, PLS-DA, and Kruskal–Wallis), and functional enrichment analyses. A total of 612 proteins were identified, of which 460 showed reliable abundance values and were selected for subsequent analyses. Functional enrichment analysis revealed alterations in cellular components associated with the cytoplasm, mitochondria, extracellular exosomes, and, particularly, the mitochondrial protein complex in the T4 treatment, indicating cellular bioenergetic reprogramming. PLS-DA identified ATP5F1B, GOT2, and FKBP1A as the proteins with the greatest discriminatory power among treatments, highlighting changes in processes related to ATP production, amino acid metabolism, and protein homeostasis. The results demonstrate that ractopamine promotes remodeling of the muscle proteome in a supplementation regimen-dependent manner, with prolonged intermittent supplementation inducing the most pronounced mitochondrial adaptations. The proteomic approach proved to be an effective tool for elucidating the molecular mechanisms associated with the action of ractopamine, contributing to a better understanding of its effects on muscle metabolism and providing insights for optimizing nutritional strategies in swine production.

Keywords: ractopamine; proteomics; *Sus scrofa*; *Longissimus dorsi* muscle; mass spectrometry; muscle metabolism.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1	PCA do perfil proteômico do músculo Longissimus dorsi de leitoas submetidas a diferentes regimes de suplementação com ractopamin.....	19
Figura 2	Análise de Variable Importance in Projection (VIP) obtida por PLS-DA.	21
Figura 3	Abundância relativa das proteínas ATP5F1B (A), GOT2 (B) e FKBP1A (C) entre os tratamentos experimentais.	22

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	12
2	MATERIAIS E MÉTODOS	14
2.1.	Procedimento experimental	14
2.2.	Extração, quantificação e identificação das proteínas.....	16
3	RESULTADOS	19
4	DISCUSSÃO	23
5	CONCLUSÃO	25
	REFERÊNCIAS.....	26

1 INTRODUÇÃO

O mercado da carne suína brasileira está em constante expansão, ultrapassando 5 milhões de toneladas no ano de 2024, com estimativa de exportação acima de 122 mil toneladas para o ano de 2026 (ABPA, 2026). O aumento da produção da carne suína está relacionado aos avanços na área de genética, sanidade e nutrição, sendo a alimentação dos suínos o fator de maior custo na produção suinícola.

Dentre as fases de produção de suínos, a terminação destaca-se como o período de maior impacto econômico, sendo responsável pela maior parcela dos custos com alimentação. Isso ocorre porque, nessa etapa, os animais apresentam redução na taxa de deposição de proteína e aumento da deposição de tecido adiposo, além de maior consumo de ração e pior eficiência de conversão alimentar. Nesse contexto, a utilização de aditivos nutricionais capazes de melhorar a composição e a conformação da carcaça torna-se uma estratégia de grande importância para aumentar a eficiência produtiva. Entre os aditivos empregados na fase de terminação, a ractopamina destaca-se como um dos mais utilizados. Trata-se de um agonista β -adrenérgico que atua inibindo a lipogênese, estimulando a lipólise e favorecendo o redirecionamento de nutrientes para a síntese proteica, promovendo aumento do ganho de peso, melhora da eficiência alimentar e maior deposição de carne magra na carcaça (Agostini *et al.*, 2011).

Os efeitos da ractopamina, no entanto, transcendem as alterações fenotípicas visíveis no desempenho e na composição da carcaça. Estudos indicam que sua ação envolve uma complexa reprogramação do metabolismo muscular e dos mecanismos moleculares associados à síntese proteica (Zhai *et al.*, 2022). A compreensão aprofundada dessas modificações moleculares é essencial para maximizar os benefícios da ractopamina e desenvolver estratégias de suplementação mais eficazes.

Considerando a maior deposição de tecido adiposo a partir da fase de terminação, o uso da ractopamina resulta na inibição da deposição lipídica e estimula a síntese proteica muscular, tornando a carcaça com uma maior porcentagem de tecido magro (Ferreira *et al.*, 2011). Entretanto, os efeitos da ractopamina vão além das alterações fenotípicas observadas no desempenho e na composição da carcaça, envolvendo uma complexa reprogramação do metabolismo muscular e dos mecanismos moleculares relacionados à síntese proteica. Nesse contexto, a proteômica constitui uma ferramenta essencial para a compreensão dessas modificações, pois possibilita a identificação e a quantificação em larga escala das proteínas expressas, permitindo elucidar as vias metabólicas e os processos biológicos modulados pela ação desse aditivo.

Diante do exposto, a análise de proteômica permite elucidar de forma abrangente como a ractopamina modula o perfil proteico no tecido muscular. Portanto, este trabalho tem como objetivo analisar, por meio de abordagens proteômicas, o efeito da ractopamina sobre a expressão de proteínas da carne suína em diferentes períodos de suplementação.

2 MATERIAIS E MÉTODOS

O experimento foi conduzido no Setor de Suinocultura do Departamento de Zootecnia da Universidade Federal do Ceará (UFC), situado no município de Fortaleza, Ceará. Todos os procedimentos adotados durante a pesquisa seguiram as normas éticas vigentes para o uso de animais em experimentação, conforme aprovação da Comissão de Ética no Uso de Animais de Produção (CEUAP) da Universidade Federal do Ceará, sob o protocolo nº 7039261119.

2.1 Procedimento experimental

Durante o período experimental, foram utilizadas 32 leitoas com idade média de 101 dias e peso corporal inicial de $69,05 \pm 3,40$ kg. Os animais foram alojados em um galpão de alvenaria, distribuídos em baias individuais equipadas com comedouros semiautomáticos e bebedouros do tipo chupeta.

No início do experimento, as fêmeas foram pesadas e alocadas em um delineamento em blocos casualizados, composto por quatro tratamentos e oito repetições por tratamento, considerando-se cada baia, contendo um único animal, como unidade experimental. A formação dos blocos teve como critério o peso inicial dos animais, sendo classificados em blocos leves ($65,65 \pm 2,32$ kg) e pesados ($72,45 \pm 2,57$ kg).

O delineamento experimental foi composto por um grupo controle e três estratégias de suplementação com ractopamina. Nos grupos suplementados, a concentração do aditivo foi mantida constante (10 ppm), sendo o período de fornecimento o único fator experimental avaliado. Dessa forma, os tratamentos foram constituídos da seguinte maneira:

- **T1:** grupo controle, alimentado com dieta sem inclusão de ractopamina;
- **T2:** dieta suplementada com 10 ppm de ractopamina fornecida continuamente dos 143 aos 170 dias de idade;
- **T3:** dieta contendo 10 ppm de ractopamina fornecida de forma intermitente, dos 129 aos 142 dias e dos 157 aos 170 dias de idade, totalizando 28 dias de suplementação;
- **T4:** dieta suplementada com 10 ppm de ractopamina fornecida de forma intermitente, dos 101 aos 128 dias e dos 143 aos 170 dias de idade, totalizando 56 dias de suplementação.

As dietas experimentais (Tabela 1) foram formuladas com base na composição química dos ingredientes e nas exigências nutricionais dos animais nas fases de terminação I e

II, conforme as recomendações propostas por Rostagno et al. (2017).

Tabela 1. Composição percentual e nutricional das rações experimentais

Ingredientes (%)	Terminação I		Terminação II	
	Controle	Ractopamina	Controle	Ractopamina
Milho, grão	78,70	78,13	78,50	78,10
Farelo de soja, 45%	13,30	13,39	11,34	11,35
Farelo de trigo	4,00	4,00	5,00	5,00
Óleo de soja	0,77	0,84	2,00	2,00
Fosfato bicálcico	1,30	1,30	1,30	1,30
Calcário calcítico	0,43	0,43	0,42	0,40
Suplemento vitamínico-mineral ¹	0,50	0,50	0,50	0,50
Sal	0,40	0,40	0,35	0,35
Lisina HCl	0,35	0,49	0,34	0,49
L-Treonina	0,12	0,22	0,13	0,22
DL-Metionina	0,08	0,17	0,07	0,16
L-Triptofano	0,05	0,08	0,05	0,08
Ractopamina	0,00	0,05	0,00	0,05
Total	100,00	100,00	100,00	100,00
Composição calculada				
Energia metabolizável, kcal/kg	3250	3250	3250	3250
Proteína bruta, %	13,19	13,19	12,19	12,19
Cálcio, %	0,545	0,545	0,521	0,521
Fósforo disponível, %	0,261	0,261	0,250	0,250
Lisina digestível, %	0,834	0,980	0,771	0,917
Metionina+cisteína digestível, %	0,500	0,588	0,463	0,550
Treonina digestível, %	0,542	0,637	0,501	0,596
Triptofano digestível, %	0,167	0,196	0,154	0,183

¹Níveis por kg de ração: vitamina A (3.199,87 UI), vitamina D3 (649,97 UI), vitamina E (8,5 UI), vitamina K3 (1,00 mg), vitamina B1 (0,33 mg), vitamina B2 (2,8 mg), vitamina B6 (0,60 mg), vitamina B12 (10,50 mcg), ácido fólico (0,25mg), ácido pantotênico (9,34 mg), niacina (16,00 mg), selênio (0,30 mg), manganês (14,93 mg), zinco (0,08 g), ferro (0,05 g), cobre (7,98 mg), iodo (0,30 mg).

Para os tratamentos com suplementação de ractopamina, os níveis de lisina, metionina, treonina e triptofano digestíveis foram ajustados em função do aumento da deposição proteica esperado nos animais suplementados, seguindo as recomendações de Rostagno et al. (2017).

Ao término do experimento, um animal de cada unidade experimental foi abatido em um frigorífico comercial. Após o abate, foi coletada uma amostra de aproximadamente 150 g do músculo *Longissimus dorsi*, na região correspondente ao ponto P2, localizado a 6,5 cm da

linha dorso-lombar e a 6,5 cm da última costela.

As amostras foram acondicionadas e armazenadas sob congelamento a -8°C até o momento das análises. Posteriormente, foram submetidas ao processo de liofilização por 48h. Após essas etapas, procedeu-se à extração de proteínas para as análises proteômicas.

2.2 Extração, quantificação e identificação das proteínas

Para a extração de proteínas, uma amostra liofilizada (5 g) do músculo Longissimus dorsi foi reidratada em 100 μL de água ultrapura contendo 1% de Triton X-100 e incubada a $5 \pm 0,5^{\circ}\text{C}$ por 1 hora. Em seguida, foram adicionados 400 μL de tampão de lise (7 M de ureia, 2 M de tiourea, 4% de CHAPS, 2% de tampão IPG pH 4–7 e 40 mM de DTT).

O extrato obtido foi submetido à sonicação em banho de gelo e, posteriormente, centrifugado por 30 minutos a 5.000 g, a $4 \pm 0,5^{\circ}\text{C}$. A concentração de proteínas da solução foi determinada pelo método de Bradford (BRADFORD, 1976), utilizando um espectrofotômetro NanoDrop™ 2000c.

A concentração total de proteínas foi determinada utilizando o kit Pierce™ BCA Protein Assay Kit (ref. 23225, Thermo Fisher Scientific), método baseado na redução dos íons cobre (Cu^{2+} para Cu^{+}) em meio alcalino, seguida da detecção colorimétrica do complexo formado entre o Cu^{+} e o ácido bicinconínico (BCA) (SMITH et al., 1985). As amostras foram preparadas em placas de 96 poços juntamente com os reagentes do kit, incubadas a 37°C por 30 minutos e submetidas à leitura da absorbância em 562 nm em espectrofotômetro. As concentrações proteicas foram calculadas a partir dos valores de absorbância obtidos, utilizando planilhas eletrônicas para determinação das concentrações individuais das amostras.

Para as análises proteômicas, as amostras foram preparadas segundo o protocolo Filter-Aided Sample Preparation (FASP) (WIŚNIEWSKI et al., 2009), amplamente empregado em abordagens proteômicas do tipo *shotgun*. Cada amostra foi processada em duplicata e analisada em um sistema ACQUITY UPLC Classe M (Waters Corporation, Milford, MA, EUA), acoplado a um espectrômetro de massas Synapt G2-Si (Waters Corporation, Milford, MA, EUA) (WATERS CORPORATION, 2011). Inicialmente, 1 μg de peptídeos foi injetado em uma coluna de pré-concentração Symmetry C18 (5 μm , 180 $\mu\text{m} \times 20$ mm), sendo posteriormente separado em uma coluna analítica HSS T3 C18 (1,8 μm , 75 $\mu\text{m} \times 150$ mm).

A separação cromatográfica foi realizada por cromatografia líquida em fase reversa, utilizando um gradiente de eluição de 125 minutos, iniciando com 3% e aumentando progressivamente até 40% do eluente B (acetonitrila contendo 0,1% de ácido fórmico). Em

seguida, a concentração do eluente foi elevada para 85% durante 10 minutos, sendo posteriormente reequilibrada a 3% antes da próxima análise.

A aquisição dos espectros de massas foi realizada no modo HDMSE (High Definition Mass Spectrometry Elevated Energy) (GEROMANOS et al., 2009), que combina aquisição independente de dados (DIA) com separação por mobilidade iônica. O equipamento operou em modo de alta resolução, alternando entre energias de colisão baixa (4 eV) e elevada (16–50 eV). Os espectros foram adquiridos em uma faixa de razão massa/carga (m/z) de 50 a 2000, com tempo de aquisição de 1 segundo por função. Para a etapa de mobilidade iônica, foram utilizadas velocidades de onda de 1000 m/s na célula de separação e de 175 m/s na célula de transferência. O peptídeo [Glu1]-Fibrinopeptídeo B foi empregado como padrão de massa de referência (*lock mass*), sendo analisado a cada 45 segundos para garantir a calibração e a precisão das medições.

A identificação e quantificação das proteínas foram conduzidas no software Progenesis (NONLINEAR DYNAMICS, 2015), utilizando como banco de dados sequências revisadas e não revisadas de *Sus scrofa*. Foram considerados íons com carga máxima de +5, utilizando tripsina como enzima proteolítica, com permissão para uma clivagem perdida. A carbamidometilação de resíduos de cisteína foi definida como modificação fixa, enquanto a oxidação de resíduos de metionina foi considerada modificação variável. As tolerâncias de massa foram estabelecidas em 20 ppm para íons precursores e 10 ppm para íons fragmentos, considerando proteínas com massa molecular máxima de 600 kDa. Os critérios de identificação incluíram pelo menos um fragmento por peptídeo, três fragmentos por proteína e um peptídeo por proteína, com taxa de falsa descoberta (False Discovery Rate – FDR) limitada a 1%.

Os dados obtidos foram posteriormente processados e analisados na plataforma MetaboAnalyst (PANG et al., 2021), com o objetivo de identificar proteínas diferencialmente abundantes e investigar padrões de expressão entre os grupos experimentais. Inicialmente, os dados passaram por procedimentos de pré-processamento, incluindo imputação de valores ausentes para minimizar perdas decorrentes de aquisições incompletas. Em seguida, foi aplicada a normalização pela mediana, visando reduzir a variabilidade técnica e padronizar os níveis de abundância proteica entre as amostras.

A Análise de Componentes Principais (PCA) foi utilizada como ferramenta exploratória para avaliar a distribuição das amostras e a variabilidade global dos dados. A representação gráfica permitiu observar o agrupamento das amostras de acordo com os tratamentos experimentais (T1, T2, T3 e T4), evidenciando possíveis diferenças nos perfis de expressão proteica entre os grupos. A similaridade entre as amostras foi investigada por

meio da correlação de Pearson (PEARSON, 1895), que quantifica a associação linear entre pares de observações. Os coeficientes de correlação variaram entre -1 e $+1$, indicando desde correlações negativas fortes até correlações positivas elevadas. Os resultados foram apresentados em uma matriz de correlação, utilizada para avaliar a consistência dos dados e a reprodutibilidade das réplicas dentro de cada grupo experimental.

Também foi elaborado um mapa de calor (heatmap) acompanhado de agrupamento hierárquico, permitindo a visualização dos padrões de abundância das proteínas entre os tratamentos. Nesse gráfico, cada linha representou uma proteína e cada coluna correspondeu a uma amostra, possibilitando a identificação de perfis de expressão semelhantes.

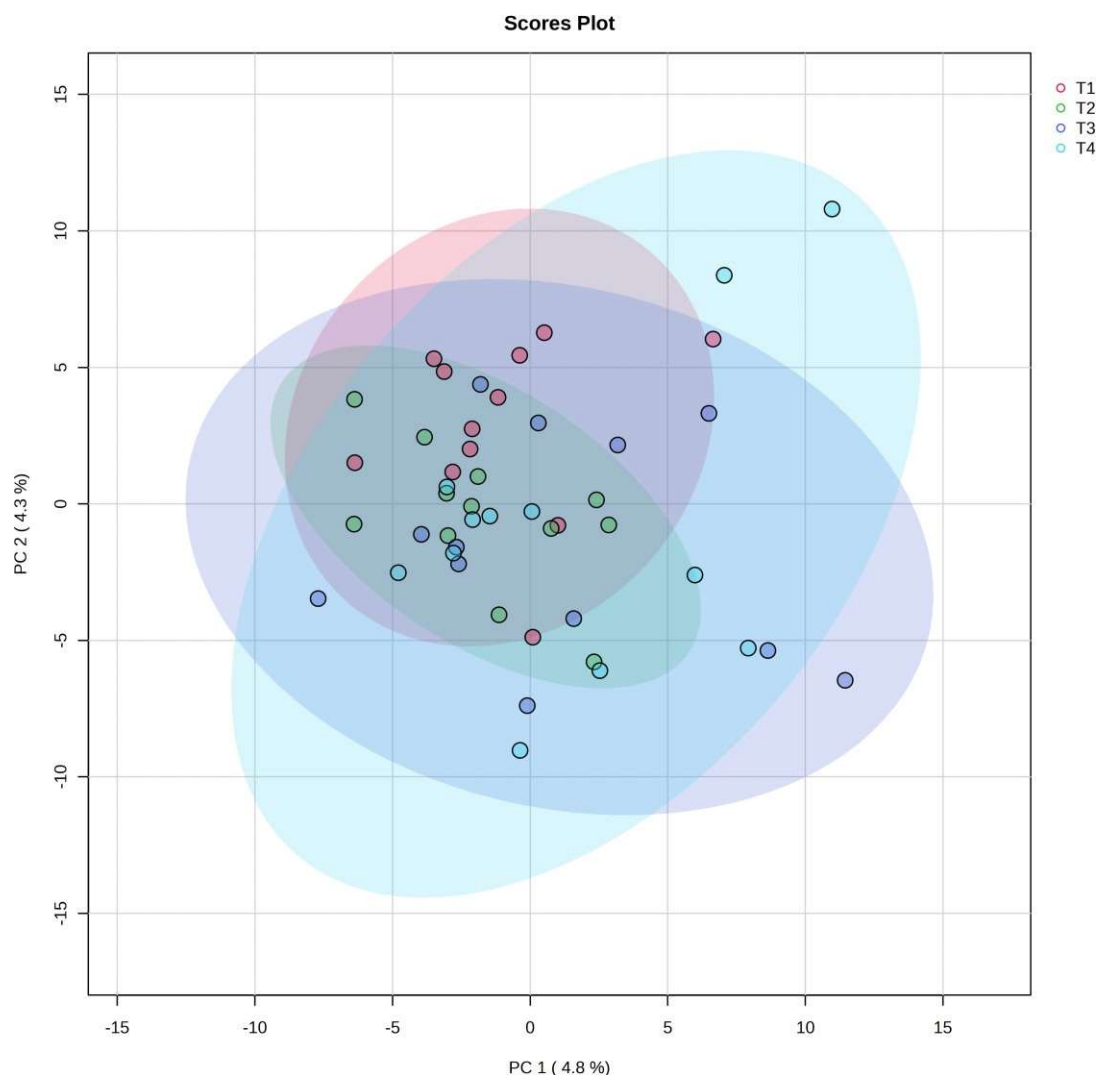
Para a identificação de proteínas diferencialmente abundantes, realizou-se inicialmente uma análise de variância unidirecional (ANOVA). Foram consideradas significativas as proteínas que apresentaram valor de $p \leq 0,05$. Posteriormente, as proteínas selecionadas foram submetidas ao teste pós-hoc de Diferença Mínima Significativa (LSD) de Fisher (SOKAL; ROHLF, 2012), visando identificar diferenças específicas entre os pares de grupos experimentais. Em todas as análises, adotou-se nível de significância de 5% ($p \leq 0,05$).

3 RESULTADOS

Ao todo, foram identificadas 612 proteínas utilizando o software Progenesis QI for Proteomics. Após a aplicação dos critérios de qualidade e dos filtros de quantificação, 460 proteínas apresentaram valores de abundância confiáveis, sendo selecionadas para as análises estatísticas subsequentes. O tratamento T4 apresentou o maior número de proteínas abundantes (138), seguido pelos tratamentos T2 e T3, ambos com 134 proteínas, enquanto o tratamento T1 apresentou o menor número de proteínas identificadas, totalizando 54.

A análise de componentes principais (PCA) foi utilizada para explorar a distribuição global das amostras com base no perfil de abundância proteica. Os dois primeiros componentes principais explicaram 4,8% (PC1) e 4,3% (PC2) da variabilidade total dos dados, correspondendo a 9,1% da variância acumulada. Observou-se ampla sobreposição entre os grupos experimentais, sem formação de agrupamentos claramente distintos, indicando elevada similaridade global entre os perfis proteômicos avaliados (Figura 1).

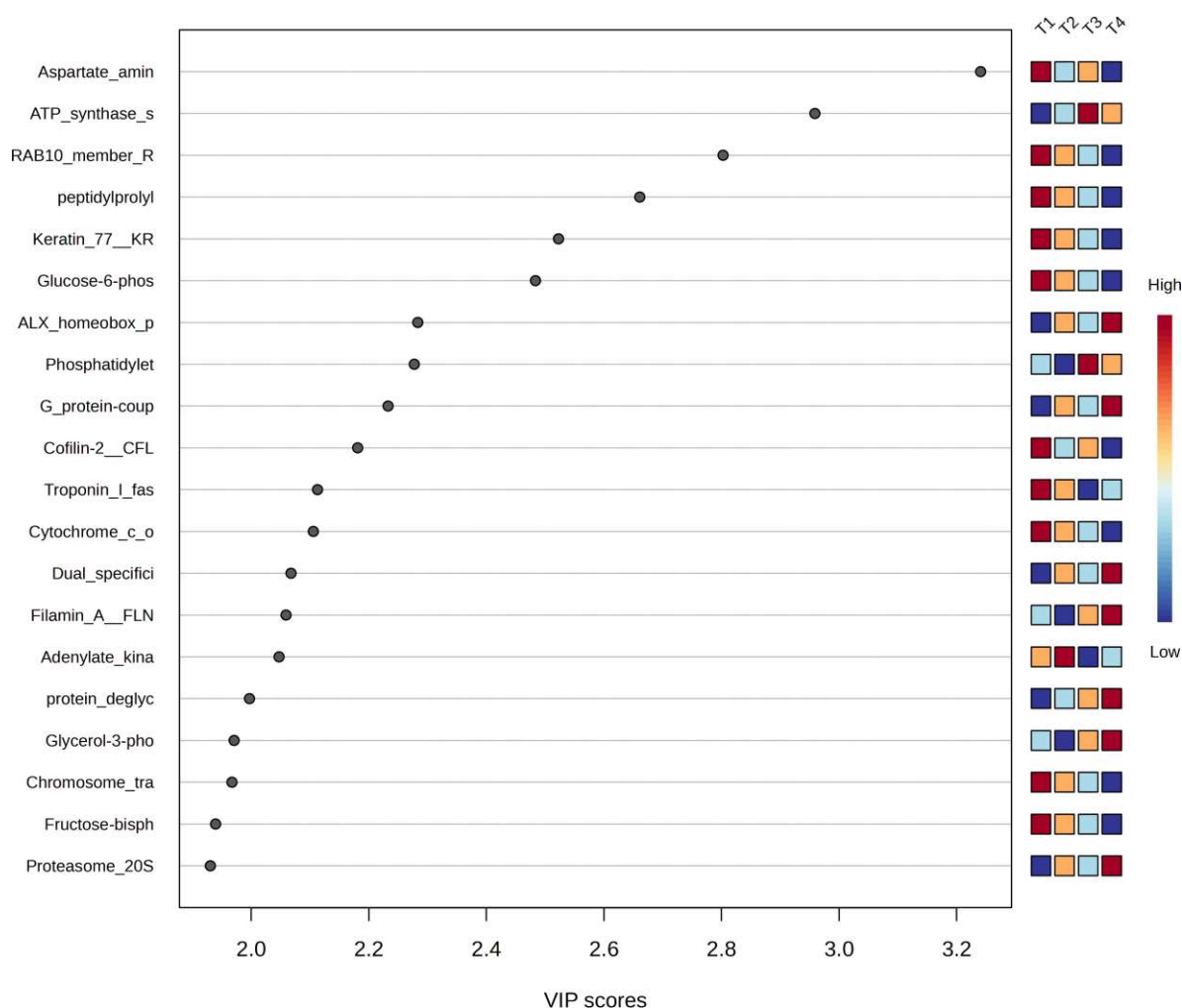
Figura 1. PCA do perfil proteômico do músculo Longissimus dorsi de leitoas submetidas a diferentes regimes de suplementação com ractopamina.



Fonte: Elaborada pelo autor (2026)

Para aumentar a capacidade de discriminação entre os tratamentos, foi realizada uma análise por Partial Least Squares Discriminant Analysis (PLS-DA), que proporcionou uma separação mais evidente entre os grupos experimentais. A análise dos valores de Variable Importance in Projection (VIP) identificou ATP Synthase Subunit Beta (ATP5F1B/F1SLA0), Aspartate Aminotransferase (GOT2/A0A8D1M3L0) e Peptidylprolyl Isomerase (FKBP1A/A0A5G2QMX4) como as proteínas de maior contribuição para a discriminação entre os tratamentos, todas apresentando valores de VIP superiores a 2,0 (Figura 2).

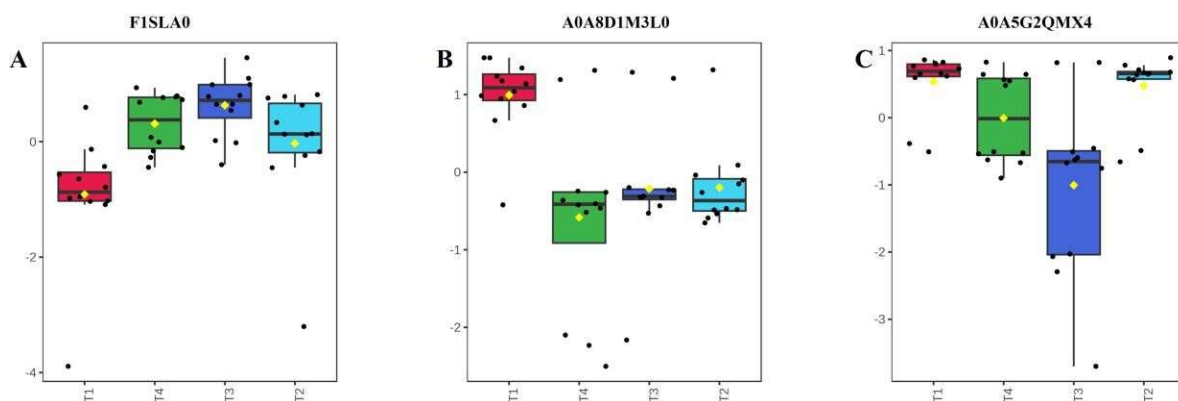
Figura 2. Análise de Variable Importance in Projection (VIP) obtida por PLS-DA.



Fonte: Elaborada pelo autor (2026)

A abundância relativa dessas proteínas é apresentada na Figura 3. A ATP5F1B apresentou menor abundância no grupo controle (T1), enquanto os grupos suplementados exibiram valores superiores, principalmente T3 e T4 (Figura 3A). Em contraste, a GOT2 apresentou maior abundância no grupo controle e redução nos grupos suplementados, especialmente em T2, T3 e T4 (Figura 3B). Para FKBP1A, observaram-se maiores níveis de abundância nos grupos T1 e T2, enquanto T3 apresentou os menores valores, seguido por aumento parcial no grupo T4 (Figura 3C).

Figura 3. Abundância relativa das proteínas ATP5F1B (A), GOT2 (B) e FKBP1A (C) entre os tratamentos experimentais.



Fonte: Elaborada pelo autor (2026)

A análise univariada confirmou ATP5F1B, GOT2 e FKBP1A como as únicas proteínas diferencialmente abundantes entre os tratamentos após correção para múltiplas comparações ($FDR < 0,05$), enquanto as demais proteínas identificadas não apresentaram diferenças estatisticamente significativas. Esses resultados demonstram que essas três proteínas constituem os principais marcadores responsáveis pela diferenciação dos perfis proteômicos entre os diferentes regimes de suplementação com ractopamina.

4 DISCUSSÃO

Os resultados do presente estudo demonstram que a suplementação com ractopamina em diferentes regimes induz alterações significativas no perfil proteômico do músculo Longissimus dorsi de leitoas, com destaque para a reprogramação da bioenergética celular e do metabolismo de aminoácidos e proteínas. A análise proteômica, conforme empregada, revelou-se uma ferramenta robusta para elucidar os mecanismos moleculares subjacentes à ação da ractopamina, corroborando achados anteriores que destacam a complexidade de sua atuação além das respostas fenotípicas (Zhai et al., 2022).

A identificação de ATP5F1B (subunidade beta da ATP sintase) como uma das proteínas com maior poder discriminatório e sua maior abundância nos grupos de suplementação intermitente (T3 e T4) sugere uma intensificação da capacidade de produção de ATP mitocondrial. Este achado é consistente com a função da ractopamina em promover a síntese proteica, um processo metabolicamente custoso que demanda elevada energia (Kim et al., 2019). Estudos prévios em bovinos também indicaram que a ractopamina pode induzir o remodelamento do proteoma mitocondrial, afetando proteínas envolvidas na cadeia de transporte de elétrons e no metabolismo energético (Zhai et al., 2022).

Em contraste, a proteína GOT2 (aspartato aminotransferase mitocondrial) apresentou um padrão inverso, com menor abundância nos grupos T3 e T4. A GOT2 desempenha um papel crucial no metabolismo de aminoácidos e no transporte de equivalentes redutores através do malate-aspartate shuttle, contribuindo para a produção de energia (Fink, 2025). A redução na abundância de GOT2 nos grupos suplementados com ractopamina pode indicar um redirecionamento do fluxo de aminoácidos. Essa mudança metabólica otimiza a disponibilidade de precursores para a construção de novas proteínas musculares, um dos principais objetivos da suplementação com ractopamina.

A FKBP1A (peptidilprolil isomerase), por sua vez, demonstrou maior abundância nos grupos de suplementação intermitente. Esta proteína atua como uma chaperona molecular, auxiliando no dobramento correto de proteínas recém-sintetizadas e na manutenção da homeostase proteica (UniProt, 2026). O aumento da expressão de FKBP1A em resposta à ractopamina pode ser interpretado como uma adaptação celular para lidar com a maior demanda de dobramento e processamento de proteínas resultante da intensificação da síntese proteica muscular (UniProt, 2026). Além disso, a FKBP1A está envolvida na regulação de canais de cálcio, como os receptores de rianodina (RyR), que desempenham um papel na sinalização celular e na hipertrofia muscular (Wiśniewski et al., 2009). A modulação desses mecanismos

pode contribuir para a resposta adaptativa do músculo à ractopamina.

Os diferentes regimes de suplementação com ractopamina, especialmente a exposição intermitente prolongada (T4), parecem induzir as adaptações mitocondriais mais expressivas. Isso sugere que a estratégia de fornecimento intermitente pode ser mais eficaz em manter a sensibilidade dos receptores β -adrenérgicos e em promover uma remodelação metabólica mais acentuada, evitando a dessensibilização que pode ocorrer com a suplementação contínua (Smith et al., 1985; Geromanos et al., 2009). A otimização do regime de suplementação é, portanto, crucial para maximizar os efeitos benéficos da ractopamina na produção de carne suína.

Em suma, a abordagem proteômica permitiu desvendar uma complexa rede de alterações moleculares induzidas pela ractopamina no músculo Longissimus dorsi de leitoas. As modificações na abundância de proteínas como ATP5F1B, GOT2 e FKBP1A revelam uma reprogramação coordenada do metabolismo energético, de aminoácidos e da homeostase proteica, que culmina no aumento da deposição de tecido magro. Esses achados fornecem subsídios valiosos para a otimização de estratégias nutricionais na suinocultura, visando uma produção mais eficiente e sustentável.

5 CONCLUSÃO

Este estudo demonstrou que diferentes regimes de suplementação com ractopamina impactam significativamente o perfil proteômico do músculo Longissimus dorsi de leitoas. As análises revelaram uma remodelação da bioenergético celular, do metabolismo de aminoácidos e da homeostase proteica, com a suplementação intermitente prolongada (T4) induzindo as adaptações mitocondriais mais expressivas. A identificação de proteínas como ATP5F1B, GOT2 e FKBP1A como biomarcadores chave reforça a compreensão dos mecanismos moleculares pelos quais a ractopamina promove o aumento da deposição de tecido magro. Esses resultados contribuem para a otimização de estratégias nutricionais na suinocultura, visando aprimorar a eficiência produtiva e a qualidade da carne suína.

REFERÊNCIAS

- ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE PROTEÍNA ANIMAL (ABPA). **Relatório Anual 2026**. São Paulo: ABPA, 2026. Disponível em: <https://abpa-br.org/abpa-relatorio-anual/>. Acesso em: 25 abr. 2026.
- BRADFORD, M. M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry*, v. 72, n. 1-2, p. 248-254, 1976.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Instrução Normativa nº 15, de 26 de maio de 2009**. Regulamenta o registro dos estabelecimentos e dos produtos destinados à alimentação animal. Brasília, DF: MAPA, 2009. Disponível em: <https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/insumos-agropecuarios/insumos-pecuarios/alimentacao-animal/arquivos-alimentacao-animal/legislacao/instrucao-normativa-no-15-de-26-de-maio-de-2009.pdf>. Acesso em: 25 abr. 2026.
- DONG, H.; TSAI, S.-Y. Mitochondrial properties in skeletal muscle fiber. *Cells*, v. 12, n. 17, art. 2210, 2023. DOI: <https://doi.org/10.3390/cells12172210>.
- FINK, B.; SOM, R.; RAUCKHORST, A. J.; TAYLOR, E. B.; YU, L.; SIVITZ, W. I. **Hepatic glutamic-oxaloacetic transaminase promotes complex II-energized mitochondrial respiration and alters whole-body metabolism**. *The Journal of Biological Chemistry*, v. 301, 2025. DOI: 10.1016/j.jbc.2025.110261.
- GEROMANOS, S. J.; VISSERS, J. P. C.; SILVA, J. C.; DORSCHER, C. A.; LI, G.-Z.; GORENSTEIN, M. V.; BATEMAN, R. H.; LANGRIDGE, J. I. **Detection, correlation, and comparison of peptide precursor and product ions from data-independent LC-MS with data-dependent LC-MS/MS**. *Proteomics*, v. 9, n. 6, p. 1683–1695, 2009.
- GUNAWAN, A. M.; YEN, C.; RICHERT, B. T.; SCHINCKEL, A. P.; GRANT, A. L.; GERRARD, D. E. Ractopamine-induced fiber type-specific gene expression in porcine skeletal muscles is independent of growth. *Journal of Animal Science*, v. 98, n. 11, p. 1-16, 2020.
- KIM, H. M. *et al.* Ractopamine-induced changes in the proteome of post-mortem beef *Longissimus lumborum* muscle. *South African Journal of Animal Science*, v. 49, n. 3, p. 469-478, 2019. DOI: <https://doi.org/10.4314/sajas.v49i3.3>.
- NONLINEAR DYNAMICS. **Progenesis QI for Proteomics User Guide**. Newcastle upon Tyne, 2015. Disponível em: <https://www.nonlinear.com/progenesis/qi-for-proteomics/>. Acesso em: 26 jun. 2026.
- PANG, Z. *et al.* MetaboAnalyst 5.0: narrowing the gap between raw spectra and functional insights. *Nucleic Acids Research*, v. 49, n. W1, p. W388-W396, 2021.
- PEARSON, K. Note on regression and inheritance in the case of two parents. *Proceedings of the Royal Society of London*, v. 58, p. 240-242, 1895.

SMITH, P. K. *et al.* **Measurement of protein using bicinchoninic acid.** *Analytical Biochemistry*, v. 150, n. 1, p. 76-85, 1985.

SOKAL, R. R.; ROHLF, F. J. **Biometry: the principles and practice of statistics in biological research.** 4. ed. New York: W. H. Freeman, 2012.

UNIPROT. **ATP synthase F(1) complex subunit beta, mitochondrial – *Sus scrofa* (Pig).** Entry A0A287BET3. Disponível em: <https://www.uniprot.org/uniprotkb/A0A287BET3/entry>. Acesso em: 28 jun. 2026.

UNIPROT. **FKBP1A – peptidyl-prolyl cis-trans isomerase – *Sus scrofa* (Pig).** Entry A0A5G2QMX4. Disponível em: <https://www.uniprot.org/uniprotkb/A0A5G2QMX4/entry>. Acesso em: 28 jun. 2026.

UNIPROT. **GOT2 – Aspartate aminotransferase, mitochondrial – *Sus scrofa* (Pig).** Entry A0A8D1M3L0. Disponível em: <https://www.uniprot.org/uniprotkb/A0A8D1M3L0/entry>. Acesso em: 28 jun. 2026.

UNIPROT. **Peptidyl-prolyl cis-trans isomerase – *Sus scrofa* (Pig).** Entry A0A287AFF5. Disponível em: <https://www.uniprot.org/uniprotkb/A0A287AFF5/entry>. Acesso em: 28 jun. 2026.

WATERS CORPORATION. **Synapt G2-Si HDMS System Care and Use Manual.** Milford, MA, 2011.

WIŚNIEWSKI, J. R. *et al.* Universal sample preparation method for proteome analysis. *Nature Methods*, v. 6, n. 5, p. 359-362, 2009.

ZHAI, C. *et al.* **Ractopamine-induced remodeling in the mitochondrial proteome of postmortem *Longissimus lumborum* muscle from feedlot steers.** *Livestock Science*, v. 260, art. 104923, 2022. DOI: 10.1016/j.livsci.2022.104923.