

UNIVERSIDADE FEDERAL DE VIÇOSA

**Metodologia para produção e caracterização da farinha de subprodutos do
abate de rã-touro (*Aquarana catesbeiana*)**

Hugo José Moraes
Magister Scientiae

**VIÇOSA - MINAS GERAIS
2025**

HUGO JOSÉ MORAES

Metodologia para produção e caracterização da farinha de subprodutos do abate de rã-touro (*Aquarana catesbeiana*)

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Biologia Animal, para obtenção do título de *Magister Scientiae*.

Orientador: Oswaldo P. Ribeiro Filho

**VIÇOSA - MINAS GERAIS
2025**

**Ficha catalográfica elaborada pela Biblioteca Central da Universidade
Federal de Viçosa - Campus Viçosa**

T

M827m
2025
Moraes, Hugo José, 1999-
Metodologia para produção e caracterização da farinha de subprodutos do abate de rã-touro (*Aquarana catesbeiana*) / Hugo José Moraes. – Viçosa, MG, 2025.
1 dissertação eletrônica (78 f.): il. (algumas color.).

Orientador: Oswaldo Pinto Ribeiro Filho.
Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Viçosa, Departamento de Biologia Animal, 2025.
Referências bibliográficas: f. 69-78.
DOI: <https://doi.org/10.47328/ufvbbt.2025.394>
Modo de acesso: World Wide Web.

1. Rãs - Criação. 2. Farinhas. I. Ribeiro Filho, Oswaldo Pinto, 1960-. II. Universidade Federal de Viçosa. Departamento de Biologia Animal. Programa de Pós-Graduação em Biologia Animal. III. Título.

CDD 22. ed. 639.3789

HUGO JOSÉ MORAES

Metodologia para produção e caracterização da farinha de subprodutos do abate de rã-touro (*Aquarana catesbeiana*)

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Biologia Animal, para obtenção do título de *Magister Scientiae*.

APROVADA: 14 de março de 2025.

Assentimento:

Hugo José Moraes
Autor

Oswaldo Pinto Ribeiro Filho
Orientador

Essa dissertação foi assinada digitalmente pelo autor em 11/06/2025 às 18:42:18 e pelo orientador em 17/07/2025 às 20:04:55. As assinaturas têm validade legal, conforme o disposto na Medida Provisória 2.200-2/2001 e na Resolução nº 37/2012 do CONARQ. Para conferir a autenticidade, acesse <https://siadoc.ufv.br/validar-documento>. No campo 'Código de registro', informe o código **EOO7.NK2X.LAZC** e clique no botão 'Validar documento'.

Dedico este trabalho a Deus, minha família e a Universidade Federal de Viçosa.

AGRADECIMENTOS

Este trabalho foi realizado com o apoio das seguintes agências de pesquisa brasileiras: Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001, Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG) e Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq).

RESUMO

MORAES, Hugo José, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, março de 2025. **Metodologia para produção e caracterização da farinha de subprodutos do abate de rã-touro (*Aquarana catesbeiana*)**. Orientador: Oswaldo Pinto Ribeiro Filho.

O abate de rã-touro gera os subprodutos cabeças, patas, peles, vísceras e corpo adiposo, que não são comercialmente aproveitados na ranicultura brasileira. O objetivo com esse trabalho foi elaborar um protocolo de produção da farinha de subprodutos do abate de rã-touro, produzir farinhas por meio desse protocolo e realizar análises das farinhas produzidas. A produção ocorreu em quatro tratamentos, sendo o tratamento CA com todos os subprodutos, o Tratamento SC com a exclusão do corpo adiposo, o Tratamento F com subprodutos de fêmeas e o Tratamento M com subprodutos de machos. Durante a produção, foram coletados os dados tempo de cozimento; tempo de secagem; e rendimento. As farinhas passaram por análise de matéria seca, Extrato etéreo, proteína, matéria mineral, carboidratos não fibrosos e, também, análise de detecção de *Salmonella* spp.. Os dados foram analisados por ANOVA, teste de Tukey a 5% e, quando necessário, correlação de Pearson a 5%. O tempo de cozimento foi maior no Tratamento M, devido ao maior teor proteico, tendo como fonte o colágeno da pele. O tempo de secagem foi maior no Tratamento F pelo fato da presença de órgãos de estrutura complexa, como o oviduto, na mistura de subprodutos. O rendimento também foi maior no Tratamento F, devido ao maior volume visceral nas repetições. As farinhas produzidas pelo tratamento CA obtiveram o maior teor de Extrato etéreo devido à presença do corpo adiposo na mistura de subprodutos. O teor de proteína foi maior nas farinhas produzidas no Tratamento M, devido à maior quantidade de pele na mistura de subprodutos. O teor de minerais foi maior no Tratamento M devido a maior quantidade de cabeças e patas na mistura de subprodutos. Matéria seca e carboidratos não diferiram entre os tratamentos. Nenhuma das farinhas teve crescimento típico de *Salmonella* spp. A técnica foi eficiente e eficaz na produção da farinha de subprodutos do abate de rã-touro, gerando um novo ingrediente passível de utilização na formulação de rações e evitando o descarte incorreto dos subprodutos.

Palavras-chave: Farinha, Ingrediente, Subprodutos, Rã-touro.

ABSTRACT

MORAES, Hugo José, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, March, 2025. **Methodology for production and characterization of flour from by-products of bullfrog (*Aquarana catesbeiana*) slaughter.** Adviser: Oswaldo Pinto Ribeiro Filho.

The slaughter of bullfrogs generates the by-products heads, feet, skins, viscera and adipose body, which are not commercially used in Brazilian frog farming. The objective of this work is to develop a protocol for production flour from the by-products of bullfrog slaughter, produce flour using this technique and perform flour analysis. Production occurred in 4 treatments, treatment CA with all by-products, treatment SC with exclusion of the adipose body, treatment F with female by-products and treatment M with male by-products. Cooking time, drying time, and yield data were collected during production. The flours were analyzed to detect *Salmonella* spp. and to analyze dry matter, lipids, protein, mineral matter, and non-fibrous carbohydrates. Data were analyzed using ANOVA, 5% Tukey's test, and when necessary, 5% Pearson correlation. The cooking time was longer in treatment M, due to the higher protein content, using skin collagen as its source. The drying time was longer in treatment F due to the presence of organs with a complex structure, such as the oviduct, in the by-product mixture. The yield was also higher in treatment F, due to the greater visceral volume in the repetitions. The flours produced by treatment CA had the highest lipid content due to the presence of the adipose body in the by-product mixture. The protein content was higher in the flours produced in treatment M, due to the greater amount of skin in the by-product mixture. The mineral content was higher in treatment M due to the greater quantity of heads and feet in the by-product mixture. Dry matter and carbohydrates did not differ between treatments. None of the flours had the typical growth of *Salmonella* spp. The technique was efficient and effective in producing flour from bullfrog slaughter by-products, generating a new ingredient that could be used in feed formulation and avoiding incorrect disposal of by-products.

Keywords: Ingredient, flour, bullfrog , by-products.

Lista de Figuras

Figura 1 - Subprodutos de rã-touro (<i>Aquarana catesbeiana</i>) acondicionado saco de polietileno, em preparação par descongelamento.	21
Figura 2 - Utensílios e equipamentos, usados na produção das farinhas, em processo de sanitização.	21
Figura 3 - Ponto de cozimento da massa de subprodutos do abate de rã-touro (<i>Aquarana catesbeiana</i>).....	24
Figura 4 -Massa de subprodutos do abate de rã-touro (<i>Aquarana catesbeiana</i>) em secagem a 80 °C, monitorada via termômetro a Laser.	25
Figura 5 -Massa de subprodutos do abate de rã-touro (<i>Aquarana catesbeiana</i>) após o seu revolvimento utilizando uma espátula.	26
Figura 6 - Farinha de subprodutos de rã-touro (<i>Aquarana catesbeiana</i>) após moagem, peneiramento e homogeneização.....	27
Figura 7 - Pacotes com farinha de subprodutos do abate de rã-touro (<i>Aquarana catesbeiana</i>) lacrados/identificados e caixas de pacotes em refrigeração.	28
Figura 8 - Médias e desvios padrão para o tempo de cozimento na fabricação de farinhas de subprodutos do abate de rã-touro (<i>Aquarana catesbeiana</i>).....	44
Figura 9 - Médias e desvios padrão do tempo de secagem na produção de farinha de subprodutos do abate de rã-touro (<i>Aquarana catesbeiana</i>).... Erro! Indicador não definido. 5	
Figura 10 - Médias e desvios padrão para o rendimento de farinha de subprodutos do abate de rã-touro (<i>Aquarana catesbeiana</i>).	47
Figura 11 - Médias e desvios padrão do teor de matéria seca das farinhas de subprodutos do abata de rã-touro (<i>Aquarana catesbeiana</i>).	51
Figura 12 - Médias e desvios padrão para o teor de carboidratos não fibrosos das farinhas de subprodutos do abate de rã-touro (<i>Aquarana catesbeiana</i>).....	52
Figura 13 - Médias e desvios padrão dos teores de Extrato etéreo das farinhas de subprodutos de abate de rã-touro (<i>Aquarana catesbeiana</i>).	54
Figura 14 - Médias e desvios padrão para o teor de proteína das farinhas de subprodutos do abate de rã-touro (<i>Aquarana Catesbeiana</i>).	55
Figura 15 - Médias e desvios padrão do teor de matéria mineral das farinhas de subprodutos do abate de rã-touro (<i>Aquarana catesbeiana</i>).	61
Figura 16 - Amostras de farinha de subprodutos de abate de rã-touro (<i>Aquarana catesbeiana</i>) em processo de análise microbiológica de <i>Salmonella spp.</i>	65

Lista de Tabelas

Tabela 1 - Peso total, peso-médio e rendimento de animal vivo, carcaça e subprodutos obtidos no abate de 100 fêmeas de rã-touro (<i>Aquarana catesbeiana</i>)	34
Tabela 2 - Subprodutos, peso e porcentagem obtidos no abate de 100 fêmeas de rã-touro (<i>Aquarana catesbeiana</i>)	35
Tabela 3 - Peso total, peso médio e rendimento de animal vivo, carcaça e subprodutos obtidos no abate de 100 machos de rã-touro (<i>Aquarana catesbeiana</i>)	36
Tabela 4 - Subprodutos, peso e porcentagem obtidos no abate de 100 machos de rã-touro (<i>Aquarana catesbeiana</i>).....	37
Tabela 5 - Repetições, tempo de cozimento, tempo de secagem e rendimento obtidos durante a produção das farinhas de subprodutos do abate de rã-touro (<i>Aquarana catesbeiana</i> CA	39
Tabela 6 - Repetições, tempo de cozimento, tempo de secagem e rendimentos obtidos durante a produção das farinhas de subprodutos do abate de rã-touro (<i>Aquarana catesbeiana</i>) no Tratamento SC.....	40
Tabela 7 - Repetições, tempo de cozimento, tempo de secagem e rendimento obtidos durante a produção das farinhas de subprodutos do abate de rã-touro (<i>Aquarana catesbeiana</i>) no Tratamento F	41
Tabela 8 - Repetições, tempo de cozimento, tempo de secagem e rendimento obtidos durante a produção das farinhas de subprodutos do abate de rã-touro (<i>Aquarana catesbeiana</i>) no Tratamento M.....	42
Tabela 9 – Médias, desvio padrão e comparação das médias para as variáveis tempo de cozimento, tempo de secagem e rendimento dos tratamentos	43
Tabela 10 - Tratamento, Repetição, Matéria seca (MS), Extrato etéreo (L), Proteína Bruta (PB), Matéria Mineral (MM) e Carboidratos Não Fibrosos (CNF) obtidos nas análises químicas realizadas nas amostras do tratamento 1	49
Tabela 11 - Tratamento, Repetição, Matéria seca (MS), Extrato etéreo (L), Proteína Bruta (PB), Matéria Mineral (MM) e Carboidratos Não Fibrosos (CNF) obtidos nas	

análises químicas realizadas nas amostras do Tratamento SC	49
Tabela 12 - Tratamento, Repetição, Matéria seca (MS), Extrato etéreo (L), Proteína Bruta (PB), Matéria Mineral (MM) e Carboidratos Não Fibrosos (CNF) obtidos nas análises químicas realizadas nas amostras do Tratamento F.....	50
Tabela 13 - Tratamento, Repetição, Matéria seca (MS), Extrato etéreo (L), Proteína Bruta (PB), Matéria Mineral (MM) e Carboidratos Não Fibrosos (CNF) obtidos nas análises químicas realizadas nas amostras do tratamento 14.....	50
Tabela 14 - Médias, desvio padrão e comparação das médias para os teores de Extrato Etéreo, Proteína e Matéria mineral das farinhas dos tratamentos.....	53
Tabela 15 - Coeficiente de correlação simples entre as variáveis extrato etéreo e proteína, número de observações e significância das farinhas de subprodutos do abate de rã-touro (<i>Aquarana catesbeiana</i>)	58
Tabela 16 - Coeficiente de correlação simples entre as variáveis proteína e tempo de cozimento, número de observações e significância das farinhas de subprodutos do abate de rã-touro (<i>Aquarana catesbeiana</i>)	60
Tabela 17 - Coeficiente de correlação simples entre as variáveis extrato etéreo e matéria mineral, número de observações e significância das farinhas de subprodutos do abate de rã-touro (<i>Aquarana catesbeiana</i>).....	63
Tabela 18 - Coeficiente de correlação simples entre as variáveis matéria mineral e proteína, número de observações e significância das farinhas de subprodutos do abate de rã-touro (<i>Aquarana catesbeiana</i>)	64
Tabela 19 - Coeficiente de correlação simples entre as variáveis Matéria mineral e proteína, número de observações e significância das farinhas de subprodutos do abate de rã-touro (<i>Aquarana catesbeiana</i>)	65

Sumário

1	Introdução	12
2	Revisão de literatura	13
3	Material e Métodos	20
3.1	Tratamentos	22
3.1.1	Tratamento CA.....	22
3.1.2	Tratamento SC	22
3.1.3	Tratamento F	22
3.1.4	Tratamento M.....	22
3.2	Produção da farinha	23
3.3	Análises químicas	28
3.3.1	Matéria seca	28
3.3.2	Extrato etéreo	29
3.3.3	Proteína	30
3.3.4	Matéria mineral.....	31
3.3.5	Carboidratos Não Fibrosos	31
3.4	Análise Microbiológica	32
3.5	Análise estatística	33
3.6	Autorizações	33
4	Resultados e discussão.....	34
4.1	Rendimento de subprodutos nos abates.....	34
4.1.1	Tratamento CA.....	34
4.1.2	Tratamento SC	34
4.1.3	Tratamento F	35
4.1.4	Tratamento M.....	36
4.2	Produção da farinha	38
4.2.1	Tempo de cozimento dos subprodutos de rã-touro.....	44
4.2.2	Tempo de secagem dos subprodutos de rã-touro	45
4.2.3	Rendimento das farinhas de subprodutos de rã-touro	46
4.3	Análises químicas	48
4.3.1	Matéria seca e carboidratos não fibrosos.....	51
4.3.2	Extrato etéreo, proteína e matéria mineral	53
4.3.2.1	Extrato etéreo	53
4.3.2.2	Proteína.....	56
4.3.2.2.1	Correlação do teor de Extrato etéreo com o teor de proteína.....	58
4.3.2.2.2	Correlação do teor de proteína com o tempo de cozimento	59
4.3.2.3	Matéria mineral.....	60

4.3.2.3.1 Correlação entre matéria mineral e lipídio.....	62
4.3.2.3.2 Correlação entre matéria mineral e proteína	63
4.3.2.3.3 Correlação entre matéria mineral e rendimento de farinha	64
4.4 Análises microbiológicas	65
5 Conclusão	68
6 Referências	69

1 Introdução

A ranicultura é uma importante atividade agropecuária brasileira. Apesar de existir há muitos anos, a criação de rã-touro ainda é pouco expressiva, em relação às criações convencionais, com capacidade para se desenvolver ainda mais. A carne de rã tem um valor comercial maior do que as carnes de outros animais. Isso porque a produção é pequena, não supre a demanda da população e o custo de produção é alto.

O rã-touro possui o rendimento médio de carcaça de 50%. O abate gera os subprodutos: cabeças, patas, peles, vísceras e corpo adiposo. A atividade possui o problema do descarte incorreto desses subprodutos. Nos frigoríficos comerciais brasileiros, esses subprodutos são descartados em fossas sépticas (Haddad *et al.*, 2022). O descarte incorreto pode levar à proliferação de microrganismos e formação de compostos que podem contaminar o solo e o lençol freático.

O artigo 47 da Lei n.º 12.305 de 02 de agosto de 2010 (Política Nacional de Resíduos Sólidos), proíbi o descarte de resíduos sólidos em corpos hídricos, lançamento in natura ao ar livre, queima ao ar livre e outras formas vedadas pelo poder público. Ressalvam-se essas proibições em casos de emergência sanitária (Brasil, 2010). Portanto, é necessária da criação de processos que estabeleçam fins aos subprodutos de abate de rã-touro e respeitem a Política Nacional de Resíduos Sólidos.

O uso de subprodutos de animais para a produção de farinhas destinadas à alimentação animal é uma prática comum nos frigoríficos dedicados ao abate de outros animais domésticos. A cadeia avícola produz farinhas de penas e a farinha de vísceras. Enquanto os subprodutos do abate de bovinos e suínos são usados na fabricação de farinha de carne e ossos. Já subprodutos gerados no abate de peixes são matéria-prima para a produção de farinha de peixe.

O objetivo com esse trabalho é elaborar um protocolo de fabricação da farinha de subprodutos do abate de rã-touro e realizar análises químicas e microbiológicas das farinhas, para verificar a possibilidade da sua utilização na produção de ração animal.

2 Revisão de literatura

A produção de rã aumentou na última década, tendo Taiwan, China, Brasil e México como protagonistas na produção. Apesar do aumento, ainda existe uma brecha entre a oferta e a demanda do mercado, tornando a atividade um potencial oportunidade para países produtores (López *et al.*, 2023). A produção mundial de carne de rã atingiu 147,8 mil toneladas em 2020 (Pereira, 2023), sendo que 88% desse total é representado pela rã-touro americana (*Aquarana catesbeiana*) (Reis *et al.*, 2024). O aumento da oferta de carne de rã no mercado foi motivado, principalmente, pelo aumento do interesse da população em consumir carnes brancas e saudáveis (Moreira *et al.*, 2013)

A ranicultura no Brasil começou no ano de 1935 no estado do Rio de Janeiro (Esteves *et al.*, 2023). Ao longo dos anos, a atividade avançou nas técnicas de manejo e melhorias no aspecto sanitário, e isso causou a expansão para outras regiões do país, (Esteves *et al.*, 2023; Frazao *et al.*, 2022). Entretanto, o setor enfrentou desafios, como a falta de conhecimento técnico, a escassez de linhagens melhoradas geneticamente, falta de incentivos governamentais, problemas de gestão e abandono da atividade (Esteves *et al.*, 2023; Xu *et al.*, 2024; Campião *et al.*, 2024). No entanto, a ranicultura brasileira vem crescendo e se profissionalizando ao longo dos anos, com adoção de técnicas mais avançadas de produção e maior reconhecimento no mercado internacional (Marcantonio *et al.*, 2024).

Segundo a FAO (2024) a produção mundial de rãs vivas foi de 229 mil toneladas em 2022. No ano de 2019 foram produzidas no Brasil, aproximadamente 400 toneladas de animais vivos (Ribeiro *et al.*, 2022).

A Instrução Normativa n.º 31 de 31 de dezembro de 2002 do Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e Recursos Naturais Renováveis (IBAMA), determina a proibição de criadouros de espécies nativas de répteis, anfíbios e invertebrados para venda no mercado interno (Ibama, 2003). Por isso a ranicultura brasileira se enquadra na Portaria n.º 102 de 15 de julho de 1998 do IBAMA, que regulariza criadouros com fim comercial da fauna silvestre exótica (Ibama, 1998). No Brasil a rã-touro americana (*Aquarana catesbeiana*), originária da americana do Norte (Alves *et al.*, 2024) é a espécie legalmente utilizada para fim comercial, por ser bem adaptada ao clima brasileiro (Ribeiro *et al.*, 2022; Ribeiro *et al.*, 2025). Para isso,

o produtor precisa garantir o total isolamento dos animais para evitar fugas (Camião *et al.*, 2024).

A pesquisa brasileira se destaca na criação de novas técnicas de cultivo e os ranários apresentam infraestrutura com potencial de aumento de produção. Esses fatores, aliados ao promissor mercado consumidor, dão à ranicultura brasileira margem para um grande crescimento nas próximas décadas (Pahor-Filho *et al.*, 2019).

A ranicultura brasileira enfrenta alguns problemas que dificultam o seu crescimento. Um desses problemas é o alto custo de produção ocasionado, principalmente, pela alimentação. Os produtores ofertam aos animais rações destinadas a peixes carnívoros (De Oliveira, 2015). Isso porque não existe uma ração específica para a rã-touro (*Aquarana catesbeiana*) no mercado (Ferreira *et al.*, 2023).

A ração é um insumo que pode representar 70% do custo de produção da carne (Rosa *et al.*, 2022). Essas rações são produzidas a base de farinha de peixe, um produto escasso com recorrentes aumentos de preço, que se reflete no preço da ração (Wang *et al.*, 2021). Esse fator acaba elevando o preço da carne, portanto, o público consumidor da carne de rã são as classes sociais de maior poder aquisitivo, e as classes baixas consomem a carne eventualmente (Frazao *et al.*, 2022).

Segundo Alfoa *et al.* (2019) é fundamental substituir a farinha de peixes das rações por fontes alternativas para diminuir os custos da produção aquícola. Apesar de ser uma farinha produzida a partir de subprodutos do abate de peixes, como a sardinha, ela se tornou referência como proteína de origem animal na nutrição animal e o seu uso é rigidamente criticada por organizações ambientais. Além disso, a farinha de peixe é um recurso limitado e finito (Scopel *et al.*, 2011).

As farinhas de origem animal possuem qualidade nutricional superior em relação às farinhas de origem vegetal. A presença de fatores antinutricionais e o perfil aminoácido adverso da farinha de soja dificultam as formulações (De Oliveira *et al.*, 2020). Principalmente quando destinado a animais carnívoros. Na ranicultura, Wang *et al.* (2020) esclarecem que, apesar de não afetar a mortalidade dos animais, o farelo de soja prejudica o desempenho de crescimento da rã-touro devido aos fatores antinutricionais. A busca por substitutos para a

farinha de peixes motiva muitos pesquisadores e as farinhas de subprodutos de origem animal têm se mostrado fortes candidatas (Sabbagh *et al.*, 2019).

As pesquisas realizadas sobre ingredientes alternativos para formulação de rações visam obter substitutos de valor nutricional semelhante, menor custo de produção e proporcionar desempenho produtivo igual, ou melhor, do que os ingredientes convencionais (Da Silva *et al.*, 2021). Para substituir algum ingrediente padrão das rações, por um subproduto industrial, é necessário conhecer o comportamento do trato gastrointestinal com esse alimento, o valor nutricional e a disponibilidade desses nutrientes no substituto em questão (Alvez *et al.*, 2013).

A farinha de subproduto de origem animal é o processamento de material que não serve para consumo humano e que, conseqüentemente, teria o descarte como fim. São compostos por pele, cabeças, vísceras, órgãos, entre outros (Pivatto *et al.*, 2020). Existem variações da farinha de origem animal conforme a espécie, o tipo de subproduto e o processo de fabricação (De Souza *et al.*, 2017). As farinhas também podem ser classificadas como mistas, quando usados subprodutos de animais de várias espécies, ou simples, quando usados subprodutos de uma única espécie (Giongo, 2017).

A Instrução Normativa n.º 34, de 28 de maio de 2008 do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) define o processamento básico para farinhas de subprodutos destinadas à alimentação animal. Algumas dessas exigências são os processos de cocção e esterilização, para eliminar possíveis patógenos bacterianos (Brasil, 2008).

Algumas farinhas de subprodutos já possuem o método de produção estabelecido e a indústria as fabrica para evitar o descarte incorreto e proporcionar uma fonte de renda para a cadeia produtiva (Gooding *et al.*, 2016).

Uma dessas farinhas é a farinha de vísceras de aves, utilizada na dieta de várias espécies (Dos Santos Henriques *et al.*, 2017). Ela é produzida por meio da cocção das vísceras de aves, que em seguida são prensadas e moídas (Machado *et al.*, 2021).

De Lima *et al.* (2022) realizaram a substituição, em vários níveis, da farinha de peixe pela farinha de vísceras de aves em dietas para alevinos de tilápia do nilo (*Oreochromis niloticus*) e avaliou o efeito sobre o desempenho zootécnico dos animais. Segundo o autor, a

farinha de vísceras de aves não alterou significativamente o desempenho dos animais em todos os indicadores avaliados. Concluíram que a farinha de vísceras de aves pode substituir a farinha de peixe em até 18%, sem afetar o desempenho dos animais.

Vários autores já realizaram o mesmo estudo para outras espécies de peixes, como Dourada (*Sparus aurata*) (Sabbagh *et al.*, 2019) e Piavuçu (*Leporinus macrocephalus*) (Schwertner *et al.*, 2013), e encontraram resultados parecidos.

Outra farinha que se originou de um subproduto da avicultura é a farinha de penas. Ela tem como base da composição proteica a queratina. Essa proteína é insolúvel em água e por isso precisa sofrer um processo de hidrólise para tornar a queratina digerível. Por isso, a farinha de penas é o resultado da cocção, sob pressão, em digestores a 180 °C. A pressão usada na cocção e o tempo de cozimento varia conforme a composição das penas (Sinhorini *et al.*, 2013). Para aves, existe a busca por substitutos para o farelo de soja, o qual é um ingrediente custoso na dieta, e a farinha de penas é um potencial substituto. A média de proteína bruta é entre 70 e 80%, com alta digestibilidade (Diana *et al.*, 2020).

Diana *et al.* (2020) realizaram um estudo de substituição do farelo de soja pela farinha de penas em dietas de codornas de corte (*Nothura maculosa*). A substituição ocorreu em dois níveis: 5 e 10%. Segundo o autor, a farinha de pena melhorou o ganho de peso dos animais e a conversão alimentar. Suas conclusões são de que a farinha de pena é um ótimo substituto para o farelo de soja e não causa perdas no rendimento dos animais.

A farinha de sangue usa o sangue fresco é cozido e seco, sem que haja a presença de urina ou conteúdo digestivo (Machado *et al.*, 2021). Essa farinha apresenta 3 tipos que variam conforme o processamento: farinha de sangue convencional, o qual é o cozimento e a desidratação do sangue fresco; *flash dried*, a qual é a condensação por cozimento até o estado semi-sólido e o *spray dried*, sendo a coagulação e centrifugação do sangue (Henn *et al.*, 2006). A técnica de fabricação é determinante para a disponibilidade de nutrientes da farinha. O sangue é rico em Lisina, porém esse aminoácido é sensível ao aquecimento e pode se tornar indisponível aos animais ou até mesmo se acabar (Dos Santos Henriques *et al.*, 2017).

Ogunji *et al.* (2020) avaliaram a substituição da farinha de peixe pela farinha de sangue bovino e farinha de sangue asinino em dietas de Bagre-africano (*Clarias gariepinus*). As

farinhas foram substituídas de forma isoproteica, até o nível de 33%. As dietas foram ofertadas aos animais duas vezes ao dia durante 51 dias. Durante o experimento foram coletados os índices de ganho médio diário, taxa de crescimento específico e taxa de consumo voluntário. Segundo os autores, apesar da farinha de sangue apresentar bom um bom teor proteico e bom perfil aminoácido, ela causa uma redução do ganho médio diário dos animais aquáticos.

A farinha de carne e ossos é o resultado da cocção, desidratação e moagem dos resíduos dos abatedouros gerados pelo processo de separação mecânica de carne (Santos *et al.*, 2023; Godoy *et al.*, 2016). Os resíduos podem ser de origem bovina, Suína (Tiritan, 2022), avicular e piscoa (Godoy *et al.*, 2016).

Na alimentação de animais ruminantes, o artigo primeiro da instrução normativa n.º 8 do MAPA de 25 de março de 2004, determina que a proibição, em todo território nacional, da utilização de produtos destinados à alimentação de ruminante que seja de origem animal. O texto justifica a determinação com a situação endêmica da Encefalite Espongiforme Bovina e a necessidade de controle sanitário no Brasil (Brasil, 2004). A farinha de carne e ossos bovina tem sido amplamente utilizada na dieta de animais monogástricos como substituta da farinha de soja (Tang *et al.*, 2018).

Abimorad *et al.* (2014) substituíram parcialmente o farelo de soja pela farinha de carne e ossos bovina em dietas de juvenis de tilápia do nilo (*Oreochromis niloticus*). A substituição ocorreu em quatro níveis: 0, 15, 30 e 45%, os animais foram alimentados durante 3 meses e os índices zootécnicos coletados foram: ganho de peso, conversão alimentar aparente, taxa de crescimento específico, taxa de eficiência proteica, coeficiente de digestibilidade aparente e retenção de proteína. O autor também calculou o custo do arrazoamento e o custo da proteína líquida para cada substituição, considerando as cotações de mercado do momento do estudo. A substituição do farelo de soja pela farinha de carne e ossos, resultou no aumento no ganho de peso, consumo de ração e consumo de proteínas. Houve também uma diminuição da conversão alimentar aparente, no custo de arrazoamento e no custo da proteína líquida. Segundo os autores, a substituição do farelo de soja pela farinha de carne e ossos bovina em até 45% é a melhor opção de substituição, por representar uma economia de até R\$ 0,12 por kg de ração.

Graeff *et al.* (2012) realizaram a substituição do farelo de soja pela farinha de carne e ossos bovina em dietas para carpa comum (*Cyprinus carpio L.*). Segundo os autores, a farinha de carne e ossos pode substituir totalmente o farelo de soja na dieta, sem haver perda na produtividade dos animais.

As farinhas de insetos são outra fonte de proteína de origem animal que vem se destacando, apesar de possuírem a quitina como fator antinutricional. Esse carboidrato prejudica a absorção de proteínas (De Oliveira *et al.*, 2020; Reis *et al.*, 2022), pelo fato de estarem associadas com a alteração de altura das vilosidades intestinais (Dabbou *et al.*, 2018). Essas farinhas são classificadas como integrais, quando não houver o processo de separação de óleos e gordura após a moagem. As farinhas de mosca soldado negro (*Hermetia illucens*), mosca comum (*Musca domestica*) e Tenébrio (*Tenebrio molitor*) são as mais estudadas e suas composições são interessantes para alimentação de animais (De Oliveira Pereira *et al.*, 2021).

Para produzir a farinha de insetos, os animais ficam em jejum por 24 horas para total esvaziamento do trato gastrointestinal. Depois são congelados a -18 graus por 24 horas em seguida são submetidos ao branqueamento que visa diminuir a contaminação bacteriana e reduzir a atividade de enzimas que podem deteriorar a farinha. Esse processo consiste em submergir os animais em água fervente por 3 minutos e, em seguida, inserir os animais em água fria por 1 minuto, causando choque térmico. Após isso, os animais são levados a desidratação a 55 °C em estufa de circulação de ar por 24 horas. Os animais desidratados são moídos até a obtenção do pó (Oliveira *et al.*, 2024).

Mastoraki *et al.* (2021) realizaram um estudo de substituição de 30% da farinha de peixes pela farinha de mosca soldado negro (*Hermetia illucens*), farinha de mosca comum (*Musca domestica*) e farinha de tenébrio (*Tenebrio molitor*), em dietas de juvenis de robalo europeu (*Dicentrarchus labrax L.*) durante 3 meses. O experimento foi realizado com 4 tratamentos, 3 com as respectivas farinhas e 1 tratamento controle. Foram coletados índices como ganho de peso, taxa de crescimento específico, consumo diário e taxa de conversão alimentar. Segundo o autor, o ganho de peso, a taxa de crescimento específico e o consumo diário não foi afetado pelo uso das farinhas. Somente a conversão alimentar que foi significativamente maior no tratamento com farinha de tenébrio (*Tenebrio Molitor*). Os autores

concluíram que as três dietas de farinhas insetos tiveram o crescimento semelhante à dieta controle.

Na década de 1990 e início dos anos 2000, alguns estudos tentaram utilizar os subprodutos da rã-touro como matéria-prima para vários processos, mas nada que impactasse o mercado com uma finalidade viável aos subprodutos (De Oliveira, 2015). Os subprodutos da rã-touro (*Aquarana catesbeiana*) não são comercialmente aproveitados e a ranicultura enfrenta o problema do descarte desses subprodutos (Haddad *et al.*, 2022). O rendimento de carcaça da rã-touro (*Aquarana catesbeiana*) é em torno de 50%, ou seja, quase metade do peso do animal é formado por subprodutos compostos por cabeça, patas, pele e vísceras (De Souza Nascimento *et al.*, 2019). Esses subprodutos são descartados incorretamente nos frigoríficos comerciais brasileiros e não geram receita para a atividade (Casalli *et al.*, 2005; Fioranelli *et al.*, 2004).

Os subprodutos do abate da rã-touro possuem um alto valor biológico e é um potencial ingrediente para alimentação animal. O descarte incorreto desperdiça o material que pode se tornar renda para a cadeia produtiva (Haddad *et al.*, 2022). Esses subprodutos estão inseridos na lista de matérias-primas, ingredientes e aditivos da Portaria n.º 359, de 9 de julho de 2021 do MAPA. A carne de anfíbios anuros é considerada pescados e os subprodutos se encaixam no item 103 da lista como subprodutos de pescados (Brasil, 2021). A Portaria SDA n.º 871 de 10 de agosto de 2023 do MAPA regulariza o transporte desses subprodutos para o processamento por meio da Guia de Trânsito de Subprodutos - GTS. Esse documento é dispensado no transporte de farinhas de subprodutos, quando comprovado a eliminação do risco de transmissão de doenças (Brasil, 2023).

3 Material e Métodos

O trabalho foi desenvolvido na Unidade de Ensino, Pesquisa e Extensão em Ranicultura (UEPE-Ranicultura), no Laboratório de Produtos Alimentícios do Departamento de Tecnologia de Alimentos da UFV (LAPA) e no Laboratório de Microbiologia Industrial do Departamento de Microbiologia da UFV.

Na UEPE-Ranicultura foram realizados os abates de rã-touro para obtenção de subprodutos a serem processados. Foram selecionados animais com peso-médio de 380g, que passaram por jejum pré-abate de 72 h e abatidos seguindo o protocolo de abate higiênico e humanitário.

Foram realizados quatro tratamentos de produção de farinha, em diferentes proporções de subprodutos. Para obter os subprodutos usados nos tratamentos, foi realizado um abate para cada tratamento e os subprodutos foram coletados e separados nas seguintes categorias: Cabeça, patas, peles, vísceras e corpo adiposo. Esses subprodutos foram armazenados em sacos de polietileno, que foram identificados e congelados em freezer convencional a $-15\text{ }^{\circ}\text{C}$ e permaneceram sob congelamento até o momento de produção da farinha.

Foi utilizado o mesmo protocolo para produção de farinha de todos os tratamentos, cada um com 9 repetições. Cada saco de polietileno, contendo os subprodutos coletados nos abates, foi congelado com a quantidade de 1,67 kg de subprodutos, nas devidas proporções para cada tratamento, conforme detalhado posteriormente. Dessa forma, cada saco de polietileno contendo os subprodutos, representa uma repetição.

Para a produção das farinhas, foi necessário realizar o descongelamento dos subprodutos armazenados. Sendo assim, foram adicionados 10 litros de água em uma bandeja de polietileno e os sacos de polietileno contendo os subprodutos congelados foram submersos nessa água (Figura 1). A bandeja com o pacote de subprodutos submersos foi levada a um refrigerador convencional para o descongelamento dos subprodutos à temperatura de refrigeração ($5\text{ }^{\circ}\text{C}$) durante 24 h.



Figura 1 - Subprodutos de rã-touro (*Aquarana catesbeiana*) acondicionado em saco de polietileno em preparação para o descongelamento. Fonte: Elaboração própria.

Enquanto ocorria o descongelamento dos subprodutos, todos os utensílios e equipamentos, que foram usados durante o processamento, foram desinfectos, mediante submersão em solução sanitizante de hipoclorito de sódio a 150 ppm por 120 minutos (Figura 2). A sanitização ocorreu antes e depois do processamento, após as lavagens dos mesmos com água e detergente neutro. No preparo da solução, para cada litro de água foram adicionados 3 mL de hipoclorito de sódio a 5%. Após a sanitização, os utensílios e equipamentos passaram por enxágue em água corrente, por aproximadamente 2 minutos, para a remoção do cloro.



Figura 2 - Utensílios e equipamentos, usados na produção das farinhas, em processo de sanitização. Fonte: Elaboração própria.

Durante todo o processo os equipamentos de proteção individual (EPI) usados foram: touca, máscara, luvas, jaleco e avental.

3.1 Tratamentos

3.1.1 Tratamento CA

Nesse tratamento, os subprodutos usados foram vísceras, cabeças, peles, patas e corpo adiposo nas respectivas proporções de 44%,19%,19%,9% e 9%. Não houve distinção de sexo na coleta de subprodutos. Esse tratamento foi nomeado de CA, abreviação de corpo adiposo.

3.1.2 Tratamento SC

Nesse tratamento, houve a exclusão do corpo adiposo na mistura de subprodutos. Portanto, foram utilizadas vísceras, cabeças, peles e patas nas respectivas proporções: 47,5%, 20,5%, 20,5% e 11,5%. Não houve distinção de sexo na coleta de subprodutos. Esse tratamento foi nomeado de SC, abreviação de sem corpo adiposo.

3.1.3 Tratamento F

As fêmeas geram maior quantidade de subprodutos em relação aos machos. Desse modo, foram coletados os subprodutos do abate de 100 fêmeas e quantificados os subprodutos cabeças, patas, peles e vísceras, e suas proporções estabelecidas. Houve a exclusão do corpo adiposo neste tratamento para evitar a sua influência nos resultados. O rendimento médio de carcaça e de subprodutos também foram determinados. Esse tratamento foi nome de F, abreviação de fêmeas.

3.1.4 Tratamento M

Nesse tratamento foram coletados os subprodutos do abate de 100 machos e quantificados os subprodutos cabeças, patas, peles e vísceras, e suas proporções estabelecidas. Houve a exclusão do corpo adiposo nesse tratamento para evitar a sua influência nos resultados. O rendimento médio de carcaça e de subprodutos também foram determinados. Esse tratamento foi nomeado de M, abreviação de machos.

3.2 Produção da farinha

O material descongelado foi retirado do refrigerador e a água foi retirada da bandeja e descartada em um ralo do sistema de escoamento de esgoto da UEPE-Ranicultura.

O saco de polietileno com os subprodutos foi levado para o triturador de carne e colocado sobre a bandeja de inox do triturador, próximo ao bocal de entrada de carne do triturador. Uma bandeja de polietileno foi colocada sob o bocal de saída do triturador, para coletar o material triturado. O triturador foi montado com o disco de 5 mm de espessura. O motor foi acionado, o saco de subprodutos foi aberto e os subprodutos foram inseridos no bocal de entrada. O processo ocorreu por cerca de 3 minutos, até que todos os subprodutos do pacote fossem triturados. Após a trituração, o equipamento foi desligado e desmontado. Os fragmentos que ficaram retidos no disco foram retirados, mediante remoção manual, e inseridos no bocal de entrada para serem novamente triturados. A remoção e nova trituração ocorreu até que não houvesse mais fragmentos retidos.

A massa de subprodutos triturados foi homogeneizada sobre a bandeja, utilizando uma colher de pau. Uma panela com capacidade para 20 litros foi colocada sobre a trempe de um fogão industrial sendo adicionado 0,5 litros de água em seu interior. Em seguida, a chama da trempe foi acionada. Quando a água ferveu, a massa de subprodutos triturados foi adicionada na panela. O cozimento aconteceu sob revolvimento constante, com o auxílio de uma colher de pau, e fogo alto até que a mistura se adquira a consistência pastosa (Figura 3). Com o auxílio de um termômetro digital a laser, a temperatura da massa de subprodutos foi monitorada evitando que a temperatura ultrapassasse 70 °C. O tempo de cozimento foi cronometrado.



Figura 3 - Ponto de cozimento da massa de subprodutos do abate de rã-touro

(*Aquarana catesbeiana*). Fonte: Elaboração própria.

Com o auxílio de uma colher de pau, após o cozimento, a massa de subprodutos foi adicionada em um recipiente (tabuleiro) de alumínio, com 30 cm de largura, 45 cm de comprimento e 10 cm de altura. Utilizando uma espátula, a massa de subprodutos foi distribuída uniformemente sobre o recipiente, formando uma camada de, aproximadamente, 1 cm. Em seguida, o recipiente com a massa foi levado à secagem em estufa com circulação de ar, previamente aquecida, a 80 °C e o tempo de secagem foi mensurado com o auxílio de um cronômetro (Figura 4).



Figura 4 - Massa de subprodutos do abate de rã-touro (*Aquarana catesbeiana*) em secagem a 80 °C, monitorada via termômetro a Laser. Fonte: Elaboração própria.

Durante a secagem, a porção inferior da massa, em contato com o alumínio quente do recipiente, e a porção superior da massa, em contato com o ar ventilado da estufa, foram as primeiras partes a iniciar a desidratação. Em determinado momento, ocorre a desidratação total dessas porções e a estrutura da massa começa se complexar, formando uma película rígida, e isolando o interior da massa. Esse isolamento impede que a umidade do interior da massa seja liberada, prejudicando a secagem. Celestino, (2010) no seu manual sobre princípios de secagem de alimentos, descreve esse evento.

Por isso, foi necessário realizar um processo de seccionamento e revolvimento da massa. Quando se formou a película seca sobre a massa, a secagem foi interrompida, por meio da retirada do recipiente da estufa, e o cronômetro foi parado para o revolvimento da massa. O recipiente foi levado a uma bancada e, utilizando uma espátula, a massa foi seccionada, formando pequenas placas de tamanho uniforme. A espátula foi inserida na parte inferior dessas placas e, por meio do movimento de inversão, as placas foram reviradas (Figura 5). Após o revolvimento, o recipiente foi levado, novamente, à estufa para terminar a secagem e o cronômetro foi reativado.



Figura 5 - Massa de subprodutos do abate de rã-touro (*Aquarana catesbeiana*) após o seu revolvimento utilizando uma espátula. Fonte: Elaboração própria.

O ponto de secagem foi definido quando as placas se tornaram rígidas o suficiente para serem moídas. A verificação do ponto de secagem foi realizada por meio da análise visual da textura e umidade, a partir de uma hora de secagem, com intervalos de, aproximadamente, 5 minutos. Quando a massa atingiu o ponto de secagem, o cronometro foi parado e o recipiente foi retirado da estufa.

A farinha não triturada do recipiente de alumínio foi transferida, com o auxílio de uma espátula, a um liquidificador industrial para ser moída. O liquidificador foi hermeticamente fechado com tampa de metal e o motor foi acionado. A moagem ocorreu entre de 3 a 5 minutos, até que todo o material formasse um pó.

Em seguida, o material foi peneirado em malha de 1,2 mm. Os fragmentos retidos na malha foram devolvidos ao liquidificador para serem novamente moídos e peneirados, por

várias vezes, até que toda a farinha se soltasse da malha. Após a moagem a farinha foi homogeneizada, com uso da espátula (Figura 6).



Figura 6 - Farinha de subprodutos de rã-touro (*Aquarana catesbeiana*) após moagem, peneiramento e homogeneização. Fonte: Elaboração própria.

A farinha produzida em cada repetição foi pesada em balança digital e o peso anotado em planilha, juntamente com o tempo de cozimento e o tempo de secagem. Posteriormente, a farinha foi armazenada em dois pacotes de polietileno, com metade do peso total da farinha em cada, a fim de separar as amostras destinadas às análises microbiológicas e centesimais. Os pacotes com farinha foram lacrados em seladora não a vácuo de modo a evitar o contato da farinha com o meio externo.

Cada pacote com a farinha foi identificado com o número do tratamento, uma letra, representando a repetição, e a destinação da amostra. Os pacotes com a farinha foram colocados em caixas de polietileno, a fim de organizar as amostras separando-as por tratamento e destinação. As caixas foram fechadas, identificadas e acondicionadas em refrigerador convencional à temperatura de refrigeração. As amostras foram mantidas sob essas condições, até o momento das análises. Na Figura 7 estão apresentados dois pacotes de farinha lacrados e

identificados, além de uma caixa, com pacotes de farinhas, fechada e armazenada em temperatura de refrigeração.



Figura 7 - Pacotes com farinha de subprodutos do abate de rã-touro (*Aquarana catesbeiana*) lacrados/identificados e caixas de pacotes em refrigeração. Fonte: Elaboração própria.

3.3 Análises químicas

As caixas com amostras destinadas às análises químicas foram retiradas do refrigerador. Os sacos com as amostras foram retirados das caixas selecionados e acondicionados em caixas térmicas para manter a temperatura das amostras. As caixas térmicas foram lacradas e levadas ao LAPA. A fim de otimizar o processo de análise, foram selecionadas, de forma aleatória, somente três repetições de cada tratamento.

No LAPA foram realizadas análises de matéria seca, extrato etéreo, proteína bruta, matéria mineral e carboidratos não fibrosos. Todos os procedimentos de análises químicas foram descritos pelo Instituto Adolf Lutz (2008).

3.3.1 Matéria seca

Foram selecionadas placas de Petri que foram devidamente higienizadas e identificadas. Depois, elas foram levadas para a estufa a 105 °C, onde permaneceram destampadas por 12 horas. Após a secagem das placas, elas foram transferidas para o dessecador com tampa hermética para evitar a entrada de umidade. No fundo do dessecador havia sílica gel para absorver a umidade interna. O compartimento onde estava depositada a sílica gel era separado do compartimento onde as placas permaneceram, por meio de uma peça de cerâmica.

Essas placas permaneceram por 2 horas no dessecador, até a estabilização da temperatura. Posteriormente, as placas foram pesadas usando uma balança analítica, com precisão de 0,0001g, e os pesos foram anotados. Na mesma balança, foram pesados 15 g de amostra sobre as placas e o peso da amostra foi anotado. As placas de Petri com a amostra foram levadas para estufa a 105 °C, onde permaneceram por 16 horas destampadas. Após a secagem na estufa, as placas de Petri com a amostra, foram colocadas em dessecador até a estabilização com a temperatura ambiente e, depois, foram pesadas novamente. A matéria seca foi determinada por meio do seguinte cálculo:

$$MS = \frac{ppas - pp}{p} \times 100$$

Em que: $ppas$ – é o peso da placa com amostra seca;

pp – é o peso da placa;

p – é o peso da amostra.

3.3.2 Extrato etéreo

Em produtos processados de origem animal, que passam por tratamento térmico, ocorre um processo de encapsulamento de lipídios, que prejudica a extração de lipídio pelo método de Soxhlet. Por isso foi necessário fazer a hidrólise ácida prévia, antes de realizar a extração de Soxhlet.

Para isso, foram pesados 2 g da amostra homogeneizada em um frasco Erlenmeyer de 250 mL com boca esmerilhada. Foram adicionados 100 mL de ácido clorídrico 3 Molar ao frasco Erlenmeyer e em seguida o frasco foi acoplado em condensador longo, sob aquecimento, onde permaneceu por uma hora em ebulição. Decorrido o tempo, o frasco foi desacoplado do condensador e permaneceu em repouso no dessecador até esfriar. Foi adicionada ao frasco uma pequena quantidade de auxiliar de filtração (areia diatomácea). A suspensão foi filtrada, por via de um funil, com duas folhas de papel de filtro. Depois, o resíduo foi lavado com água até neutralizar o filtrado, fazendo o teste com papel indicador de pH. O papel de filtro com o resíduo foi depositado sobre um vidro de relógio e levado à estufa a 105 °C por uma hora para secagem. Após seco, foi feito um cartucho com os papéis de resíduo do filtrado.

O cartucho foi transferido para o aparelho extrator tipo Soxhlet, que, em seguida, foi acoplado ao balão de fundo chato, previamente pesados e identificados. O éter de petróleo foi adicionado em quantidade suficiente para um Soxhlet e meio. O sistema foi acoplado em um refrigerador de bolas e mantido sob aquecimento sobre uma chapa elétrica. A extração ocorreu por 8 horas. No fim da extração, o sistema foi desmontado e o balão com o resíduo extraído foi transferido para uma estufa a 105 °C, mantendo por cerca de uma hora. Posteriormente, os balões foram resfriados em dessecador até a temperatura ambiente. Os balões foram pesados e o teor de Extrato etéreo determinado pelo seguinte cálculo.

$$\text{Lipídio} = pbee - pb \times 100/p$$

Em que: $pbee$ – é o peso do balão com extrato etéreo;

pb – é o peso do balão;

p – é o

peso da amostra.

3.3.3 Proteína

Para análise de proteína bruta, foram pesadas em balança analítica, com precisão de 0,0001 g, cerca de 20 mg de amostra e colocadas nos tubos de digestão devidamente identificados.

Foi adicionado 1 g de catalisador e 3 mL de ácido sulfúrico a cada tudo. Um terceiro tubo, sem amostra, foi preparado e considerado o branco, sendo adicionado apenas 1 g do catalisador e 3 mL de ácido sulfúrico. Os tubos foram colocados em bloco digestor em capela com exaustor na temperatura de 400 °C, e mantida até a solução tornar-se translúcida.

Após a digestão, os tubos foram retirados e resfriados na capela até 100 °C e foi adicionada água destilada. Foram adicionados 10 mL de solução de ácido bórico (40 g/L) a Erlenmeyer (250 mL), o qual foi acoplado ao conjunto de destilação para receber toda a amônia destilada. O tubo digestor com a amostra digerida foi inserido no conjunto de destilação, sendo adicionado 25 mL de solução de hidróxido de sódio (500 mL) ao compartimento do destilador.

O terminal do condensador foi mantido mergulhado na solução receptora até a liberação da amônia.

Após a destilação, as amostras foram tituladas até a virada de cor da solução. A quantidade de ácido clorídrico usada na titulação foi anotada para determinar o teor de nitrogênio na amostra. A quantidade de proteína foi determinada pelo seguinte cálculo:

$$\text{Proteína} = (va - vb) \times f \times 6,25 \times 0,14/p$$

Em que: va – é o volume de ácido clorídrico usado na titulação;

vb – é o volume de ácido clorídrico usado na titulação do branco;

f – é o fator de correção do ácido clorídrico;

P – é o peso inicial da amostra.

3.3.4 Matéria mineral

Para a análise de matéria mineral, foram pesados 2 g de amostra nos cadinhos de porcelana previamente secos a 105 °C. Os cadinhos foram levados a carbonização em bico de Bunsen até o fim da liberação de fumaça. Posteriormente, os cadinhos foram inseridos em mufla para queima a 550 °C. Após a queima das amostras, os cadinhos foram acondicionados em dessecador para resfriamento até a estabilização da temperatura com a do ambiente, para serem posteriormente pesados. O teor de matéria mineral foi determinado pelo seguinte cálculo:

$$\text{Mineral} = pca - pc \times 100/p$$

Em que : pca – é o peso do cadinho com amostra; pc – é o peso do cadinho; p – é o peso da amostra.

3.3.5 Carboidratos não fibrosos

Os carboidratos não fibrosos foram determinados por via diferença matemática, por meio do seguinte cálculo:

$$\text{CNF} = 100 - \text{umidade} - \text{Proteína Bruta} - \text{Lípides} - \text{Materia Mineral}$$

3.4 Análise Microbiológica

As caixas com amostras destinadas às análises microbiológicas foram retiradas do refrigerador. Os pacotes com as amostras foram retirados das caixas selecionadas e acondicionados em caixas térmicas para evitar o aquecimento das amostras. As caixas foram lacradas e levadas, imediatamente, ao Laboratório de Microbiologia Industrial. A fim de otimizar o processo de análise, foram selecionadas as mesmas três repetições de cada tratamento usadas para a análise químicas, porém com destinação às análises microbiológicas.

No Laboratório de Microbiologia Industrial do Departamento de Microbiologia da UFV, foram efetuadas análises para detecção de *Salmonella spp.*

Um homogenato com 25 gramas de amostra da farinha foi preparado na diluição 10 – 1 em Solução Salina Peptonada Tamponada 1% (SSPT). Essas misturas foram incubadas a 35 °C por 24 horas, e esta etapa constituiu-se no pré-enriquecimento. Após incubação, alíquotas de 1 mL foram transferidas para os meios de enriquecimento seletivos Rapaport Vassiliadis, Tetrionato e Ágar Xilose Lisina Desoxicolato (XLD) e incubados a 35 ± 2 °C por 24 horas. Posteriormente, foi coletada uma alçada de cada tubo para o plaqueamento em Ágar *Salmonella Shigella* (SSA) e Hektoen (HE), que foram incubadas a 35 ± 2 °C por 24 horas. As colônias que apresentaram crescimento microbiano típico de *Salmonella spp.*, foram submetidas à caracterização bioquímica.

Quando não se obtiveram colônias típicas isoladas, foi necessário o isolamento nos meios MacConkey e Ágar Padrão para contagem (PCA). Duas placas de cada meio foram preparadas e, inoculadas pela técnica de estria composta com a alça de repicagem. Seguiu-se a incubação a 35 ± 2 °C por 24 horas.

Para a caracterização bioquímica das colônias típicas de *Salmonella spp.*, foram inoculados nos meios Ágar Lisina-Ferro (LIA), e Ágar Tríplice açúcar-ferro (TSI). Foram coletadas, com o auxílio de uma alça tipo agulha, duas colônias típicas isoladas de cada amostra. As colônias foram transferidas para o meio TSI em tubos de ensaio com o meio em rampa. Foi efetuada a inserção profunda no meio para crescimento anaeróbico e a estria em rampa, para crescimento em aerobiose. Outra amostra da mesma colônia foi transferida para tubos de ensaio

contendo o meio LIA, por via de inserção profunda no ágar. Os tubos foram incubados a 35 ± 2 °C por 24 horas.

Testes bioquímicos adicionais sucederam-se, usando o meio Sulfato Indol Motilidade (SIM) e caldo ureia. Foram coletadas alçadas de colônias típicas que se desenvolveram no meio TSI e transferidas para tubos contendo o meio SIM e caldo ureia por via de inserção em linha reta no meio. Os tubos foram incubados a 35 ± 2 °C por 24 horas.

As colônias bioquimicamente sugestivas de *Salmonella spp.* que se formaram no meio TSI, e confirmadas no Ágar SIM e caldo ureia, sucederam-se ao teste sorológico para a confirmação. Inicialmente, os isolados foram cultivados em PCA e colônias isoladas foram suspensas em 0,2 mL de solução salina (NaCl a 0,85% — p v) esterilizada por 24 horas. Posteriormente, foram submetidos ao teste de aglutinação em lâmina com o soro de aglutinação polivalente anti-*Salmonella* contendo anticorpos contra os antígenos do tipo “O” (Anders *et al.*, 2001). A confirmação da presença de *Salmonella spp.* se deu pela formação de grumos em amostras em contato com o soro de aglutinação.

3.5 Análise estatística

O delineamento usado nos tratamentos foi o inteiramente casualizado, e os dados obtidos com as análises foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e ao teste de comparação múltipla Tukey ao nível de significância de 5% ($p < 0,05$). Quando necessário, os dados também foram submetidos à correlação de Pearson a 5%. O software usado foi o Sistema Acadêmico de Estatística SAEG (UFV, 1999).

3.6 Autorizações

O projeto foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animal (CEUA/UFV), processo número 15/2023.

4 Resultados e discussão

4.1 Rendimento de subprodutos

4.1.1 Tratamento CA

No tratamento CA, houve a determinação da quantidade de subprodutos utilizados nas repetições, sem a separação por sexo. Portanto, não houve a quantificação de cabeças, patas, peles, vísceras e corpo adiposo no abate de animais para a coleta de subprodutos utilizados no tratamento CA.

4.1.2 Tratamento SC

No tratamento SC, também houve a determinação da quantidade de subprodutos utilizados nas repetições, sem a separação dos subprodutos por sexo. Portanto, não houve a quantificação de cabeças, patas, peles, vísceras e corpo adiposo no abate de animais para a coleta de subprodutos utilizados no tratamento SC.

4.1.3 Tratamento F

Os dados obtidos no abate de 100 fêmeas, destinado a gerar os subprodutos usados no tratamento F estão apresentados na Tabela 1.

Tabela 1 - Peso total, peso-médio e rendimento de animal vivo, carcaça e subprodutos obtidos no abate de 100 fêmeas de rã-touro (*Aquarana catesbeiana*)

	Peso total (kg)	Peso médio (kg)	Rendimento (%)
Animal vivo	44,04	0,4404	100
Carcaça	20,101	0,20101	45,64
Subproduto	23,939	0,23939	54,36

Fonte: Elaboração própria.

Como, nesse tratamento houve, a exclusão do corpo adiposo, o seu peso foi desconsiderado no somatório total de subprodutos. Sendo assim, os pesos de cabeças, patas, peles e vísceras estão apresentados na Tabela 2, assim como o percentual de cada subproduto.

Tabela 2 - Subprodutos, peso e porcentagem obtidos no abate de 100 fêmeas de rã-touro (*Aquarana catesbeiana*)

Subproduto	Peso (kg)	Porcentagem (%)
Cabeça	2,835	13,62
Pata	2,022	9,72
Pele	3,975	19,10
Vísceras	11,973	57,55
Total	20,805	100

Fonte: Elaboração própria.

Os subprodutos coletados em maior quantidade no abate de fêmeas são as vísceras e isso se deve ao fato do desenvolvimento do ovário e do oviduto. As fêmeas coletadas para abate encontravam-se em período reprodutivo e com os ovários e ovidutos em estágio avançado de maturação. O ovário e o oviduto, quando estão aptos a eliminar os ovócitos durante o acasalamento, chegam a ocupar 40% da cavidade celomática. Isso faz com que o peso de vísceras seja maior que o de cabeças, patas e pele.

Segundo Reis *et al.* (2022), as fêmeas de rã-touro pesando a partir de 180 e 200 gramas já estão aptas à reprodução. Nessa fase, quando o animal é abatido, o rendimento de carcaça das fêmeas é inferior ao dos machos. Isso porque as fêmeas mobilizam energia para o crescimento do ovário e oviduto, que ocupam um espaço maior na cavidade celomática.

Casali *et al.* (2005) ao estudarem o rendimento de carcaça da rã-touro afirmaram que as fêmeas possuem um rendimento de carcaça inferior ao dos machos. A justificativa é que as fêmeas possuem um maior desenvolvimento gonadal que os machos.

4.1.4 Tratamento M

Os dados obtidos no abate de 100 machos para obter os subprodutos usados no tratamento M estão expostos na Tabela 3.

Tabela 3 - Peso total, peso médio e rendimento de animal vivo, carcaça e subprodutos obtidos no abate de 100 machos de rã-touro (*Aquarana catesbeiana*)

	Peso total (kg)	Peso-médio (kg)	Rendimento (%)
Animal vivo	38,872	0,38872	100
Carcaça	19,578	0,19578	50,36
Subproduto	19,306	0,19306	49,64

Fonte: Elaboração própria.

Os pesos de cabeças, patas, peles e vísceras, foram somados sendo determinada a relação. Os pesos, o somatório e as porcentagens estão na Tabela 4.

Tabela 4 - Subprodutos, peso e porcentagem obtidos no abate de 100 machos de rã-touro (*Aquarana catesbeiana*)

Subproduto	Peso(kg)	Porcentagem (%)
Cabeça	3,034	19,98
Pata	2,313	15,235
Pele	5,021	33,06
Visceras	4,816	31,71
Total	15,184	100

Fonte: Elaboração própria.

O peso de cabeças obtidos no abate de machos foi superior ao peso de cabeças gerado no abate de fêmeas. Os machos possuem um maior tamanho de cabeça que as fêmeas. Isso se deve a algumas características morfológicas como a maior densidade. A cabeça dos machos também funciona como uma grande caixa acústica para a vocalização, além da membrana timpânica duas vezes maior que o tamanho do globo ocular. Possivelmente, essa é a razão pela qual os machos tiveram um peso maior de cabeças. Asahara *et al.*, (2020) explicaram que essas características morfológicas são importantes para diferir o sexo da rã-touro.

A porcentagem de patas coletadas no abate de machos foi superior a obtida no abate de fêmeas. No período reprodutivo, as patas anteriores dos machos desenvolvem o calo nupcial, responsável por desencadear o estímulo para o amplexo durante o acasalamento, presente no polegar. Isso faz com que as patas anteriores dos machos sejam relativamente mais pesadas, para abrigar o calo nupcial durante o período reprodutivo.

O peso da pele dos machos foi superior ao fêmeas. Isso porque a pele dos machos possui uma maior quantidade de glândulas secretoras de muco e feromônios na região dorsal. O macho da rã-touro é territorialista e a necessidade de demonstrar imponência e de eventualmente entrar

em conflito com outros machos, demanda uma pele mais resistente do que a das fêmeas. Essas características morfofisiológicas fazem com que o peso da pele nos machos seja maior que nas fêmeas.

O corpo adiposo dos machos apresentou peso total de 4,122 kg enquanto as fêmeas apresentaram o peso de 3,134 kg. Esse maior rendimento de corpo adiposo dos machos é devido à necessidade de obtenção de energia durante o período reprodutivo para vocalizar, territorializar e atrair a fêmea para o acasalamento. Já as fêmeas utilizam a reserva energética do corpo adiposo para desenvolverem o ovário e oviduto. Por isso elas apresentam um menor rendimento de corpo adiposo.

O rendimento de subprodutos do abate é de aproximadamente 50 a 55%. Aplicando essa média a produção de 229 mil toneladas de rãs vivas produzidas em 2022 (FAO,2024), são entre 115 e 125 mil toneladas de subprodutos que possivelmente foram desperdiçados no mundo. Esse número ainda pode aumentar, já que vários países da união europeia, incluindo a França um dos maiores consumidores, consomem somente as pernas de rã (Auliya et al.,2023).

4.2 Produção da farinha

As variáveis tempo de cozimento, tempo de secagem e rendimento obtidos durante a produção das farinhas apresentaram distribuição normal e médias com diferenças significativas entre os tratamentos ao nível de 5% na ANOVA. O teste Tukey foi aplicado para analisar as diferenças entre as médias dos tratamentos. Na Tabela 5 estão os dados coletados durante a produção das farinhas do tratamento CA, enquanto na Tabela 6 estão os dados de produção do tratamento SC, na Tabela 7 estão os dados de produção do tratamento F e na Tabela 8 estão os dados de produção do tratamento M.

Tabela 5 - Repetições, tempo de cozimento, tempo de secagem e rendimento de farinha obtidos durante a produção das farinhas de subprodutos do abate de rã-touro (*Aquarana catesbeiana*) no tratamento CA

Repetição	Tempo de cozimento (H:M:S)	Tempo de secagem (H:M:S)	Rendimento de farinha (g)
A	00:26:22	01:31:07	409
B	00:24:14	01:49:09	465
C	00:28:50	01:49:34	377
D	00:26:05	01:34:55	431
E	00:29:08	01:26:36	427
F	00:27:14	01:48:57	496
G	00:28:01	01:39:12	445
H	00:29:29	01:39:34	422
I	00:23:34	01:52:10	498

H:M:S - Hora, minuto e segundo, g - gramas. Fonte: Elaboração própria.

Tabela 6 - Repetições, tempo de cozimento, tempo de secagem e rendimento de farinha obtidos durante a produção das farinhas de subprodutos do abate de rã-touro (*Aquarana catesbeiana*) no tratamento SC

Repetição	Tempo de cozimento (H:M:S)	Tempo de secagem (H:M:S)	Rendimento de farinha (g)
A	00:25:42	01:44:11	436
B	00:22:39	01:44:50	401
C	00:27:08	01:39:33	365
D	00:31:34	01:37:23	389
E	00:27:04	01:40:27	402
F	00:28:49	01:32:25	394
G	00:29:18	01:29:11	420
H	00:28:37	01:36:40	436
I	00:24:35	01:26:50	390

H:M:S - Hora, minuto e segundo, g - gramas. Fonte: Elaboração própria.

Tabela 7 - Repetições, tempo de cozimento, tempo de secagem e rendimento de farinha obtidos durante a produção das farinhas de subprodutos do abate de rã-touro (*Aquarana catesbeiana*) no tratamento F

Repetição	Tempo de cozimento (H:M:S)	Tempo de secagem (H:M:S)	Rendimento de farinha (g)
A	00:28:05	02:23:05	511
B	00:23:01	02:37:27	485
C	00:28:43	02:17:36	465
D	00:24:46	02:34:16	485
E	00:31:13	02:28:18	484
F	00:22:03	02:20:33	457
G	00:29:30	02:16:13	417
H	00:24:30	02:14:20	405
I	00:22:34	02:13:53	434

H:M:S - Hora, minuto e segundo, g - gramas. Fonte: Elaboração própria.

Tabela 8 - Repetições, tempo de cozimento, tempo de secagem e rendimento obtidos durante a produção das farinhas de subprodutos do abate de rã-touro (*Aquarana catesbeiana*) no tratamento M

Repetição	Tempo de cozimento (H:M:S)	Tempo de secagem (H:M:S)	Rendimento de farinha (g)
A	00:30:17	01:30:05	344
B	00:33:51	01:49:50	328
C	00:31:06	01:35:29	341
D	00:31:15	01:41:07	342
E	00:31:14	01:36:48	366
F	00:28:04	01:31:41	335
G	00:34:24	01:28:26	325
H	00:33:15	01:21:47	300
I	00:29:42	01:25:50	335

H:M:S - Hora, minuto e segundo, g - gramas. Fonte: Elaboração própria.

A Tabela 9 apresenta as médias, os desvios padrão e as comparações das médias para as variáveis tempo de cozimento, tempo de secagem e rendimento de farinha durante a produção.

Os tempos de cozimento, tempos de secagem obtidos na produção, foram convertidos para segundos e minutos, respectivamente, para facilitar a interpretação do software SAEG e a confecção de figuras.

Tabela 9 – Médias, desvio padrão e comparação das médias para as variáveis tempo de cozimento, tempo de secagem e rendimento dos tratamentos

Tratamentos	T. de cozimento	T. de secagem	Rendimento
CA	1619,5 (2,12) B	100,77(9,21) B	441,11(39,35) AB
SC	1636,2 (2,72) B	96,33 (6,30) B	403,67(23,34) B
F	1562,6 (3,35) B	142,44(8,72) A	460,33(35,37) A
M	1887,5 (1,96) A	86,35(8,50) B	335,35(17,68) C

$Q(0.05, 32) = 3.835$ DMS (T. de cozimento) = 200.56 ; DMS (T. de secagem) = 10,57; DMS (Rendimento) = 38,82 letras diferentes, na mesma coluna, representam diferenças observadas na ANOVA fatorial seguida pelo teste Tukey para nível de significância a 5%, em ordem alfabética da maior para menor. Fonte: Elaboração própria.

4.2.1 Tempo de cozimento dos subprodutos de rã-touro

A Figura 8 apresenta as médias e os desvios padrão do tempo de cozimento dos tratamentos

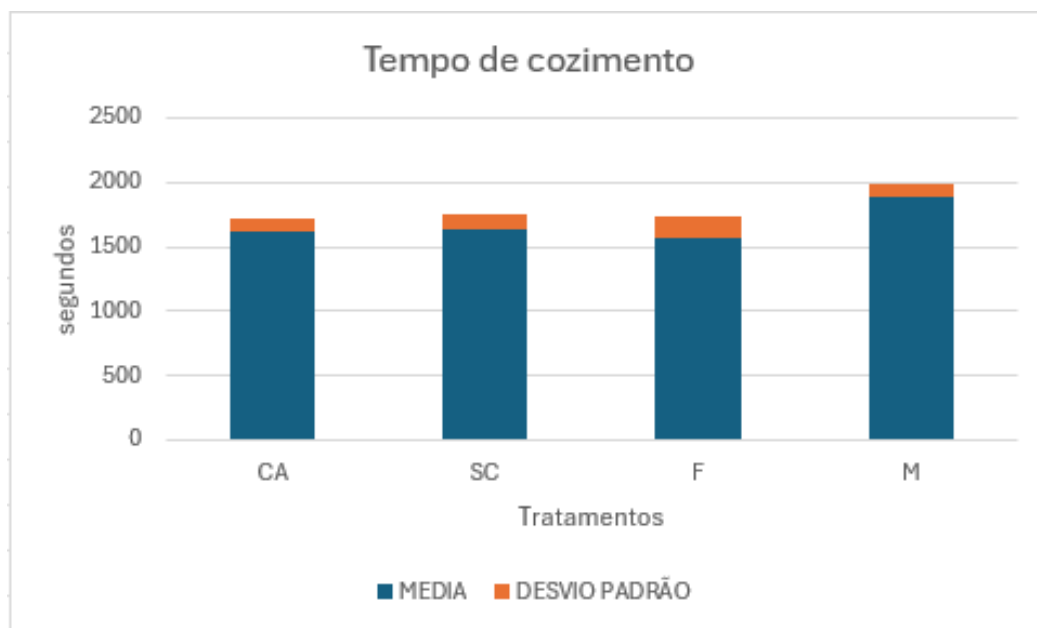


Figura 8 - Médias e desvios padrão para o tempo de cozimento na fabricação de farinhas de subprodutos do abate de rã-touro (*Aquarana catesbeiana*). Fonte: Elaboração própria.

Foi possível observar que as médias do tempo de cozimento no tratamento M foram estatisticamente superiores às médias dos demais tratamentos, que não apresentaram diferenças entre si.

Uma das principais características do tratamento M, é a maior quantidade de pele na mistura de subprodutos. A pele da rã-touro é abundante em colágeno, principalmente nos machos que possuem a pele mais espessa devido a suas características morfofisiológicas. A estrutura básica do colágeno é chamada de tropocolágeno formado por três cadeias de polipeptídios entrelaçadas em forma helicoidal. Essa característica faz com que o colágeno possua a capacidade de retenção de água. No decorrer do cozimento essa estrutura se rompe ou desnatura, à medida que a temperatura vai aumentando. A quantidade de colágeno provavelmente foi maior no tratamento M, devido à maior quantidade de pele. Isso significa mais colágeno, com água absorvida, em desnaturação, contribuindo para o maior tempo de cozimento do Tratamento M, em relação aos demais tratamentos.

Haddad *et al.*, (2021) e Calabrez *et al.*, (2013) realizaram estudos utilizando a pele da rã-touro e constataram a presença de alto teor de proteína na pele, em especial na forma de

colágeno. Miranda (2020), em seu estudo sobre suplementação de colágeno, descreve que o colágeno sob temperatura e umidade elevadas, se rompe e libera a água absorvida pela molécula.

O corpo adiposo não interferiu estatisticamente nas médias do tempo de cozimento das farinhas.

4.2.2 Tempo de secagem dos subprodutos de rã-touro

A Figura 9 apresenta as médias e os desvios padrão do tempo de secagem dos tratamentos.

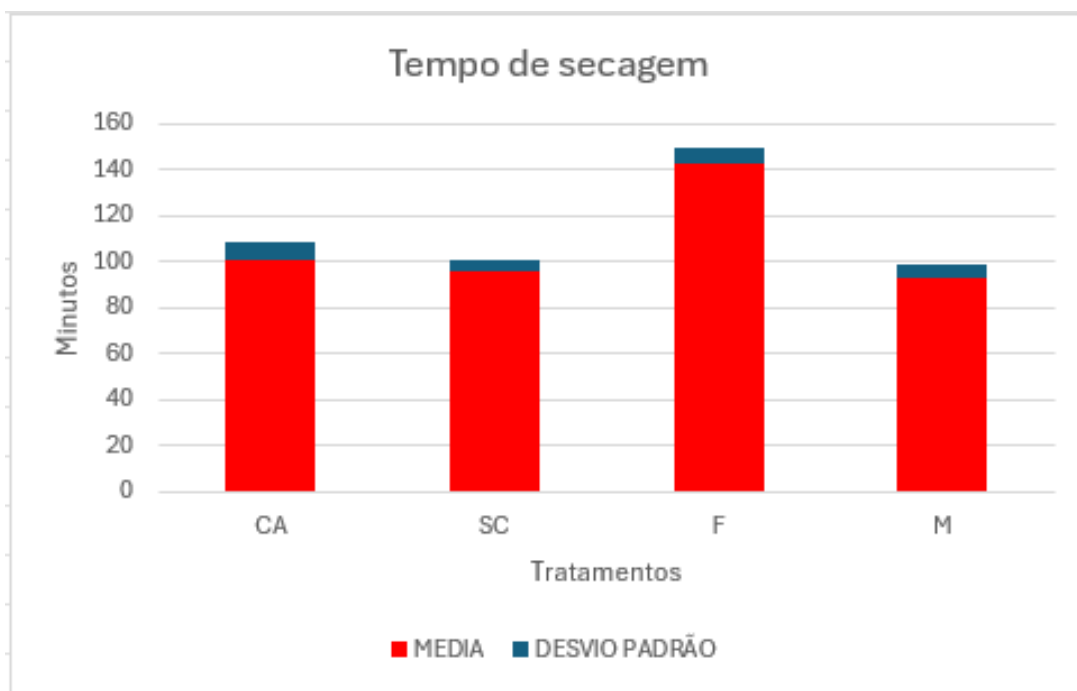


Figura 9 - Médias e desvios padrão do tempo de secagem na produção de farinha de subprodutos do abate de rã-touro (*Aquarana catesbeiana*). Fonte: Elaboração própria.

A média do tempo de secagem das farinhas do tratamento F foi superior à média do tempo de secagem das farinhas dos demais tratamentos, que não apresentaram diferenças entre si.

Os ovários, em estágio de desenvolvimento avançado, aumentam sua capacidade de retenção de líquidos. O epitélio do oviduto é rico em glândulas glicoproteicas em toda a sua extensão. Além de possuir circunvoluções, dobras e vilosidades que aumentam a massa seca desse órgão. Isso contribui para o maior tempo de secagem do tratamento F.

Fernandez *et al.*, (2013) realizaram um estudo sobre a estrutura do oviduto e suas mudanças em diversos períodos do ano. À medida que o animal se prepara para o período reprodutivo, o oviduto, e o ovário, aumentam consideravelmente de tamanho.

Os tratamentos CA, SC e M obtiveram tempo de secagem iguais, indicando que o corpo adiposo não interferiu no tempo de secagem. A presença de ovário e oviduto nos tratamentos CA e SC foi menor que no Tratamento F e, conseqüentemente, insuficientes para causar diferença no tempo de secagem

4.2.3 Rendimento das farinhas de subprodutos de rã-touro

A Figura 10 apresenta as médias e os desvios padrão para o rendimento de farinhas dos tratamentos.

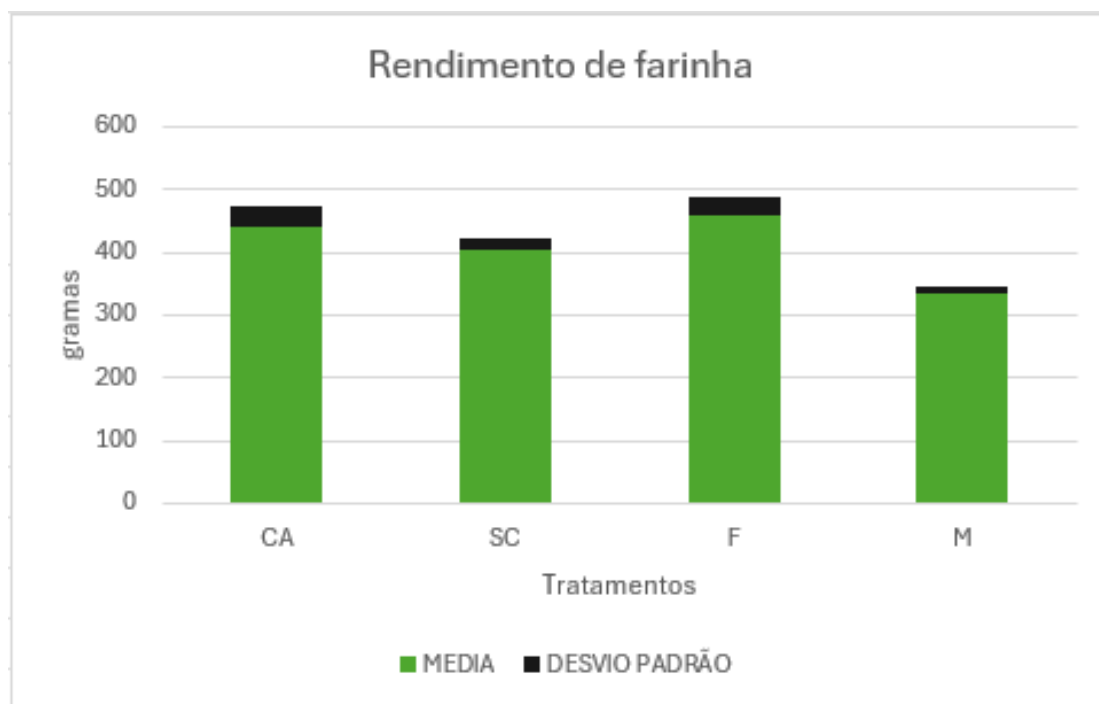


Figura 10 - Médias e desvios padrão para o rendimento de farinha de subprodutos do abate de rã-touro (*Aquarana catesbeiana*). Fonte: Elaboração própria.

As farinhas do tratamento F apresentaram a média de rendimento superior à das farinhas dos tratamentos SC e M, mas não a média das farinhas do tratamento CA. Esse por vez, apresentou a média igual à dos tratamentos SC e F. As farinhas do tratamento M apresentaram média de rendimento inferiores às dos demais tratamentos.

As farinhas do tratamento F foram as que obtiveram o maior rendimento. Isso se deve à diferença nas proporções de subprodutos dos tratamentos. O abate de fêmeas resultou em mais vísceras, a qual são mais eficientes na produção de farinha devido aos diferentes tipos de órgãos. Possivelmente, a quantidade de água presente nas vísceras de fêmeas foi menor, o que levou a uma menor quantidade de água evaporada, mesmo com o maior tempo de secagem no tratamento F, e uma menor redução do peso.

As farinhas do tratamento M foram as que obtiveram o menor rendimento. Na mistura de subprodutos, houve maior quantidade de pele e cabeças e patas, que têm com pele. Por ser rica em colágeno, a pele possui a capacidade de retenção de água. Isso significa que os subprodutos do tratamento M, continham mais água, absorvida pelo colágeno da pele. No

processo de cozimento e secagem, essa água evaporou durante o processo de cozimento e secagem, o que levou à redução do peso das farinhas.

A presença de pele de machos na mistura de subprodutos do tratamento SC fez com que o rendimento de farinha fosse inferior ao rendimento do tratamento F. Ao mesmo tempo que a presença de vísceras de fêmeas no tratamento SC fez com que a média de rendimento de farinha fosse superior à média de rendimento do tratamento M. Isso também justifica o fato da média de rendimento do tratamento SC ser igual à média de rendimento do tratamento CA, pois ambos os tratamentos usaram subprodutos de machos e fêmeas aleatoriamente.

No tratamento CA, possivelmente houve maior quantidade de vísceras de fêmeas, visto que não houve a diferenciação nem a quantificação das vísceras entres os sexos. Por isso, a média de rendimento de farinhas do tratamento CA foi igual à média de rendimento do tratamento F.

Não existe, na literatura, discussão sobre o rendimento de farinha dos subprodutos do abate de rã-touro.

4.3 Análises químicas

As variáveis matéria-seca, Extrato etéreo, proteína bruta, matéria mineral e carboidratos não fibrosos obtidos pela análise química das farinhas apresentaram distribuição normal. Somente Extrato etéreo, proteína bruta e matéria mineral apresentaram médias com diferenças significativas ao nível de 5% na ANOVA, entre os tratamentos. O teste Tukey foi aplicado nas variáveis extrato etéreo, proteína bruta e matéria mineral para comparar as diferenças entre as médias dos tratamentos.

Na Tabela 10 estão as repetições do tratamento CA selecionadas para análise e os respectivos resultados obtidos em cada análise, assim como na Tabela 11 estão os resultados para o tratamento SC, a Tabela 12 para o tratamento F e a Tabela 13 para o tratamento M.

Tabela 10 - Tratamento, Repetição, Matéria seca (MS), Extrato etéreo (EE), Proteína Bruta (PB), Matéria Mineral (MM) e Carboidratos Não Fibrosos (CNF) obtidos nas análises químicas realizadas nas amostras de farinhas de subprodutos do abate de rã-touro (*Aquarana catesbeiana*) do tratamento CA

Tratamento	Repetição	MS(%)	EE(%)	PB(%)	MM(%)	CNF(%)
1	A	99	26,0	51,0	7,6	14,4
1	C	91,7	27,0	49,0	7,2	8,5
1	H	89,7	26,0	45,0	7,5	11,2

Fonte: Elaboração própria.

Tabela 11 - Tratamento, Repetição, Matéria seca (MS), Extrato etéreo (EE), Proteína Bruta (PB), Matéria Mineral (MM) e Carboidratos Não Fibrosos (CNF) obtidos nas análises químicas realizadas nas amostras de farinhas de subprodutos do abate de rã-touro (*Aquarana catesbeiana*) do tratamento SC

Tratamento	Repetição	MS(%)	EE(%)	PB(%)	MM(%)	CNF(%)
2	C	86,3	11,0	60,0	10,5	4,8
2	D	83,7	10,0	65,0	7,9	0,8
2	E	87,4	10,0	56,0	9,6	11,8

Fonte: Elaboração própria.

Tabela 12 - Tratamento, Repetição, Matéria seca (MS), Extrato etéreo (EE), Proteína Bruta (PB), Matéria Mineral (MM) e Carboidratos Não Fibrosos (CNF) obtidos nas análises químicas realizadas nas amostras de farinhas de subprodutos do abate de rã-touro (*Aquarana catesbeiana*) do tratamento F

Tratamento	Repetição	MS(%)	EE(%)	PB(%)	MM(%)	CNF(%)
3	C	90,5	13,0	58,0	8,5	11,0
3	E	89,1	14,0	56,0	8,2	10,9
3	G	95,9	17,0	60,0	7,6	11,3

Fonte: Elaboração própria.

Tabela 13 - Tratamento, Repetição, Matéria seca (MS), Extrato etéreo (EE), Proteína Bruta (PB), Matéria Mineral (MM) e Carboidratos Não Fibrosos (CNF) obtidos nas análises químicas realizadas nas amostras de farinhas de subprodutos do abate de rã-touro (*Aquarana catesbeiana*) do tratamento M

Tratamento	Repetição	MS(%)	EE(%)	PB(%)	MM(%)	CNF(%)
4	E	91,3	11,0	59,0	10,3	11,0
4	G	97,7	11,0	68,0	12,8	5,9
4	H	92,9	11,0	66,0	12,5	3,4

Fonte: Elaboração própria.

4.3.1 Matéria seca e Carboidratos não fibrosos

O teor de matéria seca e de carboidratos não fibrosos das farinhas não diferiram entre os tratamentos e, portanto, não foi aplicado o teste Tukey. Na Figura 11, verifica-se as médias e os desvios padrão para teor de matéria seca das farinhas de subprodutos de todos os tratamentos.

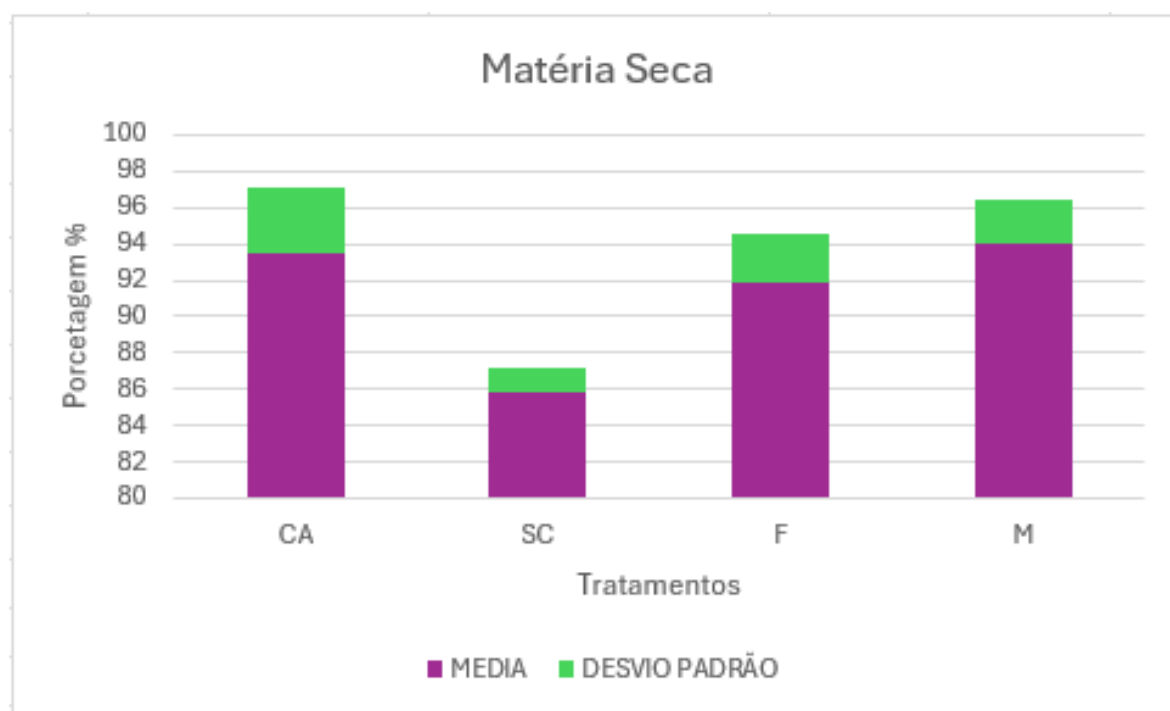


Figura 11 - Médias e desvios padrão do teor de matéria seca das farinhas de subprodutos do abate de rã-touro (*Aquarana catesbeiana*). Fonte: Elaboração própria.

Os tratamentos não interferiram no teor de matéria seca das farinhas de subprodutos do abate de rã-touro. Também é possível observar na Figura 15 que os desvios padrão das médias foram todos inferiores a 5%, indicando a baixa variação do teor de matéria seca. A partir dessas análises, é possível afirmar que o teor de matéria seca está inteiramente relacionado ao protocolo de fabricação das farinhas. O protocolo foi eficiente na desidratação independente do subproduto utilizado e gerou um produto padronizado quanto ao teor de matéria seca.

As médias e os desvios padrão do teor de carboidratos não fibrosos estão apresentados na Figura 12.

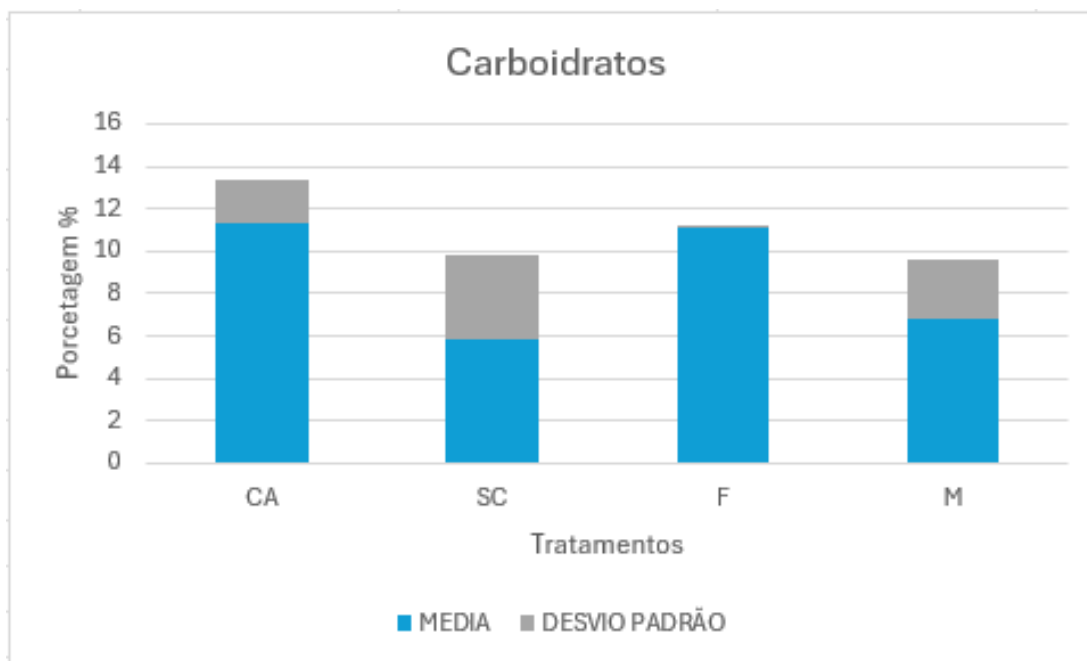


Figura 12 - Médias e desvios padrão para o teor de carboidratos não fibrosos das farinhas de subprodutos do abate de rã-touro (*Aquarana catesbeiana*). Fonte: Elaboração própria.

Animais submetidos a jejum pré-abate consomem reservas corporais, devido à ausência da alimentação. Os carboidratos são fonte de energia prontamente disponível para o organismo, principalmente na forma de glicose, além de serem a fonte de energia para o tecido nervoso. Como os animais passaram por jejum pré-abate de 72 horas, o organismo consumiu os carboidratos circulantes para manutenção do metabolismo basal e iniciou a glicogenólise. Por isso, as farinhas apresentaram baixos níveis de carboidratos não fibrosos, sem diferenças estatísticas entre os tratamentos.

A principal fonte de carboidratos do organismo é o glicogênio hepático, sendo mobilizados já nas primeiras horas de jejum (Almeida *et al.*, 2021).

4.3.2 Extrato etéreo, proteína e matéria mineral

As médias dos teores de Extrato etéreo, proteína e matéria mineral, apresentaram diferença na anovaram e foram submetidas ao teste Tukey. A Tabela 14 apresenta as médias, os desvios padrão e as diferenças encontradas pelo teste.

Tabela 14 - Médias, desvio padrão e comparação das médias para os teores de Extrato Etéreo, Proteína e Matéria mineral das farinhas dos tratamentos.

Tratamentos	Extrato etéreo	Proteína	Matéria Mineral
CA	26,3(0,57) A	48,3(3,05) B	7,43(0,20) B
SC	111,0(0,57) C	60,3(4,05) A	9,33(1,32) AB
F	14,6(2,08) B	58(2,00) AB	8,35(0,21) B
M	10,0(0,00) C	64,3(4,72) A	11,86(1,36) A

$Q(0.05, 8) = 4.530$ DMS (Extrato etéreo) = 2,9241; DMS (proteína) = 9,7859; DMS (matéria mineral) = 2,5692; letras diferentes, na mesma coluna, representam diferenças observadas na ANOVA fatorial seguida pelo teste Tukey para nível de significância a 5%, em ordem alfabética da maior para a menor. Fonte: Elaboração própria.

4.3.2.1 Extrato etéreo

As médias e os desvios padrão para os teores de Extrato etéreo estão apresentados na Figura 13.

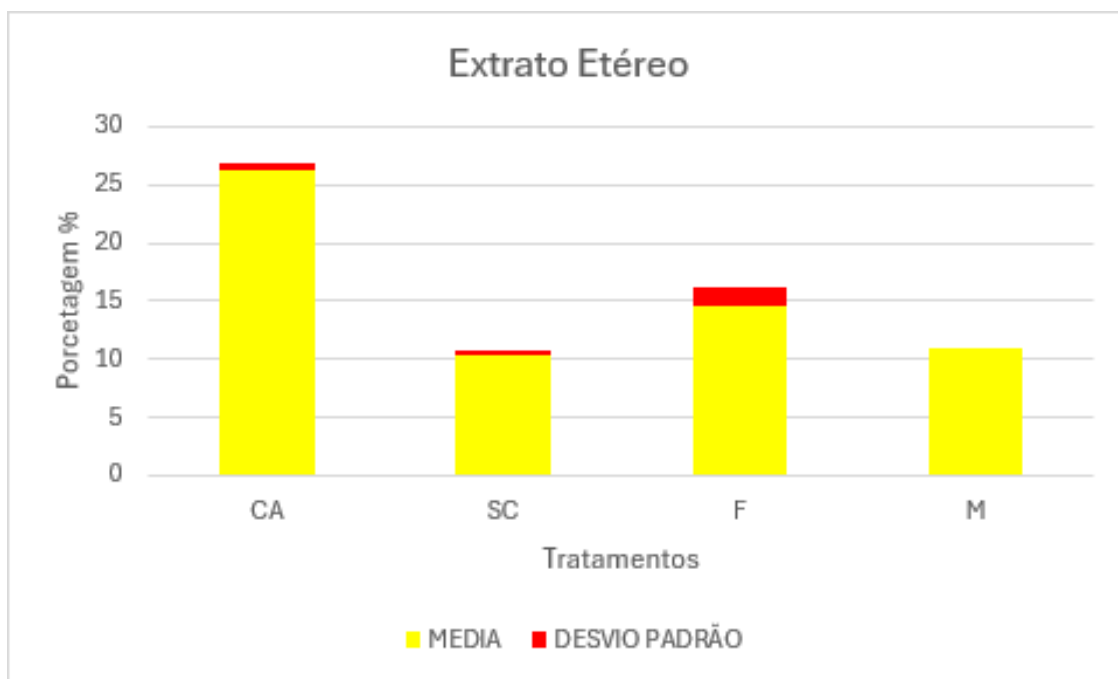


Figura 13 - Médias e desvios padrão dos teores de Extrato etéreo das farinhas de subprodutos de abate de rã-touro (*Aquarana catesbeiana*). Fonte: Elaboração própria.

A média do teor de Extrato etéreo das farinhas do tratamento CA foi superior às médias dos demais tratamentos. A média do teor de Extrato etéreo das farinhas do tratamento F foi superior à média dos tratamentos SC e M, que não apresentaram diferenças entre si.

As farinhas do tratamento CA contêm o maior teor de Extrato etéreo, por terem na sua composição de subprodutos, o corpo adiposo. Esse órgão é destinado à deposição de lipídeos de reserva energética do organismo da rã-touro.

Durante o processo de produção, as farinhas do tratamento CA apresentaram forte influência da presença do corpo adiposo, principalmente após o cozimento e a secagem. A capacidade de adesão aos equipamentos era maior, dificultando a etapa de moagem, já que toda a farinha ficava aderida no interior do liquidificador. A textura do produto era seca, mas com fluidez e um aspecto visual que remete a óleo. Mesmo tendo a granulometria final, possuía a capacidade de formar agregados que facilmente se desfaziam com o manuseio.

No processo de cozimento, houve, possivelmente, a hidrólise dos triacilglicerídeos formando glicerol + ácidos graxos livres. Essa reação faz que com a gordura passe do aspecto

solido para líquido em um processo irreversível. Por isso a farinha possui um aspecto fluido e oleoso.

Perina *et al.* (2016) realizaram um estudo de extração de óleos no corpo adiposo da rã-touro. Foi constatada a formação de ácidos graxos livres a partir do triacilglicerol em diferentes métodos de extração do óleo.

Segundo Pereira *et al.*, (2011) a composição de triglicerídeos do corpo adiposo da rã-touro pode chegar a 98%. Essa é a reserva energética do organismo, usada em períodos de restrição alimentar, como no clímax de metamorfose e no período reprodutivo.

No tratamento F houve maior quantidade de ovários e ovidutos em estádios avançados de desenvolvimento. No ovário existe uma concentração de lipídeos para a formação do vitelo. Esse lipídeo é mobilizado do corpo adiposo para o fígado e, posteriormente, para os ovários. Já no oviduto, há predomínio, em toda a sua extensão, de glândulas que secretam muco, composto, essencialmente, por ácidos graxos, que reveste o epitélio do oviduto. Esses ácidos graxos são os responsáveis pelo teor de Extrato etéreo do tratamento F.

Fernandez *et al.*, (2013) relataram que o muco secretado pela mucosa do oviduto da rã-touro é fundamental para o trânsito dos ovócitos durante o período de acasalamento.

Nos tratamentos SC e M, mesmo com a exclusão do corpo adiposo, houve a presença de lipídeo. Isso ocorreu devido ao lipídio que estava nas vísceras, em menor quantidade.

Do total de lipídeos do organismo da rã-touro, 97% encontram-se concentrado no corpo adiposo e o restante encontra-se mobilizado no organismo, principalmente nas vísceras (Perreira *et al.*, 2011).

As farinhas dos tratamentos SC, F e M apresentaram textura mais rígida e menos fluida. Sem a formação de agregados e interação entre os grãos. O aspecto foi mais seco, diferente do observado nas farinhas do tratamento CA, evidenciando a menor quantidade de lipídeos.

4.3.2.2 Proteína

Na Figura 14 estão os valores das médias e desvios padrão do teor de proteína bruta das farinhas de subprodutos do abate de rã-touro.

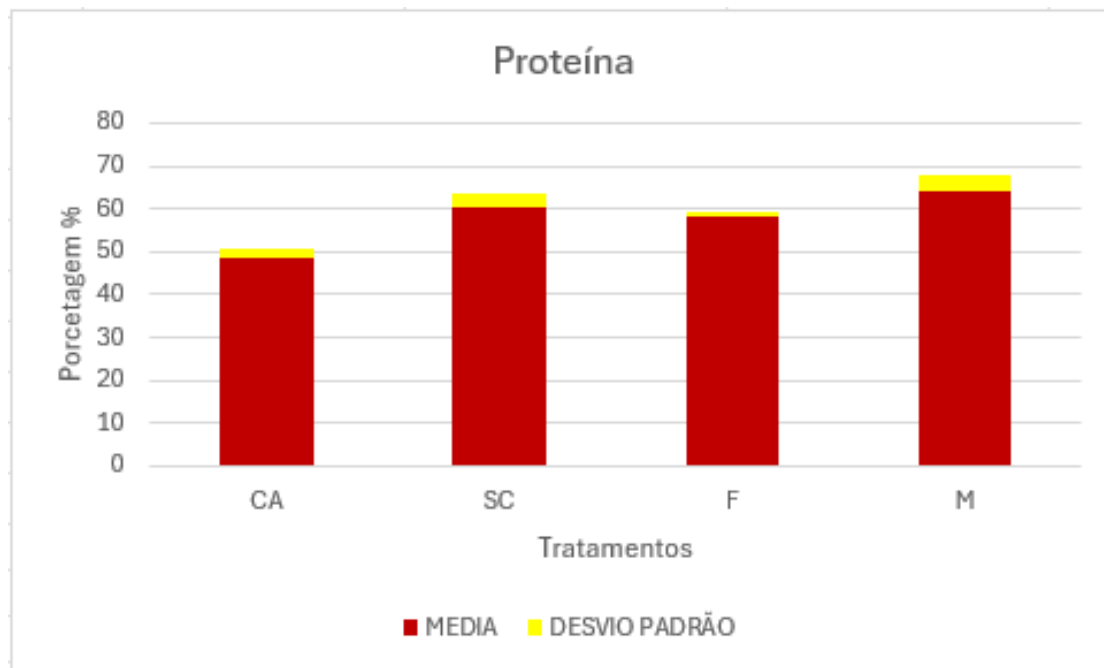


Figura 14 - Médias e desvios padrão para o teor de proteína das farinhas de subprodutos do abate de rã-touro (*Aquarana Catesbeiana*). Fonte: Elaboração própria.

As farinhas dos tratamentos SC e M apresentaram as maiores médias para o teor de proteína, estatisticamente iguais entre si e iguais a média das farinhas do tratamento F. A média do tratamento CA foi inferior às médias dos tratamentos SC e M, e igual à média do teor de proteína do tratamento F.

As farinhas do tratamento CA tiveram o menor teor de proteína. Isso significa que o teor de proteína foi influenciado pela presença do corpo adiposo. Para haver o incremento do corpo adiposo na mistura de subprodutos a serem processados, houve a necessidade de diminuição dos demais subprodutos. Com isso, subprodutos com predomínio de proteína, como pele e vísceras, estavam em menor quantidade na produção das farinhas do tratamento CA, em relação aos demais tratamentos.

Na mistura de subprodutos do tratamento SC, apesar de não haver a separação por sexo, também houve predomínio de subprodutos proteicos. Devido à ausência do corpo adiposo, houve a prevalência de cabeças, patas e peles, ou seja, sendo subprodutos proteicos, na produção das farinhas.

A ausência do corpo adiposo na mistura de subprodutos do tratamento F, fez com que seu teor médio de proteína não diferisse das médias dos tratamentos SC e M, que apresentaram a mesma condição. Contudo, a média do tratamento F também não foi diferente da média do tratamento CA. Possivelmente, essa igualdade deve-se ao lipídio dissolvido nas vísceras, já que o tratamento F apresentou um teor de Extrato etéreo maior que os tratamentos SC e M. Isso significa que o teor de proteína é influenciado pela presença de Extrato etéreo na farinha.

A mistura de subprodutos do tratamento M apresentou a maior proporção de peles na mistura de subprodutos, entre os tratamentos, além da ausência do corpo adiposo. Por isso, as farinhas do tratamento M apresentaram o maior teor de proteína, já que a pele da rã contém muita proteína na forma de colágeno.

Cheam (2024) analisou a estrutura molecular da pele de diversos organismos aquáticos, incluindo a rã-touro americana, e constatou o alto teor proteico na forma de colágeno.

Mesmo com as diferenças entre os tratamentos, as farinhas apresentaram um alto teor proteico. Isso significa a possibilidade da utilização em dietas de animais, especialmente os carnívoros, já que esses animais demandam muita proteína de origem animal.

Santos et al. (2013) relataram que a alimentação de animais carnívoros é um problema, pois a exigência de proteína desses animais é alta o que eleva os custos de produção. A própria rã-touro, segundo Castro *et al.* (2008), é um carnívoro estrito na fase adulta e demanda alta proteína.

O principal ingrediente usado nas rações para animais carnívoros é a farinha de peixe. Com o aumento da aquicultura, com a maioria dos animais carnívoros, a demanda pela farinha de peixe aumentou gerando oscilações na oferta e no preço (Stockhausen et al., 2022).

A farinha de subprodutos da rã-touro pode representar uma fonte de proteína de origem animal de menor custo, já que utiliza uma matéria-prima sem custos para a cadeia produtiva. Além de utilizar um método simples, com etapas e equipamentos já utilizados produção de outras farinhas.

A farinha de subprodutos da rã-touro é um alimento de alta qualidade, capaz de proporcionar um excelente desempenho aos animais. Isso porque a carne da rã-touro é considerada um alimento altamente digestível, com todos os minerais e aminoácidos essenciais, hipoalérgica e de alto valor biológico (Barbosa *et al.*, 2023). Os subprodutos apresentam essas mesmas características, por se tratar da mesma espécie.

4.3.2.2.1 Correlação do teor de Extrato etéreo com o teor de proteína

As farinhas de subprodutos do abate de rã-touro dos tratamentos que apresentaram os maiores teores de Extrato etéreo, foram as mesmas que apresentaram os menores teores de proteína e vice-versa. Isso sugere que existe interação entre os teores de lipídios e proteína conforme a mistura de subprodutos usada na fabricação da farinha. Para entender melhor a relação entre o teor de lipídio e o teor de proteína da farinha, foi estimado os coeficientes de correlação de Pearson, no software SAEG-UFV, para os teores de Extrato etéreo e os teores de proteína das farinhas dos 4 tratamentos. Na Tabela 15 estão apresentados os resultados da correlação entre lipídio e proteína.

Tabela 15 - Coeficiente de correlação simples entre as variáveis Extrato etéreo e proteína, número de observações e significância das farinhas de subprodutos do abate de rã-touro (*Aquarana catesbeiana*)

Variável	Variável	Observações	Coeficiente de Correlação	Significância
Lipídio	Extrato etéreo	12	-0,8312	0,0004

Fonte: Elaboração própria.

É possível observar que existe correlação forte e negativa entre os teores de proteína e Extrato etéreo dos tratamentos. O nível de significância da correlação foi próximo de zero, indicando a interação entre os teores desses dois nutrientes.

Isso está relacionado com o tipo de subproduto e a técnica de fabricação usada. Como basicamente os subprodutos da rã-touro são constituídos de lipídeos e proteínas, os teores desses nutrientes na farinha vão variar conforme o subproduto utilizado na mistura. Com a inclusão do corpo adiposo na mistura, por exemplo, a quantidade de pele e vísceras diminui, impactando na relação entre esses dois nutrientes.

De Souza *et al.* (2017) explicaram que para classificar, caracterizar e utilizar uma farinha de subprodutos, é necessário conhecer o animal em questão, o tipo de subproduto e a técnica de produção usada na fabricação de farinha.

Segundo Fonseca-Madrigal *et al.* (2023), a rã-touro apresenta bom crescimento ao serem alimentadas com dietas cujo teor de proteína encontra-se entre 40 e 50%, independente no nível de lipídeo da dieta. Entretanto, deve-se evitar o aumento do nível de lipídeo da dieta, pois, além de não apresentar vantagens econômicas, pode levar a complicações metabólicas já que a composição de ácidos graxos corporais da rã é um reflexo da composição lipídica da dieta.

A variação dos teores de extrato etéreo e proteína mostra o quão versátil é a farinha de subprodutos do abate de rã-touro. Através do mesmo método e da mesma matéria prima, alterando somente a mistura de subprodutos, é possível chegar a um produto que atenda a demanda de animais exigentes em proteína, ou lipídio. A truta arco-íris (*Oncorhynchus mykiss*) é um animal que demanda entre 15 e 30 % de lipídios na dieta (Meng *et al.*, 2022). Esse animal terá sua demanda atendida pelas farinhas do tratamento CA. Enquanto as farinhas do tratamento SC atenderão as demandas nutricionais dos diversos animais carnívoros, que possuem alta demanda proteica e baixa demanda de lipídios, como a própria rã-touro na fase pós metamórfica.

4.3.2.2.2 Correlação do teor de proteína com o tempo de cozimento

Para avaliar a relação entre as variáveis proteína e tempo de cozimento, foram separados os tempos de cozimento das farinhas selecionadas para análises químicas e os valores foram submetidos a correlação de Pearson a 5% pelo software SAEG-UFV. Na Tabela 16 estão os resultados.

Tabela 16 - Coeficiente de correlação simples entre as variáveis proteína e tempo de cozimento, número de observações e significância das farinhas de subprodutos do abate de rã-touro (*Aquarana catesbeiana*)

Variável	Variável 2	Observações	Coeficiente de Correlação	Significância
Proteína	Tempo de cozimento	12	0,636	0,05

Fonte: Elaboração própria.

O teste indicou uma correlação positiva moderada entre o tempo de cozimento e o teor de proteína. Os tratamentos que obtiveram farinhas com os maiores teores de proteína foram os mesmos nos quais os subprodutos levaram mais tempo para atingir o ponto de cozimento. Esses tratamentos possuíam maior quantidade de pele, patas e cabeça. A liberação de líquidos é menor em altas concentrações proteicas, devido ao maior número de ligações entre as cadeias polipeptídicas. Isso faz com que ocorra a formação de uma matriz proteica mais densa. O animal, por possuir respiração cutânea e ingerir água via pele, utiliza de estratégia para evitar a desidratação do organismo. Uma dessas estratégias, é o acúmulo proteico na pele, na forma de colágeno, para aumentar a capacidade de absorção de água.

Preste (2013), em sua revisão sobre as características do colágeno, relata sobre essa capacidade do colágeno, especialmente em altas concentrações.

4.3.2.4 Matéria mineral

As médias e os desvios padrão para o teor de matéria mineral das farinhas de subprodutos do abate de rã-touro estão apresentados na Figura 15.

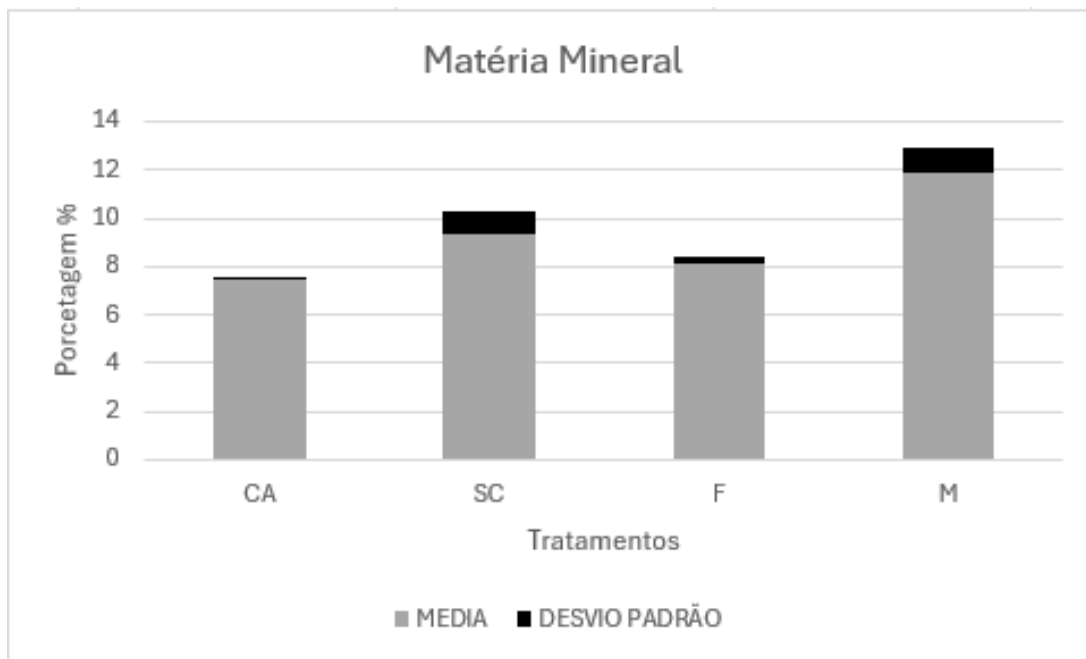


Figura 15 - Médias e desvios padrão do teor de matéria mineral das farinhas de subprodutos do abate de rã-touro (*Aquarana catesbeiana*). Fonte: Elaboração própria.

As farinhas do tratamento M obtiveram média para o teor de matéria mineral superior às médias das farinhas dos tratamentos CA e F, que não apresentaram diferença entre si. As farinhas do tratamento SC apresentaram a média do teor de matéria mineral igual às médias dos demais tratamentos.

A principal fonte mineral dos subprodutos da rã-touro são os ossos presentes na cabeça e nas patas. Nos tratamentos SC e M, as quantidades de cabeças e patas usadas foram próximas. Isso justifica o fato das farinhas desses tratamentos, terem teores de matéria mineral estatisticamente iguais. Entretanto, o teor de matéria mineral das farinhas do tratamento SC não foi diferente do teor de matéria mineral das farinhas dos tratamentos CA e F, apesar das diferentes quantidades de cabeças e patas usadas nas relações de subprodutos. Isso faz com que

o fator predominante na composição de minerais, além das quantidades de cabeças e patas, tenha sido a distinção desses subprodutos entre os sexos.

Na fabricação das farinhas do tratamento M, usou-se, somente, subprodutos de machos e essa conteve a maior quantidade de cabeças e patas, na mistura de subprodutos, dentre os tratamentos. Os ossos dos machos da rã-touro possuem maior densidade que os ossos das fêmeas. Isso porque o macho necessita de maior resistência corporal, para eventualmente entrar em combate com outro macho durante o período reprodutivo. Essa maior densidade, aliada à maior quantidade de cabeças e patas, contribuem para o maior nível de matéria mineral das farinhas do tratamento M.

Os ossos são formados pela hidroxiapatita, composta por cálcio, fósforo e magnésio (Wilson *et al.*, 2009; SU *et al.*, 2024). Asahara *et al.*, (2020) explicaram que, além disso, a densidade óssea da cabeça do macho é maior. Isso também pode contribuir para uma maior disponibilidade de minerais para a farinha.

4.3.2.4.1 Correlação entre matéria mineral e extrato etéreo

Assim como a proteína, a matéria mineral obteve os maiores valores nas farinhas dos tratamentos em que ocorreram farinhas com os menores teores de Extrato etéreo. Foi estimado os coeficientes de correlação de Pearson, no software SAEG-UFV, para os teores de Extrato etéreo e os teores de matéria mineral das farinhas dos 4 tratamentos, a um nível de 5% de significância. Na Tabela 17 estão os resultados da correlação.

Tabela 17 - Coeficiente de correlação simples entre as variáveis Matéria mineral e extrato etéreo, número de observações e significância das farinhas de subprodutos do abate de rã-touro (*Aquarana catesbeiana*)

Variável	Variável	Observações	Coeficiente de Correlação	Significância
Matéria Mineral	Extrato etéreo	12	-0,643	0,05

Fonte: Elaboração própria.

O teste confirmou uma correlação negativa moderada entre o teor Extrato etéreo e o teor de matéria mineral. A partir da interpretação das relações de misturas de subprodutos, é possível observar que os tratamentos que obtiveram os maiores teores de Extrato etéreo, foram os que continham as menores quantidades de cabeças e patas, principais subprodutos com ossos, na mistura. Assim os tratamentos compostos por farinhas com o menor teor de Extrato etéreo, apresentaram o maior de matéria mineral e contiveram maior quantidade de cabeças e patas na mistura de subprodutos. Esse resultado comprova que o teor de minerais e Extrato etéreo da farinha é influenciado pela relação de subprodutos utilizados na produção.

4.3.2.4.2 Correlação entre matéria mineral e proteína

Os tratamentos que obtiveram farinhas com os maiores teores de matéria mineral foram os mesmos que obtiveram farinhas com os maiores teores de proteína. Para compreender a relação entre essas duas variáveis os valores de proteína e matéria mineral das farinhas foram submetidos a correlação de Pearson a 5%. Na Tabela 18 estão os coeficientes de correlação entre as duas amostras.

Tabela 18 - Coeficiente de correlação simples entre as variáveis Matéria mineral e proteína, número de observações e significância das farinhas de subprodutos do abate de rã-touro (*Aquarana catesbeiana*)

Variável	Variável	Observações	Coeficiente de Correlação	Significância
Matéria Mineral	Proteína	12	0,713	0,01

Fonte: Elaboração própria.

O teste apresentou uma correlação positiva moderada entre os teores de matéria mineral e proteína, indicando que o maior teor de proteína possivelmente implica em maior teor de matéria mineral. Os tratamentos M e SC, em que, na mistura de subprodutos houve predomínio de pele, rica em proteína, também tiveram as maiores quantidades de cabeças e patas, subprodutos com ossos, contribuindo com a matéria mineral dos tratamentos. Entretanto, houve tratamentos com alto teor de proteína e com baixo teor de matéria mineral. Por isso a correlação encontrada é moderada.

4.3.2.4.3 Correlação entre matéria mineral e rendimento de farinha

Os tratamentos que produziram farinhas com os maiores teores de matéria mineral, foram os mesmos que tiveram farinhas com os menores rendimentos. Para entender a relação do teor de minerais das farinhas com os rendimentos, os dados das variáveis foram submetidos a correlação de Pearson a 5%. Para isso, foram selecionados os dados de rendimento das farinhas utilizadas nas análises químicas para correlacionar com os respectivos teores de minerais. Na Tabela 19 estão os coeficientes de correlação entre teor de minerais e rendimento.

Tabela 19 - Coeficiente de correlação simples entre as variáveis Matéria mineral e proteína, número de observações e significância das farinhas de subprodutos do abate de rã-touro (*Aquarana catesbeiana*)

Variável	Variável 2	Observações	Coeficiente de Correlação	Significância
Matéria Mineral	Rendimento de farinha	12	-0,737	0,01

Fonte: Elaboração própria.

O teste revelou correlação negativa moderada entre o teor de matéria mineral e rendimento das farinhas. Isso significa que, por meio dos tratamentos comparados, o teor de minerais aumenta à medida que o rendimento em gramas diminui.

Os tratamentos com maior quantidade de pele, apresentaram menor rendimento de farinha devido ao colágeno, que retém maior quantidade de água e ocorre maior desidratação. Esses mesmos tratamentos, com mais colágeno, são os mesmos com maior quantidade de ossos da cabeça e patas, contribuindo para maior quantidade de minerais. Esses subprodutos presentes em maior quantidade nos mesmos tratamentos, fazem com que essas variáveis estabeleçam uma relação, mesmo sem influência direta uma sobre a outra.

4.4 Análises microbiológicas

As repetições usadas nas análises químicas também foram usadas nas análises microbiológicas de *Salmonella spp.*. Somente as repetições CA-A e M-H apresentaram crescimento típico para *Salmonella spp.* no enriquecimento seletivo e seguiram para caracterização bioquímica. As demais repetições apresentaram crescimento atípico.

Na caracterização bioquímica, as duas repetições apresentaram crescimento atípico nos meios LIA e TSI, indicando ausência do microrganismo. Na Figura 16 estão ilustradas as repetições na análise microbiológica de *Salmonella spp.*.



Figura 16 - Amostras de farinha de subprodutos de abate de rã-touro (*Aquarana catesbeiana*) em processo de análise microbiológica de *Salmonella spp.* Fonte: Elaboração própria.

O processamento da farinha foi eficiente na eliminação de *Salmonella spp.* E, possivelmente, também foi eficiente na eliminação de outros microrganismos. Isso se deve ao fato do controle dos pontos críticos, durante a fabricação.

Um desses pontos é o jejum pré-abate de 72 horas. A *Salmonella spp.* presente no intestino do animal é eliminada com as fezes, reduzindo a população em seu interior. Como o animal defeca na água, possivelmente esse é o modo como a pele é contaminada. O jejum em água corrente reduz a contaminação da pele.

Segundo Costa *et al.* (2021), o tempo de 72 horas para jejum pré-abate contribui substancialmente para redução da carga de *Salmonella spp.*. Zheng *et al.*(2024) afirmaram que este é um microrganismo simbiótico da rã-touro e está presente no trato gastrointestinal atuando como enterobactéria.

A higiene também é um controle de ponto crítico. A limpeza adequada do ambiente e dos equipamentos, aliada à sanitização evita a contaminação direta e a contaminação cruzada da farinha. Isso contribui para a qualidade, a durabilidade e a diminuição dos riscos da utilização do produto. O abate seguindo o protocolo higiênico e humanitário é fundamental para evitar a contaminação da carne e dos subprodutos. Esse método controla os pontos críticos de contaminação durante o abate e aumenta a confiabilidade dos produtos gerados.

Milan *et al.* (2015) afirmam que a *Salmonella spp.* é um microrganismo formado de biofilmes em equipamentos metálicos e que o hipoclorito de sódio é um sanitizante eficiente na remoção desses biofilmes. Segundo a Organização Mundial da Saúde (2018), as práticas de

higiene e a manipulação dos alimentos, em temperaturas seguras, são fundamentais para inibir a contaminação por *Salmonella spp.* nos alimentos.

A aplicação de calor, em processo de fabricação de alimento, é importante para a transformação morfológica do produto e também para controle microbiológico. A maioria dos microrganismos não suporta altas temperaturas e a aplicação de calor acaba esterilizando o produto.

A temperatura de secagem a 80 °C, realizada na metodologia, é suficiente para eliminação da *Salmonella spp.* (Campioni *et al.*; 2012).

Utilizar a temperatura de refrigeração para descongelamento dos subprodutos e armazenamento da farinha é fundamental para diminuir esse risco. Essa temperatura retarda o crescimento de populações de diversos microrganismos, contribuindo para evitar contaminações e aumentar a durabilidade do produto.

Santos *et al.*, (2023) afirmaram que a *Salmonella spp.* sobrevive à temperatura de refrigeração, mas sua multiplicação só ocorre entre 7 e 45 °C, sendo a temperatura ótima de 35 °C.

5 Conclusão

O protocolo de fabricação de farinha de subprodutos do abate de rã-touro foi eficaz e, por meio dele, foi possível produzir um ingrediente potencialmente viável para utilização na alimentação animal. As variações que ocorreram no teor de nutrientes das farinhas e na técnica de fabricação, estão relacionadas principalmente ao tipo de subproduto utilizado na fabricação. Por isso, os tempos de cozimento e secagem também precisam variar conforme o tipo de subproduto de rã-touro utilizado no processo.

A técnica também foi eficaz na eliminação de *Salmonella spp.* e, possivelmente, também foi na eliminação de outros microrganismos. Isso significa que o protocolo apresenta controle dos pontos críticos de fabricação e baixos riscos de contaminação durante o processo, contribuindo para a segurança do profissional que atua na produção e também na qualidade do produto final.

A produção de farinha de subprodutos do abate de rã-touro é uma excelente alternativa de renda para a ricultura, ao gerar mais um produto passível de comercialização para a cadeia produtiva e cria um alimento alternativo, de baixo custo, para alimentação animal. A utilização dos subprodutos soluciona o problema dos descartes incorretos dos resíduos do abate, que prejudica o meio ambiente.

6 Referências

- ABIMORAD, Eduardo Gianini *et al.* Substituição parcial do farelo de soja pela farinha de carne e ossos em dietas para juvenis de tilápia-do-nilo. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 49, p. 836-843, 2014;
- ALMEIDA, Jonathan *et al.* Regulação hormonal no metabolismo energético de não ruminantes em estado de jejum. **Veterinária e Zootecnia**, v. 28, p. 1-14, 2021;
- ALVES, Adriana Xavier *et al.*. Transport of American bullfrogs in plastic boxes with and without moistened foam: plasma biochemistry and erythrogram responses. PREPRINT (Version 1) available at **Research Square**, 2024;
- ANDERS, W.H. *et al.*. *Salmonella*. In Downes, F.P e ITO, K. **Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods**. ALPHA, New York, 2001;
- ASAHARA, Masakazu *et al.* Sexual dimorphism in external morphology of the American bullfrog *Rana (Aquarana) catesbeiana* and the possibility of sex determination based on tympanic membrane/eye size ratio. **Journal of Veterinary Medical Science**, v. 82, n. 8, p. 1160-1164, 2020;
- AULIYA, Mark *et al.* Numerous uncertainties in the multifaceted global trade in frogs' legs with the EU as the major consumer. **Nature Conservation**, v. 51, p. 71, 2023;
- BARBOSA, Stephanie Peixoto *et al.* Rãs: Revisão de literatura. **Práticas em Medicina Veterinária Volume**, p. 76. 2023;
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA). **Instrução normativa n.º 34, de 28 de maio de 2008**. Dispões sobre as normas para utilização de resíduos na fabricação de farinhas de origem animal. Atualizada em 30 de março de 2017, Diário Oficial da União - Seção 1, 28 de maio de 2008;
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) **Instrução Normativa n.º 8 do de 25 de março de 2004**. Dispões sobre a proibição do uso de ingredientes de origem

animal na alimentação de ruminantes. Atualizada em 6 de março de 2023, Diário Oficial da União - Seção 1, 26 de março de 2004;

BRASIL. **Lei n.º 12305, de 2 de agosto de 2010**. Dispõe sobre a Política Nacional de Resíduos Sólidos e altera a Lei n.º 9605 de 12 de fevereiro de 1998 e da outras providências. Diário Oficial da União - Seção 1, 3 ago. 2010;

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) **Instrução Normativa SDA n.º 110, de 24 de novembro de 2020**, alterada pela PORTARIA n.º 359, DE 9 DE JULHO DE 2021. Dispõe sobre a lista de matéria-prima, ingredientes e aditivos aprovados pelo MAPA na alimentação animal. Diário Oficial da União - Seção 1, 13 de set. de 2021;

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) **Portaria SDA nº 871, de 10 de agosto de 2023**. Dispõe a emissão da Guia de Trânsito de Subprodutos - GTS. Diário Oficial da União - Seção 1, página 10, 15 de ago. de 2023;

CALABREZ, Larissa Pim *et al.* Comparative study of bullfrog (*Rana catebeiana*) skin preservation for use as a biomaterial. **Semina ciênc. agrar**, p. 485-498, 2023;

CAMPIÃO, Karla Magalhães *et al.* High prevalence and concomitant infection of *Eustrongylides* sp. and Ranavirus in the invasive American Bullfrog in Brazil. **Parasitology International**, p. 102875, 2024;

CAMPIONI, Fábio *et al.* Genetic diversity, virulence genes and antimicrobial resistance of *Salmonella* Enteritidis isolated from food and humans over a 24-year period in Brazil. **Food Microbiology**, v. 32, n. 2, p. 254-264, 2012;

CASALI, Alex Poeta *et al.* Rações comerciais e o rendimento de carcaça e subprodutos de rã-touro. **Ciência Rural**, v. 35, n. 5, p. 1172-1178, 2005;

CASTRO, Josevane Carvalho *et al.* Níveis de energia metabolizável para rações de rã touro. **Boletim do Instituto de Pesca**, v. 34, n. 4, p. 519-525, 2008;

CELESTINO, Sonia Maria Costa. Princípios de secagem de alimentos. **Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária - EMBRAPA Cerrados**,2010;

COSTA, Priscilla Costa *et al.* Influência de diferentes períodos de jejum pré-abate na qualidade microbiológica de carcaças de rã-touro (*Lithobates catesbeianus*). **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia** , v. 73, p. 487-494, 2021;

DABBOU, Sihem *et al.* Black soldier fly defatted meal as a dietary protein source for broiler chickens: Effects on growth performance, blood traits, gut morphology and histological features. **Journal of animal science and biotechnology**, v. 9, p. 1-10, 2018;

DA SILVA, Ana Riquelle Barbosa *et al.* Formulação de ração para tilápia com substituição de ingredientes convencionais por ingredientes alternativos. **Diversitas Journal**, v. 6, n. 3, p. 3683-3693, 2021;

DE LIMA, Misleni Ricarte *et al.* Efeito da adição de farinha de vísceras de aves sobre o desempenho zootécnico de alevinos de tilápia do Nilo. **Revista de Ciências Agroveterinárias**, v. 21, n. 4, p. 489-496, 2022;

DE OLIVEIRA, Carlos Wagner *et al.* Farinhas de insetos na avicultura industrial. **Brazilian Journal of Development**, v. 6, n. 1, p. 722-728, 2020;

DE OLIVEIRA, Elenise Gonçalves. Ranicultura: novos desafios e perspectivas do mercado. **Ciência Animal**, v. 25, n. 1, p. 173-186, 2015;

DE OLIVEIRA PEREIRA, Dayana Cristina *et al.* Farelo integral de inseto, efeito sobre o desempenho e qualidade intestinal de frangos de corte criados em sistema antibiotic free e alimentados com nutrição orgânica. **Revista Brasileira de Agropecuária Sustentável**, v. 11, n. 1, p. 299-314, 2021;

DE SOUZA, Lilian Francisco Arantes *et al.* Farinha de carne e ossos e butirato de sódio sobre o desempenho semanal de frangos de corte. **Colloquium Agrariae**, v. 13, n. 1, p. 25-32, 2017;

DE SOUZA NASCIMENTO, Liliam *et al.*. Rendimento de Carcaça de Machos e Fêmeas da Rã-touro em diferentes Sistemas de Recria e em fase reprodutiva. **Revista Brasileira de Agropecuária Sustentável**, v. 9, n. 3, 2019;

DIANA, Thiago Ferreira *et al.*. Inclusão de farinha de penas em dietas com redução de proteína e aminoácidos para codornas de corte. **Research, Society and Development**, v. 9, n. 9, p. e81996833-e81996833, 2020;

DIANA, Thiago Ferreira *et al.*. Protease em dietas com baixa proteína contendo farinha de Penas para codornas de corte. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 72, p. 1487-1496, 2020;

DOS SANTOS HENRIQUES, Juliano Kelvin *et al.*. Caracterização e uso das farinhas de abatedouros de aves em dietas para peixes. **Revista Acta Tecnológica**, 2017;

ESTEVES, Pedro Vieira *et al.*. Productive diagnosis offrog culture in the state of Rio de Janeiro. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, v. 24, p. 20220035, 2023;

FAO - Food and Agriculture Organization of the United Nations. 2024. The State of World Fisheries and Aquaculture 2024;

FERNANDEZ, Sthefanie *et al.*. Ultrastructure of the bullfrog (*Lithobates catesbeianus*-Shaw, 1802) oviduct in different seasons. **Microscopy Research and Technique**, v. 76, n. 5, p. 523-532, 2013;

FERREIRA, Gabriele Miranda *et al.*. Criatório de rãs-touro no Brasil: uma breve revisão narrativa. Trabalho de conclusão de curso - **Instituto Federal Goiano – Campus Ceres - GO**, 2023;

FONSECA-MADRIGAL, Jorge *et al.* Effect of dietary protein: lipid ratio on growth and body composition in bullfrog (*Lithobates catesbeianus*). **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 52, p. e20220104, 2023;

FRAZAO, Gladslene Goes Santos *et al.*. Análise comparativa da perspectiva da ranicultura em Aracaju Comparative analysis of the perspective of ranching in Aracaju. **Brazilian Journal of Development**, v. 8, n. 5, p. 35031-35039, 2022;

FIORANELLI, S.A. *et al.*. Efeitos do sistema de criação, alimentação e mudanças estacionais sobre o peso vivo e valores do hemograma da rã-touro gigante (*Rana catesbeiana*). **Revista Veterinária**, v. 1, pág. 9-16, 2004;

GRAEFF, *Álvaro et al.*. Uso de farinha de carne e osso bovina como fonte de proteína para carpas comum (*Cyprinus carpio* L.) em fase de recria. **REDVET. Revista Electrónica de Veterinaria**, v. 13, n. 4, p. 1-12, 2012;

GIONGO, Anelise. Parâmetros de qualidade de um subproduto para fabricação de ração animal (farinha de carne e ossos). **Artigo técnico. UNIVATES**, 2017;

GODOY, Antonio Cesar *et al.*. Digestibilidade aparente de farinha de carne e ossos de peixe para tilápia do Nilo. **Archivos de zootecnia**, v. 65, n. 251, p. 341-348, 2016;

GOODING, Charles H. *et al.*. Comparison of 3 alternatives for large-scale processing of animal carcasses and meat by-products. **The Professional Animal Scientist**, v.32, p.259–270, 2016;

HADDAD, Lucía Ruiz *et al.* Evaluation of nutritional composition and technological functionality of whole American Bullfrog (*Lithobates catesbeianus*), its skin, and its legs as potential food ingredients. **Food Chemistry**, v. 372, p. 131232, 2022;

HENN, João Dionísio *et al.*. Comparação do valor nutritivo de farinhas de sangue e de farinhas de vísceras para suínos utilizando-se o método da proteína e gordura digestíveis e o método de substituição. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 35, p. 1366-1372, 2006;

INSTITUTO BRASILEIRO DE MEIO AMBIENTE E RECURSOS RENOVÁVEIS.. **IBAMA Portaria n.º 102 de 15 de julho de 1998**. Dispõe sobre normalização do funcionamento de criadouros de animais da fauna silvestre exótica com fins econômicos e industriais. Brasília. Diário Oficial da União - Seção 1, 16 de jul. de 1998;

INSTITUTO BRASILEIRO DE MEIO AMBIENTE E RECURSOS RENOVÁVEIS. **IBAMA Instrução normativa n.º 31 de 31 de dezembro de 2002**. Dispõe sobre a suspensão temporária do deferimento de solicitações de criadouros comerciais para criação de répteis, anfíbios e invertebrados para produção de animais de estimação para a venda no mercado interno. Brasília. Diário Oficial da União - Seção 1, 16 de jul. de 2003;

INSTITUTO ADOLFO LUTZ – IAL. **Métodos físico-químicos para análise de alimentos**. São Paulo: Instituto Adolfo Lutz, 2008. 1020 p;

LÓPEZ, Carlos Humberto Hernández *et al.*. Crecimiento de juveniles de rana toro en estanques de flujo continuo de agua como alternativa de seguridad alimentaria de las comunidades pesqueras. **Revista IPSUMTEC**, v. 6, n. 4, p. 74-78, 2023;

MARCANTONIO, Adriana Sacioto *et al.* Biochemical analysis of bullfrog liver and blood: insights into growth and development. **Brazilian Journal of Animal and Environmental Research**, v. 7, n. 2, p. e69002-e69002, 2024;

MENG, Yuqiong *et al.* Effects of dietary lipid levels on the lipid deposition and metabolism of subadult triploid rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). **Aquaculture Nutrition**, v. 2022, n. 1, p. 6924835, 2022;

MILAN, Camile *et al.*. Sanitizer resistance of biofilm-forming *Salmonella* isolated from meat products. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 67, p. 642-646, 2015;

MIRANDA, Roseane Bertolin de *et al.*. Efeitos da suplementação de colágeno hidrolisado no envelhecimento da pele: uma revisão sistemática e metanálise - Dissertação de mestrado - **Universidade do Vale do Rio dos Sinos - UNISINOS**. 2020;

MOREIRA, Carla Renata; HENRIQUES, Marcelo Barbosa; FERREIRA, Cláudia Maris. Frog farms as proposed in agribusiness aquaculture: economic viability based in feed conversion. **Boletim do Instituto de Pesca**, v. 39, n. 4, p. 390-399, 2013.;

OGUNJI, Johnny *et al.*. Assessing effects of substituting dietary fish meal with boiled donkey and cow blood meal on growth performance and digestive enzyme activities of *Clarias*

gariepinus juvenile. **Journal of the World Aquaculture Society**, v. 51, n. 4, p. 1066-1079, 2020;

OLIVEIRA, Lívyia Alves *et al.*. Nutritional content, amino acid profile, and protein properties of edible insects (*Tenebrio molitor* and *Gryllus assimilis*) powders at different stages of development. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 125, p. 105804, 2024;

OMS. **Salmonella (non-typhoidal)**. OMS, 20 fev. 2018. Newsroom. Acessadp em 20 jan.2024. Online. Disponível em: [https://www.who.int/news-room/factsheets/detail/salmonella-\(non-typhoidal\)](https://www.who.int/news-room/factsheets/detail/salmonella-(non-typhoidal));

PAHOR-FILHO, Eduardo *et al.*. The most frequently bullfrog productive systems used in Brazilian aquaculture: A review. **Aquacultural Engineering**, v. 87, p. 102023, 2019;

PEREIRA, Marcelo Maia *et al.*. Tecido hepático e corpo adiposo de rã-touro (*Lithobates catesbeianus*) submetido a diferentes fotoperíodos. **Acta Veterinaria Brasilica**, v. 5, n. 1, p. 76-80, 2011;

PEREIRA, Marcelo Maia. Criação de rã-touro (*Aquarana catesbeiana*) em tanques de água adaptados do outono à primavera no estado do Rio de Janeiro. **Pesquisa, Sociedade e Desenvolvimento**, v. 12, n. 13, pág. e23121344106-e23121344106, 2023;

PERINA, Henrique Alipio et al. Extração e caracterização de óleo de vísceras de rã-touro (*Rana catesbeiana*). Dissertação de Mestrado - **Universidade Estadual do Oeste do Paraná**, 2016;

PIVATTO, Lisandra *et al.*. Controle e prevenção de contaminação por *Salmonella spp.* No processo de produção de Farinhas de origem animal de uma empresa do Rio Grande do Sul. **Revista Destaques Acadêmicos**, v. 12, n. 3, 2020;

PRESTES, Rosa Cristina. Colágeno e seus derivados: características e aplicações em produtos cárneos. **Journal of Health Sciences**, v. 15, n. 1, 2013;

RIBEIRO, Luisa Pinto *et al.*. An overview of the Brazilian frog farming. **Aquaculture**, v. 548, p. 737623, 2022;

RIBEIRO, Luisa P.; TOLEDO, Luís Felipe. Aprimoramento de políticas públicas sobre a ricultura brasileira. **Biota Neotropica**, v. 25, p. e20241687, 2025;

REIS, Gean Paulo Andrade *et al.*. Rearing and fattening of bullfrogs (*Lithobates catesbeianus*) in semi-flooded and flooded systems: productive performance and plasmatic biochemical and blood count responses. **Aquaculture**, v. 556, p. 738278, 2022;

REIS, Gean Paulo Andrade *et al.* Rearing American bullfrog tadpoles in different tank colors: Effect on metamorphosis, performance, and biochemistry responses. **Aquaculture**, p. 740994, 2024;

ROSA, Adriano Carlos Moraes *et al.*. Cadeia produtiva sustentabilidade na criação de rã-touro: estudo de um ranário na cidade de Guaratinguetá (SP) **Fateg**, 2022;

SABBAGH, Maroua *et al.*. Poultry by-product meal as an alternative to fish meal in the juvenile gilthead seabream (*Sparus aurata*) diet. **Aquaculture**, v. 511, p. 734220, 2019;

SANTOS, Elton Lima *et al.* Considerações sobre o manejo nutricional e alimentar de peixes carnívoros. **Revista Eletrônica Nutritime**, v. 10, n. 1, p. 2216-2255, 2013;

SANTOS, Thayná Kawana de Marchi dos *et al.*. Desenvolvimento de método alternativo e de suporte à decisão na avaliação de *Salmonella sp.* em farinhas de carnes e ossos bovinos utilizando espectroscopia NIR e carta de controle multivariada baseada na PCA. 2023. Dissertação de Mestrado. **Universidade Tecnológica Federal do Paraná**;

SCHWERTNER, Volnei *et al.*. Substituição da farinha de peixe por farinha de vísceras de aves na alimentação do piavuçu *Leporinus macrocephalus*. **Ciência Animal Brasileira**, v. 14, p. 318-322, 2013;

SCOPEL, Bruno Ricardo *et al.*. Substituição da farinha de peixe em dietas para camarões marinhos cultivados em sistema bioflocos. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 46, p. 928-934, 2011;

SINHORINI, Marcia Regina. Processo de produção de farinha de penas hidrolisadas: estudos de otimização do teor proteico e do valor de digestibilidade da proteína. 2013. Dissertação de Mestrado. **Universidade Tecnológica Federal do Paraná;**

STOCKHAUSEN, Larissa et al. Dieta prática com substituição total da farinha de peixe por farelo de soja para tilápia-do-nilo: desempenho de crescimento e efeitos na saúde. **Ciência Animal Brasileira**, v. 23, p. e71567, 2022;

SU, Fashun et al. Dietary phosphorus requirement of bullfrog *Lithobates* (Aquarana) catesbeiana. **Aquaculture**, p. 741094, 2024;

TANG, B. et al. Effect of replacing fish meal with meat and bone meal on growth, feed utilization and nitrogen and phosphorus excretion for juvenile *Pseudobagrus ussuriensis*. **Aquaculture nutrition**, v. 24, n. 2, p. 894-902, 2018;

TIRITAN, Maria Gabriela. Farinha de carne e ossos: uma revisão sobre parâmetros de qualidade. **Editora científica**, 2022;

UNIVERSIDADE FEDERAL DE VIÇOSA - UFV. Manual de utilização do programa SAEG (Sistema para Análise Estatísticas e Genéticas). **Viçosa, MG**: 1999. 59p;

WANG, Ling *et al.*. Total replacement of fish meal with soybean meal in diets for bullfrog (*Lithobates catesbeianus*): Effects on growth performance and gut microbial composition. **Aquaculture**, v. 524, p. 735236, 2020;

WANG, Zhe *et al.*. *Bacillus subtilis* LCBS1 supplementation and replacement of fish meal with fermented soybean meal in bullfrog (*Lithobates catesbeianus*) diets: Effects on growth performance, feed digestibility and gut health. **Aquaculture**, v. 545, p. 737217, 2021;

WILSON, Megan P. *et al.*. Mechanical properties of the hindlimb bones of bullfrogs and cane toads in bending and torsion. **The Anatomical Record: Advances in Integrative Anatomy and Evolutionary Biology: Advances in Integrative Anatomy and Evolutionary Biology**, v. 292, n. 7, p. 935-944, 2009;

XU, Wencheng et al. Heritability Estimates for Growth Traits and Correlation Analysis between Weight and Metamorphosis Rate in the Bullfrog Rana (*Aquarana*) catesbeiana. **Fishes**, v. 9, n. 3, p. 105, 2024;

ZHENG, Xiaoting et al. The Composition and Function of Intestinal Microbiota Were Altered in Farmed Bullfrog Tadpoles (*Aquarana catesbeiana*) during Metamorphosis. **Microorganisms**, v. 12, n. 10, p. 2020, 2024.