



UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAZONAS
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL
E RECURSOS PESQUEIROS



**FARINHA DESENGORDURADA E ÓLEO DE LARVAS DA MOSCA SOLDADO-
NEGRA (*Hermetia illucens*) COMO POTENCIAIS INGREDIENTES EM DIETAS
PARA TAMBAQUI**

LARISSA SALGADO DA CUNHA

Manaus – Amazonas

Março/2026

LARISSA SALGADO DA CUNHA

**FARINHA DESENGORDURADA E ÓLEO DE LARVAS DA MOSCA SOLDADO-
NEGRA (*Hermetia illucens*) COMO POTENCIAIS INGREDIENTES EM DIETAS
PARA TAMBAQUI**

Orientadora: Dra. Ligia Uribe Gonçalves

Coorientadora: Dra. Elizabeth Gusmão Affonso

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal e Recursos Pesqueiros da Universidade Federal do Amazonas como requisito final para obtenção do grau de Doutor em Ciência Animal e Recursos Pesqueiros, área de concentração Produção Animal.

Manaus - Amazonas

Março/2026

Ficha Catalográfica

Elaborada automaticamente de acordo com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

C972f Cunha, Larissa Salgado da

Farinha desengordurada e óleo de larvas da mosca soldado-negra (*Hermetia illucens*) como potenciais ingredientes em dietas para tambaqui / Larissa Salgado da Cunha. - 2026.

72 f.: il., color.; 31 cm.

Orientador(a): Ligia Uribe Gonçalves.

Coorientador(a): Elizabeth Gusmão Affonso.

Tese (doutorado) - Universidade Federal do Amazonas, Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal e Recursos Pesqueiros, Manaus, 2026.

1. *Colossoma macropomum*. 2. Ingrediente proteico. 3. Nutrição de peixes. 4. Óleo de inseto. 5. Perfil de ácidos graxos. I. Gonçalves, Ligia Uribe. II. Affonso, Elizabeth Gusmão. III. Universidade Federal do Amazonas. Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal e Recursos Pesqueiros. IV. Título

LARISSA SALGADO DA CUNHA

FARINHA DESENGORDURADA E ÓLEO DE LARVAS DA MOSCA SOLDADONEGRA (*Hermetia illucens*) COMO POTENCIAIS INGREDIENTES EM DIETAS PARA TAMBAQUI

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal e Recursos Pesqueiros da Universidade Federal do Amazonas, como requisito para a obtenção do grau de Doutor em Ciência Animal e Recursos Pesqueiros.

Aprovado em 27 de março de 2026.

BANCA EXAMINADORA

Documento assinado digitalmente
 **LIGIA URIBE GONCALVES**
Data: 08/04/2026 14:41:52-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Dra. Ligia Uribe Gonçalves – Presidente
Universidade de São Paulo

Documento assinado digitalmente
 **DRIELY KATHRINY MONTEIRO DOS SANTOS**
Data: 07/04/2026 18:13:27-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

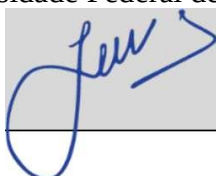
Dra. Driely Kathriny Monteiro dos Santos – Membro
Universidade do Federal do Amazonas

Documento assinado digitalmente
 **NOEDSON DE JESUS BELTRAO MACHADO**
Data: 07/04/2026 12:40:18-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Dr. Noedson de Jesus Beltrão Machado – Membro
Universidade do Federal do Amazonas

Documento assinado digitalmente
 **LUCIANA DE PAULA NAVES**
Data: 06/04/2026 19:25:27-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Dra. Luciana de Paula Naves Paula – Membro
Universidade Federal de Lavras



Dr. Fred William Chu Koo – Membro
Universidad Nacional Autónoma de Alto Amazonas

**Aos meus pais,
Antônio Sérgio e Neilza Salgado, que mesmo diante de
tantas dificuldades nunca permitiram que eu desistisse
dos meus objetivos e sempre acreditaram em mim.**

DEDICO

Agradecimentos

A Deus, por sempre me lembrar que jamais estive sozinha e por ter sido minha fortaleza nos momentos em que mais precisei.

À minha orientadora, Profa. Dra. Ligia Uribe, pela orientação, confiança, oportunidades concedidas e pelos ensinamentos compartilhados ao longo desta trajetória, contribuindo de forma significativa para o desenvolvimento deste trabalho e para a minha formação acadêmica e profissional.

À minha coorientadora, Profa. Dra. Elizabeth Gusmão, por disponibilizar o Laboratório de Fisiologia Aplicada à Piscicultura (LAFAP) para a realização de análises e por sua contribuição durante este período.

À Universidade Federal do Amazonas (UFAM) e ao Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal e Recursos Pesqueiros (PPGCARP), pela oportunidade de realizar este doutorado e por todo o suporte acadêmico oferecido a mim.

Ao Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia (INPA) e à Estação Experimental de Aquicultura da Coordenadoria de Tecnologia e Inovação (COTEI/INPA), pela disponibilização da infraestrutura necessária para a execução deste projeto. Agradeço também às funcionárias da estação, Dona Suzana e Dona Fatinha, pelo apoio, atenção e disponibilidade em ajudar sempre que necessário durante a realização deste trabalho.

À empresa Cyns, pela doação da farinha desengordurada e do óleo da larva da mosca soldado-negra utilizados neste estudo.

Ao projeto GIGAS, pela parceria, amparo e pelos momentos de aprendizado e convivência ao longo desta jornada. Agradeço a todos os integrantes do projeto: Ana Beatriz Sena, Ana Rebeca, André Nobre, Armando Prestes, Bruna Guia, Cláudia Epifânio, Driely Monteiro, Francisco Dantas, Giovana Mota, Helianay Layana, Manoel Pantoja, Thiago Santana e Viviann Leal.

Ao Prof. Dr. Fernando Yamamoto, pela oportunidade de realizar o doutorado sanduíche na Mississippi State University, no Catfish Nutrition Laboratory, bem como aos técnicos e alunos de pós-graduação do laboratório pela receptividade durante esse período.

Aos meus irmãos, Evandro Salgado, Dermison Salgado e Antônio Sérgio da Cunha Júnior, pelo encorajamento constante e apoio durante todos esses anos.

Aos amigos Rafaelle Cunha, Matheus Cruz, Sara Cardoso e Terezinha Souza, pela amizade, parceria e pelos momentos compartilhados durante esta etapa da minha vida.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Amazonas (FAPEAM), pela concessão da bolsa de doutorado, ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) (Processo nº 404977/2021-9), pelo financiamento desta pesquisa e à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela oportunidade de realização de parte do doutorado no exterior por meio do Programa de Doutorado Sanduíche no Exterior (PDSE).

RESUMO

Conforme a demanda por ingredientes sustentáveis aumenta a busca por redução da dependência de ingredientes tradicionais utilizados nas rações para a aquicultura. A presente tese teve como objetivo avaliar o potencial da farinha desengordurada e do óleo de larva da mosca soldado-negra (MSN, *Hermetia illucens*) em dietas para juvenis de tambaqui (*Colossoma macropomum*). O **capítulo I**, apresenta uma revisão bibliográfica sobre a utilização de insetos como ingredientes nas rações para a aquicultura com destaque para a MSN, abordando-se o potencial nutricional e a utilização dos coprodutos obtidos das larvas. O **capítulo II**, foram avaliados diferentes níveis de substituição do óleo de soja pelo óleo de larva da MSN em dietas para juvenis de tambaqui. A inclusão do óleo de larva da MSN não alterou o crescimento nem os índices somáticos entre os grupos experimentais, mantendo também os parâmetros hematológicos e bioquímicos dentro da normalidade para o tambaqui. Além disso, os peixes alimentados com as dietas contendo óleo de larva da MSN apresentaram níveis reduzidos de ácidos graxos poliinsaturados (PUFA) n-6, mantendo os níveis de PUFA n-3, resultando em um aumento na relação n-3/n-6. O **capítulo III**, foi avaliado o uso combinado da farinha desengordurada (30%) e óleo (3,8%) de larva da MSN em relação a duas dietas convencionais, uma 100% vegetal e outra com a inclusão de ingredientes de origem animal em dietas para juvenis de tambaqui. Os peixes alimentados com a dieta MSN mantiveram desempenho semelhante aos peixes alimentados com as dietas VEG e MIX, sem prejuízo ao crescimento. Contudo, houve aumento na retenção de energia, índice hepatossomático e colesterol total, indicando alterações no metabolismo lipídico. Além disso, o músculo dos peixes alimentados com a dieta MSN apresentaram maior concentração de ácidos graxos saturados e menor teor de ômega-3 e ômega-6, refletindo a composição da dieta, indicando a necessidade de ajustes nos substratos de criação das larvas para melhorar o valor nutracêutico dos filés.

Palavras-chave: *Colossoma macropomum*, ingrediente proteico, nutrição de peixes, óleo de inseto, perfil de ácidos graxos.

ABSTRACT

As the demand for sustainable ingredients increases, so does the need to reduce reliance on conventional components used in aquafeeds. This thesis aimed to evaluate the potential of defatted defatted larval meal and larval oil derived from black soldier fly (BSF, *Hermetia illucens*) in diets for juvenile tambaqui (*Colossoma macropomum*). **Chapter I** provides a literature review on the use of insects as aquafeed ingredients, with emphasis on black soldier fly larvae, highlighting their nutritional potential and the application of larval co-products. **Chapter II** evaluates different levels of soybean oil replacement with black soldier fly larval oil (BSFLO) in diets for juvenile tambaqui. The inclusion of BSFLO did not affect growth performance or somatic indices among the experimental groups and maintained hematological and biochemical parameters within normal ranges for the species. Fish fed BSFLO-based diets showed reduced levels of n-6 polyunsaturated fatty acids (PUFAs), while maintaining n-3 PUFA levels, resulting in an increased n-3/n-6 ratio. **Chapter III** assessed the combined inclusion of defatted larval meal (30%) and larval oil (3.8%) from BSF larvae compared with two conventional diets: one fully plant-based (VEG) and another including animal-derived ingredients (MIX), for juvenile tambaqui. Fish fed the BSF-based diet showed similar growth performance to those fed the VEG and MIX diets, indicating no impairment in growth. However, increased energy retention, hepatosomatic index, and total cholesterol levels were observed, suggesting alterations in lipid metabolism. Furthermore, the muscle of fish fed the BSF diet showed higher concentrations of saturated fatty acids and reduced levels of omega-3 and omega-6 fatty acids, reflecting the dietary composition. These findings indicate the need to optimize larval rearing substrates to enhance the nutraceutical quality of the fillets.

Keywords: *Colossoma macropomum*, fatty acid profile, fish nutrition, insect oil, protein ingredient.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Representação do ciclo de vida da mosca soldado-negra	13
--	----

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO I

Tabela 1. Desempenho zootécnico, saúde e perfil de ácidos graxos de peixes alimentados com inclusão, substituição parcial ou total de óleos convencionais por óleo de larva da MSN. 17

CAPÍTULO II

Table 1. Experimental feed formulations, proximate composition and fatty acids profile of tested ingredients and feed. 31

Table 2. Growth performance and condition index of tambaqui juveniles, *Colossoma macropomum*, fed diets with increasing substitution levels of soybean oil (SO) by black soldier fly larvae oil (BSFLO). 36

Table 3. Blood hematology of tambaqui juveniles, *Colossoma macropomum*, fed diets with increasing substitution levels of soybean oil (SO) by black soldier fly larvae oil (BSFLO). .. 37

Table 4. Plasma biochemical analysis of tambaqui juveniles, *Colossoma macropomum*, fed diets with increasing substitution levels of soybean oil (SO) by black soldier fly larvae oil (BSFLO). 38

Table 5. Fatty acid composition (% of total lipids) in muscle of tambaqui juveniles, *Colossoma macropomum*, fed diets with increasing substitution levels of soybean oil (SO) by black soldier fly larvae oil (BSFLO). 39

CAPÍTULO III

Tabela 1. Formulação das rações experimentais, composição centesimal e perfil de ácidos graxos dos ingredientes e dietas experimentais. 54

Tabela 2. Desempenho zootécnico e índices somáticos de juvenis de tambaquis, *Colossoma macropomum*, alimentados com as dietas experimentais. 59

Tabela 3. Parâmetros hematológicos de juvenis de tambaqui, *Colossoma macropomum*, alimentados com as dietas experimentais. 60

Tabela 4. Parâmetros bioquímicos plasmáticos de juvenis de tambaqui, *Colossoma macropomum*, alimentados com as dietas experimentais. 60

Tabela 5. Perfil de ácidos graxos (% do total de lipídios) no músculo de juvenis de tambaqui, *Colossoma macropomum*, alimentados com as dietas experimentais. 61

SUMÁRIO

CAPÍTULO I – INTRODUÇÃO, OBJETIVOS E REVISÃO DE LITERATURA	8
1. INTRODUÇÃO.....	8
2. OBJETIVOS	10
2.1. Objetivo Geral	10
2.2. Objetivos Específicos	10
3. REVISÃO DE LITERATURA	11
3.1 Insetos como ingredientes para rações	11
3.2 Mosca soldado-negra (<i>Hermetia illucens</i>).....	13
3.3 Farinha desengordurada de larvas da mosca soldado-negra na alimentação de peixes.....	14
3.4 Óleo de larvas da mosca soldado-negra na alimentação de peixes	16
3.5 Tambaqui (<i>Colossoma macropomum</i>).....	18
4. REFERÊNCIAS	20
This chapter is based on a manuscript submitted to Animal Feed Science and Technology...28	
CAPÍTULO II – BLACK SOLDIER FLY LARVAE OIL AS A REPLACEMENT FOR SOYBEAN OIL IN TAMBAQUI (<i>Colossoma macropomum</i>) FEEDS: GROWTH PERFORMANCE, HEALTH PARAMETERS AND MUSCLE FATTY ACID COMPOSITION.....	28
5. Introduction	30
6. Materials and methods.....	31
6.1 Experimental diets	31
6.2 Feeding trial.....	33
6.3 Physicochemical parameters of water	33
6.4 Growth performance.....	33
6.5 Condition index	34
6.6 Hematobiochemical parameters	34
6.7 Fatty acid composition	34
6.8 Statistical analysis	35
7. Results	36
7.1 Growth performance and condition index	36
7.2 Hematobiochemical parameters	37
7.3 Muscle fatty acid composition.....	39
8. Discussion.....	40
9. Conclusions	42
Acknowledgements	43
Author contributions.....	43
Funding.....	43

10. References	43
CAPÍTULO III - FARINHA DESENGORDURADA E ÓLEO DE LARVA DA MOSCA SOLDADO-NEGRA EM DIETAS PARA TAMBAQUI (<i>Colossoma macropomum</i>): DESEMPENHO ZOOTÉCNICO, PARÂMETROS DE SAÚDE E COMPOSIÇÃO DE ÁCIDOS GRAXOS DO MÚSCULO	51
11. Introdução	52
12. Material e métodos	53
12.1 Dietas experimentais	53
12.2 Teste de alimentação	55
12.3 Parâmetros de qualidade da água.....	55
12.4 Desempenho zootécnico	56
12.5 Índices somáticos.....	56
12.6 Parâmetros hematológicos e bioquímicos	57
12.7 Composição dos ácidos graxos no músculo	57
12.8 Análises estatísticas	58
13. Resultados.....	59
13.1 Desempenho zootécnico e índices somáticos.....	59
13.2 Parâmetros hematológicos e bioquímicos	59
13.3 Composição de ácidos graxos no músculo	61
14. Discussão	62
15. Conclusão	66
Financiamento	66
Agradecimentos.....	66
16. Referências bibliográficas	66

CAPÍTULO I – INTRODUÇÃO, OBJETIVOS E REVISÃO DE LITERATURA

1. INTRODUÇÃO

Diante da crescente preocupação com a futura escassez global de alimentos para consumo humano e animal, associada aos impactos ambientais, à competitividade e aos custos de ingredientes convencionais, os insetos surgem como alternativa viável às fontes proteicas e lipídicas tradicionais. Isso se deve à sua grande eficiência na conversão de resíduos orgânicos sólidos em nutrientes de alto valor, integrando-os nos princípios da economia circular, um modelo sustentável baseado na redução do desperdício e na eficiência no uso de recursos (Tepper *et al.*, 2024; Akowuah *et al.*, 2025).

Entre os insetos com potencial para a nutrição animal, destaca-se a larva da mosca soldado-negra – MSN (*Hermetia illucens*), amplamente conhecida como black soldier fly (BSF). Além de seus benefícios produtivos e ambientais, a farinha desengordurada de larva da MSN apresenta até 65% de proteína bruta, com perfil balanceado de aminoácidos essenciais, como leucina, lisina e valina. Já o óleo de larva da MSN, subproduto do desengorduramento da farinha, possui elevado teor de ácidos graxos saturados de cadeia média (AGCM), especialmente o ácido láurico (C12:0), bem como minerais como zinco, ferro e cobre (Ewald *et al.*, 2020; Lu *et al.*, 2022; Yadav *et al.*, 2025). Adicionalmente, a presença de compostos bioativos, como a quitina, com efeito prebiótico e o próprio C12:0, com atividade antimicrobiana, que podem contribuir para a melhoria da saúde dos peixes (Abdel-Ghany *et al.*, 2020; Akowuah *et al.*, 2025).

Quanto à nutrição de peixes, os produtos de larva da MSN foram avaliados por meio de diferentes estratégias alimentares, como a substituição de 25,5% do farelo de soja por farinha desengordurada de larva da MSN na dieta de carpa-capim (*Ctenopharyngodon idellus*, Lu *et al.*, 2020) e a inclusão de 30% de farinha desengordurada de larva da MSN na dieta de tambaqui (*Colossoma macropomum*, Dos Santos *et al.*, 2022). Quanto às fontes lipídicas, avaliou-se a substituição parcial de 41% do óleo de soja por óleo de larva da MSN em carpa-espelho (*Ciprinus carpio* var. *specularis*, Xu *et al.*, 2024) e a substituição de 50% do óleo de peixe por óleo de larva da MSN na alimentação de juvenis de bagre híbrido (*Ictalurus punctatus* × *I. furcatus*, Farias *et al.*, 2025). Em espécies carnívoras, como o salmão do atlântico (*Salmo salar*), a inclusão total de farinha desengordurada e óleo de larva da MSN atingiu 30% na dieta (Hender *et al.*, 2021).

Entre as espécies nativas, o tambaqui (*Colossoma macropomum*) é a espécie mais produzida no Brasil, devido às suas características produtivas e à boa adaptação a rações formuladas (Hilsdorf *et al.*, 2022). Alguns estudos desenvolvidos pelo nosso grupo de pesquisa já avaliaram diferentes produtos derivados de larva da MSN, como larvas inteiras, farinha integral e farinha desengordurada, na alimentação do tambaqui, substituindo a ração comercial ou a farinha de peixe, em diferentes níveis de inclusão. Em geral, os resultados demonstraram que esses ingredientes podem ser utilizados sem comprometer o desempenho zootécnico. Contudo, tais estudos foram realizados de forma independente, sem considerar estratégias combinadas de uso ou a substituição de fontes lipídicas vegetais.

Deste modo, o objetivo do presente estudo foi avaliar níveis de substituição do óleo de soja por óleo de larva da MSN e, em seguida, propor uma ração formulada utilizando o nível mais adequado de substituição do óleo e do uso de 30% de farinha desengordurada de larva da MSN, como definido em estudo anterior, visando expandir os conhecimentos sobre o uso combinado da fração proteica e lipídica derivadas das larvas de MSN na nutrição do tambaqui.

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivo Geral

Avaliar o potencial da farinha desengordurada e do óleo de larva da mosca soldado-negra (*Hermetia illucens*) como ingredientes potenciais em dietas para juvenis de tambaqui.

2.2. Objetivos Específicos

- Avaliar o desempenho zootécnico, índices biométricos, parâmetros hematológicos e bioquímicos e composição de ácidos graxos do músculo de juvenis de tambaquis alimentados com diferentes níveis de substituição do óleo de soja por óleo de larva da mosca soldado-negra.
- Avaliar o desempenho zootécnico e índices biométricos, parâmetros hematológicos e bioquímicos e composição de ácidos graxos do músculo de juvenis de tambaquis alimentados com farinha desengordurada e óleo de larva da mosca soldado-negra.

3. REVISÃO DE LITERATURA

3.1 Insetos como ingredientes para rações

O sistema alimentar global enfrenta pressões crescentes devido ao aumento populacional, às alterações climáticas, e ao declínio da disponibilidade de recursos naturais (Simane *et al.*, 2025). Nesse contexto, a aquicultura tem sido apontada como uma opção estratégica para atender ao aumento da demanda por proteína de origem animal. No entanto, a expansão da aquicultura ainda depende da disponibilidade de ingredientes para a formulação de ração, muitos dos quais apresentam disponibilidade restrita ou elevado impacto ambiental, tornando-se um obstáculo ao desenvolvimento sustentável da atividade.

A soja, por exemplo, é amplamente utilizada em rações aquícolas devido ao alto teor proteico e à disponibilidade no mercado (Dai *et al.*, 2022). Entretanto, seu cultivo em larga escala está associado a problemas ambientais, como desmatamento, elevado consumo de água e emissão de gases de efeito estufa, além da competição direta entre a produção de ração animal e a produção de alimentos destinados ao consumo humano (Van Riel *et al.*, 2023; Lucić *et al.*, 2025).

Diante da preocupação com a disponibilidade e a sustentabilidade ambiental dos ingredientes utilizados na produção de ração aquícola, há o crescente interesse na utilização de insetos como uma alternativa sustentável aos ingredientes convencionais (Tepper *et al.*, 2024). A produção de insetos é considerada ecossustentável, pois requer menos recursos naturais, como terra e água. Além disso, os insetos são capazes de consumir resíduos orgânicos e convertê-los em biomassa animal nutritiva, com teor de proteína variando entre 25 e 75% (Oonincx e Finke, 2021) e de gordura entre 8 e 36% (Van Huis, 2020). Assim, a produção de insetos oferece uma solução alinhada à bioeconomia circular, promovendo a valorização de resíduos orgânicos e a produção de ingredientes nutritivos, o que contribui para o desenvolvimento sustentável da aquicultura (Rodrigues *et al.*, 2022).

De acordo com o relatório Future Market Insights Global (Fmi, 2025), o mercado de ingredientes à base de insetos atingiu um valor estimado de US\$ 2,1 bilhões em 2025, com projeção de alcançar US\$ 5 bilhões em 2035. Contudo, a utilização de insetos como ingrediente na ração animal ainda enfrenta alguns desafios que restringem a sua adesão em larga escala. O custo de produção em larga escala ainda é alto, o que reduz a competitividade em relação a outros ingredientes. Assim, apesar de os insetos possuírem

resultados promissores para a nutrição animal, eles só poderão alcançar uma posição de maior representatividade como fontes de proteína e lipídios quando os processos de criação, colheita e processamento se tornarem economicamente viáveis (Rumbos *et al.*, 2021).

Outro fator determinante para a consolidação desse mercado é a regulamentação quanto ao uso de resíduos como substratos na produção de larvas. Nos Estados Unidos e na União Europeia, por exemplo, é permitida a utilização de resíduos vegetais e de frutas, enquanto resíduos de origem animal, esterco e restos de cozinha são proibidos (Akowuah *et al.*, 2025; Fuso *et al.*, 2021).

No Brasil, o Ofício-Circular N°33/2023/CGI/DIPOA/SDA/MAPA define critérios para a utilização de substratos na criação de insetos para a utilização na alimentação animal. Entre os substratos permitidos estão os subprodutos processados de origem animal destinados anteriormente à utilização na alimentação humana como derivados de sangue, proteínas hidrolisadas, gelatina, colágeno, ovos e derivados de ovos, leite e derivados lácteos, mel e gorduras fundidas. Também estão permitidos resíduos de alimentos destinados à utilização na alimentação humana, incluindo os com data de validade vencida ou devolvidos do comércio, quando provenientes de estabelecimentos registrados, subprodutos vegetais de indústria alimentícia, coprodutos e farinhas de origem animal processados e alimentos secos para cães e gatos. Por outro lado, estão proibidos os resíduos que ofereçam riscos sanitários, como resíduos de refeições e de mesa, chorume, fezes e resíduos crus de origem animal (Brasil, 2023).

Além dos aspectos regulatórios, a aceitação do consumidor constitui um outro obstáculo para a aceitação geral dos produtos da aquicultura alimentados com insetos. Barreiras culturais, segurança alimentar, percepção de qualidade do produto, bem como o preço do produto, podem influenciar diretamente esse processo (Akowuah *et al.*, 2025).

Em termos legais, a União Europeia legalizou no ano de 2017, o uso de sete espécies de insetos nas rações de organismos aquáticos (Regulamento n° 2017/893), sendo esses insetos: grilos (*Acheta domesticus*, *Gryllodes sigillatus* e *Gryllus assimilis*), tenébrio-comum (*Tenebrio molitor*), cascudinho (*Alphitobius diaperinus*), mosca doméstica (*Musca domestica*) e mosca soldado-negra (*Hermetia illucens*) (Gasco *et al.*, 2023).

No Brasil, a Instrução Normativa n° 110/2020 do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) permite a utilização de espécies específicas consideradas promissoras para a produção em escala na forma de farinha e óleo, sendo

elas: mosca-soldado-negra (*Hermetia illucens*), besouro-da-farinha (*Tenebrio molitor*), cascudinho (*Alphitobius diaperinus*), mosca-doméstica (*Musca domestica*), super-bicho (*Zophobas atratus*) e grilos-domésticos (*Acheta domesticus* e *Gryllus assimilis*), destinados à alimentação de aves, suínos e peixes (Brasil, 2020).

3.2 Mosca soldado-negra (*Hermetia illucens*)

Dentre os insetos com potencial para uso na nutrição animal, destaca-se a mosca soldado-negra (MSN) ou em inglês Black soldier fly (BSF), que tem recebido cada vez mais atenção como sendo uma alternativa promissora para a utilização em rações aquícolas (Shati *et al.*, 2022; Munguti *et al.*, 2025). O ciclo de vida da MSN compreende as fases de ovo, larva, pré-pupa, pupa e adulto (Figura 1). A duração total do ciclo de vida da MSN varia em função das condições ambientais, especialmente temperatura e a disponibilidade de alimentos. Este ciclo pode ocorrer em aproximadamente 40 a 45 dias em condições favoráveis (Body *et al.*, 2020; Mohan *et al.*, 2022).



Figura 1. Representação do ciclo de vida da mosca soldado-negra

Fonte: Adaptado de Smet *et al.*, 2018

Na fase adulta, a MSN não se alimenta, pois apresenta aparelho bucal reduzido e sobrevive apenas de suas reservas energéticas acumuladas durante a fase larval. Essa característica reduz a sua interação com os substratos contaminados e, consequentemente, o potencial de transmissão de patógenos em ambiente doméstico (Diener *et al.*, 2011; Da

Silva e Hesselberg, 2019). Já a fase larval é de interesse industrial, pois é nessa fase que as larvas se alimentam vorazmente transformando resíduos orgânicos sólidos em biomassa animal rica em nutrientes. Em função do substrato, as larvas podem apresentar 27,5 a 43,9% de proteína bruta e 30% de lipídios, com perfil de aminoácidos balanceado e elevado teor de ácidos graxos de cadeia média. Essas características tornam a produção da MSN atraente do ponto de vista nutricional e de eficiência de conversão de resíduos orgânicos (Nairuti *et al.*, 2021; Mertenat *et al.*, 2019).

Além dos nutrientes, as larvas contêm compostos bioativos importantes, como a quitina e o C12:0. A quitina é um polímero aminopolissacarídeo estrutural que tem ação imunoestimulante e é capaz de regular a microbiota intestinal. No entanto, em níveis altos, pode reduzir a digestibilidade da dieta em algumas espécies pela ausência de atividade quitinolítica, o que interfere na utilização efetiva dos nutrientes (Akowuah *et al.*, 2025). Já o C12:0 é o precursor da monolaurina (GML), um composto bioativo com ação antimicrobiana reconhecida. A GML exerce ação lítica sobre a membrana celular bacteriana, comprometendo sua integridade estrutural e podendo resultar em efeitos bacteriostáticos ou bactericidas (Abdel-Ghany *et al.*, 2020).

Quanto aos produtos derivados de larva da MSN, estes incluem a larva íntegra, a farinha integral, a farinha desengordurada, o óleo da larva, a exúvia ou o exoesqueleto da larva, o frass (resíduo composto por excretas do cultivo e fragmentos do exoesqueleto da larva) e a quitina isolada. Nos próximos itens desta revisão, o foco será direcionado especialmente para a farinha desengordurada e o óleo de larva da MSN, devido a sua maior aplicabilidade em ração aquícola, sem desconsiderar o potencial dos demais coprodutos.

3.3 Farinha desengordurada de larvas da mosca soldado-negra na alimentação de peixes

A farinha desengordurada de larvas da MSN é extraída das larvas por meio da remoção parcial ou total da fração lipídica por prensagem mecânica a frio ou a quente, ou por meio do uso de solventes orgânicos (Fasakin *et al.*, 2003; Kroeckel *et al.*, 2012). A farinha desengordurada pode apresentar teor proteico de até 65,5% na matéria seca e aminoácidos essenciais contendo leucina, lisina e valina na proporção superior à do farelo de soja, sendo que o teor de valina pode inclusive ultrapassar o da farinha de peixe (Lu *et al.*, 2022). Entre os aminoácidos a leucina e valina, aminoácidos de cadeia ramificada, estão relacionados à síntese proteica muscular e ao suporte do metabolismo energético, contribuindo para o crescimento somático. A lisina, muitas vezes limitante nos

ingredientes vegetais, está relacionada à retenção proteica e à eficiência alimentar. Metionina e triptofano por sua vez, ocorrem em menores concentrações em relação aos da farinha de peixe. A metionina participa da síntese proteica e de reações de metilação, enquanto o triptofano, precursor da serotonina e melatonina, está envolvido nos processos produtivos. Dessa forma, níveis elevados de inclusão da farinha desengordurada de larva da MSN podem exigir balanceamento dos aminoácidos nas formulações das dietas para peixes (Nrc, 2011; Lu *et al.*, 2022; Yadav *et al.*, 2025).

Nesse sentido, o desengorduramento de larvas da MSN é benéfico para a indústria, principalmente porque permite maiores níveis de inclusão desse ingrediente na dieta, em razão da redução da fração lipídica. Além disso, ajuda a minimizar o desequilíbrio nos ácidos graxos, padroniza o teor proteico, evita efeitos fisiológicos indesejados nos peixes e melhora a estabilidade e a vida de prateleira do ingrediente (Zarantonello *et al.*, 2019).

Em peixes onívoros de água doce, diferentes níveis de inclusão e substituição de farinha desengordurada de larvas da MSN já foram avaliados. Para carpa-capim (*Ctenopharyngodon idellus*), a substituição total do farelo de soja por farinha desengordurada de larvas da MSN (equivalente a 25,5% de inclusão na dieta) manteve o desempenho zootécnico e os parâmetros bioquímicos (Lu *et al.*, 2020). Para a mesma espécie, Hu *et al.* (2023) avaliaram diferentes níveis de substituição do farelo de soja por farinha desengordurada de larvas da MSN, observando que a substituição de até 60% (13,6% de inclusão na dieta) não afetou o desempenho zootécnico, enquanto a substituição total (22,7% de inclusão) promoveu melhoria na composição de ácidos graxos musculares, com maior deposição de ácido eicosapentaenoico (EPA, C20:5n-3), ácido docosahexaenoico (DHA, 22:6n-3) e ômega-3. No tambaqui (*Colossoma macropomum*), níveis de inclusão de até 30% de farinha desengordurada de larvas da MSN na dieta podem ser utilizados sem efeitos negativos sobre crescimento e parâmetros hematológicos (Dos Santos *et al.*, 2022).

De maneira similar às espécies onívoras, estudos foram realizados utilizando espécies carnívoras de água doce. Para o pirarucu (*Arapaima gigas*), a substituição de até 70% da farinha de peixe por farinha desengordurada de larvas da MSN foi estimada como ideal para ganho de peso, sem comprometer as variáveis de crescimento, hematológicas e bioquímicas (Gonçalves *et al.*, 2025). Assim, a farinha desengordurada de larvas da MSN é uma alternativa promissora às fontes proteicas convencionais utilizadas em rações aquícolas.

3.4 Óleo de larvas da mosca soldado-negra na alimentação de peixes

Durante a produção da farinha desengordurada de larvas da MSN, obtém-se como coproduto o óleo de larvas, que pode ser utilizado como fonte energética e de ácidos graxos na nutrição animal (Li *et al.*, 2016; Fawole *et al.*, 2021). A composição desse óleo pode variar conforme o substrato utilizado na criação das larvas, mas geralmente apresenta entre 58 e 72% de ácidos graxos saturados de cadeia média, com destaque para o C12:0, que pode representar até 52% da fração lipídica, conferindo um perfil de ácidos graxos semelhante ao do óleo de coco (Ewald *et al.*, 2020).

O C12:0, por ser um ácido de cadeia média, apresenta metabolismo diferente em relação aos ácidos graxos de cadeia longa. Uma vez absorvido pelo intestino, o C12:0 é direcionado imediatamente pela veia porta para o fígado, sem a necessidade de ser incorporado nos quilomícrons. Além disso, a sua entrada na mitocôndria para a β -oxidação é mais eficiente e independente do sistema carnitina, o que permite a rápida oxidação e produção de energia. Em contrapartida, os ácidos graxos de cadeia longa possuem um metabolismo diferente, pois o transporte é feito pelo sistema linfático e depende do sistema carnitina para a oxidação mitocondrial, o que faz com que o aproveitamento energético seja mais lento e aumente a probabilidade de deposição lipídica (Dayrit, 2014).

Na aquicultura, os óleos vegetais como o de soja têm sido amplamente utilizados como substituto do óleo de peixe (Nogales-Mérida *et al.*, 2017; Liu *et al.*, 2022). No entanto, devido ao elevado teor de ácido linoleico (LA, C18:2 n-6) presente no ingrediente, há um aumento do nível de ômega-6, resultando em um desequilíbrio da relação n-3/n-6, o que pode induzir processos inflamatórios nos peixes e nas pessoas que consumam a carne do animal (González-Félix *et al.*, 2016; Chen *et al.*, 2020; Mu *et al.*, 2018). O óleo de larva da MSN, embora não apresente esse problema, possui um baixo teor de ácidos graxos poliinsaturados de cadeia longa, como EPA e DHA com valores relatados na literatura variando entre 0,03 e 2,3% (Oonincx *et al.*, 2015; Hossain *et al.*, 2023).

Para contornar essa limitação, estudos têm explorado o enriquecimento do substrato larval com fontes ricas em ômega-3. Xu *et al.* (2021) constataram um aumento expressivo nos níveis de ômega-3 no músculo da carpa-espelho (*Cyprinus carpio* var. *specularis*) alimentada com dietas contendo óleo de larva da MSN a partir de resíduos de *Schizochytrium* sp.. Já Moutinho *et al.* (2024) demonstraram que, em dourada (*Sparus aurata*), a substituição total da mistura de óleos vegetais (canola, palma e linhaça) por

óleo de larva da MSN é viável, desde que se mantenha um mínimo de óleo de peixe (3,1%) para garantir níveis adequados de EPA e DHA no músculo.

No entanto, essa limitação parece ser menor em peixes de água doce, pois espécies como tambaqui (*Colossoma macropomum*) e pacu (*Piaractus mesopotamicus*) têm a capacidade de alongar e dessaturar precursores como o ácido linolênico (LNA, 18:3n-3), e assim produzir EPA e DHA de forma endógena e reduzir a dependência desses ácidos graxos na dieta (Sargent *et al.*, 2003; Pereira *et al.*, 2018; Gonçalves *et al.*, 2021).

Vários estudos têm avaliado a substituição parcial ou total de óleos convencionais por óleo de larva da MSN em dietas de peixes, incluindo diferentes espécies, níveis de inclusão ou substituição, bem como efeitos sobre o desempenho, parâmetros de saúde e mudanças na composição de ácidos graxos (Tabela 1).

Tabela 1. Desempenho zootécnico, saúde e perfil de ácidos graxos de peixes alimentados com inclusão, substituição parcial ou total de óleos convencionais por óleo de larva da MSN.

Espécie	Substituição/inclusão	Resultados principais	Referência
<i>Cyprinus carpio</i> var. jian	Substituição de 100% do OS (2,5%).	Não afeta o crescimento nem a saúde, mas melhora a qualidade nutricional do filé, aumentando a concentração de AGSCM e o perfil de ômega-3.	Li <i>et al.</i> , 2016
<i>Cyprinus carpio</i> var. specularis	Inclusão de 2,5% de OLMSN.	Benéfico para o crescimento (peso final e ganho de peso) e não houve efeitos negativos na saúde.	Xu <i>et al.</i> , 2020
<i>Sparus aurata</i>	Substituição total de misturas de OV (3,11% OP, 0% OV e 9.5% OLMSN)	Melhora a eficiência alimentar, indicando maior aproveitamento da ração.	Moutinho <i>et al.</i> , 2023
<i>Ciprinus carpio</i> var. specularis	Substituição parcial (41%) do OS (2,5% OLMSN + 3,5% OS).	Melhora o crescimento, reduz a gordura hepática e eleva a qualidade do filé,	Xu <i>et al.</i> , 2024

		com mais DHA e melhor perfil de ômega-3.	
<i>Micropterus salmoides</i>	Substituição de 20% do OP e OS (3,2% OP, 1,6% OS e 1,2% OLMSN).	Não afeta o crescimento nem a saúde, mantendo o nível de ômega-3 (EPA e DHA) no filé semelhante ao controle.	Yuan <i>et al.</i> , 2024
<i>Ictalurus punctatus x i. furcatus</i>	Substituição de 50% do OP (1,95% OP + 1,95% OLMSN),	Não afeta o crescimento nem a saúde, mas estimula a síntese endógena do LNA em EPA e DHA nos peixes alimentados com dietas acima de 50% de substituição.	Farias <i>et al.</i> , 2025

Abreviações: AGSCM: ácido graxo saturado de cadeia média, OLMSN: óleo de larva da mosca soldado-negra, OS: óleo de soja, OP: óleo de peixe, OV: óleo vegetal, LNA: ácido linolênico, EPA: ácido eicosapentaenoico, DHA: ácido docosahexaenóico.

3.5 Tambaqui (*Colossoma macropomum*)

O tambaqui, nativo das bacias Amazônica e Orinoco, é a espécie nativa mais produzida da América do Sul e no Brasil é responsável por 26,71% da produção aquícola em 2024 (258.705 toneladas) (Peixe Br, 2025). Na região norte do país, especialmente a cidade de Manaus, é o peixe mais consumido pela população com uma média anual de 26 kg por habitante, totalizando 60 mil toneladas ao ano (Araújo, 2020; Padovani *et al.*, 2022). Seu hábito alimentar onívoro, a sua capacidade de se adaptar a rações formuladas e o seu rápido crescimento o tornam uma espécie estratégica para a piscicultura no estado (Hilsdorf *et al.*, 2022).

Apesar do potencial de produção, a atividade aquícola no Amazonas enfrenta altos custos de produção, principalmente no que se refere ao custo de ração, que é onerado devido ao custo logístico do transporte das matérias-primas provenientes das outras regiões do Brasil (Passos, 2013; Lima *et al.*, 2020). Desse modo, a produção de larvas da MSN surge como uma alternativa promissora, visando a oferta de proteínas e lipídios para a formulação de rações, ao mesmo tempo em que contribui para a reciclagem de resíduos orgânicos e para a sustentabilidade ambiental.

Alguns trabalhos realizados por nosso grupo de pesquisa já investigaram as diferentes possibilidades de utilização de larvas da MSN na alimentação do tambaqui como a substituição de 50% da ração comercial por larvas inteiras da MSN (Ordonez *et al.*, 2022), a inclusão de até 15,75% da farinha integral de larva da MSN e até 30% da farinha desengordurada de larva da MSN (Dos Santos *et al.*, 2022, 2023), bem como a substituição da farinha de peixe de água doce por farinha desengordurada de larva da MSN combinada a subprodutos da mandioca (resíduos de tubérculo, casca e folha) (De Matos Dantas *et al.*, 2024), sem comprometer o desempenho zootécnico da espécie. Esses estudos mostraram a viabilidade nutricional e produtiva do ingrediente, porém de forma independente, avaliando apenas a fração proteica de larvas da MSN.

Dando continuidade a essa linha de pesquisa, o presente trabalho propõe avaliar a substituição do óleo de soja por óleo de larva da MSN e a combinação entre farinha desengordurada e do óleo de larva da MSN em dietas para juvenis de tambaqui. Essa abordagem permite investigar simultaneamente as frações lipídicas e proteica do inseto, ampliando o entendimento sobre seus efeitos no desempenho zootécnico, na saúde dos peixes e na qualidade do filé, além de reforçar o potencial desses ingredientes como alternativa para a aquicultura na Amazônia.

4. REFERÊNCIAS

ABDEL-GHANY, H. M.; SALEM, M. E. S. Effects of dietary chitosan supplementation on farmed fish: **Reviews in Aquaculture**, v. 12, n. 1, p. 438-452, 2020.

Agropecuária. **Instrução Normativa nº 110, de 24 de novembro de 2020**. Estabelece as listas de matérias-primas aprovadas como ingredientes e aditivos para uso na alimentação animal. Brasília, DF: MAPA, 2020. Disponível em: <https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/insumos-agropecuarios/insumos-pecuarios/alimentacao-animal/legislacao-alimentacao-animal>. Acesso em: 02 fev. 2026.

AKOWUAH, C. F.; PAN, Y.; SHI, Z.; LIU, X.; HE, R.; LÜ, P. Revolutionizing Aquaculture Feeds: Insights into Black Soldier Fly Utilization. **Aquacultural Engineering**, v. 102, 102612, 2025.

ARAÚJO, H. D. S. **Sorgo sem tanino em dietas de juvenis de tambaqui**. 2020. 42 f. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) – Universidade Federal do Amazonas, Manaus, 2020.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DA PISCICULTURA. **Anuário Peixe BR da Piscicultura Brasileira**. São Paulo: Peixe BR, 2025. 136 p. Disponível em: Acesso em: 25 jun. 2025.

BOYD, C. E.; D'ABRAMO, L. R.; GLENCROSS, B. D.; HUYBEN, D. C.; JUAREZ, L. M.; LOCKWOOD, G. S.; VALENTI, W. C. Achieving sustainable aquaculture: Historical and current perspectives and future needs and challenges. **Journal of the World Aquaculture Society**, v. 51, n. 3, p. 578-633, 2020.

BRASIL. Ministério da Agricultura e Pecuária. Secretaria de Defesa Agropecuária. Departamento de Inspeção de Produtos de Origem Animal. **Ofício-Circular nº 33/2023/CGI/DIPOA/SDA/MAPA**: Procedimentos de registro, fiscalização, rotulagem e trânsito de produtos à base de insetos para alimentação animal. Brasília, DF: MAPA, 7 jul. 2023. Disponível em: <https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/insumos-agropecuarios/insumos-pecuarios/alimentacao-animal>. Acesso em: 02 fev. 2026.

CHEN, Y.; SUN, Z.; LIANG, Z.; XIE, Y.; SU, J.; LUO, Q.; WANG, A. Effects of dietary fish oil replacement by soybean oil and L-carnitine supplementation on growth performance, fatty acid composition, lipid metabolism and liver health of juvenile largemouth bass, *Micropterus salmoides*. **Aquaculture**, v. 516, 734596, 2020.

DA SILVA, G. D. P.; HESSELBERG, T. A review of the use of black soldier fly larvae, *Hermetia illucens* (Diptera: Stratiomyidae), to compost organic waste in tropical regions. **Neotropical Entomology**, v. 49, n. 2, p. 151-162, 2019.

DAI, C.; HOU, Y.; XU, H.; HUANG, L.; DABBOUR, M.; MINTAH, B. K.; MA, H. Effect of solid-state fermentation by three different *Bacillus* species on composition and protein structure of soybean meal. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 102, n. 2, p. 557-566, 2022.

DAYRIT, F. M. Lauric acid is a medium-chain fatty acid, coconut oil is a medium-chain triglyceride. **Philippine Journal of Science**, v. 143, n. 2, p. 157-166, 2014.

DE MATOS DANTAS, F.; DE SOUZA, Y. M.; SANTANA, T. M.; DOS SANTOS, D. K. M.; DA FONSECA, F. A. L.; GONÇALVES, L. U. A Sustainable Diet for Tambaqui Farming in the Amazon: Growth Performance, Hematological Parameters, Whole-Body Composition and Fillet Color. **Animals**, v. 14, n. 8, 1165, 2024.

DIENER, S.; ZURBRÜGG, C.; GUTIÉRREZ, F. R.; NGUYEN, D. H.; MOREL, A.; KOOTTATEP, T.; TOCKNER, K. Black soldier fly larvae for organic waste treatment-prospects and constraints. **Proceedings of the WasteSafe**, v. 2, p. 13-15, 2011.

DOS SANTOS, D. K. M.; FREITAS, O. R.; OISHI, C. A.; DA FONSECA, F. A. L.; PARISI, G.; GONÇALVES, L. U. Full-Fat Black Soldier Fly Larvae Meal in Diet for Tambaqui, *Colossoma macropomum*: Digestibility, Growth Performance and Economic Analysis of Feeds. **Animals**, v. 13, n. 3, p. 360, 2023.

DOS SANTOS, D. K. M.; SANTANA, T. M.; DANTAS, F. M.; SENA FARIAS, A. B.; EPIFÂNIO, C. M. F.; PRESTES, A. G.; FONSECA, F. A. L.; PARISI, G.; VIEGAS, E. M. M.; GONÇALVES, L. U. Defatted black soldier fly larvae meal as a dietary ingredient for tambaqui (*Colossoma macropomum*): Digestibility, growth performance, haematological parameters, and carcass composition. **Aquaculture Research**, v. 53, n. 18, p. 6762-6770, 2022.

EWALD, N.; VIDA KOVIC, A.; LANGELAND, M.; KIESSLING, A.; SAMPELS, S.; LALANDER, C. Fatty acid composition of black soldier fly larvae (*Hermetia illucens*)—Possibilities and limitations for modification through diet. **Waste Management**, v. 102, p. 40-47, 2020.

FARIAS, A. B. D. S.; SANTANA, T. M.; OLDER, C. E.; HUANG, J.; JORDAN, H. R.; AFFONSO, E. G.; GONÇALVES, L. U. Black soldier fly larvae oil as a potential nutraceutical

ingredient in diets for hybrid catfish *Ictalurus punctatus* × *I. furcatus* juveniles. **Aquaculture**, 742697, 2025.

FASAKIN, E. A.; BALOGUN, A. M.; AJAYI, O. O. Evaluation of full-fat and defatted maggot meals in the feeding of clariid catfish *Clarias gariepinus* fingerlings. **Aquaculture Research**, v. 34, n. 9, p. 733-738, 2003.

FAWOLE, F. J.; LABH, S. N.; HOSSAIN, M. S.; OVERTURE, K.; SMALL, B. C.; WELKER, T. L.; KUMAR, V. Insect (black soldier fly larvae) oil as a potential substitute for fish or soy oil in the fish meal-based diet of juvenile rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). **Animal Nutrition**, v. 7, n. 4, p. 1360-1370, 2021.

FUSO, A.; BARBI, S.; MACAVEI, L. I.; LUPARELLI, A. V.; MAISTRELLO, L.; MONTORSI, M.; CALIGIANI, A. Effect of the rearing substrate on total protein and amino acid composition in black soldier fly. **Foods**, v. 10, n. 8, 1773, 2021.

FUTURE MARKET INSIGHTS (FMI). **Report sample rep-gb-11604**. 2023. Disponível em: <https://www.futuremarketinsights.com/reports/sample/rep-gb-11604>. Acesso em: 25 jan. 2024.

GASCO, L.; RENNA, M.; BELLEZZA ODDON, S.; REZAEI FAR, A.; NASER EL DEEN, S.; VELDKAMP, T. Insect meals in a circular economy and applications in monogastric diets. **Animal Frontiers**, v. 13, n. 4, p. 81-90, 2023.

GONÇALVES, L. U.; CORTEGANO, C. A. A.; BARONE, R. S. C.; LORENZ, E. K.; CYRINO, J. E. P. Effects of dietary linolenic acid to linolenic acid ratio on growth performance, proximate composition and fatty acids contents of pacu (*Piaractus mesopotamicus*). **Aquaculture Research**, p. 1-11, 2021.

GONÇALVES, L. U.; OLIVEIRA, J. B.; MATOS DANTAS, F.; YAMAMOTO, F. Y.; SANTOS, D. K. M. Defatted black soldier fly meal in diets for juvenile pirarucu, *Arapaima gigas*: Digestibility, growth performance and health parameters. **Aquaculture**, v. 598, 742071, 2025.

GONZÁLEZ-FÉLIX, M. L.; MALDONADO-OTHÓN, C. A.; PEREZ-VELAZQUEZ, M. Effect of dietary lipid level and replacement of fish oil by soybean oil in compound feeds for the shortfin corvina (*Cynoscion parvipinnis*). **Aquaculture**, v. 454, p. 217-228, 2016.

HENDER, A.; SIDDIK, M. A.; HOWIESON, J.; FOTEDAR, R. Black soldier fly, *Hermetia illucens* as an alternative to fishmeal protein and fish oil: impact on growth, immune

response, mucosal barrier status, and flesh quality of juvenile barramundi, *Lates calcarifer* (Bloch, 1790). **Biology**, v. 10, n. 6, 505, 2021.

HILSDORF, A. W. S.; HALLERMAN, E.; VALLADÃO, G. M. R.; ZAMINHAN-HASSEMER, M.; HASHIMOTO, D. T.; DAIRIKI, J. K.; CYRINO, J. E. P. The farming and husbandry of *Colossoma macropomum*: From Amazonian waters to sustainable production. **Reviews in Aquaculture**, v. 14, n. 2, p. 993-1027, 2022.

HOSSAIN, M. S.; SMALL, B. C.; HARDY, R. Insect lipid in fish nutrition: Recent knowledge and future application in aquaculture. **Reviews in Aquaculture**, v. 15, n. 4, p. 1664-1685, 2023.

HU, Z.; LI, H.; LIU, S.; XUE, R.; SUN, J.; JI, H. Assessment of black soldier fly (*Hermetia illucens*) larvae meal as a potential substitute for soybean meal on growth performance and flesh quality of grass carp *Ctenopharyngodon idellus*. **Animal Nutrition**, v. 14, p. 425-449, 2023.

KROECKEL, S.; HARJES, A. G.; ROTH, I.; KATZ, H.; WUERTZ, S.; SUSENBETH, A.; SCHULZ, C. When a turbot catches a fly: Evaluation of a pre-pupae meal of the Black Soldier Fly (*Hermetia illucens*) as fish meal substitute—Growth performance and chitin degradation in juvenile turbot (*Psetta maxima*). **Aquaculture**, v. 364, p. 345-352, 2012.

LI, S.; JI, H.; ZHANG, B.; TIAN, J.; ZHO J.; YU, H. Influence of black soldier fly (*Hermetia illucens*) larvae oil on growth performance, body composition, tissue fatty acid composition and lipid deposition in juvenile Jian carp (*Cyprinus carpio* var. Jian). **Aquaculture**, v. 465, p. 43-52, 2016.

LIMA, C. A. S.; MACHADO BUSSONS, M. R. F.; DE OLIVEIRA, A. T.; ARIDE, P. H. R.; ALMEIDA-O’SULLIVAN, F. L.; PANTOJA-LIMA, J. Socioeconomic and profitability analysis of tambaqui, *Colossoma macropomum*, fish farming in the state of Amazonas, Brazil. **Aquaculture Economics & Management**, v. 24, n. 1, p. 1–16, 2020.

LIU, Y.; YAN, Y.; HAN, Z.; ZHENG, Y.; WANG, X.; ZHANG, M.; CHENG, H. Comparative effects of dietary soybean oil and fish oil on the growth performance, fatty acid composition and lipid metabolic signaling of grass carp, *Ctenopharyngodon idella*. **Aquaculture Reports**, v. 22, 101002, 2022.

LU, R.; CHEN, Y.; YU, W.; LIN, M.; YANG, G.; QIN, C.; NIE, G. Defatted black soldier fly (*Hermetia illucens*) larvae meal can replace soybean meal in juvenile grass carp (*Ctenopharyngodon idellus*) diets. **Aquaculture Reports**, v. 18, 100520, 2020.

LU, S.; TAETHAISONG, N.; MEETHIP, W.; SURAKHUNTHOD, J.; SINPRU, B.; SROICHAK, T.; PAENGKOUM, P. Nutritional composition of black soldier fly larvae (*Hermetia illucens* L.) and its potential uses as alternative protein sources in animal diets: a review. **Insects**, v. 13, n. 9, p. 831, 2022.

LUCIĆ, R.; RAPOSO, M.; CHERVINSKA, A.; DOMINGOS, T.; TEIXEIRA, R. F. Global Greenhouse Gas Emissions and Land Use Impacts of Soybean Production: Systematic Review and Analysis. **Sustainability**, v. 17, n. 8, 3396, 2025.

MERTENAT, A.; DIENER, S.; ZURBRÜGG, C. Black Soldier Fly biowaste treatment—Assessment of global warming potential. **Waste Management**, v. 84, p. 173-181, 2019.

MOHAN, K.; RAJAN, D. K.; MURALISANKAR, T.; GANESAN, A. R.; SATHISHKUMAR, P.; REVATHI, N. Use of black soldier fly (*Hermetia illucens* L.) larvae meal in aquafeeds for a sustainable aquaculture industry: a review of past and future needs. **Aquaculture**, v. 553, 738095, 2022.

MOUTINHO, S.; OLIVA-TELES, A.; PULIDO-RODRÍGUEZ, L.; MAGALHÃES, R.; MONROIG, Ó.; PARISI, G.; PERES, H. Black soldier fly larvae oil as an alternative lipid source in diets for gilthead seabream (*Sparus aurata*) juveniles. **Aquaculture**, v. 574, 739705, 2023.

MOUTINHO, S.; OLIVA-TELES, A.; PULIDO-RODRÍGUEZ, L.; PARISI, G.; MAGALHÃES, R.; MONROIG, Ó.; PERES, H. Effects of black soldier fly (*Hermetia illucens*) larvae oil on muscle quality and nutritional traits of gilthead seabream. **Aquaculture**, v. 579, 740219, 2024.

MU, H.; SHEN, H.; LIU, J.; XIE, F.; ZHANG, W.; MAI, K. High level of dietary soybean oil depresses the growth and anti-oxidative capacity and induces inflammatory response in large yellow croaker *Larimichthys crocea*. **Fish & Shellfish Immunology**, v. 77, p. 465-473, 2018.

MUNGUTI, J.; MUTHOKA, M.; MBOYA, J. B.; KYULE, D.; MEENAKSHISUNDARAM, M.; TANGA, C. M. Unraveling the potential of black soldier fly larvae as a sustainable protein source for Nile tilapia production in diverse aquaculture systems. **Aquaculture Nutrition**, v. 2025, n. 1, 3598843, 2025.

NAIRUTI, R. N.; MUSYOKA, S. N.; YEGON, M. J.; OPIYO, M. A. Utilization of black soldier fly (*Hermetia illucens* Linnaeus) larvae as a protein source for fish feed—a review. **Aquaculture Studies**, v. 22, n. 2, 2021.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL. **Nutrient requirements of fish and shrimp.** Washington, DC: National Academies Press, 2011. 376 p.

NOGALES-MÉRIDA, S.; MARTÍNEZ-LLORENS, S.; MOÑINO, A. V.; JOVER CERDÁ, M.; TOMÁS-VIDAL, A. Fish oil substitution by soybean oil in *Sharpsnout seabream* *Diplodus puntazzo*: Performance, fatty acid profile, and liver histology. **Journal of Applied Aquaculture**, v. 29, n. 1, p. 46-61, 2017.

OONINCX, D. G. A. B.; FINKE, M. D. Nutritional value of insects and ways to manipulate their composition. **Journal of Insects as Food and Feed**, v. 7, n. 5, p. 639-659, 2021.

OONINCX, D. G.; VAN BROEKHOVEN, S.; VAN HUIS, A.; VAN LOON, J. J. Feed conversion, survival and development, and composition of four insect species on diets composed of food by-products. **PloS One**, v. 10, n. 12, e0144601, 2015.

ORDOÑEZ, B. M.; SANTANA, T. M.; CARNEIRO, D. P.; SANTOS, D. K. M.; PARRA, G. A. P.; MORENO, L. C. C.; TEIXEIRA FILHO, N. P.; AGUILAR, F. A. A.; YAMAMOTO, F. Y.; GONÇALVES, L. U. Whole Black Soldier Fly Larvae (*Hermetia illucens*) as Dietary Replacement of Extruded Feed for Tambaqui (*Colossoma macropomum*) Juveniles. **Aquaculture Journal**, v. 2, p. 246-256, 2022.

PADOVANI, J. V.; VALIATTI, T. B.; ROSA, N. B.; GOMES, E. M.; DOS REIS, S.; ROMÃO, N. F.; SOBRAL, F. D. O. S. Avaliação microbiológica de peixe tambaqui (*Colossoma Macropomum*) comercializado em feira livre no município de Ji-Paraná, Rondônia. **Revista Saúde e Desenvolvimento**, v. 16, n. 24, p. 95-108, 2022.

PASSOS, L. H. S. A logística de transportes na Amazônia Ocidental: desafios, limitações e importância para o desenvolvimento do Estado de Roraima. **Revista de Administração de Roraima - RARR**, Boa Vista, v. 3, n. 2, p. 4-18, 2013.

PEREIRA, R. T.; PAULINO, R. R.; ALMEIDA, C. A. L.; ROSA, P. V.; ORLANDO, T. M.; FORTES-SILVA, R. Oil sources administered to tambaqui (*Colossoma macropomum*): growth, body composition and effect of masking organoleptic properties and fasting on diet preference. **Applied Animal Behaviour Science**, v. 199, p. 103-110, 2018.

RODRIGUES, D. P.; CALADO, R.; PINHO, M.; DOMINGUES, M. R.; VÁZQUEZ, J. A.; AMEIXA, O. M. Bioconversion and performance of Black Soldier Fly (*Hermetia illucens*) in the recovery of nutrients from expired fish feeds. **Waste Management**, v. 141, p. 183-193, 2022.

RUMBOS, C. I.; BLIAMPLIAS, D.; GOURGOUTA, M.; MICHAÏL, V.; ATHANASSIOU, C. G. Rearing *Tenebrio molitor* and *Alphitobius diaperinus* larvae on seed cleaning process byproducts. **Insects**, v. 12, n. 4, p. 293, 2021.

SARGENT, J. R.; TOCHER, D. R.; BELL, J. G. The lipids. In: HALVER, J. E.; HARDY, R. W. (ed.). **Fish nutrition**. 3. ed. San Diego: Academic Press, 2003. p. 181-257.

SHATI, S.; OPIYO, M.; NAIRUTI, R.; SHOKO, A.; MUNYI, F.; OGELLO, E. Black soldier fly (*Hermetia illucens*) larvae meal improves growth performance, feed utilization, amino acids profile, and economic benefits of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*, L.). **Aquaculture Studies**, v. 22, n. 4, p. 175-184, 2022.

SIMANE, B.; KAPWATA, T.; NAIDOO, N.; CISSÉ, G.; WRIGHT, C. Y.; BERHANE, K. Ensuring Africa's Food Security by 2050: the role of population growth, climate-resilient strategies, and putative pathways to resilience. **Foods**, v. 14, n. 2, p. 262, 2025.

SMET, J.; WYNANTS, E.; COS, P.; VAN CAMPENHOUT, L. Microbial community dynamics during rearing of black soldier fly larvae (*Hermetia illucens*) and impact on exploitation potential. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 84, n. 9, e02722-17, 2018.

TEPPER, K.; EDWARDS, O.; SUNNA, A.; PAULSEN, I. T.; MASELKO, M. Diverting organic waste from landfills via insect biomanufacturing using engineered black soldier flies (*Hermetia illucens*). **Communications Biology**, v. 7, n. 1, 862, 2024.

VAN HUIS, A. Insects as food and feed, a new emerging agricultural sector: a review. **Journal of Insects as Food and Feed**, v. 6, n. 1, p. 27-44, 2020.

VAN RIEL, A. J.; NEDERLOF, M. A.; CHARY, K.; WIEGERTJES, G. F.; DE BOER, I. J. Feed-food competition in global aquaculture: Current trends and prospects. **Reviews in Aquaculture**, v. 15, n. 3, p. 1142-1158, 2023.

XU, X.; JI, B.; LU, R.; JI, H. Black Soldier Fly Oil in Different Lipid Diets Could Regulate Tissue Lipid Metabolism and Fatty Acid Composition of Juvenile *Mirror Carp*. **Aquaculture Nutrition**, v. 2024, n. 1, 8718694, 2024.

XU, X.; JI, H.; BELGHIT, I.; LILAND, N. S.; WU, W.; LI, X. Effects of black soldier fly oil rich in n-3 HUFA on growth performance, metabolism and health response of juvenile mirror carp (*Cyprinus carpio* var. *specularis*). **Aquaculture**, v. 533, 736144, 2021.

XU, X.; JI, H.; BELGHIT, I.; SUN, J. Black soldier fly larvae as a better lipid source than yellow mealworm or silkworm oils for juvenile mirror carp (*Cyprinus carpio* var. *specularis*). **Aquaculture**, v. 527, 735453, 2020.

YADAV, N. K.; DEEPTI, M.; PATEL, A. B.; KUMAR, P.; ANGOM, J.; DEBBARMA, S.; MEENA, D. K. Dissecting insects as sustainable protein bioresource in fish feed for aquaculture sustainability. **Discover Food**, v. 5, n. 1, 47, 2025.

YUAN, H.; HU, J.; LI, X.; SUN, Q.; TAN, X.; YOU, C.; ZHOU, M. Dietary black soldier fly oil enhances growth performance, flesh quality, and health status of largemouth bass (*Micropterus salmoides*). **Animal Nutrition**, v. 18, p. 234-245, 2024.

ZARANTONIELLO, M.; RANDAZZO, B.; TRUZZI, C.; GIORGINI, E.; MARCELLUCCI, C.; VARGAS-ABÚNDEZ, J. A.; OLIVOTTO, I. A six-months study on Black Soldier Fly (*Hermetia illucens*) based diets in zebrafish. **Scientific Reports**, v. 9, n. 1, 8598, 2019.

This chapter is based on a manuscript submitted to Animal Feed Science and Technology.

CAPÍTULO II – BLACK SOLDIER FLY LARVAE OIL AS A REPLACEMENT FOR SOYBEAN OIL IN TAMBAQUI (*Colossoma macropomum*) FEEDS: GROWTH PERFORMANCE, HEALTH PARAMETERS AND MUSCLE FATTY ACID COMPOSITION

Larissa Salgado da Cunha^a, Driely Kathriny Monteiro dos Santos^b, Fernando Y. Yamamoto^{c,d}, Luciana de Paula Naves^e, Ligia Uribe Gonçalves^{f*}

^aAnimal Science and Fisheries Graduate Program, Federal University of Amazonas, AM, Brazil

^bDepartment of Fisheries Science, Federal University of Amazonas, Manaus, AM, Brazil

^cThad Cochran National Warmwater Aquaculture Center, Mississippi State University, MS, USA

^dDepartment of Wildlife, Fisheries and Aquaculture, Mississippi State University, MS, USA

^eDepartment of Animal Science, Federal University of Lavras, MG, Brazil

^fDepartment of Animal Science, School of Animal Science and Food Engineering, University of São Paulo, SP, Brazil.

*Corresponding author: phone: +55-19-3565-4159; e-mail: ligia.uribe@usp.br

ABSTRACT

Sustainable alternatives to conventional plant and marine ingredients are needed to build a more resilient aquafeeds industry. This study evaluated the replacement of soybean oil (SO) with black soldier fly larvae oil (BSFLO) in diets for tambaqui juveniles. Five experimental diets were formulated with increasing levels of SO substitution by BSFLO: 0% (control), 25%, 50%, 75%, and 100%. A total of 340 tambaqui juveniles, with an initial average weight of 101.70 g, were distributed into 20 tanks (800 L each) operating as a recirculating aquaculture system. After a 90-day feeding trial, no feed rejection was observed, and fish achieved an average weight gain of 349.02 g. The inclusion of BSFLO did not affect growth performance or somatic indices among the experimental groups. Hematological and biochemical parameters of all fish remained within the normal health ranges for tambaqui. Fish fed BSFLO showed reduced levels of n-6 polyunsaturated fatty acids (PUFA) while maintaining n-3 PUFA levels, resulting in an increased n-3/n-6 ratio. BSFLO can replace up to 100% of soybean oil in diets for tambaqui juveniles without compromising production performance and health parameters, while improving the fatty acid profile of the fillet.

Keywords: aquafeed, alternative ingredient, *Hermetia illucens*, insect oil, sustainable ingredients

Highlights

Black soldier fly larva oil replaces soybean oil in tambaqui diets.

There were no negative effects on growth and hemato-biochemical parameters.

Black soldier fly larva oil modulates fatty acids in fish muscle.

Black soldier fly oil is a viable lipid source in tambaqui feed.

5. Introduction

Plant-based ingredients have been widely regarded as potential replacements for marine-derived ingredients, such as fishmeal and fish oil, in aquafeeds (Hossain et al., 2023). However, concerns have arisen regarding the competition of plant-based ingredients with human food supplies, their environmental impacts, and their contributions to atmospheric emissions, resulting from intensive agricultural practices and increased demand for natural resources (Quang Tran et al., 2022; Smetana et al., 2019; Van Huis, 2013).

Insects present great potential as ingredients for animal nutrition. Market estimates indicate that the global insect sector, valued at US\$ 602.3 million in 2023, could exceed US\$ 3.1 billion by 2033 (FMI, 2023). Insects can provide essential nutrients, such as proteins, vitamins, minerals, and lipids, making them highly suitable feed ingredients for aquatic animals. Among these, black soldier fly larvae (BSFL, *Hermetia illucens*) stand out due to their efficiency in converting organic waste into a biomass rich in protein (42%) and fat (35%). BSFL can be defatted to produce a meal with up to 65% protein content (Lu et al., 2022). The oil extracted during this process is rich in medium-chain saturated fatty acids, with lauric acid (C12:0) being the most abundant, accounting for 52% of the total fatty acids (Ewald et al., 2020). In the form of monolaurin (glycerol monolaurate, GML), it exhibits antimicrobial activity, enhances intestinal morphology, and serves as a dietary energy source for fish (Borrelli et al., 2021; Li et al., 2016; Spranghers et al., 2018).

Previous studies indicate that variations in dietary lipid sources do not significantly influence growth-related performance in omnivorous freshwater fish species (Li et al., 2016; Moutinho et al., 2023; Xu et al., 2020). However, the fatty acid composition of the dietary lipids influences the fatty acid composition of the fish muscle (Maldonado-Othón et al., 2022; Moutinho et al., 2024; Sudha et al., 2022; Yuan et al., 2024). The use of vegetable oils, particularly soybean oil, as replacements for fish oil in aquafeeds has become increasingly common in aquaculture (Liu et al., 2022; Nogales-Mérida et al., 2017). However, soybean oil has been shown to increase omega-6 fatty acid levels, thereby altering the n-3/n-6 ratio (Chen et al., 2020; González-Félix et al., 2016; He et al., 2021). This imbalance has been associated with inflammatory processes in both fish and humans (Banaszak et al., 2024; Mu et al., 2018; Xu et al., 2022). To address this issue, BSFL oil (BSFLO) is a promising alternative for aquafeed formulations. BSFLO contains a high concentration of saturated fatty acids, which can result in a reduction in the levels of n-6 polyunsaturated fatty acids if it replaces soybean oil in aquafeed formulations.

The growing interest in alternative ingredients for aquafeeds, including locally sourced options (Glencross et al., 2023), aligns with the potential of BSFL as a sustainable feed source. BSFL excels in tropical countries like Brazil, where the high temperatures and humidity create favorable environmental conditions for their production. Therefore, BSFL plays a key role in promoting more sustainable aquaculture practices by converting organic waste into high-quality protein. Based on this, this study tested whether BSFLO can also improve the productivity, health, and meat quality of tambaqui (*Colossoma macropomum*), the most produced native species in Brazil, accounting for 263,479 tons in 2023 (Peixe BR, 2024).

6. Materials and methods

The study was conducted at the INPA (National Institute for Amazonian Research) experimental station in Amazonas, Brazil. Ethical approval for the use of animals was granted by the INPA Institutional Committee for Animal Care and Use (Protocol nº 115/2022).

6.1 Experimental diets

Black soldier fly larvae oil (BSFLO) was supplied by the company Cyns (Piracicaba, SP, Brazil), and the larvae were reared on residues from the fermentation of rice, corn, and malt bagasse. Five isonitrogenous (28.90% crude protein) and isoenergetic (15.26 MJ Kg⁻¹) diets were formulated (Guimarães and Martins, 2015), with gradual inclusion levels of BSFLO replacing soybean oil on a lipid basis (0, 25, 50, 75, and 100%) (Table 1). The ingredients used in the formulation of the experimental diets underwent a mixing process, followed by grinding and extrusion in a single-screw extruder (INBRAMAQ, model MX-80, São Paulo, SP, Brazil), coupled to a 3.0 mm die. The extruder's operating parameters were monitored throughout the process, maintaining the motor amperage at 28 A, the screw frequency at 69.02 Hz, and the die cutting frequency at 29.8 Hz. At the end of the extrusion process, the feed granules were placed in a forced-air oven at 55 °C for drying and maintained until the moisture content was below 10%. The dried feeds were stored at room temperature of 16 °C.

Table 1. Experimental feed formulations, proximate composition and fatty acids profile of tested ingredients and feed.

Ingredients, g/100 g	Oils		Diets				
	SO	BSFLO	0% (control)	25% BSFLO	50% BSFLO	75% BSFLO	100% BSFLO
BSFLO	-	-	0	2	4	6	8
Soybean oil	-	-	8	6	4	2	0

Soybean meal	-	-	35.8	35.8	35.8	35.8	35.8
Corn	-	-	34	34	34	34	34
Meat and bone meal	-	-	10	10	10	10	10
Wheat middling	-	-	10	10	10	10	10
Premix ^a	-	-	1	1	1	1	1
Dicalcium phosphate	-	-	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5
DL-methionine	-	-	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3
L-lysine	-	-	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2
Salt	-	-	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2
BHT ^b	-	-	0.02	0.02	0.02	0.02	0.02
<i>Proximate composition on dry matter basis (g/100 g)</i>							
Dry matter	-	-	92.7	92	92.7	90.4	89.1
Crude protein	-	-	28.5	29.0	29	28.3	29.7
Total lipid	99.6	100	9.7	10.3	10.6	10.8	9.9
Ash	-	-	9.01	8.7	8.9	9.6	8.8
Crude Fiber	-	-	4.7	5.7	6	6.1	6.4
Gross energy (MJ Kg ⁻¹)	39	38.1	15.9	15.4	14.7	15	15.7
<i>Fatty acids (% of total lipids)</i>							
SFA ^c	15.5	68.2	21.1	26.3	35	38	49.3
12:0	n.d	39	0.24	5.41	12	14.7	22.0
14:0	0.65	7.91	0.96	1.32	2.61	1.22	0.55
16:0	11.2	18.2	13.0	13.6	14.5	17.2	21.4
18:0	3.63	2.87	6.32	5.63	5.31	4.41	4.97
MUFA ^d	25.3	14.3	30.2	28.2	25.2	25	19.9
18:1n-7	n.d	0.40	1.72	1.73	1.45	1.20	1.02
18:1n-9	25.3	12.2	28.3	25.8	22.9	22.6	17.4
PUFA ^e	59.2	17.5	48.7	45.5	39.8	37	30.8
18:2n-6	53	15.6	44.1	41.5	36.5	36.9	29.5
18:3n-6	0	1.00	3.40	3.13	2.62	1.66	1.15
18:3n-3	6.18	0.12	0.44	0.33	0.30	0.19	0.15
20:5n-3	n.d	0.25	0.20	0.16	0.10	n.d	0.01
22:6n-3	n.d	0.39	0.47	0.29	0.26	0.10	0.01
n-3	6.18	0.75	1.17	0.80	0.68	0.29	0.17
n-6	53	16.7	47.5	44.7	39.1	36.6	30.6
n-3/n6	0.12	0.05	0.02	0.02	0.02	0.001	0.005

Abbreviations: SO: Soybean oil; BSFLO: Black soldier fly larvae oil; n.d.: not detectable.

^aVitamin and mineral premix(Nutron®) per kg of product: folic acid (250 mg), pantothenic acid (5.000 mg), antioxidant (600 mg), biotin (125 mg), cobalt (25 mg), copper (2.000 mg), iron (13.820 mg), iodine (100 mg), manganese (3.750 mg), niacin (5.000 mg), selenium (75 mg), vitamin A (1.000.000 IU), vitamin B1 (1250 mg), vitamin B12 (3.750 mg), vitamin B2 (2.500 mg), vitamin B6 (2.485 mg), vitamin C (28.000 mg), vitamin D3 (500.000 IU), vitamin E (28.000 IU), vitamin K3 (500 mg), zinc (17.500 mg).

^bButy-lhydroxy-toluene.

^cTotal saturated fatty acids included 17:0, 20:0, 21:0 and 24:0.

^dTotal monounsaturated fatty acids included 16:1n-7, 16:1n-9 and 20:1n-9.

^eTotal polyunsaturated fatty acids included 22:5n-3 and 20:4n-6.

6.2 Feeding trial

For this experiment, 340 juvenile tambaqui (101.7 ± 9.7 g; 18.13 ± 0.63 cm) were used, distributed in 20 polyethylene tanks (800 L), in a completely randomized design ($n = 4$; 17 fish/tank). The fish were kept in a water recirculation system equipped with phytoremediation, ensuring continuous aeration and a natural photoperiod (12 h of light/12 h of darkness). Feeding was provided three times a day (9 am, 1 pm and 4 pm), until apparent satiation, over 90 days.

6.3 Physicochemical parameters of water

The physicochemical parameters of the water, such as temperature (28.8 ± 0.05 °C), dissolved oxygen (5.89 ± 0.06 mg L⁻¹) and pH (6.12 ± 0.06), were regularly monitored using a multiparameter probe (HI98196; HANNA®, Woonsocket, Rhode Island, USA). Total ammoniacal nitrogen (0.23 ± 0.04 mg L⁻¹) and total nitrite nitrogen (0.03 ± 0.01 mg L⁻¹) were monitored weekly using colorimetric kits (Alfakit AT 101; Alfakit, Florianópolis, SC, Brazil). Throughout the experiment, all physicochemical parameters of the water were considered adequate for tambaqui farming (Lima et al., 2019).

6.4 Growth performance

The body weight and total length of each fish were measured at the beginning and end of the experimental period. After 24 hours of fasting, the fish were anesthetized by immersion in benzocaine (100 mg L⁻¹).

The production performance data were determined from the following calculations:

- Weight gain (WG, g) = final weight – initial body weight;
- Feed intake (FI, g) = feed consumption / final number of fish;
- Feed conversion rate (FCR) = feed intake / weight gain;
- Specific growth rate (SGR, %) = $(e^g - 1) \times 100$, where “e” is Euler’s constant and $g = [\ln(\text{final weight}) - \ln(\text{initial weight})] / (90 \text{ days})$;
- Protein efficiency ratio (PER, %) = biomass weight gain / protein consumption $\times 100$;
- Energy efficiency rate (EER, %) = biomass weight gain / energy consumption $\times 100$;
- Protein conversion efficiency (PCE, %) = $(\text{final body weight} \times \text{final body protein}) - (\text{initial body weight} \times \text{initial body protein}) / (\text{protein intake}) \times 100$;
- Energy retention efficiency (ERE, %) = $(\text{final body weight} \times \text{final body energy}) - (\text{initial body weight} \times \text{initial body energy}) / (\text{energy intake}) \times 100$.

6.5 Condition index

Sixty fish (3 fish/tank) were individually weighed, euthanized by spinal cord section, and had their viscera, liver, and visceral fat collected and weighed for the calculation of condition indices:

- Viscero-somatic index (VSI, %) = (weight viscera / body weight) $\times$ 100;
- Hepatosomatic index (HSI, %) = (liver weight / body weight) $\times$ 100;
- Viscero-somatic fat index (VSFI, %) = (viscera weight / body weight) $\times$ 100.

6.6 Hematobiochemical parameters

Blood was collected by vasocaudal puncture from 60 fish (3 fish/tank) using 3 mL syringes containing 5% EDTA (ethylenediaminetetraacetic acid). Glucose concentration (GC) was measured with a glucometer (Accumed-Glicomed®, Rio de Janeiro, Brazil) after whole blood collection. Hemoglobin (Hb) levels were determined using a commercial kit (Labtest®, Lagoa Santa, MG, Brazil). Hematocrit (Ht %) was determined using the microhematocrit method (Goldenfarb et al., 1971). Red blood cell count (RBC $\times 10^6$ cells μL^{-1}) was performed in a Neubauer chamber using 10 μL of blood diluted in 2.0 mL of citrate-formaldehyde. Corpuscular indices were determined according to (Wintrobe, 1993), as per the following equations:

- Mean corpuscular hemoglobin concentration (MCHC, %) = [hemoglobin] $\times$ 100/hematocrit;
- Mean corpuscular volume (MCV, fl) = hematocrit $\times$ 10/ RBC;
- Mean corpuscular hemoglobin (MCH, g dL⁻¹) = [hemoglobin] $\times$ 10/ RBC.

Blood samples were centrifuged (3,000 $\times$ g, 10 min, 4 °C) to obtain plasma, which was used for biochemical analyses. The parameters evaluated included total protein (TP), albumin (AB), globulin (GB), triglycerides (TG), high density lipoprotein cholesterol, (HDL-C), low density lipoprotein cholesterol (LDL), and very low-density lipoproteins (VLDL), alanine aminotransferase (ALT) and aspartate aminotransferase (AST) (In Vitro Diagnostic, Itabira, MG, Brazil), and cholesterol (CHO) (Labtest®, Lagoa Santa, MG, Brazil). Sample absorbance was determined using a spectrophotometer (HACH, model DR 6000, Loveland, CO, USA).

6.7 Fatty acid composition

Total lipids were extracted directly from the oils, diets, and fish fillets. For the fish fillet samples, sixty individuals (3 fish per tank) were filleted, the skin was removed, and the right dorsal

muscle was collected for lipid extraction using the Bligh and Dyer (1959) protocol. Fatty acid methyl esters (FAMES) were prepared following the procedures described by Santos et al. (2014).

The chromatographic separation of FAMES was performed using a Trace Ultra gas chromatograph (Thermo Scientific, Waltham, MA, USA), with flame ionization detection and separation on a fused silica capillary column (CP-7420 Select FAME; 100 m × 0.25 mm inner diameter, 0.25 µm film thickness). The detector and injector temperatures were set to 240 °C and 230 °C, respectively. The furnace temperature program started at 165 °C and was maintained for 18 min, with a heating rate of 4 °C min⁻¹ to 235 °C, followed by a 14.5 min final holding period. Hydrogen was used as the entrainment gas at 1.2 mL min⁻¹, while nitrogen was used as the auxiliary gas at 30 mL min⁻¹. All samples were entered with a split ratio of 1:80. All fatty acids were named according to their retention times, following the standards established by FAME (Sigma, St. Louis, MO, USA). Chromatographic data, including retention times and relative peak areas, were processed using ChromQuest™ software (version 5.0). Fatty acid quantification was presented as a percentage of total lipids and performed using tricosanoic acid methyl ester (23:0; Sigma-Aldrich, USA) as an internal standard, following the approach described by Joseph and Ackman (1992). Theoretical correction factors for the flame ionization detector were applied as proposed by Visentainer (2012).

The total fatty acid composition was calculated using the equation:

$$AG = (AX \times WIS \times CFX) / (AIS \times CFAE \times WX)$$

Where AG represents the fatty acid content (% of total lipids), AX corresponds to the fatty acid peak area, WIS is the mass of the internal standard (%), CFX is the theoretical correction factor, AIS is considered the internal standard peak area (23:0), CFAE is considered a conversion factor used to present the results in fatty acids instead of methyl esters, and WX is the sample mass (g).

6.8 Statistical analysis

Data normality was assessed using the Shapiro–Wilk test, and homogeneity of variances using the Brown–Forsythe test. When the assumptions were met, treatment effects were assessed using a one-way ANOVA, and differences between means were identified using Tukey's HSD test at the 5% significance level. Data that did not meet the parametric criteria were verified using the Kruskal-Wallis's test, followed by multiple comparison tests using Dunn's test. If statistical

significance were observed, linear and polynomial regression models would be used to determine the relationships between the levels of substitution of soybean oil with black soldier fly larvae oil (BSFL) for the different parameters evaluated. Linear or second-order polynomial regressions were selected based on the lowest significance level (p-value) or the highest R² value.

7. Results

7.1 Growth performance and condition index

The experimental diets were well accepted by juvenile tambaqui during the feeding period. Growth performance variables and body condition score did not differ significantly between experimental groups ($P > 0.05$) (Table 2). The fish grew at an average rate of 1.6% per day, resulting in an average weight gain of 349.02 g. During the experimental period, the average feed intake was 465.4 g, resulting in an average feed conversion ratio of 1.3.

Table 2. Growth performance and condition index of tambaqui juveniles, *Colossoma macropomum*, fed diets with increasing substitution levels of soybean oil (SO) by black soldier fly larvae oil (BSFLO).

Variable	Diets					Statistic		
	0% (control)	25% BSFLO	50% BSFLO	75% BSFLO	100% BSFLO	PSE	P-value	Regression
FI (g)	439.8	503.1	448.8	450.8	484.6	20.1	0.18	NS
FCR	1.29	1.51	1.27	1.37	1.35	0.12	0.66	NS
FW (g)	448.6	441.1	456.9	442.9	471.9	23.4	0.88	NS
WG (g)	345.3	338.0	353.3	339.8	368.7	23.4	0.88	NS
SGR (%)	1.68	1.63	1.65	1.65	1.73	0.06	0.78	NS
PER (%)	2.87	2.34	2.41	2.59	2.31	0.22	0.40	NS
EER (%)	1.90	1.64	2.25	1.96	1.85	0.16	0.17	NS
PCE (%)	28.1	26.5	23.9	28.6	29.9	3.2	0.74	NS
ERE (%)	20.0	21.1	20.9	23.5	21.2	0.8	0.10	NS
VSI (%)	8.57	9.09	8.74	8.88	8.68	0.3	0.78	NS
HSI (%)	1.69	1.81	1.74	1.82	1.74	0.1	0.88	NS
VSFI (%)	3.34	3.66	3.44	3.42	3.37	0.22	0.87	NS

Abbreviations: FI: Feed intake; FCR: feed conversion rate; FW: final weight; WG: weight gain; SGR: specific growth rate; PER: protein efficiency rate; EER: Energy efficiency rate; PCE: protein conversion efficiency; ERE: Energy retention efficiency; VSI: viscero-somatic index; HSI: hepatosomatic index; VSFI: viscero-somatic fat index. Data were analyzed using one-way ANOVA followed by Tukey's test for data with normal distribution and homogeneous variances, and by Kruskal–Wallis followed by Dunn's test for non-parametric data. Different letters in the same column indicate significant differences between diets ($p < 0.05$). PSE: pooled standard error; NS: not significant ($p > 0.05$).

7.2 Hematobiochemical parameters

HT, HB, ET, MCH, and MN were not significantly affected by the experimental diets ($p > 0.05$). However, MCV was higher in fish fed the control diet (0% BSFLO), while MCHC was lower in fish fed the diet containing 25% BSFLO ($p < 0.05$) (Table 3).

Table 3. Blood hematology of tambaqui juveniles, *Colossoma macropomum*, fed diets with increasing substitution levels of soybean oil (SO) by black soldier fly larvae oil (BSFLO).

Variable	Diets					Statistic		
	0% BSFLO	25% BSFLO	50% BSFLO	75% BSFLO	100% BSFLO	PSE	P-value	Regression
HT (%)	30.4	25.5	35.0	31.7	30.1	2.6	0.22	NS
HB (g dL ⁻¹)	5.95	6.38	6.68	6.11	5.83	0.5	0.78	NS
ET (10 ⁶ μL ⁻¹)	1.22	1.71	1.62	1.24	1.52	0.13	0.07	NS
MCV (fL)	288.2 ^a	163.1 ^b	228.2 ^{ab}	263.7 ^{ab}	206.3 ^{ab}	26.5	0.03	NS
MCH (pg)	55.32	41.79	43.50	50.02	40.37	5.9	0.37	NS
MCHC (g dL ⁻¹)	20.6 ^b	31.7 ^a	19.7 ^b	19.5 ^b	19.5 ^b	2.5	0.013	NS

Abbreviations: HT: hematocrit; HB: hemoglobin; ET: erythrocytes; MCV: mean corpuscular volume; MCH: mean corpuscular hemoglobin; MCHC: mean corpuscular hemoglobin concentration. Data were analyzed using one-way analysis of variance with Tukey's post hoc test for parametric data, whereas non-parametric data were evaluated using the Kruskal–Walli's test followed by Dunn's test. Different superscript letters in the same column indicate statistically significant differences between dietary treatments. PSE: pooled standard error; NS: not significant ($p > 0.05$).

Most plasma biochemical variables, including GC, TP, GB, TG, CHO, HDL-C, LDL-C, VLDL, AST, and ALT, did not show differences between experimental groups ($p > 0.05$). In contrast, albumin (AB) levels were higher in fish fed the diet containing 25% BSFLO compared to the other experimental groups ($p < 0.05$) (Table 4).

Table 4. Plasma biochemical analysis of tambaqui juveniles, *Colossoma macropomum*, fed diets with increasing substitution levels of soybean oil (SO) by black soldier fly larvae oil (BSFLO).

Variable	Diets					Statistic				
	0%	25%	50%	75%	100%	One-way ANOVA		Regression		
	(control)	BSFLO	BSFLO	BSFLO	BSFLO	PSE	P-value	P-value	Regression	R ²
GC (mg dL ⁻¹)	120.2	98.2	102.1	91.8	101.9	6.83	0.09	0.03	SOP	0.32
TP (g dL ⁻¹)	4.26	4.31	4.33	4.15	4.27	0.1	0.75	NS	-	-
AB (g dL ⁻¹)	2.11 ^{ab}	2.50 ^a	1.92 ^{ab}	1.87 ^b	2.09 ^{ab}	0.14	0.04	NS	-	-
GB (g dL ⁻¹)	2.77	2.82	2.84	2.66	2.78	0.1	0.75	NS	-	-
TG (mg dL ⁻¹)	211.5	244.9	264.8	239.6	253.3	20.6	0.47	NS	-	-
CHO (mg dL ⁻¹)	283.0	297.5	372.6	352.5	326.7	51.5	0.72	NS	-	-
HDL-C (mg dL ⁻¹)	89.3	95.9	95.2	91.4	94.5	3.5	0.65	NS	-	-
LDL-C (mg dL ⁻¹)	151.4	152.6	224.5	213.2	181.6	49.4	0.76	NS	-	-
VLDL (mg dL ⁻¹)	42.3	49.0	53.0	47.9	50.7	4.1	0.47	NS	-	-
AST (U/L)	66.0	58.2	80.3	133.9	68.1	20.3	0.11	NS	-	-
ALT (U/L)	31.9	35.5	43.9	23.1	27.0	7.6	0.39	NS	-	-

Abbreviations: GC: glucose; TP: total protein; AB: albumin; GB: globulin; TG: triglycerides; CHO: cholesterol; HDL-C: high-density lipoproteins; LDL-C: low-density lipoproteins; VLDL: very low-density lipoproteins; VLDL: very low-density lipoproteins; AST: aspartate transaminase; ALT: alanine aminotransferase. Data were analyzed using one-way ANOVA followed by Tukey's test for data with normal distribution and homogeneous variances, and by Kruskal–Wallis followed by Dunn's test for non-parametric data. Different letters in the same column indicate significant differences between diets ($p < 0.05$). PSE: pooled standard error; NS: not significant ($p > 0.05$).

7.3 Muscle fatty acid composition

Saturated fatty acids were the dominant lipid class in fish muscle, followed by monounsaturated and polyunsaturated fatty acids (Table 5). There was an inverse relationship between the total SFA and PUFA concentrations relative to the level of soybean oil replacement by BSFLO. Specifically, as the replacement of soybean oil by BSFLO increased in the diets, the SFA concentration rose (from 35.1% SFA in the control to 51.8% in the 100% BSFLO diet), while the PUFA concentration decreased (from 28.6% PUFA in the control to 15.2% in the 100% BSFLO diet).

Dietary replacement of SO₂ with BSFLO increased the concentrations of lauric acid (12:0), myristic acid (14:0), and palmitoleic acid (16:1n-7) in fish muscle, while linoleic acid (LA, 18:2n-6) was more abundant in the muscle of fish fed the control diet (25.1%). The total n-6 content was higher in the muscles of fish fed with soybean oil (control diet) and decreased significantly with the inclusion of BSFLO. The n-3/n-6 ratio was improved in the muscles of fish fed 100% BSFLO.

Table 5. Fatty acid composition (% of total lipids) in muscle of tambaqui juveniles, *Colossoma macropomum*, fed diets with increasing substitution levels of soybean oil (SO) by black soldier fly larvae oil (BSFLO).

Fatty acids	Diets					Statistic				
						One-way ANOVA		Regression		
	0% (control)	25% BSFLO	50% BSFLO	75% BSFLO	100% BSFLO	PSE	P-value	P- value	Trend	R ²
SFA ^a	35.1 ^b	44.4 ^a	46.0 ^a	47.6 ^a	51.8 ^a	1.77	0.0001	<0.0001	SOP	0.71
12:0	0.09 ^b	1.11 ^b	2.45 ^{ab}	7.16 ^a	7.07 ^a	1.30	0.002	0.0001	L	0.57
14:0	0.37 ^b	0.92 ^{ab}	1.26 ^{ab}	3.36 ^a	3.45 ^a	0.66	0.01	0.0005	L	0.49
16:0	21.2	27.1	28.0	24.2	26.6	2.1	0.21	NS	-	-
18:0	12.7	14.3	13.8	11.2	13.8	0.86	0.25	NS	-	-
MUFA ^b	36.8	38.3	34.7	33.4	33.0	2.5	0.53	-	-	-
16:1n-7	0.27 ^b	0.84 ^{ab}	1.14 ^{ab}	2.15 ^a	1.62 ^{ab}	0.4	0.04	0.005	L	0.36
18:1n-7	1.21	5.10	0.66	1.29	0.91	1.89	0.46	NS	-	-
18:1n-9	34.5	32.2	32.8	29.7	30.2	1.40	0.20	0.02	L	0.25
PUFA ^c	28.6 ^a	21.7 ^b	19.3 ^{bc}	18.9 ^{bc}	15.2 ^c	1.2	0.0001	0.0001	L	0.72
18:2n-6	25.1 ^a	14.9 ^{ab}	17.4 ^{ab}	16.1 ^{ab}	12.4 ^b	2.4	0.02	0.008	L	0.33
18:3n-3	0.11	0.11	0.11	0.17	0.16	0.04	0.81	NS	-	-
18:3n-6	1.16	0.65	0.52	0.84	0.59	0.28	0.52	NS	-	-
20:4n-6	1.05	0.75	0.46	0.93	1.10	0.19	0.18	NS	-	-
20:5n-3	n.d	n.d	0.12	0.06	0.10	0.06	0.66	NS	-	-
22:5n-3	0.35	0.25	0.12	0.31	0.22	0.14	0.81	NS	-	-
22:6n-3	0.74	0.59	0.52	0.35	0.58	0.11	0.24	NS	-	-
n-3	1.19	0.95	0.85	1.04	1.05	0.12	0.38	-	-	-
n-6	27.4 ^a	20.7 ^b	18.4 ^{bc}	17.9 ^{bc}	14.1 ^c	1.1	<0.0001	<0.0001	L	0.74
n-3/n-6	0.04 ^b	0.05 ^b	0.05 ^b	0.06 ^{ab}	0.08 ^a	0.0006	0.01	0.001	SOP	0.53

Muscle Lipids (%) ^d	4.79	5.74	5.89	5.06	6.01	-	-	-	-	-
--------------------------------------	------	------	------	------	------	---	---	---	---	---

^aTotal saturated fatty acids included 20:0, 22:0 and 24:0.

^bTotal monounsaturated fatty acids included 16:1n-9.

^cTotal polyunsaturated fatty acids.

^dWet basis. The effects of the experimental diets were statistically evaluated using parametric or non-parametric approaches, depending on the data distribution. Mean differences were examined using Tukey's method after analysis of variance, while ranking-based comparisons were performed using the Kruskal-Wallis and Dunn tests. Statistical differences between dietary treatments are indicated by different letters in each column ($p < 0.05$). PSE: pooled standard error; NS: not significant ($p > 0.05$).

8. Discussion

Replacing SO with BSFLO did not affect feed acceptance in tambaqui juveniles, as feed intake was similar across all experimental groups. Comparable outcomes were observed in Jian carp (*Cyprinus carpio* var. Jian), mirror carp (*Cyprinus carpio* var. specularis), and gilthead seabream (*Sparus aurata*) fed diets containing 2.5% to 9.5% BSFLO (Li et al., 2016; Moutinho et al., 2023; Xu et al., 2020). Similarly, increasing levels of dietary substitution of SO by BSFLO did not negatively impact the growth performance of tambaqui, a result that has been reported for different freshwater and marine fish species, regardless of their feeding habits (Dumas et al., 2018; Fawole et al., 2021; Hender et al., 2021; Sudha et al., 2022; Yuan et al., 2024). Although no differences were observed between the experimental groups, tambaqui exhibited productivity data similar to those reported in the literature for nutrition studies involving this species, with numbers within or close to the same weight range (Ordoñez et al., 2022; Rodrigues et al., 2024).

The fatty acid composition of BSFLO was predominantly saturated fatty acids, accounting for 68.12%, with lauric acid (C12:0) being the most abundant, representing 39.05% of the total, which is categorized as a medium-chain fatty acid (MCFAs). The MCFAs are known for their rapid digestion, efficient intestinal absorption, and direct transport to the liver for β -oxidation, which may contribute to reduced lipid deposition in fish tissues (Belghit et al., 2018; Schönfeld and Wojtczak, 2016). However, the condition indices (VSI, HSI, and VSFI) of tambaqui were not affected by the dietary inclusion levels of BSFLO. This may be attributed to species-specific differences in lipid metabolism, potentially limiting the preferential oxidation of MCFAs over long-chain fatty acids (LCFAs). Alternatively, tambaqui may have efficiently metabolized the MCFAs present in BSFLO, maintaining growth performance. Moreover, dietary lipid levels and overall energy availability may have been sufficient to meet the fish's metabolic demands, reducing the need for lipid mobilization and storage (Li et al., 2016).

Hematological parameters are widely used as indicators to assess changes in fish health, including those induced by dietary composition (Seibel et al., 2021). The hematological and plasma biochemical values observed in the present study were within the ranges previously reported for healthy tambaqui (Centeno et al., 2007; Tavares-Dias et al., 2009). Although differences in plasma albumin levels were observed among the fish groups, all values remained within the physiological range previously reported for this species. Since albumin is synthesized primarily in the liver, its concentration can be influenced by changes in dietary fatty acid composition, which may modulate hepatic metabolism (Tocher, 2010). However, the similar levels of hepatic enzymes AST (aspartate transaminase) and ALT (alanine aminotransferase) across all fish experimental groups indicate that liver integrity was not compromised. This suggests that the changes in albumin concentrations were likely due to functional metabolic adaptation to the diet rather than hepatic damage.

The fatty acids in fish muscle are closely associated with dietary lipid sources, directly influencing product quality and the sensory, nutritional, and health-related attributes for consumers (Gasco et al., 2023). Similarly to experimental diets, a linear increase in SFA levels was observed in the tambaqui muscle, corresponding to the increased substitution of soybean oil with BSFLO. This pattern has also been observed in fish species fed diets containing BSFLO (Li et al., 2016; Moutinho et al., 2024; Sudha et al., 2022; Yuan et al., 2024). The comparable concentration of 12:0 in the muscles of tambaqui fed 75% and 100% BSFLO may indicate a limitation in the fish's ability to incorporate lauric acid into muscle tissue, likely due to the preferential mitochondrial oxidation of medium-chain fatty acids rather than their deposition. Despite higher dietary 16:0 with increased BSFLO, a proportional rise in 16:1n-7 was not observed in fish muscle, indicating limited $\Delta 9$ -desaturase activity and/or competing metabolic demands (e.g., desaturation of 18:0 to 18:1n-9), together with potential preferential β -oxidation of 16:0.

The linoleic acid (LA; 18:2n-6) is the primary fatty acid present in soybean oil. Tambaqui are capable of desaturating and elongating LA into arachidonic acid (ARA; 20:4n-6), through the action of $\Delta 6$ -desaturase, elongase, and $\Delta 5$ -desaturase enzymes (Cortegano et al., 2019). Once ARA was absent from the diets, it was observed in the fish muscle. However, this capacity appears to be limited, as ARA levels were similar across the muscles of the experimental fish, despite varying dietary levels of its precursor, LA. The dietary substitution of soybean oil with BSFLO resulted in a reduction in n-6 PUFA

levels, while the content of n-3 PUFA remained similar in the fish muscle. Consequently, the muscle of fish fed 100% BSFLO exhibited the best n-3/n-6 ratio, which was 0.08. However, this value remains below the World Health Organization (WHO, 2015) recommended threshold of 0.2 for providing nutraceutical benefits to humans.

Food with a balanced n-3/n-6 ratio is essential for human health, as excess n-6 PUFA can trigger inflammation, whereas n-3 PUFA are known for their anti-inflammatory effects (Fabrikov et al., 2021). Although tropical freshwater fish are capable of desaturating and elongating linolenic acid (ALA; 18:3n-3) into eicosapentaenoic (EPA; 20:5n-3) and docosahexaenoic acids (DHA; 22:6n-3), the experimental diets had low ALA levels, which serve as the substrate for this conversion. Furthermore, it should be considered that the desaturation and elongation pathways of LA to ARA and ALA to EPA and DHA are mediated by the same enzymes ($\Delta 6$ -desaturase, $\Delta 5$ -desaturase, elongase), which compete for substrates and preferentially act on the one that is more readily available (Tocher, 2003).

Moutinho et al. (2024) suggested that a blend of vegetable oils (canola, palm, and flaxseed) could be completely replaced by BSFLO while maintaining a minimum of 3.1% fish oil in gilthead seabream (*Sparus aurata*) diets to ensure diet digestibility, growth performance, and a sufficient level of EPA and DHA in fish muscle. However, tropical freshwater fish such as tambaqui do not require dietary EPA and DHA, as they can convert ALA to EPA and DHA. One promising strategy to enhance the n-3 fatty acid composition of their muscles is by using dietary oil from BSF larvae produced from organic residues rich in ALA, EPA, or DHA. Xu et al. (2021) demonstrated a 54.46% increase in n-3 PUFA levels in the muscle of mirror carp (*Cyprinus carpio* var. *specularis*) when the fish were fed diets containing soybean oil replaced by BSFLO derived from *Schizochytrium* sp. residues. On the other hand, St-Hilaire et al. (2007) observed a 3% increase in n-3 PUFA levels in BSF larvae when they were fed a diet containing 22% fish viscera waste, suggesting that substrate modification can positively influence the lipid profile of the larvae.

9. Conclusions

The BSFLO can completely replace soybean oil in tambaqui diets without compromising their growth and health. Although fish fed black soldier fly larvae oil (BSFLO) instead of soybean oil showed a reduction in n-6 polyunsaturated fatty acid levels, while maintaining n-3 polyunsaturated fatty acid content, resulting in a better n-

3/n-6 ratio, this ratio remained below the level recommended by the World Health Organization (WHO). Future research should focus on optimizing the levels and types of organic substrates used to produce BSF larvae with higher concentrations of ALA, EPA, or DHA, which, when incorporated into fish diets, could enhance the nutraceutical value of tambaqui muscles.

Acknowledgements

The authors thank Cyns (Piracicaba, São Paulo, Brazil) for donating the black soldier fly larvae oil used in this study, and the graduate students of the INPA GIGAS project team for their technical support during the feeding experiment and sampling procedures.

Author contributions: CRediT

Larissa S. da Cunha: Conceptualization, Methodology, Investigation, Formal analysis, Data curation, Writing – original draft. **Driely K. M. Santos:** Investigation, Data curation, Formal analysis, Writing – review & editing. **Fernando Y. Yamamoto:** Data curation, Writing – review & editing. **Luciana P. Naves:** Writing – review & editing. **Ligia U. Gonçalves:** Funding acquisition, Conceptualization, Supervision, Writing – review & editing.

Funding

This study was funded by the National Council for Scientific and Technological Development (CNPq) (Process No. 404977/2021-9). L.S.C. received a doctoral scholarship from the Amazonas State Research Support Foundation (FAPEAM). L.U.G. is a postdoctoral fellow of the National Council for Scientific and Technological Development (CNPq) (Process No. 306969/2025-4). The project also received funding from the CAPES/FAPEAM PDPG program (Call for Proposals No. 018/2020) for the revision of the manuscript into English.

10. References

Banaszak, M., Dobrzyńska, M., Kawka, A., Górna, I., Woźniak, D., Przysławski, J., Drzymała-Czyż, S., 2024. Role of Omega-3 fatty acids eicosapentaenoic (EPA) and docosahexaenoic (DHA) as modulatory and anti-inflammatory agents in noncommunicable diet-related diseases – Reports from the last 10 years. Clin. Nutr. ESPEN. <https://doi.org/10.1016/j.clnesp.2024.06.053>

- Belghit, I., Liland, N.S., Waagbø, R., Biancarosa, I., Pelusio, N., Li, Y., Krogdahl, Å., Lock, E.J., 2018. Potential of insect-based diets for Atlantic salmon (*Salmo salar*). *Aquaculture* 491, 72–81. <https://doi.org/10.1016/J.AQUACULTURE.2018.03.016>
- Bligh, E. G., Dyer, W. J. 1959. A rapid method of total lipid extraction and purification. *Canadian journal of biochemistry and physiology*. v37(8), 911-917. <https://doi.org/10.1139/o59-099>
- Borrelli, L., Varriale, L., Dipineto, L., Pace, A., Menna, L.F., Fioretti, A., 2021. Insect Derived Lauric Acid as Promising Alternative Strategy to Antibiotics in the Antimicrobial Resistance Scenario. *Front. Microbiol.* <https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.620798>
- Centeno, L., Silva-Acuña, R., Barrios, R., Salazar Lugo, R., Matute, C., L. Pérez, J., 2007. Características hematológicas de la cachama (*Colossoma macropomum*) en tres etapas de crecimiento cultivadas en el estado Delta Amacuro, Venezuela. *Zootec. Trop.* 25, 237–243.
- Chen, Y., Sun, Z., Liang, Z., Xie, Y., Su, J., Luo, Q., Zhu, J., Liu, Q., Han, T., Wang, A., 2020. Effects of dietary fish oil replacement by soybean oil and L-carnitine supplementation on growth performance, fatty acid composition, lipid metabolism and liver health of juvenile largemouth bass, *Micropterus salmoides*. *Aquaculture* 516. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2019.734596>
- Cortegano, C.A.A., de Alcântara, A.M., da Silva, A.F., Epifânio, C.M.F., Bentes, S.P.C., dos Santos, V.J., Visentainer, J.V., Gonçalves, L.U., 2019. Finishing plant diet supplemented with microalgae meal increases the docosahexaenoic acid content in *Colossoma macropomum* flesh. *Aquac. Res.* 50, 1291–1299. <https://doi.org/10.1111/are.14005>
- Dumas, A., Raggi, T., Barkhouse, J., Lewis, E., Weltzien, E., 2018. The oil fraction and partially defatted meal of black soldier fly larvae (*Hermetia illucens*) affect differently growth performance, feed efficiency, nutrient deposition, blood glucose and lipid digestibility of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture* 492, 24–34. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2018.03.038>
- Ewald, N., Vidakovic, A., Langeland, M., Kiessling, A., Sampels, S., Lalander, C., 2020. Fatty acid composition of black soldier fly larvae (*Hermetia illucens*) – Possibilities and limitations for modification through diet. *Waste Management* 102, 40–47. <https://doi.org/10.1016/j.wasman.2019.10.014>

- Fabrikov, D., Barroso, F.G., Sánchez-Muros, M.J., Hidalgo, M.C., Cardenete, G., Tomás-Almenar, C., Melenchón, F., Guil-Guerrero, J.L., 2021. Effect of feeding with insect meal diet on the fatty acid compositions of sea bream (*Sparus aurata*), tench (*Tinca tinca*) and rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fillets. *Aquaculture* 545. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2021.737170>
- Fawole, F.J., Labh, S.N., Hossain, M.S., Overturf, K., Small, B.C., Welker, T.L., Hardy, R.W., Kumar, V., 2021. Insect (*black soldier fly larvae*) oil as a potential substitute for fish or soy oil in the fish meal-based diet of juvenile rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Animal Nutrition* 7, 1360–1370. <https://doi.org/10.1016/j.aninu.2021.07.008>
- FMI.Futere Market Insights, 2023. <https://www.futuremarketinsights.com/reports/sample/rep-gb-11604> (accessed 01 January 2024).
- Gasco, L., Renna, M., Oddon, S.B., Far, A.R., El Deen, S.N., Veldkamp, T., 2023. Insect meals in a circular economy and applications in monogastric diets. *Animal Frontiers* 13, 81–90. <https://doi.org/10.1093/af/vfad016>
- Glencross, B., Fracalossi, D.M., Hua, K., Izquierdo, M., Mai, K., Øverland, M., Robb, D., Roubach, R., Schrama, J., Small, B., Tacon, A., Valente, L.M.P., Viana, M.T., Xie, S., Yakupityage, A., 2023. Harvesting the benefits of nutritional research to address global challenges in the 21st century. *J. World Aquac. Soc.* <https://doi.org/10.1111/jwas.12948>
- Goldenfarb, P.B., Bowyer, F.P., Hall, E., 1971. Reproducibility in the hematology laboratory: the microhematocrit determination. *American Journal of Clinical Pathology* 56, 35–39. <https://doi.org/10.1093/ajcp/56.1.35>
- González-Félix, M.L., Maldonado-Othón, C.A., Perez-Velazquez, M., 2016. Effect of dietary lipid level and replacement of fish oil by soybean oil in compound feeds for the shortfin corvina (*Cynoscion parvipinnis*). *Aquaculture* 454, 217–228. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2015.12.021>
- Guimarães, I.G., Martins, G.P., 2015. Nutritional requirement of two Amazonian aquacultured fish species, *Colossoma macropomum* (Cuvier, 1816) and *Piaractus brachypomus* (Cuvier, 1818): a mini review. *Journal of Applied Ichthyology*, 31, 57–66. <https://doi.org/10.1111/jai.12976>
- He, L., Qin, Y., Wang, Y., Li, D., Chen, W., Ye, J., 2021. Effects of dietary replacement of fish oil with soybean oil on the growth performance, plasma components, fatty

- acid composition and lipid metabolism of groupers *Epinephelus coioides*. Aquac. Nutr. 27, 1494–1511. <https://doi.org/10.1111/anu.13292>
- Hender, A., Siddik, M., Howieson, J., Fotedar, R., 2021. Black Soldier Fly, *Hermetia illucens* as an Alternative to Fishmeal Protein and Fish Oil: Impact on Growth, Immune Response, Mucosal Barrier Status, and Flesh Quality of Juvenile Barramundi, *Lates calcarifer* (Bloch, 1790). Biology (Basel) 10, 505. <https://doi.org/10.3390/biology10060505>
- Hossain, Md.S., Small, B.C., Hardy, R., 2023. Insect lipid in fish nutrition: Recent knowledge and future application in aquaculture. Rev. Aquac. 15, 1664–1685. <https://doi.org/10.1111/raq.12810>
- Joseph, J.D., Ackman, R.G., 1992. Capillary Column Gas Chromatographic Method for Analysis of Encapsulated Fish Oils and Fish Oil Ethyl Esters: Collaborative Study. J. AOAC Int. 75, 488–506. <https://doi.org/10.1093/jaoac/75.3.488>
- Li, S., Ji, H., Zhang, B., Tian, J., Zhou, J., Yu, H., 2016. Influence of black soldier fly (*Hermetia illucens*) larvae oil on growth performance, body composition, tissue fatty acid composition and lipid deposition in juvenile Jian carp (*Cyprinus carpio* var. Jian). Aquaculture 465, 43–52. <https://doi.org/10.1016/J.AQUACULTURE.2016.08.020>
- Li, S., Ji, H., Zhang, B., Tian, J., Zhou, J., Yu, H., 2016. Influence of black soldier fly (*Hermetia illucens*) larvae oil on growth performance, body composition, tissue fatty acid composition and lipid deposition in juvenile Jian carp (*Cyprinus carpio* var. Jian). Aquaculture 465, 43–52. <https://doi.org/10.1016/J.AQUACULTURE.2016.08.020>
- Lima, J. de F., Montagner, D., Duarte, S.S., Yoshioka, E.T.O., Dias, M.K.R., Tavares-Dias, M., 2019. Recirculating system using biological aerated filters on tambaqui fingerling farming. Pesqui. Agropecu. Bras. 54. <https://doi.org/10.1590/s1678-3921.pab2019.v54.00294>
- Liu, Y., Yan, Y., Han, Z., Zheng, Y., Wang, X., Zhang, M., Li, H., Xu, J., Chen, X., Ding, Z., Cheng, H., 2022. Comparative effects of dietary soybean oil and fish oil on the growth performance, fatty acid composition and lipid metabolic signaling of grass carp, *Ctenopharyngodon idella*. Aquac. Rep. 22, 101002. <https://doi.org/10.1016/J.AQREP.2021.101002>
- Lu, S., Taethaisong, N., Meethip, W., Surakhunthod, J., Sinpru, B., Sroichak, T., Archa, P., Thongpea, S., Paengkoum, S., Purba, R.A.P., Paengkoum, P., 2022. Nutritional

- Composition of Black Soldier Fly Larvae (*Hermetia illucens* L.) and Its Potential Uses as Alternative Protein Sources in Animal Diets: A Review. *Insects* 13, 831. <https://doi.org/10.3390/insects13090831>
- Maldonado-Othón, C.A., De La Re-Vega, E., Perez-Velazquez, M., González-Félix, M.L., 2022. Replacement of fish oil by camelina and black soldier fly larvae oils in diets for juvenile *Totoaba macdonaldi* and their effect on growth, fatty acid profile, and gene expression of pancreatic lipases. *Aquaculture* 552, 737985. <https://doi.org/10.1016/J.AQUACULTURE.2022.737985>
- Moutinho, S., Oliva-Teles, A., Pulido-Rodríguez, L., Magalhães, R., Monroig, Ó., Parisi, G., Peres, H., 2023. Black soldier fly larvae oil as an alternative lipid source in diets for gilthead seabream (*Sparus aurata*) juveniles. *Aquaculture* 574, 739705. <https://doi.org/10.1016/J.AQUACULTURE.2023.739705>
- Moutinho, S., Oliva-Teles, A., Pulido-Rodríguez, L., Parisi, G., Magalhães, R., Monroig, Ó., Peres, H., 2024. Effects of black soldier fly (*Hermetia illucens*) larvae oil on fillet quality and nutritional traits of gilthead seabream. *Aquaculture* 579, 740219. <https://doi.org/10.1016/J.AQUACULTURE.2023.740219>
- Mu, H., Shen, H., Liu, J., Xie, F., Zhang, W., Mai, K., 2018. High levels of dietary soybean oil depresses the growth and anti-oxidative capacity and induces inflammatory response in large yellow croaker *Larimichthys crocea*. *Fish Shellfish Immunol.* 77, 465–473. <https://doi.org/10.1016/J.FSI.2018.04.017>
- Nogales-Mérida, S., Martínez-Llorens, S., Moñino, A. V., Jover Cerdá, M., Tomás-Vidal, A., 2017. Fish oil substitution by soybean oil in Sharpsnout seabream *Diplodus puntazzo*: Performance, fatty acid profile, and liver histology. *Journal of Applied Aquaculture* 29, 46–61. <https://doi.org/10.1080/10454438.2016.1274933>
- Ordoñez, B.M., Santana, T.M., Carneiro, D.P., Santos, D.K.M., Parra, G.A.P., Moreno, L.C., Teixeira Filho, N.P., Aguilar, F.A., Yamamoto, F.Y., Gonçalves, L.U., 2022. Whole Black Soldier Fly Larvae (*Hermetia illucens*) as Dietary Replacement of Extruded Feed for Tambaqui (*Colossoma macropomum*) Juveniles. *Aquaculture Journal* 2, 246–256. <https://doi.org/10.3390/aquacj2040014>
- Peixe BR. Anuário Peixe BR da Piscicultura Brasileira, 2024. Peixe BR. 2024. URL <https://www.peixebr.com.br/> (accessed 24 October 2024).
- Quang Tran, H., Van Doan, H., Stejskal, V., 2022. Environmental consequences of using insect meals as an ingredient in aquafeeds: A systematic view. *Rev. Aquac.* 14, 237–251. <https://doi.org/10.1111/raq.12595>

- Rodrigues, A.P.O., Freitas, L.E.L. de, Maciel-Honda, P.O., Lima, A.F., Lima, L.K.F. de, 2024. Feeding rate and feeding frequency during the grow-out phase of tambaqui (*Colossoma macropomum*) in earthen ponds. *Aquac. Rep.* 35, 102000. <https://doi.org/10.1016/J.AQREP.2024.102000>
- Santos, O.O., Montanher, P.F., Bonafé, E.G., Do Prado, I.N., Maruyama, S.A., Matsushita, M., Visentainer, J. V., 2014. A simple, fast and efficient method for transesterification of fatty acids in foods assisted by ultrasound energy. *J. Braz. Chem. Soc.* 25, 1712–1719. <https://doi.org/10.5935/0103-5053.20140166>
- Schönfeld, P., Wojtczak, L., 2016. Short- and medium-chain fatty acids in energy metabolism: the cellular perspective. *J. Lipid Res.* 57, 943–954. <https://doi.org/10.1194/jlr.R067629>
- Seibel, H., Baßmann, B., Rebl, A., 2021. Blood Will Tell: What Hematological Analyses Can Reveal About Fish Welfare. *Front. Vet. Sci.* 8. <https://doi.org/10.3389/fvets.2021.616955>
- Smetana, S., Schmitt, E., Mathys, A., 2019. Sustainable use of *Hermetia illucens* insect biomass for feed and food: Attributional and consequential life cycle assessment. *Resour. Conserv. Recycl.* 144, 285–296. <https://doi.org/10.1016/J.RESCONREC.2019.01.042>
- Sprangers, T., Michiels, J., Vrancx, J., Owyn, A., Eeckhout, M., De Clercq, P., De Smet, S., 2018. Gut antimicrobial effects and nutritional value of black soldier fly (*Hermetia illucens* L.) prepupae for weaned piglets. *Anim. Feed Sci. Technol.* 235, 33–42. <https://doi.org/10.1016/J.ANIFEEDSCI.2017.08.012>
- St-Hilaire, S., Cranfill, K., McGuire, M.A., Mosley, E.E., Tomberlin, J.K., Newton, L., Sealey, W., Sheppard, C., Irving, S., 2007. Fish Offal Recycling by the Black Soldier Fly Produces a Foodstuff High in Omega-3 Fatty Acids. *J. World Aquac. Soc.* 38, 309–313. <https://doi.org/10.1111/j.1749-7345.2007.00101.x>
- Sudha, C., Ahilan, B., Felix, N., Uma, A., Chidambaram, P., Prabu, E., 2022. Replacement of fish oil with black soldier fly larvae oil and vegetable oils: Effects of growth, whole-body fatty acid profile, digestive enzyme activity, haemato-biochemical responses and muscle growth-related gene expression of juvenile striped catfish, *Pangasianodon hypophthalmus*. *Aquac. Res.* 53, 3097–3111. <https://doi.org/10.1111/are.15823>
- Tavares-Dias, M., Ishikawa, M. M., Martins, M. L., Satake, F., Hisano, H., de Pádua, S. B., de Sá, A. R. S. 2009. Hematologia: ferramenta para o monitoramento do estado

- de saúde de peixes em cultivo. In: Saran Net, A.; Mariano, W. dos S.; Sória, SFP (Org.). Tópicos especiais em saúde e criação animal. São Carlos, SP: Pedro & João Editores, p. 43-80.
- Tocher, D.R., 2003. Metabolism and Functions of Lipids and Fatty Acids in Teleost Fish. *Reviews in Fisheries Science* 11, 107–184. <https://doi.org/10.1080/713610925>
- Tocher, D.R., 2010. Fatty acid requirements in the ontogeny of marine and freshwater fish. *Aquac. Res.* 41, 717–732. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2109.2008.02150.x>
- Van Huis, A., 2013. Potential of Insects as Food and Feed in Assuring Food Security. *Annu. Rev. Entomol.* 58, 563–583. <https://doi.org/10.1146/annurev-ento-120811-153704>
- Visentainer, J. V. 2012. Analytical aspects of the flame ionization detector response of fatty acid esters in biodiesels and foods. *Química Nova*, 35, 274-279. <https://doi.org/10.1590/S0100-40422012000200008>
- WHO. World Health Organization, 2015. Population nutrient intake goals for preventing diet-related chronic diseases. https://www.who.int/nutrition/topics/5_population_nutrient/en/index13.html/ (accessed 24 January 2024).
- Wintrobe, M.M., 1993. Variations in the size and hemoglobin content of erythrocytes in the blood of various vertebrates. *Folia haematologica*. 51(32). 32-49.
- Xu, D., Xiang, X., Li, X., Xu, N., Zhang, W., Mai, K., Ai, Q., 2022. Effects of Dietary Vegetable Oils Replacing Fish Oil on Fatty Acid Composition, Lipid Metabolism and Inflammatory Response in Adipose Tissue of Large Yellow Croaker (*Larimichthys crocea*). *J. Mar. Sci. Eng.* 10, 1760. <https://doi.org/10.3390/jmse10111760>
- Xu, X., Ji, H., Belghit, I., Liland, N.S., Wu, W., Li, X., 2021. Effects of black soldier fly oil rich in n-3 HUFA on growth performance, metabolism and health response of juvenile mirror carp (*Cyprinus carpio* var. *specularis*). *Aquaculture* 533, 736144. <https://doi.org/10.1016/J.AQUACULTURE.2020.736144>
- Xu, X., Ji, H., Belghit, I., Sun, J., 2020. Black soldier fly larvae as a better lipid source than yellow mealworm or silkworm oils for juvenile mirror carp (*Cyprinus carpio* var. *specularis*). *Aquaculture* 527, 735453. <https://doi.org/10.1016/J.AQUACULTURE.2020.735453>
- Yuan, H., Hu, J., Li, X., Sun, Q., Tan, X., You, C., Dong, Y., Huang, Y., Zhou, M., 2024. Dietary black soldier fly oil enhances growth performance, flesh quality, and health

status of largemouth bass (*Micropterus salmoides*). *Animal Nutrition* 18, 234–245.
<https://doi.org/10.1016/J.ANINU.2024.03.019>

CAPÍTULO III - FARINHA DESENGORDURADA E ÓLEO DE LARVA DA MOSCA SOLDADO-NEGRA EM DIETAS PARA TAMBAQUI (*Colossoma macropomum*): DESEMPENHO ZOOTÉCNICO, PARÂMETROS DE SAÚDE E COMPOSIÇÃO DE ÁCIDOS GRAXOS DO MÚSCULO

Larissa Salgado da Cunha¹, Thiago Macedo Santana², Ana Beatriz de Sena Farias³, Fernando Yugo Yamamoto^{4,5}, Ligia Uribe Gonçalves⁶

¹Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal e Recursos Pesqueiros, Universidade Federal do Amazonas, AM, Brasil

²Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Rondônia, RO, Brasil

³Centro de Pesquisa em Aquicultura, Universidade Estadual de Kentucky, Frankfort, KY 40601, EUA

⁴Centro Nacional Thad Cochran de Aquicultura de Águas Quentes, Universidade Estadual do Mississippi, MS, EUA.

⁵Departamento de Vida Selvagem, Pesca e Aquicultura, Universidade Estadual do Mississippi, MS, EUA

⁶Departamento de Zootecnia, Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Universidade de São Paulo, SP, Brasil.

*Autor correspondente: telefone: +55-19-3565-4159; e-mail: ligia.uribe@usp.br

Resumo

As larvas da mosca-soldado-negra (MSN, *Hermetia illucens*) destacam-se como um ingrediente promissor para a formulação de dietas aquícolas devido ao seu alto teor de proteína e lipídeos. Este estudo avaliou a inclusão da farinha desengordurada e óleo de larva da MSN em dietas para juvenis de tambaqui. Três dietas experimentais foram formuladas: 1) VEG, composta por ingredientes de origem vegetal; 2) MIX, composta por ingredientes de origem vegetal e animal, sem inclusão de insetos; e 3) MSN, composta por ingredientes vegetais, farinha desengordurada e óleo de larva da MSN. Um total de 255 juvenis de tambaqui ($90 \pm 1,8$ g), foram distribuídos em 15 tanques (800 L; n=5; 17 peixes/tanque) em um sistema de recirculação de água, e foram alimentados com as dietas experimentais durante 100 dias. Os peixes alimentados com a dieta MSN apresentaram desempenho zootécnico semelhante aos peixes alimentados com as dietas VEG e MIX, indicando que a inclusão da farinha desengordurada e óleo de larva da MSN não comprometeu o crescimento dos peixes. No entanto, os peixes alimentados com a dieta MSN apresentaram aumento da taxa de retenção de energia, índice hepatossomático e níveis de colesterol, indicando alterações no metabolismo lipídico. Esses resultados sugerem que o excesso de ácidos graxos saturados de cadeia média, como o ácido láurico (C12:0), pode ter sido direcionado para reservas lipídicas hepáticas e para a síntese de colesterol. O perfil de ácidos graxos do filé refletiu diretamente o da dieta. Peixes alimentados com a dieta MSN apresentaram maior concentração de ácidos graxos

saturados e redução de ômega-3 e ômega-6 no músculo. Conclui-se que, embora a inclusão da farinha desengordurada e óleo de larva da MSN não comprometa o desempenho zootécnico ou a homeostase fisiológica de juvenis de tambaqui, ajustes no substrato de criação das larvas são necessários para melhorar o valor nutracêutico dos filés.

Palavras-chave: *Hermetia illucens*, ingredientes alternativos, metabolismo lipídico, nutrição de peixes.

11. Introdução

O uso intensivo de ingredientes convencionais tem gerado preocupações relacionadas à competição com recursos terrestres e às suas implicações ambientais. Nesse contexto, para o desenvolvimento sustentável da aquicultura, tornou-se necessário encontrar ingredientes alternativos que apresentem alta qualidade nutricional e menor impacto ambiental (Naylor et al., 2021).

Entre as alternativas promissoras, os insetos vêm ganhando destaque devido às suas vantagens ambientais, produtivas e econômicas quando comparados aos ingredientes convencionais utilizados, principalmente pela capacidade de consumir resíduos orgânicos e convertê-los em biomassa de alto valor nutricional (Xu et al., 2020).

As larvas da mosca soldado-negra (MSN, *Hermetia illucens*) vêm ganhando destaque como ingrediente sustentável, com grande potencial para inclusão em rações aquícolas. Nutricionalmente a farinha desengordurada de larva da MSN, obtida após a extração do óleo por prensagem mecânica ou por solventes orgânicos (Fasakin et al., 2003; Kroeckel et al., 2013), pode apresentar teor proteico de até 65,5 %, além de um perfil de aminoácidos comparável ao da farinha de peixe (Lu et al., 2022). Já o óleo extraído durante o processo de desengorduramento é rico em ácidos graxos de cadeia média, sendo o ácido láurico (C12:0) responsável por 52% da fração lipídica (Ewald et al., 2020). Entretanto, a composição nutricional das larvas da MSN pode variar em função do método de processo e do substrato utilizado na criação das larvas.

Assim, a utilização da farinha desengordurada com a inclusão controlada de óleo de larva da MSN segue uma lógica já consolidada em outras cadeias produtivas, como as da farinha de peixe ou do farelo de soja, nos quais o óleo é separado e posteriormente dosado na formulação das dietas. Essa estratégia confere maior flexibilidade tecnológica, padronização dos ingredientes e maior eficiência na formulação de rações balanceadas.

Com base no seu perfil nutricional, a farinha desengordurada de larva da MSN tem sido avaliada em rações para espécies de peixes de água doce, como o tambaqui

(*Colossoma macropomum*, Dos Santos et al., 2022) e a tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*, L., Limbu et al., 2022; Maulu et al., 2025). Da mesma forma, o óleo de larva da MSN foi testado como substituto de fontes lipídicas convencionais em dietas para bagre híbrido (*Ictalurus punctatus* x *I. furcatus*, Farias et al., 2025) e para dourada (*Sparus aurata*, Moutinho et al., 2023). Esses estudos demonstram efeitos positivos sobre o crescimento, eficiência alimentar, saúde dos peixes e à composição dos ácidos graxos no músculo.

No entanto, são poucos os estudos que avaliaram a inclusão combinada da farinha desengordurada e do óleo de larva da MSN. No estudo conduzido por Hender et al. (2021) com barramundi (*Lates calcarifer*) a substituição combinada de 30% da farinha e do óleo de peixe por farinha parcialmente desengordurada e óleo de larva da MSN não comprometeu o desempenho zootécnico, a saúde ou a qualidade da carne. Apesar dos resultados positivos, ainda não existem estudos avaliando a utilização conjunta desses ingredientes em dietas para peixes onívoros de água doce, como o tambaqui (*Colossoma macropomum*), espécie nativa mais produzida no Brasil, cuja produção atingiu 258.705 toneladas em 2024 (Peixe BR, 2025). Além disso, suas características produtivas que tornam essa espécie estratégica para a piscicultura no estado do Amazonas (Hilsdorf et al., 2022).

Diante disso, o presente estudo teve como objetivo avaliar os efeitos da inclusão da farinha desengordurada e do óleo de larva da MSN em dietas para juvenis de tambaqui sobre o desempenho zootécnico, os parâmetros hematológicos e bioquímicos e a qualidade nutricional do filé.

12. Material e métodos

Este experimento foi conduzido na Estação Experimental de Aquicultura da Coordenação de Tecnologia e Inovação (COTEI/INPA), Amazonas, Brasil. E aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa com Animais do Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia (INPA; 115/2022).

12.1 Dietas experimentais

A farinha desengordurada e o óleo de larva da MSN foram fornecidos pela empresa Cyns (Piracicaba, SP, Brasil), as larvas foram criadas em resíduos de fermentação de bagaço de arroz, milho e malte. Três dietas isonitrogenadas (28,09% de proteína bruta) e isoenergéticas (14,58 MJ kg⁻¹) (Guimarães e Martins, 2015), foram

formuladas com diferentes fontes de ingredientes: ingredientes de origem vegetal (VEG), ingredientes de origem vegetal e animal, exceto inseto (MIX) e ingredientes de origem vegetal combinados com farinha desengordurada e óleo de larva da MSN (Tabela 1). Os ingredientes foram previamente moídos, pesados, misturados e extrusados em extrusora de rosca única (INBRAMAQ, Modelo MX-80, São Paulo, SP, Brazil), equipada com matriz de 3,0 mm. Após a extrusão, os pellets foram secos em estufa com circulação de ar a 55 °C até atingir umidade inferior a 10% e armazenados em ambiente climatizado a 16 °C.

Tabela 1. Formulação das rações experimentais, composição centesimal e perfil de ácidos graxos dos óleos e dietas experimentais.

Ingredientes g/100 g	Óleos		Dietas		
	OS	OLMSN	VEG	MIX	MSN
Milho	-	-	31,5	40	39,7
FDLMSN	-	-	0	0	30
Farelo de soja	-	-	43	10	12
Farelo de trigo	-	-	15	14,8	12
Farinha de carne e ossos	-	-	0	12	0
Farinha de vísceras de aves	-	-	0	17	0
Óleo de soja	-	-	8	4	0
OLMSN	-	-	0	0	3,8
Premix ^a	-	-	1	1	1
Fosfato bicálcico	-	-	0,5	0,5	0,5
Lisina	-	-	0,5	0,2	0,5
DL-metionina	-	-	0,3	0,3	0,3
Sal	-	-	0,2	0,2	0,2
BHT ^b	-	-	0,02	0,02	0,02
<i>Composição aproximada com base na matéria seca (%)</i>					
Matéria seca	-	-	94,5	92,8	95,1
Proteína bruta	-	-	28,2	29,1	27
Proteína corrigida ^c	-	-	25,3	26,5	24,2
Lipídios totais	99,6	100	10,6	10,3	10,2
Cinzas	-	-	4,4	9,1	7,5
Fibra	-	-	4,7	3,3	3,2
Energia bruta (MJ Kg ⁻¹)	39	38,1	14,5	15,3	14,01
<i>Ácidos graxos (% dos lipídios totais)</i>					
SFA ^d	15	65,1	15,8	24,6	45,4
12:0	0,24	36,8	0,03	0,07	18,5
14:0	0,12	8,57	0,09	0,52	4,91
16:0	11,0	15,5	11,5	15,9	15,9
18:0	2,73	3,92	3,74	7,88	5,34

MUFA ^e	27,4	20,2	27,4	33,4	32,5
16:1n-7	0,10	2,51	0,12	1,38	1,59
18:1n-9	26,2	16,5	25,9	30,6	29,3
18:1n-7	1,01	0,86	1,31	1,29	1,36
PUFA ^f	57,7	14,7	56,7	42	22,1
18:2n-6	52,6	13,7	51,7	38,6	21,1
18:3n-3	4,66	0,88	4,92	3,13	0,77
20:5n-3	n.d	0,03	0,03	0,02	0,05
22:6n-3	n.d	0,04	0,01	0,02	0,04
n-3	4,68	0,97	4,96	3,23	0,89
n-6	53	13,7	51,8	38,8	21,2
n-3:n-6	0,09	0,07	0,10	0,08	0,04

Abreviações: OS: óleo de soja; OLMSN: óleo de larvas da mosca soldado-negra; FDLMSN: farinha desengordurada de larva da mosca soldado-negra; n.d.: não detectável.

^aSuplemento vitamínico mineral para peixes, valores por kg de ração: ácido fólico (250 mg), ácido pantotênico (5000 mg), antioxidante (600 mg), biotina (125 mg), cobalto (25 mg), cobre (2000 mg), ferro (13,820 mg), iodo (100 mg), manganês (3750 mg), niacina (5000 mg), selênio (75 mg), vitamina A (1.000.000 UI), vitamina B1 (1250 mg), vitamina B12 (3750 mg), vitamina B2 (2500 mg), vitamina B6 (2485 mg), vitamina C (28.000 mg), vitamina D3 (500.000 UI), vitamina E (28.000 UI), vitamina K3 (500 mg), zinco (17.500 mg).

^bButy-lhydroxy-toluene.

^cProteína bruta corrigida foi calculada aplicando o fator de conversão de nitrogênio em proteína 5,6 (Janssen et al., 2017).

^dÁcidos graxos saturados totais incluídos: 20:0, 21:0, 22:0 e 24:0.

^eÁcidos graxos monoinsaturados totais incluídos 16:1n-9.

^fÁcidos graxos poliinsaturados totais incluídos 18:3n-6, 22:4n-3 e 22:4n-6.

12.2 Teste de alimentação

Para este estudo, 255 juvenis de tambaqui ($90 \pm 1,8$ g; $17,8 \pm 0,5$ cm) foram distribuídos em 15 tanques de polietileno (800 L), em delineamento inteiramente casualizado ($n = 5$; 17 peixes/tanque). Os peixes foram mantidos em um sistema de recirculação de água com fitorremediação, aeração contínua e fotoperíodo natural (12 horas de luz/12 horas de escuro). Os peixes foram alimentados duas vezes ao dia (9h e 15h), até a saciedade aparente durante 100 dias.

12.3 Parâmetros de qualidade da água

Os parâmetros de qualidade da água (temperatura $29,34 \pm 0,37$ °C; oxigênio dissolvido $5,49 \pm 0,10$ mg L⁻¹; pH $6,19 \pm 0,04$) foram monitorados diariamente utilizando uma sonda multiparâmetro (HI98196; HANNA®). O nitrogênio amoniacal total ($0,43 \pm 0,22$ mg L⁻¹) e o nitrogênio nítrico total ($0,04 \pm 0,03$ mg L⁻¹) foram monitorados semanalmente por meio de kits colorimétricos (Alfakit AT 101; Alfakit, Florianópolis, SC, Brasil). Ao longo do experimento, todos os parâmetros permaneceram dentro dos níveis aceitáveis para a produção de juvenis de tambaqui (Lima et al., 2019).

12.4 Desempenho zootécnico

O comprimento e o peso individual de peixe foram registrados no início e ao final do experimento. Ao término do período experimental, os peixes foram submetidos a jejum de 24 h e anestesiados por imersão em solução de benzocaína (100 mg L⁻¹).

Os dados de desempenho produtivo foram obtidos a partir dos seguintes cálculos:

- Ganho de peso (GP, g) = peso final – peso inicial;
- Consumo de ração aparente (CRA, g) = consumo de ração / número final de peixes;
- Conversão alimentar aparente (CAA) = consumo de ração / ganho de peso;
- Taxa de crescimento relativo (TCR, %/dia) = $(e^g - 1) \times 100$, onde “e” é a constante de Euler e $g = [\ln (\text{peso final}) - \ln (\text{peso inicial})] / (\text{número de dias experimentais})$;
- Taxa de eficiência proteica (TEP, %) = ganho em peso / consumo de proteína $\times 100$;
- Taxa de eficiência energética (TEE, %) = ganho em peso / consumo de energia $\times 100$;
- Taxa de retenção proteica (TRP, %) = $(\text{peso final} \times \text{proteína corporal final}) - (\text{peso inicial} \times \text{proteína corporal inicial}) / (\text{ingestão total de proteína}) \times 100$;
- Taxa de retenção energética (TRE, %) = $(\text{peso final} \times \text{energia corporal final}) - (\text{peso inicial} \times \text{energia corporal inicial}) / (\text{ingestão total de energia}) \times 100$;
- Sobrevivência (%) = $(\text{número de peixe final} / \text{número de peixe inicial}) \times 100$.

12.5 Índices somáticos

Ao final do experimento de alimentação, cinco peixes de cada unidade experimental foram eutanasiados por rompimento da medula espinhal. Em seguida, os peixes foram dissecados, e as vísceras, o fígado e a gordura visceral foram coletados e pesados para o cálculo dos índices somáticos:

- Índice víscero-somático (IVS, %) = $(\text{peso das vísceras} / \text{peso do peixe}) \times 100$;
- Índice hepato-somático (IHS, %) = $(\text{peso do fígado} / \text{peso do peixe}) \times 100$;
- Índice gordura víscero-somático (IGVS, %) = $(\text{peso da gordura visceral} / \text{peso do peixe}) \times 100$.

12.6 Parâmetros hematológicos e bioquímicos

Cinco peixes por tanque foram anestesiados e amostras de sangue foram coletadas da veia caudal utilizando seringas de 3 mL com EDTA a 5% (ácido etilenodiamino tetraacético). O nível de glicose (GC) no sangue total foi determinado imediatamente após a coleta, utilizando um glicosímetro portátil (Accumed-Glicomed®, Rio de Janeiro, Brasil). A concentração de hemoglobina (HB) foi determinada pelo método da cianometa-hemoglobina, utilizando kit comercial (Labtest®, Lagoa Santa, MG, Brasil). O hematócrito (HT) foi determinado pelo método do micro-hematócrito (Goldenfarb et al., 1971). A contagem de eritrócitos ($\text{RBC} \times 10^6 \text{ células } \mu\text{L}^{-1}$) foi realizada em hemocítmetro (10 μL de sangue diluídos em 2 mL de citrato-formaldeído).

As constantes corpusculares foram determinadas pelo método de Wintrobe (1933), por meio dos seguintes cálculos:

- Concentração de hemoglobina corpuscular média (CHCM, %) = $[\text{hemoglobina}] \times 100 / \text{hematócrito}$;
- Volume corpuscular médio (VCM, fl) = $\text{hematócrito} \times 10 / \text{RBC}$;
- Hemoglobina corpuscular média (HCM, g dL^{-1}) = $[\text{hemoglobina}] \times 10 / \text{RBC}$.

A contagem total e diferencial de leucócitos foi realizada pelo método proposto por Ranzani-Paiva et al. (2013): Leucócitos totais (μL) = [(número de leucócitos contados na extensão x número de eritrócitos em câmara de Neubauer/2000)]. Para a contagem diferencial, foram contadas 200 células, determinando-se o percentual e o valor absoluto de cada tipo celular.

As amostras de plasma foram obtidas após centrifugação do sangue total ($3.000 \times \text{g}$ por 10 min a 4°C). Essas amostras foram utilizadas para análise das seguintes variáveis bioquímicas, de acordo com os protocolos sugeridos pelos fabricantes: proteína total (TP), albumina (AB), globulina (GB), triglicerídeos (TG) (In Vitro Diagnostic, Itabira, MG, Brasil), e colesterol (CL) (Labtest®, Lagoa Santa, MG, Brasil). As leituras de absorvância foram realizadas em espectrofotômetro (HACH, modelo DR 6000, Loveland, CO, EUA).

12.7 Composição dos ácidos graxos no músculo

Os lipídios totais dos óleos e das dietas experimentais foram extraídos diretamente das amostras. Para os peixes, cinco indivíduos por unidade experimental foram filetados, com remoção da pele para obtenção do tecido muscular dorsal direito, do qual os lipídios

foram extraídos. Todas as extrações lipídicas foram realizadas pelo método de Bligh e Dyer (1959). As análises dos ésteres metílicos de ácidos graxos (FAME) foram realizadas usando os métodos descritos por Santos-Júnior et al. (2014). Os FAME foram separados por cromatografia gasosa usando um cromatógrafo a gás Thermo Scientific Trace Ultra (Thermo Scientific, Waltham, MA, EUA) equipado com um detector de ionização de chama (FID) e coluna capilar de sílica fundida (100 m × 0,25 mm di., 0,25 µm cianopropil CP-7420 Select Fame). Os parâmetros operacionais foram os seguintes: detector de temperatura, 240 °C; temperatura da porta de injeção, 230 °C; temperatura da coluna, 165 °C por 18 min, programada para aumentar em 4 °C/min até 235 °C, com um tempo final de retenção de 14,5 min; O gás de arraste foi hidrogênio a 1,2 mL/min; nitrogênio foi utilizado como gás de reposição a 30 mL/min; injeção dividida na proporção de 1:80. Para a identificação, os tempos de retenção dos ácidos graxos foram comparados aos de FAMES padrão (Sigma, St. Louis, MO, EUA). Os tempos de retenção e as porcentagens da área do pico foram calculados automaticamente pelo software ChromQuest 5.0. A quantificação dos ácidos graxos (porcentagem de lipídios totais) foi realizada utilizando éster metílico do ácido tricosanoico (23:0) (Sigma-Aldrich, EUA) como padrão interno (Joseph e Ackman, 1992). Os valores teóricos do fator de correção do FID foram utilizados para obter os valores de concentração de ácidos graxos em porcentagem de lipídios totais (Visentainer, 2012), utilizando a equação abaixo:

$$FA = [(AX \times WIS \times CFX) / (AIS \times CFAE \times WX)]$$

Em que FA é o ácido graxo em porcentagem de lipídios totais, AX é a área do pico (ácidos graxos), WIS é o peso padrão (%), CFX é o fator de correção teórico, AIS é a área do pico padrão (23:0), CFAE é o fator de conversão necessário para expressar os resultados em % de ácido graxo em vez de éster metílico e WX é o peso da amostra (g).

12.8 Análises estatísticas

Os dados foram testados quanto à normalidade (Shapiro-Wilk) e homogeneidade de variâncias (Levene). Para as variáveis de desempenho zootécnico, índices somáticos, parâmetros hematológicos e bioquímicos, que atenderam aos pressupostos paramétricos, foi aplicada ANOVA unidirecional seguida de teste de Tukey. Para as variáveis não paramétricas como os ácidos graxos, foi utilizado o teste de Kruskal-Wallis seguido de teste de comparações múltiplas de Dunn. Em ambos os casos, adotou-se um nível de significância de 5%.

13. Resultados

13.1 Desempenho zootécnico e índices somáticos

Durante os 100 dias de alimentação, a sobrevivência dos juvenis de tambaqui foi superior a 97,6%, e não foram observadas diferenças significativas na maioria dos parâmetros de desempenho zootécnico e índices somáticos entre os grupos experimentais (Tabela 2). Entre as variáveis avaliadas, apenas a taxa de retenção energética (TRE) e o índice hepatossomático (IHS) apresentaram diferenças significativas entre os grupos experimentais ($p < 0,05$), com valores superiores nos peixes alimentados com a dieta MSN em relação aos grupos VEG e MIX.

Tabela 2. Desempenho zootécnico e índices somáticos de juvenis de tambaqui, *Colossoma macropomum*, alimentados com as dietas experimentais.

Variáveis	Dietas			Estatística
	VEG	MIX	MSN	P-valor
PF (g)	340,3	349,7	349,4	0,91
GP(g)	249,5	262,6	259,2	0,87
CRA (g)	372	372,4	406,1	0,31
CAA	1,5	1,43	1,56	0,16
TCR (%)	1,34	1,4	1,37	0,7
TEP (%)	2,36	2,4	2,36	0,89
TEE (%)	0,194	0,192	0,19	0,88
TRP (%)	36,7	33,5	40,9	0,44
TRE (%)	7,67 ^b	6,44 ^{ab}	9,00 ^a	0,007
S (%)	100	100	97,6	0,44
IVS (%)	7,81	7,87	8,34	0,27
IHS (%)	1,56 ^b	1,69 ^{ab}	1,88 ^a	0,005
IGVS (%)	3,21	3,27	3,43	0,73

Abreviações: PF: peso final; GP: ganho de peso; CRA: consumo de ração aparente; CAA: conversão alimentar aparente; TCR: taxa de crescimento relativo; TEP: taxa de eficiência proteica; TEE: Taxa de eficiência energética; TRP: taxa de retenção proteica; TRE: taxa de retenção energética; S: sobrevivência; IVS: índice víscero-somático; IHS: índice hepatossomático; IGVS: índice de gordura víscero-somática. Os dados foram analisados por meio de ANOVA unidirecional. Médias seguidas de letras diferentes na mesma linha diferem significativamente pelo teste de Tukey ($P < 0,05$). PSE: Erro padrão da média. Valores sem letras não apresentaram diferenças significativas.

13.2 Parâmetros hematológicos e bioquímicos

A análise hematológica mostra que a maioria dos parâmetros não foi influenciada pelas dietas experimentais ($p > 0,05$). Entretanto, diferenças significativas foram observadas para alguns parâmetros. O HT e o VCM foram significativamente maiores ($p < 0,05$) nos peixes alimentados com as dietas MSN e MIX em relação aos peixes alimentados com a dieta VEG. Em contraste, a CHCM foi superior ($p < 0,05$) nos peixes

alimentados com a dieta VEG em relação aos peixes alimentados com a dieta MSN e MIX. Para a contagem de TB, os peixes alimentados com a dieta MIX apresentaram valores significativamente mais elevados ($p < 0,05$) do que aqueles alimentados com as dietas MSN e VEG, que não diferiram entre si (Tabela 3).

Tabela 3. Parâmetros hematológicos de juvenis de tambaqui, *Colossoma macropomum*, alimentados com as dietas experimentais.

Variáveis	Dietas			Estatística	
	VEG	MIX	MSN	PSE	P-valor
Ht (%)	33,4 ^b	46,2 ^a	44,4 ^a	2,05	0,003
HB (g/dL ⁻¹)	7,79	8,87	7,88	0,37	0,13
ET (10 ⁶ µL ⁻¹)	1,18	1,21	1,29	0,06	0,41
VCM (fL)	285 ^b	386,9 ^a	349,4 ^a	16,1	0,005
HCM (pg)	66,4	75,3	61,6	3,4	0,052
CHCM (g dL ⁻¹)	23,5 ^a	19,4 ^b	17,8 ^b	0,8	0,003
LT (10 ³ µL ⁻¹)	168,5	156,6	164,6	5	0,28
LF (10 ³ µL ⁻¹)	137,4	130,5	134,6	4,2	0,52
MO (10 ³ µL ⁻¹)	26,6	18,3	22,3	3,1	0,21
NE (10 ³ µL ⁻¹)	4,25	7,33	7,16	1,15	0,16
ES (10 ³ µL ⁻¹)	0,08	0,08	0,5	0,14	0,1
TB (10 ³ µL ⁻¹)	43,8 ^b	52,1 ^a	44,5 ^b	1,5	0,006

Abreviações: Ht: hematócrito; HB: hemoglobina; ET: eritrócitos; VCM: volume corpuscular médio; HCM: hemoglobina corpuscular média; CHCM: concentração de hemoglobina corpuscular média; LT: leucócitos totais; LF: linfócitos; MO: monócitos; NE: neutrófilos; ES: eosinófilos; TB: trombócitos. Os dados foram analisados por meio de ANOVA unidirecional. Médias seguidas de letras diferentes na mesma linha diferem significativamente pelo teste de Tukey ($P < 0,05$). PSE: Erro padrão da média. Valores sem letras não apresentaram diferenças significativas.

Os parâmetros bioquímicos plasmáticos não foram significativamente afetados pelas dietas experimentais ($p > 0,05$), com exceção da PT que apresentou valor significativamente maior nos peixes alimentados com a dieta MIX em relação aos peixes alimentados com as dietas MSN e VEG ($p < 0,05$). Além disso, o CL foi significativamente mais elevado nos peixes alimentados com a dieta MSN em relação aos peixes alimentados com as dietas MIX e VEG (Tabela 4).

Tabela 4. Parâmetros bioquímicos plasmáticos de juvenis de tambaqui, *Colossoma macropomum*, alimentados com as dietas.

Variáveis	Dietas			Estatística	
	VEG	MIX	MSN	PSE	P-valor
CG (mg/dL ⁻¹)	150,6	176,6	169,2	12,6	0,36
PT (g/dL ⁻¹)	4,17 ^{ab}	4,56 ^a	4,03 ^b	0,1	0,01
AB (g/dL ⁻¹)	1,46	1,57	1,41	0,07	0,3
GB (g/dL ⁻¹)	2,71	2,99	2,62	0,1	0,07

TG (mg/dL ⁻¹)	308,9	308,9	305,4	33,4	0,99
CL (mg/dL ⁻¹)	267,4 ^{ab}	222,1 ^b	316,3 ^a	19,9	0,02

Abreviações: GC: glicose; PT: proteína total; AB: albumina; GB: globulina; TG: triglicerídeo; CL: colesterol. Os dados foram analisados por meio de ANOVA unidirecional. Médias seguidas de letras diferentes na mesma linha diferem significativamente pelo teste de Tukey ($P < 0,05$). PSE: Erro padrão da média. Valores sem letras não apresentaram diferenças significativas.

13.3 Composição de ácidos graxos no músculo

A composição de ácidos graxos no músculo dos peixes indicou a predominância de ácidos graxos saturados (SFA) nos peixes alimentados com a dieta MSN. Entre os SFA, o ácido láurico (C12:0), mirístico (C14:0), palmítico (C16:0) e esteárico (C18:0) apresentaram maiores proporções nesse grupo. O C16:0 e C18:0 apresentaram valores significativamente superior nos peixes alimentados com as dietas MSN e MIX em comparação aos peixes alimentados com a dieta VEG.

Para os ácidos graxos monoinsaturados (MUFA), a maior concentração foi observada nos peixes alimentados com a dieta MIX, em relação aos peixes alimentados com as MSN e VEG, com destaque para o ácido oleico (18:1n-9). Os peixes alimentados com a dieta MSN apresentara maiores teores de ácido palmitoleico (16:1n-7) e ácido hipogeico (16:1n-9) em relação aos demais grupos experimentais.

Os peixes alimentados com a dieta VEG apresentaram maiores concentrações de ácidos graxos poliinsaturados (PUFA), incluindo os ácidos linoleico (LA, 18:2n-6) e linolênico (LNA, 18:3n-3), bem como maiores teores de ácidos graxos ômega-3 e ômega-6, em comparação aos peixes alimentados com as dietas MSN e MIX (Tabela 5).

Tabela 5. Perfil de ácidos graxos (% do total de lipídios) no músculo de juvenis de tambaqui, *Colossoma macropomum*, alimentados com as dietas experimentais.

Ácidos graxos	Dietas			Estatística	
	VEG	MIX	MSN	PSE	P-valor
SFA ^a	33,4 ^b	40,2 ^{ab}	51,8 ^a	0,6	0,002*
12:0	0,07 ^b	0,09 ^b	7,28 ^a	0,18	0,008*
14:0	0,67 ^b	1,04 ^{ab}	3,83 ^a	0,09	0,003*
16:0	20,7 ^b	24,7 ^a	26,3 ^a	0,5	<0,0001
18:0	10,8 ^b	13,2 ^a	13,0 ^a	0,2	<0,0001
MUFA ^b	33,8 ^b	37,4 ^a	35,6 ^{ab}	0,5	0,002
16:1n-7	1,60 ^b	2,39 ^{ab}	2,78 ^a	0,16	0,008*
18:1n-7	2,3	2,78	2,34	0,17	0,15
16:1n-9	0,22 ^b	0,26 ^{ab}	0,35 ^a	0,02	0,01
18:1n-9	29,7 ^b	31,9 ^a	30,1 ^b	0,4	0,007
PUFA ^c	32,7 ^a	23,3 ^{ab}	12,6 ^b	0,6	0,002*
18:2n-6	28,4 ^a	19,2 ^{ab}	10,3 ^b	0,5	0,002*
18:3n-3	1,89 ^a	1,03 ^b	0,31 ^c	0,09	<0,0001

20:5n-3	0,91	0,81	0,82	0,09	0,7
22:6n-3	0,53	0,45	0,38	0,13	0,75
n-3	3,85 ^a	2,7 ^b	1,85 ^b	0,28	0,001
n-6	28,9 ^a	19,6 ^{ab}	10,7 ^b	0,5	0,002*
n-3:n-6	0,13	0,14	0,17	0,01	0,11

^aÁcidos graxos saturados totais incluídos na proporção 20:0; 21:0; 22:0 e 24:0.

^bÁcidos graxos monoinsaturados totais.

^cÁcidos graxos poliinsaturados totais incluídos na proporção 18:3n-6; 22:4n-3 e 22:4n-6.

Os dados foram analisados pelo teste de Kruskal-Wallis seguido de teste de Dunn. Médias seguidas de letras diferentes na mesma linha diferem significativamente ($P < 0,05$) PSE: Erro padrão da média. Valores sem letras não apresentaram diferenças significativas.

14. Discussão

A inclusão combinada de farinha desengordurada e óleo de larva da MSN na dieta não comprometeu o desempenho zootécnico dos juvenis de tambaqui. O crescimento, o consumo e a conversão alimentar foram semelhantes entre os peixes dos três grupos experimentais, indicando adequada palatabilidade e aceitabilidade da dieta. Resultados semelhantes foram observados para barramundi (*Lates calcarifer*), alimentado com dieta contendo 30% da farinha parcialmente desengordurada e óleo de larva da MSN (Hender et al. 2021). Da mesma forma, quando incluído 30% da farinha desengordurada de larva da MSN em dieta para tambaqui (*Colossoma macropomum*, Dos Santos et al., 2022), bem como a substituição parcial do óleo de peixe por óleo de larva da MSN para bagre híbrido (*Ictalurus punctatus* × *I. furcatus*, Farias et al., 2025) e tilápia-do-nilo (*Oreochromis niloticus*, Goda et al., 2024).

Embora não tenham sido observadas diferenças no desempenho zootécnico entre os grupos experimentais, os peixes alimentados com a dieta contendo MSN apresentaram valores significativamente maiores de taxa de e IHS. Esses resultados podem indicar um possível desvio metabólico, no qual parte da energia retida não foi direcionada para o crescimento, mas sim para a deposição de reservas lipídicas. Esse efeito pode estar relacionado ao perfil de ácidos graxos do óleo de larva da MSN, que é composto principalmente por ácidos graxos saturados de cadeia média, como C12:0. Esses ácidos graxos saturados de cadeia média apresentam rápida digestão e absorção intestinal e são transportados preferencialmente para o fígado, onde são utilizados como substrato energético por meio da β -oxidação (Li et al., 2016). No entanto, quando fornecido em níveis elevados, a capacidade de oxidação hepática pode ter sido limitada, resultando no acúmulo de lipídios no fígado, o que pode explicar o aumento de IHS observado nos peixes alimentados com dieta contendo MSN.

Resultados similares foram observados para carpa-capim (*Ctenopharyngodon idellus*), em que o aumento do IHS foi verificado a partir de 60% de substituição do farelo de soja por farinha desengordurada de larva da MSN (Hu et al., 2023), e para o black bass (*Micropterus salmoides*), quando a substituição do óleo de peixe e do óleo de soja por óleo de larva da MSN ultrapassou 80% (Yuan et al., 2024), em que os autores sugerem que níveis elevados de substituição podem saturar a capacidade de utilização de ácidos graxos saturados como fonte de energia, levando ao acúmulo de gordura no fígado.

Os parâmetros hematobioquímicos constituem importantes indicadores do estado fisiológico e metabólico dos peixes, refletindo sua capacidade adaptativa frente a diferentes estratégias nutricionais (Fazio, 2019). No presente estudo, a maioria das variáveis hematobioquímicas mantiveram-se dentro dos valores de referência para o tambaqui, indicando que os peixes alimentados a dieta MSN apresentaram integridade fisiológica preservada (Tavares-Dias e Moraes, 2009; Dos Santos et al., 2022).

Os peixes alimentados com as dietas MSN e MIX apresentaram os maiores valores de HT e VCM. Essa diferença pode estar associada à maior biodisponibilidade de minerais essenciais como ferro, zinco e cobre presentes nos ingredientes de origem animal, que são fundamentais para a eritropoiese e para a síntese de hemoglobina (NRC, 2011; Fazio, 2019). Em contraste, os menores valores de HT e VCM observados nos peixes alimentados com a dieta VEG, podem estar relacionados à presença de fatores antinutricionais nos ingredientes vegetais, que podem interferir na absorção de minerais envolvidos na formação das hemácias. Essa limitação pode provocar uma resposta compensatória, como o aumento da CHCM, com intuito de manter o transporte de oxigênio (Francis et al., 2001; Liu et al., 2019).

A maior contagem de TB observada nos peixes alimentados com a dieta MIX sugere uma maior disponibilidade de células envolvidas na resposta imune inata, visto que essas células participam de fagocitose, coagulação e defesa inicial contra patógenos (Tavares-Dias et al., 2007). No plasma, os peixes alimentados com a dieta MIX apresentaram maior concentração de PT. Esse resultado pode indicar um balanço de aminoácidos mais favorável e um melhor aproveitamento metabólico da proteína proveniente dessa dieta, refletindo num bom estado nutricional e manutenção da síntese proteica (Abdel-Tawwab et al., 2020).

O aumento da concentração do CL nos peixes alimentados com a dieta MSN sugere uma modulação na homeostase lipídica associada à presença do C12:0. Por ser um ácido graxo saturado de cadeia média, o C12:0 é absorvido e transportado via veia porta

até o fígado, onde sofre uma rápida oxidação, resultando na produção de Acetil-CoA (Tocher, 2003; Li et al., 2016). Na ausência de maior demanda por crescimento, uma vez que o ganho de peso e a taxa de retenção proteica permaneceram estáveis, parte desse excesso de carbono pode ser redirecionado para o citosol e utilizado na síntese endógena (*de novo*) de CL pela via do mevalonato (Leaver et al., 2008; Deng et al., 2013).

Portanto, a elevação do CL nos peixes alimentados com a dieta MSN, sem aumento do TG, pode ser uma adaptação metabólica eficiente. Nesse sentido o fígado do tambaqui pode ter convertido o excesso de energia proveniente do óleo de larva da MSN em CL circulante, o qual desempenha funções fisiológicas essenciais como a manutenção das estruturas das membranas celulares, além de atuar como precursor de ácido biliares e hormônios esteroides (Turchini et al., 2022). Assim, o aumento da concentração do CL, associado à elevação da taxa de retenção energética e do índice hepatossomático, sugere que o excesso de energia da dieta MSN foi direcionado para o metabolismo lipídico hepático, contribuindo para a manutenção da homeostase lipídica sem impactar o crescimento dos peixes.

O perfil de ácidos graxos do músculo refletiu a composição lipídica das dietas, confirmando a influência da fonte de lipídica sobre a composição do filé (Yuan et al., 2024). Os peixes alimentados com a dieta MSN apresentaram maior deposição de SFA, especialmente do C12:0, resultado esperado em função da composição lipídica do óleo de larva da MSN, naturalmente rica nesse ácido graxo (Moutinho et al., 2024). O aumento do C14:0 sugere que parte do C12:0 proveniente da dieta foi utilizado como substrato para reações de alongação de ácidos graxos.

As concentrações de C16:0 e C18:0 foram semelhantes entre os peixes alimentados com as dietas MIX e MSN. Essa similaridade pode estar relacionada à menor taxa de oxidação de ácidos graxos saturados de cadeia longa em comparação aos de cadeia média, favorecendo sua retenção no músculo (Leyton et al., 1987), bem como à contribuição lipídica de ingredientes de origem animal presente na dieta MIX, como farinha de carne e ossos e farinha de vísceras de aves, que apresentam perfis lipídicos caracterizados por maior proporção desses ácidos graxos (Gumus e Aydin, 2013; Esmaeili et al., 2016).

Já os peixes alimentados com a dieta MIX apresentaram as maiores concentrações de MUFA, com destaque para o 18:1n-9, refletindo também o perfil lipídico característico dos ingredientes que compõem essa dieta (Esmaeili et al., 2016). Por outro lado, os peixes

alimentados com a dieta MSN apresentaram maiores teores de 16:1n-7 e 16:1n-9, ambos derivados da dessaturação do C16:0 pela enzima Δ^9 -dessaturase (Tocher, 2003).

Em relação aos PUFA, os peixes alimentados com a dieta VEG apresentaram as maiores concentrações, principalmente de LA, LNA e das somas totais de ômega-3 e ômega-6. Esse aumento está associado principalmente à composição dos ingredientes vegetais e ao uso do óleo de soja nessa dieta (Maldonado-Othón et al., 2022). Em contrapartida, os peixes alimentados com a dieta MSN apresentaram as menores concentrações de PUFA, refletindo o perfil lipídico das larvas de MSN, caracterizado por baixos teores desses ácidos graxos.

Peixes de água doce apresentam capacidade de converter LNA em ácidos graxos de cadeia longa, como EPA e DHA, por meio de reações sequenciais de dessaturação e alongação (Bruce et al., 1999). No entanto, apesar da maior concentração de LNA nos peixes alimentados com a dieta VEG, não foram observadas diferenças significativas nos teores musculares de EPA e DHA entre os grupos experimentais. Esse resultado sugere que a conversão enzimática do LNA pode ter sido limitada pela competição metabólica com a via ômega-6, particularmente pelo LA, que utiliza a mesma enzima dessaturase, especialmente a Δ^6 -dessaturase.

Consequentemente, embora os peixes alimentados com a dieta VEG tenham apresentado maiores concentrações totais de PUFA, também apresentaram maior deposição de ácidos graxos ômega-6 no músculo. Por outro lado, os peixes alimentados com a dieta MSN apresentaram menores concentrações de ômega-6, refletindo o menor teor desses ácidos graxos no óleo de inseto utilizado na dieta. Embora a relação n-3:n-6 não tenha diferido estatisticamente entre os grupos experimentais, observou-se um aumento dessa relação nos peixes alimentados com a dieta MSN em comparação aos peixes alimentados com a dieta VEG, resultado associado principalmente à redução nos teores de ômega-6 no filé.

Ainda assim, a relação de n-3:n-6 permaneceu abaixo de 0,2 em todos os grupos experimentais, valor inferior ao recomendado pela OMS (2015) para benefícios nutracêuticos na dieta humana. Indicando que a inclusão de produtos provenientes da larva de MSN seja eficiente no desempenho zootécnico, pode requerer ajustes nos substratos que são utilizados na criação das larvas com objetivo de aumentar a deposição de ácidos graxos essenciais no filé (Barroso et al., 2019; Xu et al. 2021; Ijdema et al., 2025).

15. Conclusão

A inclusão da farinha desengordurada e óleo de larvas da mosca soldado-negra nas dietas para juvenis de tambaqui mostrou-se viável, uma vez que manteve o desempenho zootécnico e a saúde dos peixes, indicando a manutenção da homeostase fisiológica, além de permitir maior flexibilidade na formulação das dietas e melhor ajuste do perfil de ácidos graxos. No entanto, foram observadas alterações no metabolismo lipídico, com aumento da retenção de energia, do índice hepatossomático e dos níveis de colesterol, bem como redução na deposição de ácidos graxos poliinsaturados no músculo dos peixes. Para melhorar o valor nutracêutico do filé, recomendam-se estratégias de enriquecimento das larvas por meio do substrato utilizado em sua alimentação. Adicionalmente, são necessários estudos de expressão gênica e análises histopatológicas do fígado para melhor compreensão dos mecanismos envolvidos no aumento do índice hepatossomático e dos níveis de colesterol na espécie.

Financiamento

Os autores agradecem ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pelo financiamento (Processo nº 404977/2021-9). L.S.C. recebeu bolsa de doutorado da Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Amazonas (FAPEAM). L.U.G. é bolsista de pós-doutorado do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) (Processo nº 306969/2025-4). O projeto também recebeu financiamento do programa PDPG da CAPES/FAPEAM (Edital nº 018/2020) para a revisão do texto em inglês.

Agradecimentos

Os autores agradecem à Cyns (Piracicaba, São Paulo, Brasil) pela doação da farinha e óleo de larvas de mosca-soldado-negra utilizado no experimento, e aos estudantes de pós-graduação da equipe do projeto GIGAS do INPA pelo apoio técnico durante o experimento de alimentação e nos procedimentos de amostragem.

16. Referências bibliográficas

Abdel-Tawwab, M., Khalil, R.H., Metwally, A.A., Shakweer, M.S., Khallaf, M.A., Abdel-Latif, H.M., 2020. Effects of black soldier fly (*Hermetia illucens* L.) larvae meal on growth performance, organs-somatic indices, body composition, and hemato-biochemical variables of European sea bass, *Dicentrarchus labrax*. *Aquaculture*. 522, 735136. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2020.735136>.

- Barroso, F. G., Sánchez-Muros, M. J., Rincón, M. Á., Rodríguez-Rodríguez, M., Fabrikov, D., Morote, E., Guil-Guerrero, J. L. 2019. Production of n-3-rich insects by bioaccumulation of fishery waste. *Journal of Food Composition and Analysis*, 82, 103237. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2019.103237>
- Bligh, E.G., Dyer, W.J., 1959. A rapid method of total lipid extraction and purification. *Can. J. Biochem. Physiol.* 37, 911–917. <https://doi.org/10.1139/o59-099>.
- Bruce, M., Oyen, F., Bell, G., Asturiano, J.F., Farndale, B., Carrillo, M., Bromage, N., 1999. Development of broodstock diets for the European Sea Bass (*Dicentrarchus labrax*) with special emphasis on the importance of n–3 and n–6 highly unsaturated fatty acid to reproductive performance. *Aquaculture*. 177, 85–97. [https://doi.org/10.1016/S0044-8486\(99\)00071-X](https://doi.org/10.1016/S0044-8486(99)00071-X).
- Deng, J., Mai, K., Ai, Q., Zhang, W., Wang, X., Xu, W., Liufu, Z., 2013. Effects of dietary cholesterol and ethoxyquin on growth performance, tissue cholesterol and lipid peroxidation of rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* fed high fat diets. *Aquaculture*. 400–401, 1–9. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2013.02.032>.
- Dos Santos, D.K.M., Santana, T.M., Dantas, F.M., Sena Farias, A.B., Epifânio, C.M.F., Prestes, A.G., Fonseca, F.A.L., Parisi, G., Viegas, E.M.M., Gonçalves, L.U., 2022. Defatted black soldier fly larvae meal as a dietary ingredient for tambaqui (*Colossoma macropomum*): Digestibility, growth performance, haematological parameters, and carcass composition. *Aquacult. Res.* 53, 6762–6770. <https://doi.org/10.1111/are.16143>.
- Esmaeili, N., Abedian Kenari, A., Rombenso, A.N., 2017. Effects of fish meal replacement with meat and bone meal using garlic (*Allium sativum*) powder on growth, feeding, digestive enzymes and apparent digestibility of nutrients and fatty acids in juvenile rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum, 1792). *Aquacult. Nutr.* 23, 1225–1234. <https://doi.org/10.1111/anu.12491>
- Ewald, N., Vidakovic, A., Langeland, M., Kiessling, A., Sampels, S., Lalander, C. 2020. Fatty acid composition of black soldier fly larvae (*Hermetia illucens*)–Possibilities and limitations for modification through diet. *Waste management*, 102, 40–47. <https://doi.org/10.1016/j.wasman.2019.10.014>
- Farias, A.B.D.S., Santana, T.M., Older, C.E., Huang, J., Jordan, H.R., Affonso, E.G., Gonçalves, L.U., 2025. Black soldier fly larvae oil as a potential nutraceutical ingredient in diets for hybrid catfish *Ictalurus punctatus* × *I. furcatus* juveniles. *Aquaculture*. 742697. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2025.742697>.

- Fasakin, E. A., Balogun, A. M., Ajayi, O. O. 2003. Evaluation of full-fat and defatted maggot meals in the feeding of clariid catfish *Clarias gariepinus* fingerlings. *Aquaculture Research*, v. 34, n. 9, p. 733-738. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2109.2003.00876.x>
- Fazio, F., 2019. Fish hematology analysis as an important tool of aquaculture: a review. *Aquaculture*. 500, 237–242. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2018.10.030>.
- Francis, G., Makkar, H.P., Becker, K., 2001. Antinutritional factors present in plant-derived alternate fish feed ingredients and their effects on fish. *Aquaculture*. 199, 197–227. [https://doi.org/10.1016/S0044-8486\(01\)00526-9](https://doi.org/10.1016/S0044-8486(01)00526-9).
- Goda, A.M., El-Haroun, E., Nazmi, H., Van Doan, H., Aboseif, A.M., Taha, M.K., Abou Shabana, N.M., 2024. Black soldier fly oil-based diets enriched in lauric acid enhance growth, hematological indices, and fatty acid profiles of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* fry. *Aquaculture Rep.* 37, 102269. <https://doi.org/10.1016/j.aqrep.2024.102269>.
- Goldenfarb, P.B., Bowyer, F.P., Hall, E., Brosious, E., 1971. Reproducibility in the hematology laboratory: the microhematocrit determination. *Am. J. Clin. Pathol.* 56, 35–39. <https://doi.org/10.1093/ajcp/56.1.35>.
- Guimarães, I.G., Martins, G.P., 2015. Nutritional requirement of two Amazonian aquacultured fish species, *Colossoma macropomum* (Cuvier, 1816) and *Piaractus brachypomus* (Cuvier, 1818): a mini review. *J. Appl. Ichthyol.* 31, 57–66. <https://doi.org/10.1111/jai.12976>.
- Gümüş, E., Aydın, B., 2013. Effect of poultry by-product meal on growth performance and fatty acid composition of carp (*Cyprinus carpio*) fry. *Turk. J. Fish. Aquat. Sci.* 13, 807–814. http://doi.org/10.4194/1303-2712-v13_5_06.
- Hender, A., Siddik, M.A., Howieson, J., Fotedar, R., 2021. Black soldier fly, *Hermetia illucens* as an alternative to fishmeal protein and fish oil: impact on growth, immune response, mucosal barrier status, and flesh quality of juvenile barramundi, *Lates calcarifer* (Bloch, 1790). *Biology.* 10, 505. <https://doi.org/10.3390/biology10060505>.
- Hilsdorf, A. W. S., Hallerman, E., Valladão, G. M. R., Zaminhan-Hassemer, M., Hashimoto, D. T., Dairiki, J. K., Cyrino, J. E. P. 2022. The farming and husbandry of *Colossoma macropomum*: From Amazonian waters to sustainable production. *Reviews in Aquaculture*, v. 14, n. 2, p. 993-1027. <https://doi.org/10.1111/raq.12638>

- Hu, Z., Li, H., Liu, S., Xue, R., Sun, J., Ji, H., 2023. Assessment of black soldier fly (*Hermetia illucens*) larvae meal as a potential substitute for soybean meal on growth performance and flesh quality of grass carp *Ctenopharyngodon idellus*. *Anim. Nutr.* 14, 425–449. <https://doi.org/10.1016/j.aninu.2023.06.006>.
- Ijdema, F., Lievens, S., Smets, R., Poma, G., Van Der Borght, M., Lievens, B., & De Smet, J. 2025. Modulating the fatty acid composition of black soldier fly larvae via substrate fermentation. *Animal*, 19(1), 101383. <https://doi.org/10.1016/j.animal.2024.101383>
- Janssen, R.H., Vincken, J.P., van den Broek, L.A., Fogliano, V., Lakemond, C.M., 2017. Nitrogen-to-protein conversion factors for three edible insects: *Tenebrio molitor*, *Alphitobius diaperinus*, and *Hermetia illucens*. *J. Agric. Food Chem.* 65, 2275–2278. <http://dx.doi.org/10.1021/acs.jafc.7b00471>.
- Joseph, J.D., Ackman, R.G., 1992. Capillary column gas chromatographic method for analysis of encapsulated fish oils and fish oil ethyl esters: collaborative study. *J. AOAC Int.* 75, 488–506. <https://doi.org/10.1093/jaoac/75.3.488>.
- Kroeckel, S., Harjes, A. G., Roth, I., Katz, H., Wuertz, S., Susenbeth, A., Schulz, C. 2012. When a turbot catches a fly: Evaluation of a pre-pupae meal of the Black Soldier Fly (*Hermetia illucens*) as fish meal substitute Growth performance and chitin degradation in juvenile turbot (*Psetta maxima*). *Aquaculture*, v. 364, p. 345-352. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2012.08.041>
- Leaver, M.J., Bautista, J.M., Obach, A., Herlin, M., Bell, J.G., Tocher, D.R., 2008. Functional genomics of lipid metabolism in fish: reviews and fish-specific case studies. *Oceanogr. Mar. Biol. Annu. Rev.* 46, 211–258.
- Leyton, J., Drury, P.J., Crawford, M.A., 1987. Differential oxidation of saturated and unsaturated fatty acids in vivo in the rat. *Br. J. Nutr.* 57, 383–393.
- Li, S., Ji, H., Zhang, B., Tian, J., Zhou, J., Yu, H., 2016. Influence of black soldier fly (*Hermetia illucens*) larvae oil on growth performance, body composition, tissue fatty acid composition and lipid deposition in juvenile Jian carp (*Cyprinus carpio* var. Jian). *Aquaculture*. 465, 43–52. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2016.08.020>.
- Lima, J.D.F., Montagner, D., Duarte, S.S., Yoshioka, E.T.O., Dias, M.K.R., Tavares-Dias, M., 2019. Recirculating system using biological aerated filters on tambaqui fingerling farming. *Pesq. Agropec. Bras.* 54, e00294. <https://doi.org/10.1590/S1678-3921.pab2019.v54.00294>.

- Limbu, S. M., Shoko, A. P., Ulotu, E. E., Luvanga, S. A., Munyi, F. M., John, J. O., Opiyo, M. A. 2022. Black soldier fly (*Hermetia illucens*, L.) larvae meal improves growth performance, feed efficiency and economic returns of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*, L.) fry. *Aquaculture, Fish and Fisheries*, 2, 167-178. <https://doi.org/10.1002/aff2.48>
- Liu, Y., Chen, Z., Dai, J., Yang, P., Xu, W., Ai, Q., Mai, K., 2019. Sodium butyrate supplementation in high-soybean meal diets for turbot (*Scophthalmus maximus* L.): effects on inflammatory status, mucosal barriers and microbiota in the intestine. *Fish Shellfish Immunol.* 88, 65–75. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2019.02.064>.
- Lu, S., Taethaisong, N., Meethip, W., Surakhunthod, J., Sinpru, B., Sroichak, T., Paengkoum, P. 2022. Nutritional composition of black soldier fly larvae (*Hermetia illucens* L.) and its potential use as alternative protein sources in animal diets: A review. *Insects*, v. 13, n. 9, p. 831. <https://doi.org/10.3390/insects13090831>
- Maldonado-Othón, C.A., De La Re-Vega, E., Perez-Velazquez, M., González-Félix, M.L., 2022. Replacement of fish oil by camelina and black soldier fly larvae oils in diets for juvenile *Totoaba macdonaldi* and their effect on growth, fatty acid profile, and gene expression of pancreatic lipases. *Aquaculture*. 552, 737985. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2022.737985>.
- Maulu, S., Eynon, B., Abarra, S., Rawling, M., Merrifield, D. L. 2025. Black soldier fly, *Hermetia illucens*, larvae meal improves intestinal health and growth performance of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*, juveniles. *Journal of the World Aquaculture Society*, 56, e70035. <https://doi.org/10.1111/jwas.70035>
- Moutinho, S., Oliva-Teles, A., Pulido-Rodríguez, L., Magalhães, R., Monroig, Ó., Parisi, G., Peres, H. 2023. Black soldier fly larvae oil as an alternative lipid source in diets for gilthead seabream (*Sparus aurata*) juveniles. *Aquaculture*, 574, 739705. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2023.739705>
- Moutinho, S., Oliva-Teles, A., Pulido-Rodríguez, L., Parisi, G., Magalhães, R., Monroig, Ó., Peres, H., 2024. Effects of black soldier fly (*Hermetia illucens*) larvae oil on fillet quality and nutritional traits of gilthead seabream. *Aquaculture* 579, 740219. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2023.740219>
- National Research Council (NRC), 2011. *Nutrient Requirements for Fish and Shrimp*. National Academies Press, Washington, DC.
- Naylor, R.L., Hardy, R.W., Buschmann, A.H., Bush, S.R., Cao, L., Klinger, D.H., Little, D.C., Lubchenco, J., Shumway, S.E. and Troell, M., 2021. A 20-year retrospective

- review of global aquaculture. *Nature*, 591(7851), pp. 551-563.
<https://doi.org/10.1038/s41586-021-03308-6>
- Peixe BR, 2025. Anuário Peixe BR da Piscicultura Brasileira. p. 136.
<http://www.peixebr.com.br>. Accessed on: June 25, 2025.
- Ranzani-Paiva, M.J.T., Pádua, S.B., Tavares-Dias, M., Egami, M.I., 2013. Métodos para análise hematológica em peixes. Eduem, Maringá.
- Santos Júnior, O.O., Montanher, P.F., Bonafé, E.G., Prado, I.N.D., Maruyama, S.A., Matsushita, M., Visentainer, J.V., 2014. A simple, fast and efficient method for transesterification of fatty acids in foods assisted by ultrasound energy. *J. Braz. Chem. Soc.* 25, 1712–1719. <https://doi.org/10.5935/0103-5053.20140166>.
- Tavares-Dias, M., Ishikawa, M.M., Martins, M.L., Satake, F., Hisano, H., de Pádua, S.B., de Sá, A.R.S., 2009. Hematologia: ferramenta para o monitoramento do estado de saúde de peixes em cultivo, in: Saran Net, A., Mariano, W.S., Sória, S.F.P. (Eds.), *Tópicos especiais em saúde e criação animal*. Pedro & João Editores, São Carlos, pp. 43–80.
- Tavares-Dias, M., Moraes, F.R.D., 2007. Leukocyte and thrombocyte reference values for channel catfish (*Ictalurus punctatus* Raf), with an assessment of morphologic, cytochemical, and ultrastructural features. *Vet. Clin. Pathol.* 36, 49–54.
<https://doi.org/10.1111/j.1939-165X.2007.tb00181.x>.
- Tocher, D.R., 2003. Metabolism and functions of lipids and fatty acids in teleost fish. *Rev. Fish. Sci.* 11, 107–184. <http://dx.doi.org/10.1080/713610925>.
- Turchini, G.M., Trushenski, J.T., Glencross, B.D., 2022. The lipids, in: Hardy, R.W., Kaushik, S.J. (Eds.), *Fish Nutrition*. Academic Press, pp. 303–467.
<https://doi.org/10.1016/B978-0-12-819587-1.00003-3>.
- Visentainer, J.V., 2012. Analytical aspects of the flame ionization detector response of fatty acid esters in biodiesels and foods. *Quim. Nova.* 35, 274–279.
<https://doi.org/10.1590/S0100-40422012000200008>.
- WHO (World Health Organization), 2015. Nutrition: Population of nutrient intake goals for preventing diet-related chronic diseases. <http://www.who.int> (accessed 25 June 2024).
- Wintrobe, M.M., 1933. Variations in the size and hemoglobin content of erythrocytes in the blood of various vertebrates. *Folia Haematol.* 51, 32–49.
- Xu, X., Ji, H., Belghit, I., Liland, N.S., Wu, W., Li, X., 2021. Effects of black soldier fly oil rich in n-3 HUFA on growth performance, metabolism and health response of

juvenile mirror carp (*Cyprinus carpio* var. *specularis*). *Aquaculture*. 533, 736144.
<https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2020.736144>.

Xu, X., Ji, H., Belghit, I., Sun, J., 2020. Black soldier fly larvae as a better lipid source than yellow mealworm or silkworm oils for juvenile mirror carp (*Cyprinus carpio* var. *specularis*). *Aquaculture* 527, 735453.
<https://doi.org/10.1016/J.AQUACULTURE.2020.735453>

Yuan, H., Hu, J., Li, X., Sun, Q., Tan, X., You, C., Zhou, M., 2024. Dietary black soldier fly oil enhances growth performance, flesh quality, and health status of largemouth bass (*Micropterus salmoides*). *Anim. Nutr.* 18, 234–245.
<https://doi.org/10.1016/j.aninu.2024.03.019>