

FARINHA DE LARVAS DE MOSCA-SOLDADO NEGRA VS. FARINHA DE VÍSCERAS DE FRANGO: EFEITOS NO METABOLISMO, DIGESTÃO E MICROBIOMA DE CÃES E NA PALATABILIDADE DO ALIMENTO

PEDRO H. MARCHI^{1*}, DANIEL S. PLÁCIDO¹, LEONARDO A. PRÍNCIPE¹, EDUARDA L. FERNANDES¹, LUANA D. SANTOS¹, CINTHIA G. L. CESAR¹, NURY A. C. R. GARCIA², NELSON N. MIYAMOTO², JULIANA T. JEREMIAS³, RAQUEL S. PEDREIRA³, JÚLIO C. C. BALIEIRO³, THIAGO H. A. VENDRAMINI³

¹Centro de Pesquisa em Nutrologia de Cães e Gatos, FMVZ/USP, Pirassununga, SP²Sumitomo Corporation do Brasil S/A, São Paulo, SP³Centro de Desenvolvimento Nutricional, PremieRpet, Dourado, SP
Contato: pedro.henrique.marchi@usp.br / Apresentador: PEDRO H. MARCHI

Resumo: A farinha de larvas da mosca-soldado negra (BSFL) é um ingrediente promissor, mas pouco explorado na nutrição canina. Para contribuir com sua aplicação, este estudo validou sua segurança, qualidade e viabilidade para cães. Três dietas foram extrusadas, diferindo apenas na principal fonte proteica: 0% BSFL (36,4% farinha de vísceras de frango), 50% BSFL (21,0% farinha de BSFL, 18,2% vísceras de frango) e 100% BSFL (42,0% farinha de BSFL). Seis cães adultos castrados foram distribuídos em dois quadrados latinos 3×3. Em cada período de 22 dias, foram coletadas fezes totais (dias 16–21), frescas e sangue (dia 22) para análises de digestibilidade, metabólitos fermentativos, microbiota fecal e metabolômica sérica. Após o ensaio principal, realizou-se teste de primeira escolha. Todas as análises estatísticas foram feitas no SAS 9.4 e MetaboAnalyst 6.0 ($P < 0,05$). A digestibilidade da proteína bruta foi menor nas dietas com 50% e 100% BSFL. O pH fecal aumentou após consumo de 100% BSFL, sem diferenças nos metabólitos fermentativos. Houve variações taxonômicas na microbiota, mas sem alteração na diversidade alfa. A PCA mostrou sobreposição do metaboloma, destacando vias ligadas à BSFL. Assim, a farinha de BSFL é um substituto viável e interessante das vísceras de frango em cães adultos.

Palavras-Chaves: canino, ciências ômicas, fermentação, insetos, proteína alternativa.

BLACK SOLDIER FLY LARVAE MEAL VS. CHICKEN VISCERA MEAL: EFFECTS ON DOGS' METABOLISM, DIGESTION, MICROBIOME, AND FOOD PALATABILITY

Abstract: The black soldier fly larvae (BSFL) meal is a promising but underexplored ingredient in canine nutrition. To support its application, this study validated its safety, quality, and feasibility for dogs. Three extruded diets were formulated, differing only in their main protein source: 0% BSFL (36.4% chicken viscera meal), 50% BSFL (21.0% BSFL meal, 18.2% chicken viscera), and 100% BSFL (42.0% BSFL meal). Six neutered adult dogs were assigned to two 3×3 Latin squares. During each 22-day period, total feces (days 16–21), fresh feces, and blood samples (day 22) were collected for digestibility, fermentative metabolites, fecal microbiota, and serum metabolomics analyses. After the main trial, a first-choice test was conducted. All statistical analyses were performed using SAS 9.4 and MetaboAnalyst 6.0 ($P < 0.05$). Crude protein digestibility was lower in diets with 50% and 100% BSFL. Fecal pH increased after consuming 100% BSFL, with no differences in fermentative metabolites. Taxonomic variations were observed in the microbiota, but without changes in alpha diversity. PCA showed metabolome overlap, highlighting pathways linked to BSFL. Thus, BSFL meal is a viable and interesting substitute for chicken viscera in adult dogs.

Keywords: alternative protein, canine, fermentation, insects, omics sciences.

Introdução: A crescente demanda por matérias-primas sustentáveis tem impulsionado a busca por ingredientes alternativos na formulação de alimentos para animais de estimação (Bosch & Swanson, 2021). Nesse contexto, os ingredientes derivados de insetos têm ganhado atenção como fontes valiosas de proteína e gordura. Entre eles, a larva da mosca soldado negra (*black soldier fly larvae*; BSFL) se destaca como uma das opções mais favoráveis, devido ao seu crescimento eficiente em espaços reduzidos, excelente taxa de conversão alimentar e capacidade de transformar resíduos orgânicos de baixo valor em proteínas e gorduras de alta qualidade (Van Huis et al., 2013; Valdés et al., 2022). No entanto, apesar de promissora, a farinha de BSFL é ainda subutilizada na nutrição canina. Para contribuir com sua disseminação, este estudo teve como objetivo estabelecer a farinha de BSFL como um ingrediente seguro, de alta qualidade e viável para cães adultos saudáveis.

Material e Métodos: O estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética no Uso de Animais. Foram formuladas três dietas, diferenciadas apenas pela fonte principal de proteína: 0% BSFL (36,4% farinha de vísceras de frango), 50% BSFL (21,0% farinha de BSFL; 18,2% farinha de vísceras de frango) e 100% BSFL (42,0% farinha de BSFL). Seis cães adultos saudáveis e castrados ($23,0 \pm 2,7$ kg; $5,3 \pm 1,0$ anos) foram distribuídos de maneira uniforme em dois quadrados latinos 3x3, com três períodos de 22 dias. Entre os dias 16 e 21, foi realizada coleta de fezes total para avaliação da digestibilidade aparente dos nutrientes. No 22º dia, foram coletadas fezes frescas para avaliação de metabólitos da fermentação microbiana (ácidos graxos de cadeia curta e curta ramificada, ácido lático e amônia), pH e microbiota (sequenciamento 16S rRNA). Ademais, foram obtidas amostras de sangue após 12 horas de jejum para análise metabolômica do soro. Ao final do protocolo, foi conduzido teste de preferência de primeira escolha entre todas as dietas (Griffin, 2003). Foram utilizados os mesmos seis animais e um total de 126 observações para cada uma das três avaliações. As análises estatísticas univariadas foram feitas no SAS 9.4, utilizando um modelo linear misto com efeito fixo para o tratamento e efeitos aleatórios para animal dentro de quadrado, período e resíduo ($P < 0,05$). O metaboloma foi analisado no MetaboAnalyst 6.0 (Chong et al., 2019), por análise de componentes principais (PCA), gráfico de importância das variáveis na projeção (VIP) e enriquecimento das vias metabólicas dos principais metabólitos.

Resultado e Discussão: Foi observada menor digestibilidade da proteína bruta nas dietas 50% e 100% BSFL (Tabela 1), embora todas tenham apresentado alto coeficiente (> 80%). Essa diminuição pode estar relacionada à presença de quitina, que contém nitrogênio e pode afetar os resultados laboratoriais de proteína bruta (Nafisah et al., 2019). Tal como já foi demonstrado em aves (Nery et al., 2018), será necessário revisar a forma de mensuração da proteína bruta em dietas com insetos. Não houve diferenças nos metabólitos de fermentação microbiana, embora tenha sido observado aumento no pH fecal na dieta 100% BSFL (Tabela 2). A diversidade alfa da microbiota fecal não variou entre os alimentos, mas mudanças taxonômicas foram identificadas em filo (Tabela 3), família e gênero. Estudos sobre o impacto de insetos na microbiota de cães também mostram variações taxonômicas semelhantes, com diversidade alfa preservada (Jian et al., 2022; Areerat et al., 2023). Esses são importantes indícios de que o trato gastrointestinal e o microbioma dos cães toleram bem a farinha de BSFL. De modo geral, foram identificados e quantificados 40 metabólitos séricos, mas nenhum apresentou diferença entre os tratamentos. A PCA demonstrou intensas regiões de sobreposição entre o metaboloma dos cães após o consumo das três dietas (Figura 1), mas algumas vias metabólicas associadas à metabolização da farinha de BSFL foram elencadas (Figura 2). O teste de palatabilidade indicou preferência dos cães pelo alimento 50% BSFL apenas quando oferecido junto ao alimento 100% BSFL. Nas demais comparações, não houve diferença.

Tabela 1. Médias dos coeficientes de digestibilidade aparente dos nutrientes (%) das dietas experimentais.

Variável (%)	Alimento experimental			EPM	P-valor
	0% BSFL	50% BSFL	100% BSFL		
Matéria seca	84,55	81,44	81,60	1,05	0,0717
Matéria orgânica	87,35 ^A	84,20 ^B	84,21 ^B	0,88	0,0280
Proteína bruta	84,88 ^A	80,93 ^B	80,78 ^B	1,21	0,0227
Extrato etéreo	96,19	96,77	97,20	0,65	0,5677
Matéria mineral	45,27	40,70	47,72	3,48	0,3039
Extrativos não-nitrogenados	90,17 ^{AB}	89,85 ^B	92,38 ^A	0,64	0,0381

EPM = erro padrão da média. ^{A,B}As médias seguidas por letras diferentes nas linhas diferenciais de 5% no teste de Tukey-Kramer ajustado pelo PROC MIXED.

Tabela 3. Estimativa das médias dos quadrados mínimos e erros padrão das abundâncias relativas dos filos observados nos grupos experimentais.

Filo	Alimento experimental			P-valor
	0% BSFL	50% BSFL	100% BSFL	
Actinobacteria	0,85±0,22 ^A	0,55±0,142 ^B	0,63±0,16 ^B	0,0003
Bacteroidetes	43,78±2,33 ^B	43,95±2,34 ^B	46,53±2,36 ^A	<0,0001
Firmicutes	22,48±3,42 ^B	27,62±3,92 ^A	21,77±3,34 ^C	<0,0001
Fusobacteria	14,02±1,36 ^A	13,02±1,28 ^B	14,42±1,39 ^A	0,0002
Proteobacteria	16,91±0,83 ^A	13,10±0,67 ^C	13,89±0,70 ^B	<0,0001

^{A,B,C}Médias seguidas por letras diferentes nas linhas diferenciais de 5% no teste de Tukey-Kramer ajustado pelo PROC MIXED.

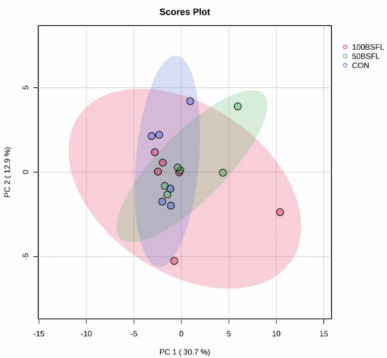


Figura 1. Análise de principais componentes do metaboloma sérico entre as dietas.

Tabela 2. Médias do pH fecal, escore fecal e metabólitos de fermentação nas fezes de cães alimentados com as dietas experimentais.

Variável	Alimentos experimentais			EPM	P-valor
	0% BSFL	50% BSFL	100% BSFL		
Metabólitos da fermentação					
Nitrogênio amoniacal (mmol/kg de MS)	34,36	31,78	29,34	2,74	0,3489
Ácido láctico (mmol/kg de MS)	140,03	115,64	156,81	34,23	0,7024
pH fecal	6,34 ^B	6,57 ^B	7,05 ^A	0,14	<0,0001
Escore fecal	2,40	2,43	2,47	0,06	0,7554
Ácidos graxos totais (mmol/kg de MS)	733,66	781,82	904,32	90,08	0,2594
Ácidos graxos de cadeia curta (mmol/kg de MS)					
Ácido acético	432,39	426,83	509,06	54,15	0,3799
Ácido propiónico	193,85	238,51	268,26	34,94	0,1744
Ácido butírico	75,98	70,36	87,20	11,37	0,5254
Totais	702,21	735,69	864,52	90,91	0,2634
Ácidos graxos de cadeia longa (mmol/kg de MS)					
Ácido palmitoleico	1,12	5,76	4,63	3,16	0,4311
Ácido araquidônico	16,36	15,56	17,23	2,25	0,8679
Ácido eicosapentaenoico	13,97	24,82	17,93	5,86	0,4113
Totais	31,45	46,13	39,80	8,80	0,3407

EPM = erro padrão da média; MS = matéria seca. ^{A,B}As médias seguidas por letras diferentes nas linhas diferenciais de 5% no teste de Tukey-Kramer ajustado pelo PROC MIXED.

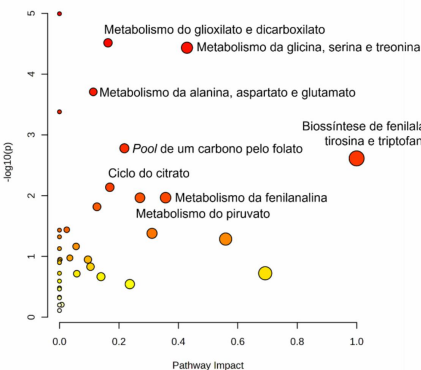


Figura 2. Vias metabólicas enriquecidas dos principais metabólitos.

Conclusão: A farinha de BSFL é uma substituição viável para a farinha de vísceras de frango nas dietas de cães adultos saudáveis, e mantém bons indicadores de saúde intestinal, equilíbrio metabólico e palatabilidade. Ademais, os achados sustentam a necessidade de rediscutir o método de quantificação do teor e digestibilidade da proteína bruta em alimentos com inclusão de insetos.

Agradecimentos: Os autores agradecem a Grandfood Indústria e Comércio LTDA. (PremieRpet®) e a Sumitomo Corporation do Brasil S/A pelo apoio na condução do estudo.

Referências Bibliográficas: AREERAT, S. et al. Insect-based diets (house crickets and mulberry silkworm pupae): A comparison of their effects on canine gut microbiota. *Veterinary World*, v. 16, n. 8, p. 1627-1635, 2023. BOSCH, G.; SWANSON, K. S. Effect of using insects as feed on animals: Pet dogs and cats. *Journal of Insects as Food and Feed*, v. 7, p. 795–805, 2021. CHONG, J. et al. Using MetaboAnalyst 4.0 for comprehensive and integrative metabolomics data analysis. *Current Protocols in Bioinformatics*, v. 68, n. 1, p. e86, 2019. GRIFFIN, R. Palatability testing methods: parameters and analyses that influence test conditions. In: *Petfood Technology*. Watt Publishing, 2003. p. 187–193. JIAN, S. et al. Effects of black soldier fly larvae as protein or fat sources on apparent nutrient digestibility, fecal microbiota, and metabolic profiles in beagle dogs. *Frontiers in Microbiology*, v. 13, p. 1044986, 2022. NAFISAH, A. et al. Chemical composition, chitin and cell wall nitrogen content of Black Soldier Fly (*Hermetia illucens*) larvae after physical and biological treatment. *IOP Conference Series: Materials Science and Engineering*, v. 546, p. 042028, 2019. NERY, J. et al. Protein composition and digestibility of black soldier fly larvae in broiler chickens revisited according to the recent nitrogen-protein conversion ratio. *Journal of Insects as Food and Feed*, v. 4, p. 171-177, 2018. VALDÉS, F. et al. Insects as feed for companion and exotic pets: A current trend. *Animals*, v. 12, p. 1450, 2022. VAN HUIS, A. et al. Edible insects: future prospects for food and feed security. *FAO Forestry Paper*, v. 171, 2013.