

Efeito da suplementação de linhaça, óleo de canola e vitamina E na dieta sobre a oxidação dos ácidos graxos na gema dos ovos de galinhas poedeiras

Maria Carolina Gonçalves
PITA¹
Eduardo PIBER NETO¹
Cássio Xavier MENDONÇA
JUNIOR¹

1 – Departamento de Clínica Médica da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo, São Paulo - SP

Resumo

A presente pesquisa teve como objetivo estudar o efeito de fontes de ácidos graxos poliinsaturados- óleo de canola e/ou semente de linhaça- com diferentes concentrações de vitamina E suplementar sobre o teor de produtos de oxidação de ácidos graxos na gema de ovos de galinhas. Utilizou-se 288 galinhas da linhagem *Babcock* que receberam dietas com 6% de óleo de canola, 20% de semente de linhaça moída ou 3% de óleo de canola e 10% de semente de linhaça moída com teores de 0, 100 e 200 UI/kg de α -tocoferol, para análise estatística dos resultados empregou-se arranjo fatorial 3X3 em blocos casualizados. Os grupos que receberam óleo de canola tiveram menores concentrações de malonaldeído (menor oxidação) na gema dos ovos que aqueles alimentados com linhaça, em ovos crus sem armazenamento e nos cozidos após armazenamento. Os ovos crus tiveram as menores concentrações de produtos de oxidação dos ácidos graxos. Os grupos de ovos cozidos, que receberam 100 e 200UI/kg de vitamina E na dieta, tiveram menores teores de malonaldeído na gema dos ovos que os grupos não suplementados.

Palavras-chave:

Poliinsaturados.
Ácidos graxos.
Gema de ovo. Oxidação.
Vitamina E.

Correspondência para:

Maria Carolina Gonçalves Pita
caropita@usp.br, tel/fax 11-38340195,
Av Diógenes Ribeiro de Lima 3458 ap 44,
São Paulo-SP

Recebido para publicação: 22/03/2007
Aprovado para publicação: 29/05/2008

Introdução

Estudos têm comprovado que ácidos graxos poliinsaturados da série ômega 3 (PUFAs n-3), suplementados na dieta em quantidades adequadas, desempenham papel importante na prevenção e tratamento de várias doenças, tais como as afecções inflamatórias auto-imunes, associados à redução da incidência de doenças cardiovasculares, neoplasias e colite ulcerativa, apresentando ainda potente efeito antitrombótico.^{1,2,3,4,5,6}

A suplementação da dieta de galinhas poedeiras com fontes ricas em PUFAs n-3, como linhaça, peixe e canola, promove enriquecimento destes ácidos graxos na gema dos ovos.^{7,8,9,10} No entanto, conforme se aumenta o teor de ácidos graxos insaturados em produtos alimentícios, eleva-se o potencial oxidativo destes, aumentando conseqüentemente, a exigência de antioxidantes.^{6,9} Os produtos de oxidação

e os radicais livres formados, induzem a peroxidação lipídica promovendo dano celular, câncer, arterosclerose, infarto do miocárdio ou envelhecimento precoce.¹¹

As condições de estocagem, o aquecimento e/ou processamento do ovo, além de sua exposição à luz acarretam aumento destes danos oxidativos.¹² A adição de antioxidantes, como acetato de dl- α -tocoferil, à ração, tem dupla finalidade: proteger os ácidos graxos presentes na gema contra a oxidação e enriquecer o ovo com vitamina E.¹³ Marshal, Sams e Elswyk¹⁴ e Grobas et al.¹⁵ demonstraram estabilidade em ovos crus estocados em temperatura ambiente, com diferentes dietas contendo óleo de peixe, banha, com ou sem a suplementação de vitamina E. Por outro lado, a exposição a altas temperaturas aumenta a quantidade de produtos de oxidação produzidos na gema, resultando em valores elevados de malonaldeído quando comparados com os ovos crus.^{16,17}

A presente pesquisa teve como objetivo estudar o efeito do óleo de canola, da semente de linhaça moída, da combinação entre eles e de três níveis de vitamina E suplementar, acrescentados à dieta das aves, na oxidação dos lípides da gema, avaliados mediante concentração de malonaldeído na gema.

Material e Método

Foram utilizadas 288 galinhas poedeiras da linhagem comercial Babcock, com idade inicial de trinta semanas, sendo alojadas duas por gaiola, constituindo nove tratamentos com quatro repetições de oito aves, durante período experimental de onze semanas. As rações foram formuladas de acordo com as exigências nutricionais do National Research Council¹⁸, isoproteicas e isocalóricas, oferecidas “ad libitum”. Foram utilizados 6% de óleo de canola (CAN), ou 20% de semente de linhaça moída (LIN) ou a combinação de 3% de óleo de canola e 10% de semente de linhaça moída (LC), adicionados de 0, 100 ou 200UI de acetato de dl-a-tocoferil por quilo de ração (grupos 0, 1 e 2).

Finalizado o experimento, foram coletados dezesseis ovos por repetição, sendo oito armazenados em estufa a 25°C por 30 dias, com o intuito de simular condições de prateleira. Foram analisados “pools” de quatro ovos crus não armazenados (CR), de quatro ovos crus armazenados por 30 dias a 25°C (CRA), de quatro ovos cozidos durante 10 minutos após fervura sem estocagem (CO) e de quatro ovos armazenados por 30 dias a 25°C e posteriormente cozidos por 10 minutos após fervura (COA), em cada uma das repetições. Os ovos foram processados segundo o método Vyncke¹⁹ modificado, utilizando-se 7g de gema cozida ou 10g de gema crua, sendo os resultados lidos em espectrofotômetro aferido para comprimento de onda de 538 nm, sendo as substâncias reativas ao TBA (ácido tiobarbitúrico), denominadas TBAR, expressas em mgMA.kg⁻¹ de gema

(miligramas de malonaldeído por quilograma de gema).

Para a análise estatística dos resultados, utilizou-se o delineamento em blocos casualizados, com quatro repetições por tratamento, sendo empregados os procedimentos de análise de variância descritos por Snedecor e Cochran²⁰. Utilizou-se, para tanto, dois critérios: fontes de ácidos graxos poliinsaturados (óleo de canola, linhaça moída e combinação) e teores de vitamina E suplementar na ração (0,100 e 200 UI/kg), em modelo fatorial 3X3, sendo o teste de Tukey aplicado para o contraste entre médias.

Resultados e Discussão

As concentrações de TBARs na gema crua sem armazenamento (CR) não sofreram alterações nos diferentes tratamentos (Tabela 1). No entanto, foi possível observar que este grupo obteve os menores valores de TBARs (109,6x10⁻⁶mg MA.kg⁻¹), enquanto as gemas cozidas pós armazenamento (COA=668,5x10⁻⁶mg MA.kg⁻¹), denotaram maior oxidação que as demais (Tabela 2). Aymond e Van Elswyk²¹ encontraram valores semelhantes, não havendo diferença significativa na quantidade de TBAR em ovos frescos de aves alimentadas com 5% e 15% de semente de linhaça moída quando em comparação ao grupo controle e entre elas. Entretanto, no presente estudo, os ovos das aves alimentadas com óleo de canola (CAN=91,7x10⁻⁶mg MA.kg⁻¹) demonstraram valores significativamente menores de TBARs por quilo de gema, em comparação àquelas outras fontes suplementadas com linhaça (LIN=119,0x10⁻⁶mg MA.kg⁻¹) e mistura de linhaça e canola (LC= 118,5x10⁻⁶mg MA.kg⁻¹), nos ovos crus sem armazenamento (Tabela 3).

Por sua vez, nas gemas cruas armazenadas (CRA) foram observados valores de 16,5% a 90,7% maiores que os obtidos em CR, com valor (P≤0,05) inferior no tratamento LC2 (10% linhaça, 3% óleo de canola e 200 UI alfa tocoferol), quando

Tabela 1 –Valores médios de TBAR (10^{-6} mg MA.kg⁻¹ de gema) nas gemas cruas, cozidas, armazenadas e não armazenadas de acordo com os tratamentos estudados, São Paulo, 2006

Constantes	Gema Crua		Gema Cozida	
	CR	CRA	CO	COA
	10^{-6} mgMA.kg ⁻¹	10^{-6} mgMA.kg ⁻¹	10^{-6} mgMA.kg ⁻¹	10^{-6} mgMA.kg ⁻¹
Tratamentos				
CAN0	90,2 ^{a*}	165,6 ^{abc}	669,6 ^{abc}	660,5 ^{bc}
CAN1	92,4 ^a	168,6 ^{ab}	509,2 ^{bcd}	530,2 ^c
CAN2	91,7 ^a	174,9 ^a	480,5 ^{bcd}	534,6 ^c
LIN0	122,1 ^a	159,4 ^{abc}	927,8 ^a	886,8 ^{ab}
LIN1	122,7 ^a	166,0 ^{ab}	580,7 ^{bcd}	724,6 ^{abc}
LIN2	112,2 ^a	173,4 ^a	340,8 ^d	574,1 ^c
LC0	118,2 ^a	180,0 ^a	762,7 ^{ab}	976,3 ^a
LC1	120,5 ^a	167,0 ^{ab}	485,8 ^{bcd}	599,8 ^c
LC2	117,0 ^a	136,3 ^c	378,7 ^{bcd}	530,4 ^c

*Médias com letras distintas nas colunas denotam diferenças significativas ($P \leq 0,05$) pelo teste Tukey; CR (gema crua), CRA (gema crua armazenada), CO (ovo cozido), COA (ovo cozido armazenado); CAN0 (óleo de canola sem vitamina E), CAN1 (óleo de canola com 100UI vitamina E/kg de ração), CAN2 (óleo de canola com 200UI vitamina E/kg de ração), LIN0 (semente de linhaça sem vitamina E), LIN1 (semente de linhaça com 100UI vitamina E/kg de ração), LIN2 (semente de linhaça com 200UI vitamina E/kg de ração), LC0 (mistura de óleo de canola e semente de linhaça sem vitamina E), LC1 (mistura de óleo de canola e semente de linhaça com 100UI vitamina E/kg de ração), LC2 (mistura de óleo de canola e semente de linhaça com 200UI vitamina E/kg de ração)

comparados com todos os outros tratamentos (Tabela 2). No entanto, não houve diferença entre as fontes de ácidos graxos poliinsaturados utilizadas e as concentrações de vitamina E na dieta e a quantidade de TBARs na gema dos ovos para o grupo CRA (Tabela 3). Estes resultados são coerentes com os encontrados por Cherian, Wolfe e Sim²² que utilizando dietas com 3,5% de óleo de linhaça adicionadas de mistura de tocoferóis, não notaram diferenças significativas nos valores de TBARs após a estocagem a 4°C por 10 dias, quando comparados com os ovos sem

Tabela 2 –Valores médios de TBAR (10^{-6} mgMA.kg⁻¹ de gema) nas gemas e respectivos erros da média de acordo com os processamentos (cozimento ou armazenamento) estudados, São Paulo, 2006

Processamento	TBAR na gema (10^{-6} mg MA.kg ⁻¹)
CR	109,6 ^{a*}
CRA	165,7 ^a
CO	570,6 ^b
COA	668,5 ^c

*Médias com letras distintas nas colunas denotam diferenças significativas ($P \leq 0,05$) pelo teste Tukey; CR (gema crua), CRA (gema crua armazenada), CO (ovo cozido), COA (ovo cozido armazenado)

armazenamento. Da mesma forma, Grobas et al.¹⁵ demonstraram que, as gemas dos ovos armazenados por 10 e 30 dias em temperatura ambiente de aves tratadas com dietas baseadas em soja e milho adicionadas de 20 a 1280 UI de dl-a-tocoferil acetato/kg de dieta, não revelaram valores de TBARs alterados dentro dos grupos, em condições de estocagem muito semelhantes às do presente experimento. Por outro lado, Qi e Sim⁵ mostraram diminuição dos valores de TBAR na gema de ovos frescos conforme o acréscimo de vitamina E na ração (0 a 400 mg/kg). Houve interação significativa entre fontes de ácidos graxos poliinsaturados e vitamina E na dieta, para o grupo CRA (Tabela 4).

Após o cozimento dos ovos frescos (CO), foi possível notar diferenças significativas entre os tratamentos e maiores valores de TBARs nas gemas quando comparados com as provenientes dos grupos CR e CRA (Tabelas 1 e 2). Segundo Halliwell et al.¹², o processamento e o aquecimento dos ovos aumentam os danos oxidativos dos ácidos graxos contidos na gema. Nos ovos CO, notou-se diminuição

Tabela 3 –Valores médios de TBAR (10^{-6} mg MA.kg⁻¹ de gema) nas gemas cruas, cozidas, armazenadas e não armazenadas de acordo, fontes e suplementação de vitamina E na dieta, São Paulo, 2006

Constantes	Gema Crua		Gema Cozida	
	CR	CRA	CO	COA
	10^{-6} mgMA.kg ⁻¹	10^{-6} mgMA.kg ⁻¹	10^{-6} mgMA.kg ⁻¹	10^{-6} mgMA.kg ⁻¹
Fontes				
CAN	91,7 ^{b*}	169,7 ^a	553,1 ^a	575,1 ^b
LIN	119,0 ^a	166,3 ^a	616,5 ^a	728,1 ^a
LC	118,5 ^a	161,1 ^a	542,4 ^a	702,2 ^a
Vitamina E				
0 UI/kg	110,1 ^a	168,3 ^a	786,7 ^a	840,8 ^a
100 UI/kg	111,9 ^a	167,2 ^a	525,2 ^b	618,2 ^b
200 UI/kg	107,2 ^a	161,5 ^a	400,0 ^b	546,4 ^b

*Médias com letras distintas nas colunas denotam diferenças significativas ($P \leq 0,05$) pelo teste Tukey; CR (gema crua), CRA (gema crua armazenada), CO (ovo cozido), COA (ovo cozido armazenado); CAN0 (óleo de canola sem vitamina E), CAN1 (óleo de canola com 100UI vitamina E/kg de ração), CAN2 (óleo de canola com 200UI vitamina E/kg de ração), LIN0 (semente de linhaça sem vitamina E), LIN1 (semente de linhaça com 100UI vitamina E/kg de ração), LIN2 (semente de linhaça com 200UI vitamina E/kg de ração), LC0 (mistura de óleo de canola e semente de linhaça sem vitamina E), LC1 (mistura de óleo de canola e semente de linhaça com 100UI vitamina E/kg de ração), LC2 (mistura de óleo de canola e semente de linhaça com 200UI vitamina E/kg de ração)

Tabela 4 - Análise de variância dos valores de TBAR (10^{-6} mg MA.kg⁻¹ de gema) nas gemas cruas, cozidas, armazenadas e não armazenadas de acordo, com tratamentos, fontes e vitamina E suplementar na dieta, São Paulo, 2006

Fontes de variação	g.l.	Valores de F			
		CR	CRA	CO	COA
Tratamentos	8	1,71 ^{ns}	4,21 ^{**}	8,81 ^{**}	8,44 ^{**}
Fontes (F)	2	6,50 ^{**}	1,50 ^{ns}	1,20 ^{ns}	6,32 ^{**}
Vitamina E (E)	2	0,15 ^{ns}	1,05 ^{ns}	29,09 ^{**}	22,21 ^{**}
F x E	4	0,10 ^{ns}	7,13 ^{**}	2,49 ^{ns}	2,61 ^{ns}
Resíduo	27	-	-	-	-
Total	35	-	-	-	-

^{*}Significativo a 5% ($P \leq 0,05$); ^{**}Significativo a 1% ($P \leq 0,01$); ^{ns} Não significativo

- CR(gema crua), CRA (gema crua armazenada), CO (ovo cozido), COA (ovo cozido armazenado)

- CAN0 (óleo de canola sem vitamina E), CAN1 (óleo de canola com 100UI vitamina E/kg de ração), CAN2 (óleo de canola com 200UI vitamina E/kg de ração), LIN0 (semente de linhaça sem vitamina E), LIN1 (semente de linhaça com 100UI vitamina E/kg de ração), LIN2 (semente de linhaça com 200UI vitamina E/kg de ração), LC0 (mistura de óleo de canola e semente de linhaça sem vitamina E), LC1 (mistura de óleo de canola e semente de linhaça com 100UI vitamina E/kg de ração), LC2 (mistura de óleo de canola e semente de linhaça com 200UI vitamina E/kg de ração)

das quantidades de TBAR da gema conforme o aumento das concentrações de vitamina E nas rações experimentais, sendo observados valores diferentes ($P \leq 0,05$) entre os grupos que não foram suplementados e os demais (tabela 3). Estes resultados assemelham-se aos de Murcia et al.¹⁵, que demonstraram perdas significativas na concentração de tocoferol presente na gema de ovos submetidos a cozimento, o que demonstra a utilização da vitamina E para a proteção oxidativa, assim como menores

concentrações de ácidos graxos poliinsaturados nos ovos submetidos ao microondas. Vários trabalhos demonstram aumentos significativos nos valores de TBARs de gemas em pó quando comparadas a ovos crus, Galobart et al.⁷ observaram oxidação 6 a 10 vezes superiores nas gemas submetidas a *spray-dryer* quando comparadas com ovos crus de aves alimentadas com 5% de óleo de linhaça. Da mesma forma, Galobart et al.¹⁶ demonstraram valores de TBARs de 2,5 a

3,3 vezes maiores nos ovos submetidos à *spray-dryer* em relação a ovos crus dos mesmos tratamentos, observando valores maiores nos ovos dos tratamentos que receberam maiores quantidades de vitamina E adicionada à ração.

No caso das gemas cozidas e armazenadas (COA), houve grande variação entre os tratamentos (Tabela 2), e da mesma forma que em CR, os ovos cozidos armazenados tiveram maior oxidação quando provenientes das fontes linhaça (LIN) e da mistura (LC), que daqueles grupos que receberam óleo de canola na dieta. (Tabela 3), resultados estes, semelhantes aos apresentados por Cherian, Wolfe e Sim²² que notaram maiores valores de TBARS na gema dos ovos das aves que receberam semente de linhaça em relação ao controle. Outro ponto importante é que, assim como as gemas de CO, as de COA também demonstraram valores maiores de oxidação

nos tratamentos sem suplementação vitamínica em relação aos demais (Tabela 3), sendo as concentrações de TBARS de CO foram significativamente menores que em COA (Tabela 1).

Conclusão

Os ovos crus tiveram menor oxidação dos ácidos graxos que aqueles cozidos, tanto armazenados quanto *in natura*, sendo que os cozidos armazenados tiveram maiores valores de TBARS que todos os demais.

A concentração de vitamina E na dieta das aves alterou somente a oxidação dos ácidos graxos das gemas dos ovos submetidos ao cozimento, sendo que aqueles não suplementados tiveram maior processo oxidativo que os grupos que receberam 100 ou 200UI/kg de vitamina E por quilo de ração.

Effect of supplementation of flaxseed, canola oil and vitamin e on diet in fatty acids oxidation of egg yolk laying hens

Abstract

To investigate the effect of dietary sources of polyunsaturated fatty acids - canola oil and flaxseed – with different vitamin E supplementation upon the fatty acids oxidation products deposition into the eggs. 288 Babcock laying hens were used. Birds were fed diets containing 6% of canola oil, 20% of flaxseed or a combination of 3% of canola oil and 10% of flaxseed, enriched with 0, 100 or 200 UI of dl- α -tocopherol acetate, hens were randomly allocated and the experimental design was a 3X3 factorial arrangement. The inclusion of flaxseed into the diet increased the yolk polyunsaturated fatty acids oxidation products, in crude and cooked stored eggs. The concentration of fatty acids oxidation products decrease in crude eggs in all sources of polyunsaturated fatty acids. The cooked eggs without α -tocopherol supplementation in the diet increase the concentration of oxidation products when compared with cooked eggs from diets with 100 or 200UI α -tocopherol in the diet.

Key words:
Polyunsaturated.
Fatty acids.
Egg yolk.
Oxidation.
Vitamin E.

Referências

- 1 ANTI, M.; MARRA, G.; ARMELAO, F. Effect of omega-3 fatty acids on rectal mucosa cell proliferation in subjects at risk for colon cancer. *Gastroenterology*, v. 103, n. 3, p. 883-891, 1992.
- 2 BAKKEN, A. M.; FARSTAD, M.; HOLMSEN, H. Fatty

acids platelets and plasma. Fish oils decrease sensitivity toward N₂ microbubbles. *Journal of Applied Physiology*, v. 70, n. 6, p. 2669-2672, 1991.

3 HU, F. B. the balance between omega-6 and omega-3 fatty acids and the risk of coronary heart disease. *Nutrition*, v. 17, n. 9, p. 741-742, 2001.

4 McLENNAN, P. L. Relative effects of dietary saturated,

- monounsaturated and polyunsaturated fatty acids in cardiac arrhythmias in rats. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 57, p. 207-212, 1993.
- 5 QI, G. H.; SIM, J. S. Natural tocopherol enrichment and its effect in n-3 fatty acid modified chicken eggs. **Journal of Agriculture Food Chemistry**, v. 46, p. 1920-1926, 1998.
- 6 DRAPER, H. H.; MCGIRR, L. G.; HADLEY M. The metabolism of malondialdehyde. **Lipids**, v. 21, n. 4, p. 305-307, 1986.
- 7 GALOBART, J.; BARROETA, A. C.; BAUCCELLS, M. D.; GUARDIOLA, F. Lipid oxidation in fresh and spray-dried eggs enriched with omega-3 and omega-6 polyunsaturated fatty acids during storage as affected by dietary vitamin E and cathaxanthin supplementation. **Poultry Science**, v. 80, p. 327-337, 2001.
- 8 GALOBART, J.; BARROETA, A. C.; BAUCCELLS, M. D.; CORTINAS, L.; GUARDIOLA, F. α -Tocopherol transfer efficiency and lipid oxidation in fresh and spray-dried eggs enriched with omega-3-polyunsaturated fatty acids. **Poultry Science**, v. 80, p. 1496-1505, 2001.
- 9 MORI, A. V. **Utilização de óleo de peixe e linhaça na ração como fontes de ácidos graxos poliinsaturados ômega-3 em ovos**. 2001. Tese (Doutorado) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2001.
- 10 PITA, M. C. G. **Efeito da suplementação de linhaça, óleo de canola e vitamina E na dieta sobre as concentrações de ácidos graxos poliinsaturados e α -tocoferol em ovos de galinha**. 2003. Dissertação (Mestrado) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2003.
- 11 NAGUESWARI, K.; BANERJEE, R.; MENON, V. P. Effect of saturated, n-3 and n-6 polyunsaturated fatty acids on myocardial infarction. **Journal of Nutrition Biochemistry**, v. 10, p. 338-344, 1999.
- 12 HALLIWELL, B.; MURCIA, M. A.; CHIRICO, S.; ARUOMA, O. Free radicals and antioxidants in food and in vivo: what they do and how they work. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 35, p. 7-20, 1995.
- 13 PITA, M. C. G.; PIBER NETO, E.; NAKAOKA, L. M.; MENDONÇA JUNIOR, C. X. Efeito da adição de ácidos graxos insaturados e de vitamina E à dieta de galinhas e seu reflexo na composição lipídica e incorporação de α -tocoferol na gema do ovo. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v. 41, p. 25-31, 2004.
- 14 MARSHALL, A. C.; SAMS, A. R.; ELSWYK, M. E. V. Oxidative stability and sensory quality of stored eggs from hens fed 1,5% Menhaden oil. **Journal of Food Science**, v. 59, n. 3, p. 561-563, 1994.
- 15 GROBAS, S.; MÉNDEZ, J.; LOPEZ BOTE, C.; BLAS, C.; MATEOS, G. G. Effect of vitamin E and A supplementation on egg yolk α -tocopherol concentration. **Poultry Science**, v. 81, p. 376-381, 2002.
- 16 GALOBART, J.; BARROETA, A. C.; BAUCCELLS, M. D.; CORTINAS, L.; GUARDIOLA, F. α -Tocopherol transfer efficiency and lipid oxidation in fresh and spray-dried eggs enriched with omega-3-polyunsaturated fatty acids. **Poultry Science**, v. 80, p. 1496-1505, 2001.
- 17 MURCIA, M. A.; MARTÍNEZ-TOMÉ, M.; DEL CERRO, I.; SOTILLI, F.; RAMÍREZ, A. Proximate composition and vitamin E levels in egg yolk: losses by cooking in microwave oven. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 79, p. 1550-1556, 1999.
- 18 NATIONAL RESEARCH COUNCIL. **Nutrient requirements of poultry**. 9. ed. Washington: National Academy Press, 1994. 155 p.
- 19 SHAPIRO, J. A.; KOEPSSELL, T. D.; VOIGT, L. F.; DUGOWSON, C. E.; KESTIN, M.; NELSON, J. L. Diet and rheumatoid arthritis in women: a possible protective effect of fish consumption. **Epidemiology**, v. 7, p. 256-263, 1996.
- 20 SNEDECOR, G. M.; COCHRAN, W. G. **Statistical methods**. 7. ed. Ames: Iowa State University Press, 1980.
- 21 AYMOND, W. M.; ELSWYK, M. E. V. Yolk thiobarbituric acid reactive substances and omega-3 fatty acids in response to whole and ground flaxseed. **Poultry Science**, v. 74, p. 1388-1394, 1995.
- 22 CHERIAN, G.; WOLFE, F. H.; SIM, J. S. Dietary oils with added tocopherols: effects on egg or tissue tocopherols, fatty acids, and oxidative stability. **Poultry Science**, v. 75, p. 423-431, 1996.