

## غنی سازی زرده تخم مرغ با اسیدهای چرب امگا-۳ بلند زنجیر با استفاده از روغن ماهی کیلکا در جیره مرغ تخم گذار

سید جواد حسینی و اشان<sup>۱\*</sup>، نظر افضل<sup>۱</sup>، محمد ملکانه<sup>۲</sup>، محمد علی ناصری<sup>۳</sup> و علی اله رسانی<sup>۴</sup>

(تاریخ دریافت: ۱۳۸۷/۴/۱۶؛ تاریخ پذیرش: ۱۳۸۷/۱۱/۲۱)

### چکیده

به منظور بررسی اثرات استفاده از روغن ماهی کیلکا در جیره مرغ تخم گذار روی صفات عملکردی، ترکیب اسیدهای چرب امگا-۳ زرده تخم مرغ و نسبت بین اسیدهای چرب امگا-۶ و امگا-۳ زرده تخم مرغ، تعداد ۷۲ قطعه مرغ تخم گذار لگهورن W-36 با سن ۲۶ هفته انتخاب شدند و به منظور مطالعه صفات فوق، به جیره مرغان تخم گذار سطوح ۰، ۲ و ۴ درصد روغن ماهی کیلکا اضافه شد. صفات مقدار خوراک مصرفی، درصد تولید تخم مرغ، ضریب تبدیل غذایی، گرم تخم مرغ تولیدی، میانگین وزن تخم مرغ، شاخص تخم مرغ، شاخص ارتفاع زرده، شاخص رنگ زرده، و وزن زرده به عنوان درصدی از وزن تخم مرغ تحت تأثیر تیمارها قرار نگرفتند ( $P > 0/05$ ). مقادیر اسیدهای چرب اشباع (اسیدهای میریستیک، پالمیتیک و استئاریک)، اسیدهای چرب امگا-۷ (اسید پالمیتونیک)، اسیدهای چرب امگا-۹ (اسید اولئیک)، اسید آراشیدونیک و اسید لینولنیک زرده تحت تأثیر سطوح روغن ماهی قرار نگرفتند. ولی درصد اسید لینولنیک زرده به طور معنی داری کاهش یافت ( $P < 0/05$ ). سطح اسیدهای چرب امگا-۳ غیر اشباع بلند زنجیر مانند ایکوزاپنتانویک و دوکوزاهگزانوئیک اسید در زرده با افزایش سطح روغن ماهی در جیره بیش از ۳۲۳ و ۵۲۴ درصد افزایش یافت ( $P < 0/05$ ). نسبت اسیدهای چرب امگا-۶ به امگا-۳ از مقدار ۱۸ در تیمار شاهد به ۳/۸ و ۲/۳۱ به ترتیب در تیمارهای حاوی ۲ و ۴ درصد روغن ماهی کیلکا کاهش یافت.

واژه‌های کلیدی: روغن ماهی کیلکا، مرغ تخم گذار، زرده تخم مرغ و اسیدهای چرب امگا-۳

### مقدمه

سطح اسیدهای چرب امگا-۳ جیره [اسیدهای چرب لینولنیک (Linolenic acid) (LNA)، ایکوزاپنتانویک اسید (Eicosapentaenoic acid) (EPA)، دوکوزاپنتانویک اسید (Docosapentaenoic acid) (DPA) و دوکوزاهگزانوئیک اسید (Docosahexaenoic acid) (DHA) که سه اسید چرب آخری جزء اسیدهای چرب بلند زنجیر می‌باشند] می‌تواند به

تخم مرغ یکی از منابع مهم خوراکی انسان بوده که مقدار زیادی کلسترول به ویژه لیپوپروتئین با چگالی پایین (LDL) دارد. کلسترول به دلیل دارا بودن نقش‌های مهم، برای عملکرد طبیعی بدن ضروری بوده ولی سطوح بالای LDL تخم مرغ می‌تواند در بسیاری از موارد برای سلامتی انسان و مرغ مضر باشد. افزایش

۱. به ترتیب دانشجوی سابق کارشناسی ارشد و استادیار علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه بیرجند
  ۲. دانشیار بیوشیمی بالینی، دانشگاه علوم پزشکی بیرجند
  ۳. استادیار شیمی آلی، دانشکده علوم، دانشگاه بیرجند
  ۴. کارشناس شیمی، دانشکده علوم، دانشگاه بیرجند
- \*: مسئول مکاتبات، پست الکترونیکی: Jhosseiniv@yahoo.com

سطح کلسترول خون و واکنش‌های التهابی در انسان دارند (۱۲). هم‌چنین تحقیقات مختلف بیانگر نقش اسیدهای چرب امگا-۳ در ممانعت از رشد سرطان پروستات و سینه (۱۷ و ۱۸)، کاهش زمان تأخیر پاسخ ایمنی (۸)، کاهش روماتیسم سرخرگ‌ها (۲۱) و خطر مرگ ناشی از بیماری عروق کرونر قلب می‌باشند. علاوه بر این، برای رشد طبیعی مغز جنین و بهبود سیستم بینایی در انسان ضروری هستند (۱۴).

نسبت مناسب اسیدهای چرب امگا-۶ به امگا-۳، جهت فعالیت طبیعی مغز و رتینال چشم ضروری است. در مورد نسبت دقیق این اسیدها اتفاق نظر وجود ندارد. بعضی مطالعات نسبت مناسب اسیدهای چرب امگا-۶ به امگا-۳ را برابر پنج، گروهی دیگر چهار و حتی بعضی از محققین نسبت نزدیک به یک را گزارش نمودند اما بیشترین محققین نسبت کمتر از ۵ را جهت غنی‌سازی کافی می‌دانند (۶، ۲۲ و ۲۳).

هدف از انجام این تحقیق بررسی و تعیین بهترین سطح استفاده از روغن ماهی با حداقل اثرات منفی بر روی صفات عملکردی و تولیدی جهت غنی‌سازی اسیدهای چرب امگا-۳ زرده و بررسی نسبت اسیدهای چرب امگا-۶ به امگا-۳ زرده تخم‌مرغ می‌باشد.

## مواد و روش‌ها

### حیوانات و جیره‌های آزمایشی

در این تحقیق ۷۲ قطعه مرغ لگهورن W-36 با سن ۲۶ هفته انتخاب و به‌طور تصادفی در ۳ تیمار ۳ تکراری حاوی ۲ پن‌تایی تقسیم شد. کلیه جیره‌ها بر اساس پیشنهادات (NRC (National Research Council, 1994) (۱۶) فرموله گردیده و از لحاظ انرژی، پروتئین، فیبر، اسیدهای آمینه و مواد معدنی یک‌نواخت شد (آنالیز جیره‌ها در جدول ۱ موجود است). در این تحقیق ۳ نوع جیره شامل سطح صفر درصد روغن ماهی به‌عنوان تیمار شاهد و سطوح ۲ و ۴ درصد روغن ماهی (FO) (Fish oil) به ترتیب تیمارهای ۲ و ۳ آزمایش در سه دوره ۲۸ روزه متوالی در اختیار مرغ‌ها قرار گرفت. هم‌چنین

کاهش این نوع لیپوپروتئین‌ها در تخم‌مرغ کمک نماید (۹، ۱۲ و ۲۰). از جمله مهم‌ترین منابع غنی اسیدهای چرب امگا-۳ بلند زنجیر طبیعی روغن‌های ماهی و سایر موجودات دریایی می‌باشند. هولان و همکاران با اضافه کردن ۵ درصد پودر ماهی به جیره مرغان تخم‌گذار دریافتند که مقادیر کل اسیدهای چرب امگا-۳، EPA، DPA و DHA در لاشه به‌طور معنی‌داری افزایش یافت (۱۲). هم‌چنین تغذیه مرغان با سطوح ۰، ۴، ۸ و ۱۲ درصد پودر ماهی قرمز تأثیری بر مرگ و میر، راندمان مصرف خوراک و وزن بدنی نداشتند ولی میزان بیماری مرگ ناگهانی (Suddenly Dead Syndrome) (SDS)، راندمان مصرف خوراک و وزن بدنی به حداقل رسید. با افزایش سطوح پودر ماهی در جیره مقادیر EPA، DHA و اسیدهای چرب امگا-۳ در تخم‌مرغ افزایش یافت. هم‌چنین سطوح مختلف تیماری مقادیر کل اسیدهای چرب امگا-۳، EPA و DHA در گوشت سینه را افزایش داد. به‌طور کلی افزودن روغن ماهی باعث افزایش اسیدهای چرب امگا-۳ و کاهش مقادیر امگا-۶ در بافت‌ها می‌شود (۱۲). در بدن پرندگان مقادیر کمی از LNA به DHA تبدیل می‌شود در حالی‌که در دوران آبستنی مقادیر زیادی از DHA برای تمایز سلولی، سیناپس فعال و تقسیم غشای سلولی مغز جنین لازم است. در پرندگان، ایکوزانوئیدها تقریباً بر بسیاری از سیستم‌های فیزیولوژیکی مانند تخم‌گذاری، رشد جنینی، سرعت رشد، ایمنی، رشد توده استخوانی، تنظیم حرارت و... تأثیر می‌گذارند (۷ و ۱). لیواندر و همکاران گزارش کردند که افزایش مقادیر امگا-۳ جیره نقش حفاظتی در برابر عامل کوکسیدیوز ایفاء می‌نماید (۱۴) و تغذیه مرغ‌ها با مکمل‌های اسیدهای چرب از میزان خسارات کوکسیدیوز می‌کاهد (۳). هم‌چنین افزودن مکمل اتیل استرها EPA، DHA به جیره آغازین جوجه گوشتی دارای ۵ درصد روغن ماهی منهدن به‌طور معنی‌داری مقادیر کاروتنوئیدهای پلاسما را افزایش و خطر بروز استرس اکسیداتیو را کاهش می‌دهد (۲).

اسیدهای چرب خانواده امگا-۳ اسیدهای چرب امگا-۳، نقش مهمی در جلوگیری از بروز بیماری‌های قلبی-عروقی،

جدول ۱. ترکیب مواد خوراکی و مواد مغذی تشکیل دهنده جیره های مصرقی

ماده خوراکی %	۱	۲	۳
ذرت	۶۶/۴۳	۴۶/۳۰	۴۰/۵۷
کنجاله سویا	۲۰/۱۰	۱۹/۲۲	۲۰/۴۲
گندم	۱/۰۰	۲۰/۰۰	۲۰/۰۰
پودر ماهی (FO)	۲/۰۰	۲/۰۰	۲/۰۰
روغن ماهی	۰/۰۰	۲/۰۰	۴/۰۰
پودر صدف	۴/۵۰	۴/۵۰	۴/۵۰
سنگ آهک	۴/۰۰	۴/۰۰	۴/۰۰
دی کلسیم فسفات	۰/۷۰	۰/۷۲	۰/۷۲
نمک	۰/۳۴	۰/۳۴	۰/۳۳
مکمل* ویتامینه	۰/۲۵	۰/۲۵	۰/۲۵
مکمل* مینرال	۰/۲۵	۰/۲۵	۰/۲۵
لیزین	۰/۰۷	۰/۰۶	۰/۰۵
متیونین	۰/۰۸	۰/۰۸	۰/۰۸
ترکیب شیمیایی جیره ها			
انرژی قابل متابولیسم (Kcal/Kg)	۲۸۲۰	۲۸۲۲	۲۸۲۱
پروتئین خام %	۱۶/۱	۱۶/۱	۱۶/۱
چربی خام	۴/۱۱	۶/۰۹	۸/۱۲
کلسیم (/)	۳/۷	۳/۷۳	۳/۷۲
فسفر (/)	۰/۳۹	۰/۳۹	۰/۳۹
لیزین	۰/۸۴	۰/۸۴	۰/۸۴
متیونین + سیستئین	۰/۶۷	۰/۶۷	۰/۶۷

\*: هر کیلو گرم مکمل ویتامینه مرغ تخم گذار حاوی ۸۸۰۰۰۰۰ IU ویتامین A، ۱/۴۷۷ گرم ویتامین B<sub>1</sub>، ۴۰ گرم ویتامین B<sub>2</sub>، ۷/۸۴ گرم ویتامین B<sub>3</sub>، ۲/۴۶۲ گرم ویتامین B<sub>6</sub>، ۰/۰۱ گرم ویتامین B<sub>12</sub>، ۲۵۰۰۰۰۰ IU ویتامین D<sub>3</sub>، ۱۱۰۰۰ IU ویتامین E، ۲۲ گرم ویتامین K<sub>3</sub>، ۰/۴۸ گرم فولاسین و ۰/۱۵ گرم بیوتین می باشد.

\*: هر کیلو گرم مکمل معدنی حاوی: ۷۴/۴ گرم اکسید منگنز، ۷۵ گرم اکسید فریک، ۶۴/۶۷۵ گرم اکسید روی، ۶ گرم سولفات مس، ۰/۲ گرم پرمیکس سلنیوم و ۲۰۰ گرم کولین کلراید بود.

جهت انتخاب مرغ های یک نواخت و همگن از نظر تولید و وزن بدنی، دوره پیش آزمایش به مدت دو هفته اجرا شد.

**صفات مورد بررسی**

صفات عملکردی شامل درصد تولید تخم مرغ، میانگین وزن تخم مرغ ها، گرم تخم مرغ تولیدی به ازای هر مرغ در روز، میزان خوراک مصرفی، ضریب تبدیل غذایی و تغییران وزن بدن مورد مطالعه قرار گرفت هم چنین صفات کیفی تخم مرغ شامل واحد هاو (Hough Unit)، شاخص تخم مرغ (Shape Index)، ارتفاع زرده، رنگ زرده تخم مرغ (بسته روش

ویلیومیر (Vuilleumier (procedure), 1969) (۲۵)) و وزن زرده به عنوان درصدی از تخم مرغ اندازه گیری و محاسبه شد. به منظور بررسی تأثیر سطوح مختلف روغن ماهی روی کیفیت پوسته تخم مرغ، ضخامت پوسته و وزن مخصوص تخم مرغ اندازه گیری شد. برای اندازه گیری وزن مخصوص از ۱۰ سطل که وزن مخصوص آنها بین ۱/۰۶ تا ۱/۱۰ تنظیم شده بود استفاده گردید و تخم مرغها داخل هر یک از سطلها قرار می گرفت هر تخم مرغی که به سطح ظرف آب می آمد نشان دهنده آن بود که وزن مخصوص آن تخم مرغ با آب داخل ظرف برابر است (۲۴).

### تعیین اسیدهای چرب زرده تخم مرغ

برای اندازه گیری سطح اسیدهای چرب موجود در زرده ابتدا ۳ عدد تخم مرغ به طور تصادفی از هر تکرار تیمارهای مختلف (در سه روز متوالی روزی یک تخم مرغ) جمع آوری و زرده آنها جدا شد و سپس زرده های هر تکرار با هم مخلوط و از هر تکرار یک نمونه و مجموعاً سه نمونه از هر تیمار انتخاب و در دمای ۲۰- درجه سانتی گراد تا قبل از شروع آزمایش های تجزیه شیمیایی نگه داری شد. سپس مقادیر کل چربی ۰/۵ گرم زرده با روش فولچ به طور دقیق استخراج شد (۱۰) در این روش نیم گرم زرده در بالن قرار داده و هگزان نرمال و متانول به نسبت ۲ به ۱ به این بالن اضافه شد پس از آن استر اسیدهای چرب، در حضور تری فلورید بور ۱۵ درصد، به متیل استر اسید چرب مربوطه تبدیل گردید. متیل استر اسیدهای چرب به وسیله دستگاه گاز کروماتوگرافی مدل شیمادزو A ۱۶ (Gas Chromatography Shimadzu GC-16A) و ستون کاپیلاری (CPSil 88 Fused silica capillary column) با طول ۱۰۰ متر و قطر داخلی ۰/۲۵ میلی متر جداسازی شد. در ابتدا ستون به مدت ۵ دقیقه در دمای ۱۳۰ درجه سانتی گراد گرم شد و سپس با سرعت ۳ درجه سانتی گراد در دقیقه به ۲۱۷ افزایش و دوباره با سرعت ۴ درجه در دقیقه به ۲۳۰ درجه رسید و به مدت ۲۵ دقیقه در همین درجه حرارت باقی ماند. درجه

حرارت آشکارساز (دکتور) ۲۸۰ درجه و محل تزریق (انجکتور) برابر ۳۰۰ درجه سانتی گراد حفظ شد. گاز حامل هلیوم و فشار سر ستون برابر ۲/۲ گرم بر سانتی متر مربع تنظیم شد. سپس زمان بازداری پیکهای نمونه با استاندارد (استاندارد اسید چرب شرکت سیگما Sigma Quimica, S.A. Apdo. Correos 161, 28100 (Alcobendas, Spain)) مقایسه و نوع اسید چرب شناسایی گردید. برای تعیین مقدار کمی اسید چرب از روش استاندارد داخلی استفاده شد (۱۳). جدول ۲ آنالیز ترکیب اسیدهای چرب جیره های آزمایشی را نشان می دهد.

### آنالیز آماری

داده ها با استفاده از برنامه SAS 6.12 (۱۹) و با استفاده از رویه خطی عمومی (GLM) (General Linear Model) در قالب طرح کاملاً تصادفی آنالیز شدند و مدل آماری مورد استفاده به صورت زیر بود

$$Y_{ij} = \mu_{ij} + \alpha_i + w_j + \alpha_i \times w_j + e_{ij}$$

در این فرمول  $Y_{ij}$  صفت مورد مطالعه،  $\mu_{ij}$  میانگین صفت و  $\alpha_i$  اثر تیمار و  $w_j$  اثر دوره یا هفته های آزمایشی (دوره های ۲۸ روزه) و  $\alpha_i \times w_j$  اثر متقابل تیمار و دوره های آزمایشی  $e_{ij}$  اثر خطای آزمایشی هم چنین جهت آزمون معنی داری از آزمون دانکن (Duncan test) در سطح ۹۵ درصد استفاده شد.

### نتایج و بحث

بررسی داده های آزمایشی نشان داد که سطوح مختلف روغن ماهی کیلکا تأثیر معنی داری روی صفات عملکردی شامل مصرف خوراک روزانه، درصد تولید تخم مرغ، میانگین وزن تخم مرغ، گرم تخم مرغ تولیدی روزانه و ضریب تبدیل غذایی روزانه نداشت ( $P < 0/05$ ) (جدول ۵). مقادیر افزایش وزن بدنی در طول دوره آزمایشی در تیمارهای حاوی روغن ماهی نسبت به تیمار شاهد به طور معنی داری افزایش یافت ( $P < 0/05$ ). چون در تیمار شاهد روغن به جیره افزوده نشده بود افزایش بیشتر وزن

جدول ۲. ترکیب اسیدهای چرب جیره های آزمایشی

اسید چرب	جیره های آزمایشی		
	شاهد	% FO	% FO
	درصد از کل متیل استرهای اسیدهای چرب جیره		
C <sub>14:0</sub>	۱/۰۹	۲/۲۳	۲/۶۷
C <sub>16:0</sub>	۳۰/۱۹	۳۳/۴۶	۳۴/۱۹
C <sub>16:1 n-7</sub>	۳/۵۲	۲/۳۶	۲/۲۷
C <sub>18:0</sub>	۸/۴۱	۱۰/۶۵	۱۲/۴۱
C <sub>18:1 n-9</sub>	۳۴/۵۹	۲۸/۲۹	۲۵/۵۱
C <sub>18:2 n-6</sub>	۲۰/۱۲	۱۷/۷۸	۱۶/۸۲
C <sub>18:3 n-3</sub>	۰/۰۹	۰/۰۹	۰/۱۱
C <sub>20:4 n-6</sub>	۱/۳۵	۱/۵۴	۱/۹۷
C <sub>20:5 n-3</sub>	۰/۰۳	۳/۵۳	۴/۵۸
C <sub>22:6 n-3</sub>	۰/۰۱	۰/۹۸	۱/۷۸

\* FO, (Fish oil): (روغن ماهی)

\*\* : اسید میریستیک (C<sub>14:0</sub>) اسید پالمیتیک (C<sub>16:0</sub>)، اسید پالمیتولئیک (C<sub>16:1</sub>)، اسید استئاریک (C<sub>18:0</sub>)، اسید اولئیک (C<sub>18:1</sub>)، اسید لینولئیک (C<sub>18:2</sub>)، اسید لینولئیک (C<sub>18:3</sub>)، اسید آراشیدونیک (C<sub>20:4</sub>)، اسید ایکوزاپنتانویک (C<sub>20:5</sub>)، اسید دوکوزاهگزانویک (C<sub>22:6</sub>) (Myristic acid, Palmitic acid, Palmitoleic acid, Stearic acid, Oleic acid, Linoleic acid(LA), Llinolenic acid(LNA), Arashidonic acid(AA), Eicosapentaenoic acid(EPA) and Docosahexaenoic acid(DHA))

جدول ۴ ترکیب اسیدهای چرب و مقدار کلسترول زرده تخم مرغ تیمارهای تغذیه شده با روغن ماهی کیلکا را نشان می دهد. بر مبنای اطلاعات مندرج در جدول فوق سطح کلسترول تخم مرغ کاهش یافت ( $P < 0/05$ ) که با نتایج بعضی از محققین مطابقت داشت (۵ و ۲۶). اما درصد اسیدهای چرب اشباع (مریستات، پالمیتات و استئارات) در تیمارهای مختلف تغییر معنی داری نشان نداد ( $P > 0/05$ ) (جدول ۴). هارگیس و همکاران (۱۱) نیز در هنگام استفاده از روغن ماهی منهدن در جیره تغییر معنی داری در مقدار اسیدهای چرب اشباع گزارش نکردند. هم چنین ون الس ویک نیز عدم تغییر مقادیر اسیدهای چرب اشباع پالمیتات و استئارت و سایر اسیدهای چرب اشباع

بدنی در تیمارهای حاوی روغن ماهی به دلیل اثر افزایشی روغن ها می باشد. سایر صفات کیفی تخم مرغ ها مانند شاخص تخم مرغ، واحدها و (کیفیت سفیده تخم مرغ)، شاخص رنگ و ارتفاع زرده، ضخامت پوسته و وزن مخصوص در سطوح مختلف روغن ماهی تغییر معنی داری پیدا نمود ( $P > 0/05$ ). وزن زرده و سفیده به عنوان درصدی از وزن تخم مرغ از جمله دیگر صفاتی بودند که در این طرح مورد مطالعه قرار گرفتند. آنالیز آماری داده ها نشان داد که هیچ گونه تفاوت معنی داری بین آنها وجود نداشت ( $P > 0/05$ ). نتایج مشابهی را محققین قبلی در هنگام استفاده از ۳ درصد روغن ماهی منهدن گزارش نمودند (۲۶).

جدول ۳. تأثیر سطوح مختلف روغن ماهی کیلکا بر صفات عملکردی و تولیدی مرغان تخم‌گذار

گره‌های آزمایشی		شاهد	صفات عملکردی
FO ۴٪	FO ۲٪		
۸۹/۳۸ ± ۱/۹۸	۹۱/۱۷ ± ۱/۸۵	۹۰/۷۷ ± ۱/۱۴	تولید تخم‌مرغ (/)
۵۷/۲۱ ± ۰/۶۳	۵۷/۶۷ ± ۰/۷۸	۵۷/۷۳ ± ۱/۰۲	میانگین وزن تخم‌مرغ (گرم)
۵۰/۸۷ ± ۱/۹۷	۵۲/۵۹ ± ۱/۸۶	۵۲/۳۹ ± ۱/۴۵	گرم تخم‌مرغ تولیدی روزانه (گرم)
۹۴/۴۹ ± ۱/۸۹	۹۳/۷۸ ± ۱/۱۷	۹۲/۶۸ ± ۱/۸۱	مصرف خوراک روزانه (گرم)
۱/۸۹ ± ۰/۱۱	۱/۷۷ ± ۰/۱۸	۱/۷۷ ± ۰/۱۴	ضریب تبدیل غذایی
۱۶۸ ± ۲۶/۰۱ <sup>a</sup>	۱۲۴ ± ۲۸/۱۱ <sup>b</sup>	۹۰/۰۰ ± ۳/۰۹ <sup>c</sup>	افزایش وزن بدنی (گرم)
۸۷/۰۷ ± ۱/۴۳	۸۸/۱۳ ± ۲/۹۶	۸۵/۹۸ ± ۲/۵۴	واحد هاو
۷۶/۰۶ ± ۱/۵۳	۷۷/۴۴ ± ۱/۱۴	۷۶/۳۰ ± ۱/۲۷	شاخص تخم‌مرغ
۳۹/۷۰ ± ۲/۷۸	۴۱/۵۲ ± ۲/۰۸	۴۰/۸۱ ± ۱/۶۸	شاخص ارتفاع زرده
۵/۷۶ ± ۰/۹۸	۶/۲۱ ± ۰/۸۶	۵/۵۶ ± ۰/۸۹	شاخص رنگ زرده
۱/۰۸۲۸ ± ۰/۰۰۲۳	۱/۰۸۴۴ ± ۰/۰۰۲۳	۱/۰۸۳۸ ± ۰/۰۰۲۳	وزن مخصوص
۳۴/۲۸ ± ۰/۸۴	۳۵/۱۱ ± ۰/۹۵	۳۴/۸۷ ± ۱/۰۷	ضخامت پوسته (میلی‌متر)
۲۶/۹۰ ± ۰/۷۰	۲۷/۵۳ ± ۰/۹۱	۲۶/۷۵ ± ۰/۹۴	درصد وزن زرده از تخم‌مرغ

FO, (Fish oil): (روغن ماهی)

وجود حروف لاتین متفاوت در هر ردیف نشان‌دهنده اختلاف معنی‌داری بین میانگین تیمارهای مختلف آزمایشی می‌باشد ( $P < 0/05$ )

شاهد نداشت ( $P > 0/05$ ) (جدول ۴ و ۵). یافته‌های ما با نتایج آیموند و ون السویک (۵)، ون السویک (۲۶)، بانوسلز و همکاران (۶) مطابقت داشت. و اکثر این پژوهشگران عدم تغییر در مقادیر اسید اولئیک و اسیدهای چرب امگا-۹ در هنگام افزودن روغن ماهی به جیره مرغ را گزارش نمودند. ولی هارگیس و همکاران (۱۱) کاهش در مقدار اسید اولئیک را گزارش نمودند که با نتایج ما و سایر پژوهشگران مطابقت ندارد. شاید دلیل این تفاوت‌ها به خاطر تفاوت در روش‌های آنالیزی باشد زیرا تقریباً ترکیب جیره‌های حاوی روغن ماهی مشابه بود و علاوه بر این مرغ توانایی سنتز اسید اولئیک را دارد.

آنالیز سطوح اسیدهای چرب امگا-۶ زرده تیمارهای تغذیه شده با روغن ماهی کیلکا نشان داد. درصد اسید لینولئیک به‌طور میانگین از ۱۰/۲۴ در تیمار شاهد به ۷/۲۶ و ۷/۶۹ در تیمارهای

را در هنگام مکمل نمودن ۳ درصد روغن ماهی منهدن به جیره گزارش نمود (۲۶) که با نتایج ما مطابقت دارد زیرا مرغ توانایی سنتز اسیدهای چرب اشباع را دارند و اگر مقدار جیره ای آنها کاهش یابد نیز مرغ می‌تواند کمبود آنها را جبران نماید.

اسید پالمیتولئیک مهم‌ترین اسید چرب خانواده امگا-۷ می‌باشد. وقتی روغن ماهی کیلکا به جیره مرغ تخم‌گذار اضافه شد درصد این اسید چرب در زرده تغییری نمود (جدول ۴ و ۵). شاید تنوع کم مقدار این اسید چرب در منابع مختلف جیره خوراکی مرغان دلیل اصلی آن باشد. نتایج مشابهی را سایر محققین نیز در هنگام افزودن روغن ماهی به جیره گزارش نمودند (۶، ۱۱ و ۲۶).

درصد اسید اولئیک (شاخص اسیدهای چرب امگا-۹) زرده تخم‌مرغ در تیمارهای تغذیه شده با روغن ماهی کیلکا تغییری معنی‌داری در هیچ یک از دوره‌های آزمایشی با تیمار

جدول ۴. ترکیب اسیدهای چرب زرده تخم مرغ مرغان تغذیه شده با جیره های حاوی روغن ماهی کیلکا

اسید چرب	گره های آزمایشی		
	شاهد	% FO ۲	% FO ۴
درصد از کل متیل استرهای اسیدهای چرب زرده تخم مرغ			
C <sub>14:0</sub>	۰/۸۶ ± ۰/۰۷	۰/۸۸ ± ۰/۰۷	۱/۰۱ ± ۰/۱۶
C <sub>16:0</sub>	۳۴/۹۲ ± ۱/۶۸	۳۶/۲۶ ± ۳/۳۲	۳۳/۰۵ ± ۲/۹۹
C <sub>16:1 n-7</sub>	۲/۹۹ ± ۰/۴۰	۳/۸۱ ± ۰/۹۱	۳/۰۱ ± ۰/۴۶
C <sub>18:0</sub>	۸/۸۹ ± ۰/۳۸	۸/۸۷ ± ۱/۶۳	۱۰/۳۱ ± ۲/۹۳
C <sub>18:1 n-9</sub>	۳۹/۹۶ ± ۱/۲۹	۴۰/۳۹ ± ۰/۹۶	۴۰/۳۱ ± ۰/۶۰
C <sub>18:2 n-6</sub>	۱۰/۲۴ ± ۱/۲۰ <sup>a</sup>	۷/۲۶ ± ۰/۷۹ <sup>b</sup>	۷/۶۹ ± ۰/۷۷ <sup>b</sup>
C <sub>18:3 n-3</sub>	۰/۴۷ ± ۰/۱۱	۰/۵۵ ± ۰/۰۹	۰/۵۶ ± ۰/۲۰
C <sub>20:4 n-6</sub>	۱/۳۴ ± ۰/۶۵	۰/۸۸ ± ۰/۵۲	۱/۳۷ ± ۰/۷۳
C <sub>20:5 n-3</sub>	۰/۱۴۷ ± ۰/۰۱۶ <sup>c</sup>	۰/۵۲۰ ± ۰/۰۸۰ <sup>b</sup>	۰/۸۲۳ ± ۰/۰۹۷ <sup>a</sup>
C <sub>22:6 n-3</sub>	۰/۰۳۱ ± ۰/۰۰۲ <sup>c</sup>	۱/۰۶۰ ± ۰/۰۷۰ <sup>b</sup>	۲/۴۴۶ ± ۰/۰۶۲ <sup>a</sup>
کلسترول زرده (mg/g)	۱۲/۹۵ ± ۰/۵۹ <sup>a</sup>	۱۲/۲۰ ± ۰/۴۸ <sup>b</sup>	۱۱/۸۰ ± ۰/۶۵ <sup>b</sup>

FO, (Fish oil): (روغن ماهی)

\*\* : اسید میریستیک (C<sub>14:0</sub>) اسید پالمیتیک (C<sub>16:0</sub>)، اسید پالمیتوئیک (C<sub>16:1</sub>)، اسید استئاریک (C<sub>18:0</sub>)، اسید اولئیک (C<sub>18:1</sub>)، اسید لینولئیک (C<sub>18:2</sub>)، اسید لینولئیک (C<sub>18:3</sub>)، اسید آراشیدونیک (C<sub>20:4</sub>)، اسید ایکوزاپنتانوئیک (C<sub>20:5</sub>)، اسید دوکوزاهگزانوئیک (C<sub>22:6</sub>) (Myristic acid, Palmitic acid, Palmitoleic acid, Stearic acid, Oleic acid, Linoleic acid(LA), Llinolenic acid(LNA), Arashidonic acid(AA), Eicosapentaenoic acid(EPA) and Docosahexaenoic acid(DHA))

وجود حروف لاتین متفاوت در هر ردیف نشان دهنده اختلاف معنی داری بین میانگین تیمارهای مختلف آزمایشی می باشد (P < ۰/۰۵)

بود. ولی بائوسلز و همکاران (۶) هیچ گونه تغییر معنی داری گزارش ننمودند که مشابه نتایج تحقیق حاضر است. درصد مجموع اسیدهای چرب امگا-۶ در جدول ۵ موجود است. بررسی کامل این اسیدها در تیمارها نشان داد که درصد مجموع اسیدهای چرب امگا-۶ در تیمارهای حاوی روغن ماهی کیلکا نسبت به تیمار شاهد کاهش یافته و در تیمار حاوی ۲ و ۴ درصد روغن ماهی کیلکا کمترین مقادیر مشاهده شد و این کاهش نسبت به تیمار شاهد از لحاظ آماری معنی دار بود (P < ۰/۰۵). در میانگین دوره ها درصد مجموع اسیدهای چرب امگا-۶ از ۱۲/۳۸ درصد در تیمار شاهد به ۸/۱۴ و ۹/۰۵ درصد به ترتیب در تیمارهای ۲ و ۳ کاهش یافت. احتمالاً این کاهش به دلیل رقابت در مسیرهای متابولیکی سنتز اسیدهای

۲ و ۳ کاهش یافت. این کاهش از لحاظ آماری معنی دار بود (P < ۰/۰۵). (جدول ۴). بسیاری از محققین گزارش نمودند که مقدار اسید لینولئیک در منابع دریایی پایین بوده و افزودن این منابع خوراکی به جیره مرغ تأثیر معنی داری بر درصد آن در زرده نخواهد داشت. هم چنین آنالیز آماری داده ها نشان می دهد که اختلاف معنی داری در درصد آراشیدونات در تیمارهای تغذیه شده با روغن ماهی کیلکا و شاهد وجود ندارد (جدول ۴) (P < ۰/۰۵). ولی هارگیس و همکاران کاهش مقدار اسید آراشیدونیک را از ۱۰۵ میلی گرم در شاهد به ۳۵ میلی گرم در تیمار حاوی روغن ماهی گزارش نمودند. هم چنین ایموند و ون سویک (۵) کاهش درصد اسید آراشیدونیک را از ۵/۰۴ به ۲/۵۲ گزارش نمودند که این کاهش از لحاظ آماری معنی دار

جدول ۵. ترکیب لیپید، و نسبت اسیدهای چرب و مجموع اسیدهای چرب اشباع و امگا در تیمارهای تغذیه شده با جیره‌های حاوی روغن ماهی کیلکا

اسید چرب	گره‌های آزمایشی		
	شاهد	٪ ۲ FO	٪ ۴ FO
	درصد از کل متیل استرهای اسیدهای چرب زرده تخم مرغ		
SFA*	۴۴/۶۸ ± ۱/۳۹	۴۵/۹۲ ± ۱/۵۱	۴۴/۱۷ ± ۱/۹۷
PUFA	۵۴/۴۱ ± ۱/۶۲	۵۴/۰۶ ± ۱/۹۸	۵۵/۸۱ ± ۲/۱۳
MUFA	۴۲/۹۵ ± ۱/۴۴	۴۴/۲۰ ± ۱/۹۵	۴۳/۳۲ ± ۱/۰۷
ω-7	۲/۹۹ ± ۰/۴۰	۳/۸۱ ± ۰/۹۳	۳/۰۱ ± ۰/۶۸
ω-9	۳۹/۹۶ ± ۱/۲۹	۴۰/۳۹ ± ۰/۹۶	۴۰/۳۱ ± ۰/۶۰
ω-6	۱۱/۵۸ ± ۱/۲۷ <sup>a</sup>	۸/۱۴ ± ۰/۹۸ <sup>b</sup>	۹/۰۵ ± ۱/۰۸ <sup>b</sup>
ω-3	۰/۶۵ ± ۰/۱۲ <sup>c</sup>	۲/۱۴ ± ۰/۲۴ <sup>b</sup>	۳/۹۲ ± ۰/۳۰ <sup>a</sup>
PUFA / SFA	۱/۲۰ ± ۰/۰۴ <sup>a</sup>	۱/۱۹ ± ۰/۰۳ <sup>a</sup>	۱/۲۶ ± ۰/۰۶ <sup>a</sup>
SFA/MUFA	۱/۰۴ ± ۰/۰۴ <sup>a</sup>	۱/۰۴ ± ۰/۰۵ <sup>a</sup>	۱/۰۲ ± ۰/۰۷ <sup>a</sup>
ω-6 / ω-3	۱۸/۰۱ ± ۰/۸۶ <sup>a</sup>	۳/۸۰ ± ۰/۳۱ <sup>b</sup>	۲/۳۱ ± ۰/۱۹ <sup>c</sup>
مقدار کل لیپید (گرم در ۱۰۰ گرم زرده)	۲۳/۱۲ ± ۰/۸۶	۲۲/۸۱ ± ۰/۵۳	۲۲/۴۳ ± ۰/۶۷

\*SFA; saturated fatty acid, PUFA; polyunsaturated fatty acid, MUFA; monounsaturated fatty acid, ω-7; omega-7 fatty acids, and ω-6/ ω-3 the ratio of omega-6/omega-3 fatty acids

وجود حروف لاتین متفاوت در هر ردیف نشان‌دهنده اختلاف معنی‌داری بین میانگین تیمارهای مختلف آزمایشی می‌باشد (P < ۰/۰۵)

یافته‌های آیموند و ون سویک (۵) و بانوسلز و همکاران (۶) موافق بود که دلیل آن احتمالاً پایین بودن سطح اسید لینولنیک در روغن ماهی است. موجودات دریایی از جمله ماهی غنی از اسیدهای چرب امگا-۳ غیراشباع بلندزنجیر می‌باشند ولی با نتایج هارگیس و همکاران (۱۱) مبنی بر افزایش مقدار لینولنات بعد از سه هفته تیمار مطابقت نداشت. که دلیل آن اختلاف در مقدار اسید لینولنیک در منابع مورد استفاده بود جیره‌های حاوی روغن ماهی کیلکا حاوی سطوح پایین اسید لینولنیک و سطوح بالای اسیدهای چرب امگا-۳ بلندزنجیر بودند و مکمل نمودن روغن ماهی کیلکا تأثیری بر درصد اسید لینولنیک زرده نداشت. آنالیز داده‌های آزمایشی مربوط به تیمارهای حاوی روغن ماهی کیلکا نشان داد که درصد ایکوزاپنتانویک اسید با افزایش روغن ماهی کیلکا حدود ۳۲۳ و ۵۲۴ درصد نسبت به تیمار شاهد به ترتیب در تیمارهای ۲ و ۳ افزایش یافت (P < ۰/۰۵)

چرب امگا-۶ و امگا-۳ می‌باشد وقتی پیش‌سازهای یک خانواده در جیره افزایش می‌یابد میزان آنزیم‌های سنتزی آن خانواده افزایش می‌یابد و در سنتز اسیدهای چرب خانواده مقابل اختلال ایجاد می‌شود چون مقدار پیش‌سازهای اسیدهای چرب امگا-۶ در تیمارهای ۲ و ۳ پایین‌تر بود درصد اسیدهای چرب این خانواده نیز در زرده کاهش یافت (P < ۰/۰۵).

اسیدهای چرب امگا-۳، مهم‌ترین خانواده اسیدهای چرب غیراشباع با چند پیوند دوگانه هستند که نقش‌های مهمی در سلامتی و عملکرد صحیح قلب و عروق و سیستم ایمنی و عصبی دارند (۲۲). در تیمارهای حاوی روغن ماهی کیلکا، اسیدهای چرب بلند زنجیر مانند ایکوزانوئیدها و دوکوزانوئیدها افزایش یافت. اما آنالیز داده‌ها نشان داد که در تیمارهای حاوی روغن ماهی کیلکا مقدار اسید لینولنیک نسبت به شاهد تغییر معنی‌داری نکرده است (جدول ۴) (P < ۰/۰۵). این نتایج با



۳ افزایش یافت و اختلاف آن با تیمار شاهد معنی دار بود ( $P < 0/05$ ). محققین زیادی نیز نتایج مشابهی در مورد افزایش مقادیر اسیدهای چرب امگا-۳ زرده تخم مرغ در هنگام افزودن روغن ماهی به جیره گزارش نمودند (۵، ۶، ۱۱ و ۲۶) که مشابه نتایج تحقیق حاضر بود. (جدول ۴ و ۵). بنابراین مکمل نمودن روغن های ماهی به ویژه ماهی کیلکا به جیره به دلیل دارا بودن سطوح بالای اسیدهای چرب امگا-۳ بلند زنجیر باعث افزایش این گروه اسیدهای چرب می شوند

امروزه محققینی که در زمینه اسیدهای چرب مطالعه می نمایند اهمیت نسبت اسیدهای چرب امگا-۶ به امگا-۳ را از درصد آنها در منابع خوراکی مهم تر می دانند (۶ و ۱۵). بیشتر محققین تجزیه و تحلیل نتایج را بر اساس این نسبت ها انجام می دهند (جدول ۵). آنالیز آماری مربوط به نسبت اسیدهای چرب امگا-۶ به امگا-۳ نشان داد که با افزایش روغن ماهی در جیره، این نسبت در زرده از ۱۸/۰۱ در تیمار شاهد به ۳/۸ و ۲/۳۱ به ترتیب در تیمارهای ۲ و ۴ درصد روغن ماهی کیلکا کاهش یافت ( $P < 0/05$ ). علت این کاهش به دلیل بالا بودن اسیدهای چرب بلند زنجیر غیر اشباع در روغن های ماهی می باشد. که به مرغ توانایی افزایش سنتز اسیدهای چرب امگا-۳ و افزایش توانایی انتقال آنها را به تخم مرغ می دهد. هر چه این نسبت پایین تر باشد آثار بهتری روی عروق خونی و سیستم قلبی خواهد داشت خطر بروز سکته های قلبی - عروقی و مرگ ناگهانی را کاهش خواهد داد.

### نتیجه گیری

استفاده از سطح ۲ درصد روغن ماهی در تغذیه طیور هیچ گونه اثر منفی روی صفات عملکردی مرغان تخم گذار و کیفی تخم مرغ نخواهد داشت ولی استفاده از سطح ۴ درصد روغن ماهی کیلکا منجر به افزایش وزن بدنی و هزینه تولید می گردد. استفاده از سطوح مختلف روغن ماهی باعث افزایش اسیدهای چرب امگا-۳ زرده به ویژه اسیدهای چرب بلند زنجیر و با چند پیوند دوگانه و هم چنین بهبود نسبت اسیدهای چرب امگا-۶ به

(جدول ۴). یافته های ما با نتایج هارگیس و همکاران (۱۱) که افزایش این اسید چرب را از صفر به بیش از ۳۵ میلی گرم گزارش نمودند و نتایج ون السویک (۲۶) که افزایش از نزدیک صفر به ۱۵ میلی گرم و با یافته های بائوسلز و همکاران (۶) که افزایش EPA را گزارش نمودند موافق بود. ولی با نتایج آیمنوند و ون السویک (۵) که عدم افزایش در مقدار EPA را گزارش نمودند مطابقت نداشت. همان طور که در جداول ۲ و ۴ نشان داده شده در حالی که مقدار EPA از DHA در روغن ماهی بالاتر بود ولی درصد DHA از EPA در زرده بیشتر بود و این افزایش مقدار DHA بیانگر توانایی سنتز این اسید چرب از منشأ EPA در بدن مرغ می باشد.

دوکوزاهگزانوئیک اسید (DHA)، مهم ترین اسید چرب بلند زنجیر خانواده امگا-۳، دارای ۲۲ کربن و ۶ باند دوگانه می باشد. این اسید بیشترین افزایش را در تیمارهای حاوی روغن ماهی کیلکا داشت. مقدار DHA به طور میانگین از ۰/۳۱ درصد در شاهد به ۱/۰۶۱ و ۲/۴۵ درصد به ترتیب در تیمارهای حاوی ۲ و ۴ درصد روغن ماهی کیلکا افزایش یافت که اختلاف بین تیمارهای مختلف و شاهد معنی دار بود ( $P < 0/05$ ). هارگیس و همکاران (۱۱) افزایش از ۱۰ میلی گرم به ۱۸۰ میلی گرم را گزارش نمودند هم چنین سایر محققین نیز (۵، ۶ و ۲۶) نتایج مشابهی را گزارش نمودند که با نتایج مطالعه مطابقت دارد. یکی از فاکتورهای مهم دیگر مجموع اسیدهای چرب امگا-۳ (لینولنیک اسید، ایکوزاپنتانوئیک اسید و دوکوزاهگزانوئیک اسید) می باشد چون این اسیدها دارای پیوندهای دوگانه زیادی بوده و در درجه حرارت پایین به صورت مایع هستند تأثیر زیادی بر روی سلامتی و سیستم ایمنی و عملکرد قلب و عروق دارند. آنالیز داده های آزمایشی حاکی از افزایش مجموع اسیدهای چرب امگا-۳ در تیمارهای حاوی روغن ماهی کیلکا می باشد، بیشترین افزایش درصد مجموع اسیدهای چرب امگا-۳ مربوط به دو اسید چرب EPA و DHA بود و مجموع اسیدهای چرب امگا-۳ به طور میانگین از ۰/۶۹ درصد در تیمار شاهد به ۲/۱۴ و ۳/۹۲ در تیمارهای ۲ و

### سیاسگزاری

امگا-۳ می‌شود. بسته به هدف غنی‌سازی می‌توان درصد روغن

ماهی را مشخص نمود.

محققین از جناب آقای مهندس قره شیر مدیر مزرعه مرغداری "مرغ تخم‌گذار شرکت به پرور" و استانداردی خراسان جنوبی به دلیل همکاری در اجرای طرح تشکر و قدردانی می‌نمایند.

### منابع مورد استفاده

۱. میرقلنج، ع، ش. رحیمی، م. برزگر و ع. م. کمالی. ۱۳۸۴. مقایسه منابع مختلف اسیدهای چرب امگا-۳ جهت غنی‌سازی تخم‌مرغ. مجله دانشکده دام‌پزشکی، دانشگاه تهران ۶۰(۱): ۸۷-۹۱.
2. Allen, P. C. and D. D. Harry. 1998. Effects of Dietary Supplementation with n-3 Fatty Acid Ethyl Esters on Coccidiosis in Chickens. *Poult. Sci.* 77: 1631-1635.
3. Allen, P. C., H. D. Danforth and O. A. Levander. 1996. Diets high in n-3 fatty acids reduce cecal Lesion scores in chickens infected with *Eimeria tenella*. *Poult. Sci.* 75:179-185.
4. Anderson, G. J. and W. E. Corliss. 1990. Docosa-hexaenoic acid is the preferred dietary n-3 fatty acid for the development of the brain and retina. *Pediatric. Res.* 27: 89-97.
5. Aymond, W. M. and M.E. Van Elswyk. 1995. Yolk Thiobarbituric acid reactive substance and n-3 fatty acid in response to whole and ground flaxseed. *Poult. Sci.* 74: 1388-1394.
6. Baucells, M. D., N. Crespo, A.C. Barroeta, S. Lopez-Ferrer and M. A. Grashornt. 2000. Incorporation of different polyun-saturated fatty acid into eggs. *Poult. Sci.* 79: 51-59.
7. Clandinin, M., J. E. Chapell, L. S. Heim, P. R. Sawyer and G. W. Chance. 1980. Extrauterine fatty acid accretion in infant brain: implications for fatty acid requirements. *Early Hum. Dev.* 4: 131-138.
8. Gonzalez-Esquerria, R. and S. Leeson. 2000. Effect of feeding hen's regular or deodorized menhaden oil on production parameters, yolk fatty acid profile, and sensory quality of eggs. *Poult. Sci.* 79:1579-1062.
9. Grobas, S., J. Mendez, L. Lazar, C. De Blas and G. G. Mateos. 2001. Influence of source and percentage of fat added to diet on performances and fatty acid composition of egg yolks of two strains of laying hens. *Poult. Sci.* 80:1171-1179.
10. Folch, J., M. Less and G. H. Sloane-stanely. 1957. A simple method for the isolation and purification of total fatty acids from animal tissues. *J. Biol. Chem.* 226: 497-507.
11. Hargis, P. S., M. E. Van Elswyk and B.M. Hargis. 1991. Dietary modification of yolk lipid with menhaden oil. *Poult. Sci.* 70: 874-883.
12. Hulan, H. W., R. G. Ackman, W. M. N. Ratnayake and F. G. Proudfoot. 1988. omega-3 fatty acid levels and performance of broiler chicken fed Red Fish Meal or Red Fish Oil. *Can. J. Anim. Sci.* 68: 543-547.
13. Morrison, W. R. and M.L. Smith. 1964. Preparation of fatty acid methyl esters and dimethylacetates from lipid with boron trifluoride methanol. *J. Lipid. Res.* 5: 600-608.
14. Leavander, O. A., A. L. Ager, V. C. Morris, R. Fontela and R.G. May. 1992. Menhaden oil protects against malaria in mice fed ground chow. *FASEB. J.* 6: A 1212.
15. Milinsk, M. C., A. E. Murakami, S. T. M. Gomes, M. Matsushita and N.E. de Souza. 2003. Fatty acid profile of egg yolk lipids from hens fed diets rich in n-3 fatty acids. *Food Chem.* 83: 287-292.
16. National Reserch Council. 1994. Nutrient Requirements of Poultry. 9<sup>th</sup> ed., National Academy Press, Washington, DC.
17. Okuyama, H., T. Kobayashi and S. Watanaba. 1997. Dietary fatty acids- The n-6/n-3 balance and chronic elderly diseases excess linoleic acid and relative n-3 deficiency syndrome seen in Japan. *Prog. Lipid Res.* 35:409-457.
18. Pandalai, P. K., M. J. Pilat, K. Yamazaki, H. Naki and K. J. Pienta. 1996. The effects of omega-3 and omega-6 fatty acids on in vitro prostate cancer growth. *Anticancer Res.* 16: 815-820.
19. SAS Institute. 1991. SAS ® User,s Guide: Statistics. Version 6.04 Edition. SAS Institute Inc. Cary, NC.
20. Scheideler, S. E. and G. W. Froning. 1996. The combined influence of dietary flaxseed variety, level, form, and storage conditions on egg production and composition among vitamin E-supplemented hens. *Poult. Sci.* 75: 1221-1226.
21. Simopoulos, A. P. 1991. Omega-3 fatty acid in health and disease and in growth and development. *Am. J. Clin. Nutr.* 54: 438-463.
22. Simopoulos, A. P. and J. Robinson. 1998. The Omega Plan. Harper Collins Pub., New York.

23. Shimizu, Y. K., S. Ise Arai and H. Shimasaki. 2001. Dietary fish oil for hens affects the fatty acid composition of egg yolk phospholipids and gives a valuable food with an ideal balance of n-6 and n-3 essential fatty acids for human nutrition. *J. Oleo Sci.* 50: 797-803.
24. Thompson, B. K. and R. M. Hamilton. 1982. Comparison of the precision and accuracy of the flotation and Archimedes method for measuring the specific gravity of egg. *Poult. Sci.* 16: 1599
25. Vuilleumier, J. P. 1969. The Roche yolk color fan—an instrument for measuring yolk color. *Poult. Sci.* 48: 767-779.
26. Van Elswyk, M. E. 1992. Composition, functionality and sensory evaluation of eggs from hens fed dietary menhaden oil. *J. Food Sci.* 57(2): 343.