

## Effect of inclusion levels of dry distillery grains with solubles (DDGS) on productivity and egg quality of Hy-Line Brown<sup>®</sup> laying hens

### Efecto de niveles de inclusión de granos secos de destilería con solubles (DDGS) en la productividad y calidad del huevo de gallinas ponedoras Hy-Line Brown<sup>®</sup>

F. Castiblanco<sup>1</sup>, P. E. Paz<sup>2</sup>, M. Valdivié<sup>3</sup> and Y. Martínez<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Centro de Investigación y Enseñanza Avícola, Departamento de Ciencia y Producción Agropecuaria, Escuela Agrícola Panamericana. Zamorano, Honduras

<sup>2</sup>Departamento de Ciencia y Producción Agropecuaria, Escuela Agrícola Panamericana, Zamorano, Honduras

<sup>3</sup>Centro Nacional para la Producción de Animales de Laboratorio Santiago de las Vegas, Rancho Boyeros, La Habana, Cuba

Email: [ymartinez@zamorano.edu](mailto:ymartinez@zamorano.edu)

F. Castiblanco: <https://orcid.org/0000-0002-1685-5367>

P. E. Paz: <https://orcid.org/0000-0002-9388-9579>

M. Valdivié: <https://orcid.org/0000-0002-8858-0307>

Y. Martínez: <https://orcid.org/0000-0003-2167-4904>

The effect of four levels of inclusion of dry distillery grains with solubles on the productive performance and egg quality of Hy-line Brown<sup>®</sup> laying hens was evaluated. A total of 140 animals were distributed in four treatments, according to a completely randomized design, for 10 weeks. Seven repetitions per treatment and five birds per repetition were established. The treatments consisted of a control diet and the inclusion of 10, 15 and 20 % of dry distillery grains with solubles. The inclusion of 0 and 10 % promoted ( $P < 0.05$ ) laying intensity and mass conversion with respect to 15 and 20 %. In addition, diets with dry distillery grains with solubles increased ( $P < 0.05$ ) food intake, nutrients and metabolizable energy, as well as shell thickness and yolk color ( $P < 0.05$ ), without notable changes ( $P > 0.05$ ) for albumen height, Haugh unit and resistance to shell rupture. It is recommended the inclusion of 10 % of dry distillery grains with solubles in partial substitution of corn and soybean meal in diets intended for Hy-line Brown<sup>®</sup> laying hens.

Key words: *distillery byproducts, laying hens, productive indicator, egg external and internal quality*

Currently, the demand for imported ingredients, such as corn and soybean, mainly, as well as the mobility restrictions due to COVID-19, have caused an increase of the price of these inputs, causing logistical problems for animal feed factories and poultry industry (USDA 2020). Thus, it is necessary to explore new food sources, available to reduce the high production costs (Valdivié *et al.* 2020). For some decades, dry distillery grains with soluble (DDGS) have been recommended as a food alternative available for ruminants and monogastric animals, with the aim of lowering production costs and reducing dependence on the use of corn and soybean meal (Abd El-Hack *et al.* 2015). Due to the increase of ethanol production as a biofuel, the availability of DDGS has increased considerably (Zhu *et al.* 2018), mainly in the United

Se evaluó el efecto de cuatro niveles de inclusión de granos secos de destilería con solubles en el desempeño productivo y la calidad del huevo de gallinas ponedoras Hy-line Brown<sup>®</sup>. Un total de 140 aves se distribuyeron, según diseño completamente al azar durante 10 semanas, en cuatro tratamientos. Se establecieron siete repeticiones por tratamiento y cinco aves por repetición. Los tratamientos consistieron en una dieta control y la inclusión de 10, 15 y 20 % de granos secos de destilería con solubles. La inclusión de 0 y 10 % promovió ( $P < 0.05$ ) la intensidad de puesta y la conversión masal con respecto al 15 y 20 %. Además, las dietas con granos secos de destilería con solubles incrementaron ( $P < 0.05$ ) el consumo de alimentos, nutrientes y energía metabolizable, así como el grosor de la cáscara y el color de la yema ( $P < 0.05$ ), sin cambios notables ( $P > 0.05$ ) para la altura del albumen, unidad Haugh y resistencia a la ruptura de la cáscara. Se recomienda la inclusión de 10 % de granos secos de destilería con solubles en sustitución parcial de la harina de maíz y de soya en dietas destinadas a gallinas ponedoras Hy-line Brown<sup>®</sup>.

Palabras clave: *subproducto de destilería, ave ponedora, indicador productivo, calidad externa e interna del huevo*

En la actualidad, la demanda de ingredientes importados, como el maíz y la soya principalmente, además de las restricciones de movilidad a causa del COVID-19, han provocado un aumento en el precio de estos insumos, lo que ocasiona problemas logísticos para las fábricas de alimento animal y para la industria avícola (USDA 2020). Así, es necesario explorar nuevas fuentes de alimento, disponibles para reducir los altos costos de producción (Valdivié *et al.* 2020). Desde hace algunas décadas, los granos secos de destilería con solubles (DDGS) se han recomendado como una alternativa alimentaria disponible para rumiantes y monogástricos, con el objetivo de abaratar los costos de producción y reducir la dependencia del uso de la harina de maíz y soya (Abd El-Hack *et al.* 2015). Debido al incremento de la producción de etanol como biocombustible, la disponibilidad DDGS ha aumentado

States, which produces more than 44 million metric tons per year (U.S Grains Council 2021).

DDGS are rich in crude protein, available phosphorus, essential amino acids, and vitamins (Swiatkiewicz and Koreleski 2008). Although DDGS are produced from other cereals, the feed industry prefers those that come from corn fermentation, because the levels of neutral detergent fiber (NDF) and acid detergent fiber (ADF) are relatively low and reduce problems related to feed digestibility (Szambelan *et al.* 2020). Jiang *et al.* (2013) recommend the inclusion between 10 and 12 % of DDGS in the diet, without reducing the productivity and quality of the egg of laying hens. Wu-Haan *et al.* (2010) reported that the inclusion of 20% of DDGS in diets of laying hens did not cause adverse effects on the productive response and reduced the emission of NH<sub>3</sub> and H<sub>2</sub>. Shalash *et al.* (2010) pointed out that the inclusion of 20 % of DDGS plus exogenous enzymes could partially replace the energy and protein ingredients in diets, without affecting productivity of laying hens.

Despite the fact that several studies have been developed with different levels of DDGS use in laying hens (El-Hack *et al.* 2019), there are still contradictions, mainly related to the technology for ethanol production, which has a direct impact on the chemical composition of DDGS (Böttger and Südekum 2018). Nowadays, the technology for ethanol production has managed to standardize the process for obtaining DDGS and reduce the variability of its chemical components. Furthermore, the fermentation process has substantially reduced starch concentration and non-enzymatic protein glycosylation, with the aim of increasing crude protein and amino acid availability (Iram *et al.* 2020). It is necessary to continue the study of DDGS in diets for hens, to elucidate the optimal inclusion level and its effect on the main indicators in laying hens.

The objective of the study was to evaluate the effect of the inclusion of DDGS levels on the productive performance and egg quality of Hy-Line Brown® laying hens.

### Materials and Methods

*Experimental location.* This study was conducted at the Poultry Research and Teaching Center of the Escuela Agrícola Panamericana, in Zamorano, Honduras. This facility is located in Valle del Yeguaré, San Antonio de Oriente municipality, Francisco Morazán department, 32 km from Tegucigalpa, Honduras. It has a height of 800 m o. s. l. and average temperature of 26 °C.

*Animals, experimental design and treatments.* A total of 140 Hy-Line Brown® laying hens, 77 weeks old, were distributed according to a totally randomized design for 10 weeks, with four treatments, seven repetitions per treatment and five animals per repetition.

de manera considerable (Zhu *et al.* 2018), principalmente en Estados Unidos, que produce más de 44 millones de toneladas métricas al año (U.S Grains Council 2021).

Los DDGS de destilería son alimentos ricos en proteína cruda, fósforo disponible, aminoácidos esenciales y vitaminas (Swiatkiewicz y Koreleski 2008). Aunque los DDGS se producen a partir de otros cereales, la industria productora de piensos prefiere los que provienen de la fermentación del maíz, debido a que los niveles de fibra detergente neutro (FDN) y fibra detergente ácido (FDA) son relativamente bajos y reducen los problemas relacionados con la digestibilidad del alimento (Szambelan *et al.* 2020). Jiang *et al.* (2013) recomiendan la inclusión de entre 10 y 12 % de DDGS en la dieta, sin reducir la productividad y calidad del huevo de gallinas ponedoras. Wu-Haan *et al.* (2010) informaron que la inclusión de 20 % de DDGS en las dietas de gallinas ponedoras no provocó efectos adversos en la respuesta productiva y redujo la emisión de NH<sub>3</sub> y H<sub>2</sub>. Shalash *et al.* (2010) señalaron que la inclusión de 20 % de DDGS más enzimas exógenas podría sustituir parcialmente los ingredientes energéticos y proteicos en las dietas, sin afectar la productividad de las aves ponedoras.

A pesar de que se han desarrollado diversos estudios con diferentes niveles de uso de los DDGS en gallinas ponedoras (El-Hack *et al.* 2019), todavía existen contradicciones, asociadas, principalmente, a la tecnología para la producción de etanol, que repercute directamente en la composición química del DDGS (Böttger y Südekum 2018). En la actualidad, la tecnología para la producción de etanol ha logrado estandarizar el proceso de obtención del DDGS y reducir la variabilidad de sus componentes químicos; además, el proceso de fermentación ha reducido sustancialmente la concentración de almidón y la glucosilación no enzimática proteica, con el objetivo de incrementar la proteína cruda y disponibilidad de los aminoácidos (Iram *et al.* 2020). Es necesario continuar el estudio de los DDGS en las dietas de gallinas, para dilucidar el nivel de inclusión óptimo y su efecto en los principales indicadores en gallinas ponedoras.

El objetivo de estudio fue evaluar el efecto de la inclusión de niveles de DDGS en el comportamiento productivo y calidad del huevo de gallinas ponedoras Hy-Line Brown®.

### Materiales y Métodos

*Ubicación experimental.* Este estudio se realizó en el Centro de Investigación y Enseñanza Avícola de la Escuela Agrícola Panamericana, en Zamorano, Honduras. Esta instalación se encuentra en el Valle del Yeguaré, municipio de San Antonio de Oriente, departamento de Francisco Morazán, a 32 km de Tegucigalpa, Honduras. Tiene una altura de 800 m s.n.m. y temperatura promedio de 26 °C.

*Animales, diseño experimental y tratamientos.* Un total de 140 gallinas ponedoras Hy-Line Brown®, de 77 semanas de edad, se distribuyeron según diseño totalmente aleatorizado durante 10 semanas, con cuatro tratamientos, siete repeticiones por tratamiento

Dietary treatments consisted of a control diet (T0) and the inclusion of 10 (T1), 15 (T2) and 20 % (T3) of DDGS.

DDGS were acquired from Alimento company, in Tegucigalpa, Honduras. The marketing company reported the following chemical composition: 81.32 % of dry matter, 9.33 MJ/kg of metabolizable energy, 28.13 % of crude protein, 7.5 % of crude fiber, 0.54 % of digestible lysine, 0.85 % of digestible methionine+cystine and 0.75 % of digestible threonine. In addition, the content of ash (6.76 %), K (1.37%), Ca (0.1 %), Mg (0.42 %), Cu (7.67 mg/kg), Fe (97.67 mg/kg), Mn (24.67 mg/kg) and Zn (109 mg/kg), according to AOAC 2001.11 (2006) and P (0.60 %) by the colorimetry method with molybdenum blue, were determined in DDGS by triplicate, in the Soils laboratory of the University by Zamorano. Diets were formulated according to the nutritional requirements described in the manual of the used genetic line (table 1).

*Experimental conditions.* The laying hens were housed in a 400 m<sup>2</sup> commercial shed, in 61×36 cm cages, with ceiling fans and an artificial lighting system.

y cinco aves por repetición. Los tratamientos dietéticos consistieron en una dieta control (T0) y la inclusión de 10 (T1), 15 (T2) y 20 % (T3) de DDGS.

El DDGS se adquirió en la empresa Alimento, en Tegucigalpa, Honduras. La empresa comercializadora informó la composición química siguiente: 81.32 % de materia seca, 9.33 MJ/kg de energía metabolizable, 28.13 % de proteína bruta, 7.5 % de fibra bruta, 0.54 % de lisina digestible, 0.85 % de metionina+cistina digestible y 0.75 % de treonina digestible. Además, en el DDGS se determinaron por triplicado el contenido de ceniza (6.76 %), K (1.37 %), Ca (0.1 %), Mg (0.42 %), Cu (7.67 mg/kg), Fe (97.67 mg/kg), Mn (24.67 mg/kg) y Zn (109 mg/kg), según la AOAC 2001.11 (2006) y el P(0.60%) por el método de colorimetría con azul de molibdeno, en el laboratorio de Suelos de la Universidad de Zamorano. Las dietas se formularon según los requerimientos nutricionales descritos en el manual de la línea genética utilizada (tabla 1).

*Condiciones experimentales.* Las gallinas ponedoras se alojaron en un galpón comercial de 400 m<sup>2</sup>, en jaulas de 61 × 36 cm, con ventiladores de techo y un sistema

Table 1. Ingredients and nutritional contributions of the diets of laying hens (77-86 weeks)

Ingredients, %	DDGS inclusion levels, %			
	0	10	15	20
Corn meal	73.13	65.82	62.09	58.29
Soybean meal	12.53	8.81	6.86	4.98
DDGS	0.00	10.0	15.0	20.0
Mineral and vitamin premix <sup>1</sup>	0.20	0.20	0.20	0.20
Sodium chloride	0.30	0.30	0.30	0.30
African palm oil	0.00	1.18	1.77	2.38
Wheat bran	0.39	0.00	0.00	0.00
Choline	0.05	0.05	0.05	0.05
DL-Methionine	0.30	0.30	0.31	0.31
L-Threonine	0.14	0.16	0.17	0.18
L-Lysin	0.29	0.36	0.40	0.43
Fine calcium carbonate	3.42	3.43	3.43	3.43
Thick calcium carbonate	7.99	7.99	8.00	8.00
Biofos	1.14	1.2	1.22	1.25
Mycofix plus 5.0	0.12	0.20	0.20	0.20
	Nutritional contribution, %			
ME, MJ/kg	11.40	11.40	11.40	11.40
Crude protein	14.22	14.22	14.22	14.22
Ca	4.44	4.44	4.44	4.44
Available P	0.35	0.35	0.35	0.35
Lysin	0.76	0.76	0.76	0.76
Methionine + cystine	0.72	0.72	0.72	0.72
Threonine	0.57	0.57	0.57	0.57

<sup>1</sup>Mineral and vitamin premix: vitamin A, 1,000 IU/kg; vitamin D<sub>3</sub>, 2,000 IU /kg; vitamin E, 30 IU/kg; vitamin K<sub>3</sub>, 2.0 mg/kg; vitamin B<sub>1</sub>, 1.0 mg/kg; vitamin B<sub>2</sub>, 6.0 mg/kg; vitamin B<sub>6</sub>, 3.5 mg/kg; vitamin B<sub>12</sub>, 18 mg/kg; niacin, 60 mg/kg; pantothenic acid, 10 mg/kg; biotin, 10 mg/kg; folic acid, 0.75 mg/kg; choline, 250 mg/kg; iron, 50 mg/kg; copper, 10 mg/kg; zinc, 70 mg/kg; manganese, 70 mg/kg; selenium, 0.30 mg/kg; iodine, 1.0 mg/kg  
DDGS: dry distillery grains with solubles

Water was offered ad libitum in two nipple drinkers per cage and feed intake was restricted to 115 g/d/hen in linear feeders. Sixteen hours of light were provided each day, and no therapeutic veterinary care was used during the experimental stage. To achieve adequate adaptation to the new diets, a 7-day pre-experimental feeding phase was used, recommended by Abd El-Hack *et al.* (2015).

*Productive performance.* To determine laying intensity (LI), total egg production/week/treatment was considered. One egg/d/housed hen was assumed to be 100 %. To determine egg weight (EW), 30 eggs were collected weekly per each treatment, between 8:30 a.m. and 9:30 a.m. Eggs were weighed on an OHAUS<sup>®</sup> digital technical balance (New Jersey, USA), with an accuracy of  $\pm 0.1$  g. Mortality was determined by considering dead animals among those that started the experiment. Food intake (FI) and nutrients was determined three times a week, according to the offer and reject method. This means intake of metabolizable energy (MEI), crude protein (CPI), calcium (CaI), phosphorus (PI), lysine (LysI), methionine + cystine (Met + cysI), threonine (ThrI) and metabolizable energy (ME). Mass conversion (MC) and unfit eggs (UFE) were calculated with the following formulas:

$$MC = \frac{\text{Food intake}}{\text{Number of eggs} \times \text{egg weight}}$$

$$UFE = \frac{UFE \times 100}{\text{Good eggs}}$$

*Egg external and internal quality.* At week 86, 30 eggs were collected per each experimental treatment. All were collected at the same time and transferred to the egg quality laboratory of the Research and Teaching Center of Zamorano Pan-American Agricultural School. Egg quality was analyzed on the same day of collection using an automatic TSS EggQuality analyzer (York, England) and Eggware v4x program. Resistance to rupture of the eggshell (middle pole) was measured with a QC-SPA<sup>®</sup> resistance analyzer (York, England).

For analyzing egg shell thickness (EST) (middle pole), a QC-SPA<sup>®</sup> micrometer screw (York, England) was used with a precision of  $\pm 0.001$  mm. For internal egg quality, albumen height (AH) was determined using a QHC<sup>®</sup> height analyzer (York, England) with a precision of  $\pm 0.01$  mm. Haugh units were calculated with the formula:

$$HU = 100 * \log (AH + 1.7EW^{0.37} + 7.6)$$

where:

HU is Haugh unit

AH is albumen height

EW is egg weight

de iluminación artificial. El agua se ofreció ad libitum en dos bebederos de tetina por jaula y el consumo de alimento se restringió a 115 g/d/ave en comederos lineales. Se suministraron 16 horas de luz cada día, y no se utilizó atención veterinaria terapéutica durante la etapa experimental. Para lograr la adaptación adecuada a las nuevas dietas, se utilizó una fase de alimentación pre-experimental de 7 d, recomendaba por Abd El-Hack *et al.* (2015).

*Comportamiento productivo.* Para determinar la intensidad de puesta (LI), se consideró la producción total de huevos/semana/tratamiento. Se asumió un huevo/d/ave alojada como 100 %. Para determinar el peso del huevo (EW), se recolectaron semanalmente 30 huevos por cada tratamiento, entre las 8:30 a.m. y 9:30 a.m. Los huevos se pesaron en una balanza técnica digital OHAUS<sup>®</sup> (Nueva Jersey, EE. UU.), con precisión de  $\pm 0.1$  g. La mortalidad se determinó al considerar las aves muertas entre los animales que iniciaron el experimento. El consumo de alimentos (FI) y nutrientes se determinó tres veces por semana, según el método de oferta y rechazo. Esto es consumo de: energía metabolizable (MEI), proteína bruta (CPI), calcio (CaI), fósforo (PI), lisina (LysI), metionina + cistina (Met + cysI), treonina (ThrI) y energía metabolizable (ME). La conversión masal (MC) y los huevos no aptos (UFE) se calcularon a partir de las fórmulas:

$$CM = \frac{\text{Consumo de alimento}}{\text{Número de huevos} \times \text{peso del huevo}}$$

$$UFE = \frac{UFE \times 100}{\text{Huevos aptos}}$$

*Calidad externa e interna del huevo.* En la semana 86, se recolectaron 30 huevos por cada tratamiento experimental. Todos se recolectaron al mismo tiempo y se trasladaron al laboratorio de calidad del huevo del Centro de Investigación y Enseñanza, de la Escuela Agrícola Panamericana Zamorano. La calidad del huevo se analizó el mismo día de la recolección mediante un analizador automático TSS EggQuality (York, Inglaterra) y el programa Eggware v4x. La resistencia a la ruptura de la cáscara del huevo (polo medio) se midió con un analizador de resistencia QC-SPA<sup>®</sup> (York, Inglaterra).

Para el grosor de la cáscara (GC) del huevo (polo medio), se utilizó un tornillo micrómetro QC-SPA<sup>®</sup> (York, Inglaterra) con precisión de  $\pm 0.001$  mm. Para la calidad interna del huevo, la altura del albumen (AH) se determinó mediante un analizador de altura QHC<sup>®</sup> (York, Inglaterra) con precisión de  $\pm 0.01$  mm. Las unidades Haugh se calcularon con la fórmula:

$$HU = 100 * \log (AH + 1.7EW^{0.37} + 7.6)$$

donde:

HU es la unidad Haugh

AH es la altura de la albúmina

EW es el peso del huevo

Yolk color (YC) was evaluated using a CCC<sup>®</sup> electronic colorimeter (York, England), which considers the Roche scale of 15 colors.

*Statistical analysis.* Data was processed by analysis of variance (Anova) in a completely randomized design. In the necessary cases, Duncan test (1955) was used. Furthermore, yolk color was determined by the non-parametric Kruskal and Wallis (1952) test, with Bonferroni correction (Armstrong 2014). Values of  $P < 0.05$  were taken to indicate significant differences. The SPSS 23.0.1.2014 program (SPSS Inc., Chicago, IL, USA) was used for statistical analyzes.

### Results and Discussion

The inclusion of 10 % of DDGS in the diets of laying hens ( $P < 0.05$ ) showed laying intensity ( $P < 0.001$ ) and mass conversion ( $P < 0.001$ ) similar to control, and both treatments, with 15 and 20 % of DDGS inclusion, indicated differences ( $P < 0.05$ ). This treatment (10 % of DDGS) also improved ( $P < 0.001$ ) egg weight by 1.85 g in relation to control, although the inclusion of 20 % of DDGS showed ( $P < 0.001$ ) the lowest values. Likewise, the inclusion of DDGS (10, 15 and 20 %) caused higher food intake, metabolizable energy and nutrients in relation to the diet without DDGS ( $P < 0.001$ ). The percentage of unfit eggs did not change due to the effect of experimental diets ( $P = 0.709$ ) (table 2).

El color de la yema (YC) se evaluó mediante un colorímetro electrónico CCC<sup>®</sup> (York, Inglaterra), que tiene en cuenta la escala de Roche de 15 colores.

*Análisis estadístico.* Los datos se procesaron mediante análisis de varianza (Anova) en un diseño totalmente aleatorizado. En los casos necesarios, se utilizó la dócima de Duncan (1955). Además, el color de la yema se determinó por la prueba no paramétrica Kruskal y Wallis (1952) con corrección de Bonferroni (Armstrong 2014). Se tomaron valores de  $P < 0.05$  para indicar diferencias significativas. Se utilizó el programa SPSS 23.0.1.2014 (SPSS Inc., Chicago, IL, EE. UU.) para los análisis estadísticos.

### Resultados y Discusión

La inclusión de 10 % de DDGS en las dietas de gallinas ponedoras ( $P < 0.05$ ) mostró intensidad de postura ( $P < 0.001$ ) y conversión masal ( $P < 0.001$ ) similares al control, y ambos tratamientos, con 15 y 20 % de inclusión de DDGS, indicaron diferencias ( $P < 0.05$ ). También este tratamiento (10 % de DDGS) mejoró ( $P < 0.001$ ) el peso del huevo en 1.85 g con relación al control, aunque la inclusión de 20 % de DDGS mostró ( $P < 0.001$ ) los valores más bajos. Asimismo, la inclusión de DDGS (10, 15 y 20 %) provocó mayor consumo de alimento, energía metabolizable y nutrientes con relación a la dieta sin DDGS ( $P < 0.001$ ). El porcentaje de huevos no aptos no cambió por el efecto de las dietas experimentales ( $P = 0.709$ ) (tabla 2).

Table 2. Effect of DDGS inclusion on the productive performance of Hy-line Brown<sup>®</sup> laying hens (77-86 weeks)

Items	DDGS inclusion levels, %				SE±	P Value
	0	10	15	20		
LI, %	85.55 <sup>a</sup>	85.10 <sup>a</sup>	80.29 <sup>b</sup>	80.49 <sup>b</sup>	0.408	<0.001
EW, g	63.15 <sup>c</sup>	65.00 <sup>a</sup>	63.63 <sup>b</sup>	62.83 <sup>d</sup>	0.043	<0.001
FI, g/hen/d	108.92 <sup>b</sup>	110.33 <sup>a</sup>	109.75 <sup>a</sup>	109.79 <sup>a</sup>	0.114	<0.001
MEI, kcal/hen/d	1.24 <sup>b</sup>	1.26 <sup>a</sup>	1.25 <sup>a</sup>	1.25 <sup>a</sup>	0.0005	<0.001
CPI, g/hen/d	15.49 <sup>b</sup>	15.69 <sup>a</sup>	15.61 <sup>a</sup>	15.61 <sup>a</sup>	0.016	<0.001
CaI, g/hen/d	4.83 <sup>b</sup>	4.90 <sup>a</sup>	4.87 <sup>a</sup>	4.87 <sup>a</sup>	0.005	<0.001
Available PI, mg/hen/d	381.8 <sup>b</sup>	385.8 <sup>a</sup>	383.4 <sup>a</sup>	384.5 <sup>a</sup>	0.380	0.002
LysI, mg/hen/d	827.5 <sup>b</sup>	837.6 <sup>a</sup>	834.2 <sup>a</sup>	834.5 <sup>a</sup>	0.840	<0.001
Met+CysI, mg/hen/d	785.9 <sup>b</sup>	794.1 <sup>a</sup>	790.5 <sup>a</sup>	791.7 <sup>a</sup>	0.810	<0.001
ThrI, mg/hen/d	620.8 <sup>b</sup>	628.9 <sup>a</sup>	625.6 <sup>a</sup>	625.8 <sup>a</sup>	0.650	<0.001
MC, kg/kg	2.18 <sup>b</sup>	2.11 <sup>b</sup>	2.31 <sup>a</sup>	2.39 <sup>a</sup>	0.019	<0.001
UFE, %	1.62	1.41	1.82	1.96	0.175	0.709

<sup>a,b,c,d</sup>Means with different superscripts in the same line differ at  $P < 0.05$

One of the objectives of this study was to verify whether the dietary use of corn DDGS with new biotechnological processes to correct nutrient variability and eliminate non-enzymatic protein glycosylation could have a better productive response in laying hens fed 10, 15 and 20 % of DDGS. In this sense, the inclusion of DDGS caused higher food intake and, as well as metabolizable energy and nutrients (table 2), which may be related to the increase of hedonic nutrients in DDGS,

Uno de los objetivos de este estudio fue comprobar si el uso dietético de DDGS de maíz con nuevos procesos biotecnológicos para corregir la variabilidad de nutrientes y eliminar la glucosilación no enzimática proteica podría tener mejor respuesta productiva en las gallinas ponedoras alimentadas con 10, 15 y 20 % de DDGS. En este sentido, la inclusión de DDGS provocó mayor consumo de alimento y, a su vez, de energía metabolizable y nutrientes (tabla 2), lo que quizás se

such as lipids and tryptophan, with respect to corn meal (FEDNA 2018).

Lisnahan and Nahak (2020) indicated that a higher concentration of tryptophan in the diet stimulated food intake, related to an increase of the precursor of serotonin and niacin. Shin *et al.* (2015) and Mahrose *et al.* (2016) indicated that levels of 10 and 16.5 % of DDGS in diets of laying hens caused an increase of food intake. Also, Dinani *et al.* (2018) mentioned that the high nutritional value of DDGS has a certain relationship with obtaining this ingredient, since once starch is fermented, nutrients of corn grain are concentrated in large quantities in the DDGS particles. According to Pottgüter (2015), the high intake of amino acids is due to their high content and bioavailability in dry distillery grains with solubles (DDGS), and their levels vary depending on the color tone of the product, this being an indicator of its quality. Regarding methionine and cystine intake, El-Sheikh and Salama (2020) mention that DDGS are rich sources of sulfur amino acids, when compared to protein foods such as soybean meal. A higher intake of DDGS increases, in turn, the intake of these amino acids. Mutucumarana *et al.* (2014) also report that phosphorus intake increases, due to its high presence in DDGS. According to Abd El-Hack *et al.* (2018), phosphorus is highly available and with lower proportions of phytate, which is related to fermentation processes to which this ingredient is subjected.

Similar results in laying intensity and mass conversion were obtained by Jiang *et al.* (2013) and Abd El-Hack *et al.* (2015), who recommended the inclusion between 10 and 12 % of DDGS in the diet. Also, Roberson *et al.* (2005) informed that the inclusion of 15 % of DDGS did not reduce the response in laying hens. Wu-Haan *et al.* (2010) and Rodríguez *et al.* (2016) reported no productive changes, when they used up to 20 % of DDGS in diets of laying hens. Shalash *et al.* (2010) indicated that the use of DDGS (20%) plus exogenous enzymes in the diets, did not affect laying intensity and mass conversion of laying hens. Masa'deh *et al.* (2011) stated that the inclusion of up to 25 % of DDGS in diets for laying hen did not affect egg production and mass conversion.

The variability of results with the use of DDGS in laying hens is due to the process of obtaining this by-product in ethanol production (Böttger and Südekum 2018). Authors such as Cromwell *et al.* (1993), Spiels *et al.* (2002), Belyea *et al.* (2006) and Liu (2009) reported ranges for crude protein (25.8 to 31.7 %), oil (9.1 to 14.1%), ash (3.7 to 8.1 %), NDF (33.1 to 43.9%), lysine (0.48 to 1.15 %), methionine (0.49 to 0.76 %) and threonine (0.99 to 1.28 %), so it is necessary to determine the chemical composition of DDGS prior to the productive study.

Results of table 2 showed that the inclusion of 15 and 20 % of DDGS in substitution of 11.04 and

relacione con el incremento de nutrientes hedónicos en el DDGS, como los lípidos y el triptófano, con respecto a la harina de maíz (FEDNA 2018).

Lisnahan y Nahak (2020) indicaron que una mayor concentración de triptófano en la dieta, estimuló el consumo de alimento, relacionado con el incremento del precursor de la serotonina y niacina. Shin *et al.* (2015) y Mahrose *et al.* (2016) indicaron que niveles de 10 y 16.5 % de DDGS en la dieta de gallinas ponedoras provocó aumento del consumo de alimento. También, Dinani *et al.* (2018) mencionaron que el alto valor nutricional de los DDGS tiene cierta relación con la obtención de este ingrediente, pues una vez que el almidón se fermenta, los nutrientes del grano de maíz se concentran en grandes cantidades en las partículas de DDGS. Según Pottgüter (2015), el alto consumo de aminoácidos se debe a su elevado contenido y biodisponibilidad en los granos secos de destilería con solubles (DDGS), y sus niveles varían en función de la tonalidad del color del producto, siendo este un indicador de su calidad. En cuanto a la ingesta de metionina y cistina, El-Sheikh y Salama (2020) mencionan que los DDGS son fuentes ricas en aminoácidos azufrados, si se comparan con alimentos proteicos como la harina de soya. Un consumo mayor de DDGS incrementa, a su vez, el consumo de estos aminoácidos. Mutucumarana *et al.* (2014) también refieren que el consumo de fósforo aumenta, debido a su alta presencia en los DDGS. Según Abd El-Hack *et al.* (2018), el fósforo se encuentra altamente disponible y con menores proporciones de fitato, lo que se relaciona con los procesos fermentativos a los que se somete este ingrediente.

Resultados similares en la intensidad de postura y conversión masal obtuvieron Jiang *et al.* (2013) y Abd El-Hack *et al.* (2015), quienes recomendaron la inclusión entre 10 y 12 % de DDGS en la dieta. También, Roberson *et al.* (2005) comprobaron que la inclusión de 15 % de DDGS no redujo la respuesta en gallinas ponedoras. Wu-Haan *et al.* (2010) y Rodríguez *et al.* (2016) no encontraron cambios productivos, cuando utilizaron hasta 20 % de DDGS en las dietas de gallinas ponedoras. Shalash *et al.* (2010) indicaron que la utilización de DDGS (20 %) más enzimas exógenas en las dietas no afectó la intensidad de postura y la conversión masal de las aves ponedoras. Masa'deh *et al.* (2011) informaron que la inclusión de hasta 25 % de DDGS en las dietas de gallinas ponedoras no afectó la producción de huevo y la conversión masal.

La variabilidad de los resultados con el uso de DDGS en las gallinas ponedoras se debe al proceso de obtención de este subproducto en la producción de etanol (Böttger y Südekum 2018). Autores como Cromwell *et al.* (1993), Spiels *et al.* (2002), Belyea *et al.* (2006) y Liu (2009) informaron rangos de proteína cruda (25.8 a 31.7 %), aceite (9.1 a 14.1 %), cenizas (3.7 a 8.1 %), FDN (33.1 a 43.9 %), lisina (0.48 a 1.15 %), metionina (0.49 a 0.76 %) y treonina (0.99 a 1.28 %), por lo que resulta necesario determinar la composición química del DDGS previa al estudio productivo.

Los resultados de la tabla 2 mostraron que la inclusión

14.84% of corn meal and 5.67 and 7.55 % of soybean meal, respectively, decreased the productive response of hens, although the experimental diets supplied essential and limiting amino acids, such as lysine, methionine + cystine, and threonine. Other essential and non-essential amino acids could be out of balance with the increased inclusion of DDGS. Additionally, the increased utilization of DDGS (up to 20%) and non-starch fibrous compounds probably reduced nutrient digestibility. Abd El-Hack *et al.* (2015) reported that the inclusion of up to 18 % of DDGS reduced the digestibility coefficient of dry matter (2.06 %), organic matter (4.57 %), crude protein (10.14 %), crude fat (9.84 %) and crude fiber (18.58 %).

In this study, despite the variability of results, laying intensity in the experimental treatments (80.40 to 85.55 %) was higher than that proposed by the Hy-Line Brown management guide (2018) for hens aged between 77-86 weeks (77 to 74 %).

Treatment with 10 % of DDGS showed the highest egg weight. This may be justified by a higher intake of sulfur amino acids with respect to control treatment and by a lower intake of crude fiber, related to treatments with 15 and 20 % of DDGS (table 2).

Methionine is known to be the essential and limiting amino acid, related to egg weight (Martínez *et al.* 2017). Faria *et al.* (2003) found that an increment of 1.14 % of the intake of methionine + cystine in laying hens promoted an increase of egg weight, similar to that recorded in this study, in which there was an increase in the intake of these sulfur amino acids (AA) by 1.26 %. The decrease of egg weight in treatments with 15 and 20 % DDGS could be also related to the reduction of digestibility of the amino acids of this ingredient, especially of the unbalanced AA in the diets. According to Pottgüter (2015) and Dinani *et al.* (2018), high levels of DDGS in diets reduce digestibility of nutrients, especially proteins and amino acids, mainly due to the concentration of crude fiber and the possible non-enzymatic glycosylation of proteins. Similar results were reported by Masa' deh *et al.* (2011), who state that egg weight tends to decrease as DDGS increase in the diet. However, studies of Swiatkiewicz *et al.* (2013) and Yildiz *et al.* (2018) did not find significant changes in egg weight, when they used up to 30 % of DDGS in diets for laying hens, so different responses of egg weight to the increase of DDGS in the diet are observed.

From the statistical point of view, mass conversion showed similar results for control diet and treatment with 10 % of DDGS. Higher levels of DDGS inclusion increased this productive indicator (table 2). Rodríguez *et al.* (2016) reported that mass conversion was not affected with levels of 10 and 20 % of DDGS in diets intended for layers. However, Saeed *et al.* (2017) pointed out the negative effect of this productive parameter (mass conversion) when using 20 % of

de 15 y 20 % de DDGS en sustitución de 11.04 y 14.84 % de harina de maíz y 5.67 y 7.55 % de harina de soya, respectivamente, disminuyó la respuesta productiva de las aves, aunque las dietas experimentales suplieron los aminoácidos esenciales y limitantes, como la lisina, metionina+cistina y treonina. Otros aminoácidos esenciales y no esenciales podrían estar desbalanceados con la mayor inclusión de DDGS. Además, quizás la mayor utilización de DDGS (hasta 20 %) y de compuestos fibrosos no amiláceos redujo la digestibilidad de los nutrientes. Abd El-Hack *et al.* (2015) informaron que la inclusión de hasta 18 % de DDGS redujo el coeficiente de digestibilidad de la materia seca (2.06 %), materia orgánica (4.57 %), proteína bruta (10.14 %), grasa bruta (9.84 %) y fibra cruda (18.58 %).

En este estudio, a pesar de la variabilidad de los resultados, la intensidad de puesta en los tratamientos experimentales (80.40 a 85.55 %) fue mayor que lo propuesto por la guía de manejo de Hy-Line Brown (2018) para gallinas con edad entre 77-86 semanas (77 a 74 %).

El tratamiento con 10 % de DDGS mostró el mayor peso del huevo. Esto puede estar justificado por un mayor consumo de aminoácidos azufrados con respecto al tratamiento control y por un menor consumo de fibra cruda, relacionado con los tratamientos con 15 y 20 % de DDGS (tabla 2).

Se conoce que la metionina es el aminoácido esencial y limitante, relacionado con el peso del huevo (Martínez *et al.* 2017). Faria *et al.* (2003) encontraron que el incremento de 1.14 % en el consumo de metionina+cistina en gallinas ponedoras promovió el aumento del peso del huevo, similar al registrado en este trabajo, donde hubo aumento en la ingesta de estos aminoácidos (AA) azufrados en 1.26 %. También la disminución en el peso del huevo en los tratamientos con 15 y 20 % de DDGS se pudo relacionar con la reducción en la digestibilidad de los aminoácidos de este ingrediente, sobre todo de los AA no balanceados en las dietas. Según Pottgüter (2015) y Dinani *et al.* (2018), altos niveles de DDGS en las dietas reducen la digestibilidad de los nutrientes, en especial las proteínas y aminoácidos, principalmente por la concentración de fibra cruda y por la posible glucosilación no enzimática de proteínas. Resultados similares informaron Masa' deh *et al.* (2011), quienes afirman que el peso del huevo tiende a disminuir a medida que aumentan los DDGS en la dieta. Sin embargo, en estudios de Swiatkiewicz *et al.* (2013) y Yildiz *et al.* (2018) no se encontraron cambios significativos en el peso del huevo, cuando utilizaron hasta 30 % de DDGS en las dietas para gallinas ponedoras, por lo que se observan respuestas diferentes del peso del huevo al incremento de DDGS en la dieta.

Desde el punto de vista estadístico, la conversión masal mostró resultados similares para la dieta control y el tratamiento con 10 % de DDGS. Mayores niveles de inclusión de DDGS incrementaron este indicador productivo (tabla 2). Rodríguez *et al.* (2016) refirieron que la conversión masal no se afectó con niveles de 10 y 20 % de DDGS en las dietas destinadas a ponedoras. Sin

inclusion of DDGS in the diet of laying hens, which is associated with a decrease of weight and production of eggs. According to Elshikha *et al.* (2018), mass conversion increases with higher inclusion of DDGS in diets, due to the decrease of egg production and the increase of food intake. The variability of the chemical composition of DDGS, due to biotechnological processes, is the main cause of variation in food intake and in production and weight of eggs of laying hens, important to determine this productive indicator (mass conversion).

It is known that eggs classified as unfit generate considerable economic losses in productive units, as they are not marketed. These problems, according to England and Ruhnke (2020), are due to the fact that the calcification process of laying hens is less efficient, with greater emphasis on old hens due to the decrease of sex hormones (mainly estrogens). Mazzuco and Bertechini (2014) ensure that the incidence of unfit eggs is directly related to the quality of the shell, in combination with other factors.

Previous results show that the use of up to 20% of DDGS in the diet did not affect the inclusion of calcium ions into the shell. The levels of consumed crude fiber had an influence on the absorption of this mineral, because, according to Savón *et al.* (2007), high levels of crude fiber in poultry diets increase mineral restriction, and affect the absorption of minerals such as Ca and Mg, as well as eggshell quality.

Table 3 shows the effect of the inclusion of 0, 10, 15 and 20 % of DDGS on external and internal egg quality at 87 weeks of age of hens. The inclusion of DDGS significantly increased egg weight ( $P = 0.03$ ), shell thickness ( $P < 0.001$ ) and yolk color ( $P < 0.001$ ). However, albumen height ( $P = 0.100$ ), Haugh unit ( $P = 0.221$ ) and resistance to rupture ( $P = 0.149$ ) of the shell were not modified due to the experimental treatments ( $P > 0.05$ ).

In this experiment, it could be seen that the inclusion of DDGS had a positive influence on shell thickness, a result that coincides with that reported by Sedmake *et al.* (2018), who indicated that the inclusion of

embargo, Saeed *et al.* (2017) señalaron el efecto negativo de este indicador productivo (conversión masal) al utilizar 20 % de inclusión de DDGS en la dieta de gallinas ponedoras, lo que se asocia a la disminución del peso y producción de huevo. De acuerdo con Elshikha *et al.* (2018), la conversión masal aumenta con mayor inclusión de DDGS en las dietas, debido a la disminución de la producción de huevo y al aumento del consumo de alimento. La variabilidad en la composición química de los DDGS, debido a los procesos biotecnológicos, es la causa principal de variación del consumo de alimento y de la producción y peso del huevo de gallinas ponedoras, importante para determinar este indicador productivo (conversión masal).

Se conoce que los huevos clasificados como no aptos generan pérdidas económicas considerables en las unidades productivas, pues no se comercializan. Estos problemas, según England y Ruhnke (2020), se deben que el proceso de calcificación de las gallinas ponedoras es menos eficiente, con mayor énfasis en gallinas viejas por la disminución de las hormonas sexuales (principalmente estrógenos). Mazzuco y Bertechini (2014) aseguran que la incidencia de huevos no aptos se relaciona directamente con la calidad de la cáscara, en combinación con otros factores.

Los resultados anteriores demuestran que la utilización en la dieta de hasta 20 % de DDGS no afectó la incorporación de iones calcio a la cáscara. Los niveles de fibra cruda consumidos no influyeron negativamente en la absorción de este mineral, ya que según Savón *et al.* (2007) altos niveles de fibra cruda en las dietas de las aves incrementan la restricción de minerales, y afectan la absorción de minerales como el Ca y Mg, y a su vez la calidad de la cáscara del huevo.

La tabla 3 muestra el efecto de la inclusión de 0, 10, 15 y 20 % de DDGS en la calidad externa e interna del huevo a las 87 semanas de edad de las gallinas. La inclusión de DDGS incrementó significativamente el peso del huevo ( $P = 0.03$ ), el grosor de la cáscara ( $P < 0.001$ ) y el color de la yema ( $P < 0.001$ ). Sin embargo, la altura del albumen ( $P = 0.100$ ), unidad Haugh ( $P = 0.221$ ) y resistencia a la ruptura ( $P = 0.149$ ) de la cáscara no se modificaron debido a los tratamientos experimentales ( $P > 0.05$ ).

En este experimento se pudo ver que la inclusión de

Table 3. Effect of the inclusion of dry distillery grains with solubles on external and internal egg quality of Hy-line Brown<sup>®</sup> laying hens (86 weeks)

Egg quality	DDGS inclusion levels (%)				SE±	P Value
	0	10	15	20		
EW (g)	60.03 <sup>b</sup>	63.56 <sup>a</sup>	63.51 <sup>a</sup>	62.71 <sup>a</sup>	0.390	0.003
AH (mm)	10.37	10.96	11.14	10.79	0.114	0.100
HU	100.14	102.32	103.1	101.74	0.518	0.221
RR (kgF/cm <sup>2</sup> )	4340.00	4425.10	4368.00	4360.68	65.91	0.149
ST (mm)	0.33 <sup>b</sup>	0.36 <sup>a</sup>	0.38 <sup>a</sup>	0.37 <sup>a</sup>	0.004	<0.001
YC	4.00 <sup>b</sup>	5.00 <sup>a</sup>	5.00 <sup>a</sup>	5.00 <sup>a</sup>		<0.001
	(0.050)	(0.052)	(0.051)	(0.051)		

<sup>a,b</sup> Means with different superscripts in the same line differ at  $P < 0.05$

( ) standard deviation



20% of DDGS increased shell thickness, due to the high concentration of orthophosphate (available P) in this food. Morales *et al.* (2016) mentioned that, in the biotechnological process, DDGS triples the mineral composition with respect to corn meal, which could have an impact on mineral metabolism and shell thickness. According to Sun and Kim (2020), increasing phytic P intake reduces Ca absorption and, therefore, egg shell thickness in laying hens, due to the imbalance in Ca: P ratio. Values of resistance to rupture also coincide with those reported by Shin *et al.* (2016), who mentioned that DDGS inclusion had no effect on this external quality parameter. Nasri *et al.* (2020) indicated that the optimal quality of the shell determines egg durability on the shelf and its greater commercialization.

The current study also evidenced greater intensity in yolk color in the treatments with DDGS (table 3). The golden color of DDGS is due to the carotenoids found in yellow corn, used for ethanol production (Abd El-Hack *et al.* 2015). Shin *et al.* (2016) mentioned that, due to the biotechnological process, high concentrations of lutein and zeaxanthin in DDGS cause greater intensity in egg yolk color, when this product is used up to 10 % in the diet. This agrees reports of Cortes-Cuevas *et al.* (2015) and Shin *et al.* (2015), who observed an increase of yolk color with the use of DDGS in the diet (up to 15 %). Currently, in many countries, yolk color constitutes one of the main parameters for consumers to decide to buy, who prefer a more pigmented yolk (Martínez *et al.* 2021).

Albumen height and Haugh unit did not change due to DDGS diets (table 3). This demonstrates that the inclusion of up to 30 % of DDGS did not affect protein synthesis in albumen, since the amount of white depends on the amino acid balance provided by the protein in the diet. Lysine or methionine deficiency reduces albumen weight, and decreases the concentration of all free amino acids (Sun *et al.* 2019). Similar results were informed by Yildiz *et al.* (2018), who used feedstuff with 0, 10, 20 and 30 % of DDGS, without observing changes in these parameters. Data of albumen height agree with Abd El-Hack *et al.* (2015), who indicated that the inclusion of DDGS at levels up to 18% did not affect this variable. Albumen height and Haugh unit are considered as the most important internal quality indicators, related to egg freshness (Narushin *et al.* 2021).

### Conclusions

The evaluated DDGS, which presents 28.13 % of crude protein, 9.33 MJ ME/kg, 7.5 % of crude fiber, 0.54 % of digestible lysine, 0.85 % of digestible methionine + cystine and 0.75 % of digestible threonine, can be efficiently used with a 10 % level in diets for 77-week-old Hy-Line Brown® laying hens. This allows the animals to express their maximum potential for egg

DDGS influyó positivamente en el grosor de la cáscara del huevo, resultado que coincide con lo informado por Sedmake *et al.* (2018), quienes indicaron que la inclusión de 20 % de DDGS incrementó el grueso de la cáscara, debido a la alta concentración de ortofosfato (P disponible) en este alimento. Morales *et al.* (2016) habían mencionado que, en el proceso biotecnológico, el DDGS triplica la composición mineral con respecto a la harina de maíz, lo que pudo incidir en el metabolismo mineral y grosor de la cáscara. Según Sun y Kim (2020), el incremento de la ingesta de P fítico reduce la absorción de Ca y, por ende, el grosor de la cáscara del huevo en gallinas ponedoras, debido al desbalance en la relación de Ca:P. También los valores de la resistencia a la ruptura coinciden con lo referido por Shin *et al.* (2016), quienes mencionaron que la inclusión de DDGS no tuvo efecto en este indicador de calidad externa. Nasri *et al.* (2020) indicaron que la óptima calidad del cascarón determina la durabilidad del huevo en el anaquel y su mayor comercialización.

Este estudio evidenció, además, mayor intensidad en el color de la yema en los tratamientos con DDGS (tabla 3). El color dorado de los DDGS se debe a los carotenoides que posee el maíz amarillo, utilizado en la producción de etanol (Abd El-Hack *et al.* 2015). Shin *et al.* (2016) mencionaron que, debido al proceso biotecnológico, las altas concentraciones de luteína y zeaxantina de los DDGS provocan mayor intensidad en el color de la yema del huevo, cuando este producto se utiliza hasta 10 % en la dieta. Esto concuerda con lo referido por Cortes-Cuevas *et al.* (2015) y Shin *et al.* (2015), quienes observaron incremento en el color de la yema con la utilización de DDGS en la dieta (hasta 15 %). Actualmente, en muchos países, el color de la yema constituye uno de los principales indicadores para que los consumidores decidan comprar, quienes prefieren una yema más pigmentada (Martínez *et al.* 2021).

La altura del albumen y la unidad Haugh no cambiaron, debido a las dietas con DDGS (tabla 3). Esto demuestra que la inclusión de hasta 30 % de DDGS no afectó la síntesis de proteínas en el albumen, ya que la cantidad de la clara depende del equilibrio en aminoácidos que aporta la proteína de la dieta. La deficiencia de lisina o metionina reduce el peso del albumen, y disminuye la concentración de todos los aminoácidos libres (Sun *et al.* 2019). Resultados similares mostraron Yildiz *et al.* (2018), quienes utilizaron piensos con 0, 10, 20 y 30 % de DDGS, sin observar cambios en estos parámetros. Los datos de la altura del albumen se corresponden con lo encontrado por Abd El-Hack *et al.* (2015), quienes indicaron que la inclusión de DDGS en niveles de hasta 18 % no afectó esta variable. La altura del albumen y la unidad Haugh se consideran los indicadores de calidad interna más importantes, relacionados con la frescura del huevo (Narushin *et al.* 2021).

### Conclusiones

El DDGS evaluado, que presenta 28.13 % de proteína bruta, 9.33 MJ de EM/kg, 7.5 % de fibra bruta,

production and to produce heavier eggs, with thicker shells, higher yolk pigmentation and the same mass conversion compared to control treatment. Meanwhile, the inclusion of 15 and 20 % of this DDGS reduced egg production of hens and damaged mass conversion and egg weight.

#### Conflict of interests

The authors declare that there is no conflict of interest among them.

#### Contribution of authors

F. Castiblanco: Conduction of the experiment, data analysis and paper writing.

P. E. Paz: Data analysis.

M. Valdivié: Data analysis and paper writing.

Y. Martínez: Original idea, conducting the experiment, research design

0.54 % de lisina digestible, 0.85 % de metionina + cistina digestible y 0.75 % de treonina digestible, se puede utilizar eficientemente al nivel de 10 % en las dietas para gallinas ponedoras Hy-Line Brown® de 77 semanas de edad. Esto permite a las aves expresar su máximo potencial de producción de huevos y producir huevos más pesados, con cáscaras más gruesas, mayor pigmentación de la yema e igual conversión masal con respecto al tratamiento control. En tanto, la inclusión de 15 y 20 % de este DDGS redujo la producción de huevos de las gallinas y dañó la conversión masal y el peso de los huevos.

#### Conflicto de intereses

Los autores declaran que no existe conflicto de intereses entre ellos.

#### Contribución de los autores

F. Castiblanco: Conducción del experimento, análisis de los datos y escritura del manuscrito.

P. E. Paz: Análisis de los datos.

M. Valdivié: Análisis de los datos y escritura del manuscrito.

Y. Martínez: Idea original, conducción del experimento, diseño de la investigación, análisis de los datos y escritura del manuscrito.

## References

- Abd El-Hack, M.E., Alagawany, M., Arif, M., Emam, M., Saeed, M., Arain, M.A., Siyal, F.A., Patra, A., Elners, S.S. & Khan, R.U. 2018. "The uses of microbial phytase as a feed additive in poultry nutrition – a review". *Annals of Animal Science*, 18(3): 639–658, ISSN: 1642-3402. <https://doi.org/10.2478/aoas-2018-0009>.
- Abd El-Hack, M., Alagawany, M., Farag, M.R. & Kuldeep, M. 2015. "Use of maize distiller's dried grains with solubles (DDGS) in laying hen diets: trends and advances". *Asian Journal of Animal and Veterinary Advances*, 10(11): 690-707, ISSN: 1683-9919. <https://doi.org/10.3923/ajava.2015.690.707>.
- AOAC (Association of Official Analytical Chemists). 2006. *Official Methods of Analysis*. 18th Ed. Ed. AOAC International. Gaithersburg, MD, USA, ISBN: 9780935584776.
- Armstrong, R.A. 2014. "When to use the Bonferroni correction". *Ophthalmic and Physiological Optics*, 34(5): 502-508, ISSN: 1475-1313. <https://doi.org/10.1111/opo.12131>.
- Belyea, R.L., Clevenger, T.E., Singh, V., Tumbleson, M. & Rausch, K.D. 2006. "Element concentrations of dry-grind corn-processing streams". *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 134(2): 113–128, ISSN: 0273-2289. <https://doi.org/10.1385/ABAB:134:2:113>.
- Böttger, C. & Südekum, K.H. 2018. "Review: protein value of distillers dried grains with solubles (DDGS) in animal nutrition as affected by the ethanol production process". *Animal Feed Science and Technology*, 244: 11-17, ISSN: 0377-8401. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2018.07.018>.
- Cortes-Cuevas, A., Ramírez-Estrada, S., Arce-Menocal, J., Avila-González, E. & López-Coello, C. 2015. "Effect of feeding low-oil DDGS to laying hens and broiler chickens on performance and egg yolk and skin pigmentation". *Brazilian Journal of Poultry Science*, 17(2): 247–254, ISSN: 1516-635X. <https://doi.org/10.1590/1516-635x1702247-254>.
- Cromwell, G.L. Herkelman, K.L. & Stahly, T.S. 1993. "Physical, chemical, and nutritional characteristics of distillers dried grains with solubles for chicks and pigs". *Journal of Animal Science*, 71(3): 679–686, ISSN: 0021-8812. <https://doi.org/10.2227/1993.713679x>.
- Dinani, O.M., Tyagi, P.K., Mandal, A.B., Tyagi, P.K., Gupta, S.L. & Junaid, N. 2018. "Feeding value of distillers dried grain with soluble for poultry". *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 7(11): 1389-1400, ISSN: 2319-7706. <https://doi.org/10.20546/ijcmas.2018.711.161>.
- Duncan, D.B. 1955. "Multiple Range and Multiple F Tests". *Biometrics*, 11(1): 1-42, ISSN: 0006-341X. <https://doi.org/10.2307/3001478>.
- El-Hack, A., Mohamed, E., Mahrose, K.M., Attia, F.A., Swelum, A.A., Taha, A.E., Shewita, R.S., Hussein, O.S. & Alowaimer, A.N. 2019. "Laying performance, physical, and internal egg quality criteria of hens fed distillers dried grains with solubles and exogenous enzyme mixture". *Animals*, 9(4): 150, ISSN: 2076-2615. <https://doi.org/10.3390/ani9040150>.
- El-Sheikh, S.E. & Salama, A.A. 2020. "Utilization of dry corn grains distillation by-product with soluble (DDGS) as an alternative non-conventional feed stuff in laying hen diets". *Egyptian Journal of Nutrition and Feeds*, 23(3): 473-483, ISSN: 1110-6360. <https://doi.org/10.21608/EJNF.2020.148140>.
- Elshikha, T.B., Aboul-Ela, S.S., Attia, A.I. & El-Kholly, M.S. 2018. "Effects of feeding dried distillers grains by solubles with

- or without enzyme supplementation on growth performance of broiler chicks". *Zagazig Journal of Agricultural Research*, 45(3): 1031-1043, ISSN: 1110-0338.
- England, A. & Ruhnke, I. 2020. "The influence of light of different wavelengths on laying hen production and egg quality". *World's Poultry Science Journal*, 76(3): 443-458, ISSN: 0043-9339. <https://doi.org/10.1080/00439339.2020.1789023>.
- Faria, E., Harms, H., Antar, B. & Russell, B. 2003. "Re-evaluation of the lysine requirement of the commercial laying hen in a corn-soybean meal diet". *Journal of Applied Animal Research*, 23(2): 161-174, ISSN: 0974-1844. <https://doi.org/10.1080/09712119.2003.9706418>.
- FEDNA (Federación Española para el Desarrollo de la Nutrición Animal). 2018. *Necesidades nutricionales para la avicultura. Normas FEDNA*. 2nd Ed. Ed. FEDNA. Madrid, España, ISBN: 978-84-09-06529-5.
- Hy-Line Brown. 2018. *Guía de manejo: ponedoras comerciales Hy-Line Brown*. Available: <https://www.hyline.com/spanish/variedades/brown>.
- Iram, A., Cekmecelioglu, D. & Demirci, A. 2020. "Distillers' dried grains with solubles (DDGS) and its potential as fermentation feedstock". *Applied Microbiology and Biotechnology*, 104: 6115-6128, ISSN: 0175-7598. <https://doi.org/10.1007/s00253-020-10682-0>.
- Jiang, W., Zhang, L. & Shan, A. 2013. "The effect of vitamin E on laying performance and egg quality in laying hens fed corn dried distiller's grains with solubles". *Poultry Science*, 92(11): 2956-2964, ISSN: 0032-5791. <https://doi.org/10.3382/ps.2013-03228>.
- Kruskal, W.H. & Wallis, W.A. 1952. "Use of ranks in one-criterion variance analysis". *Journal of the American Statistical Association*, 47(260): 583-621, ISSN: 0162-1459. <https://doi.org/10.1080/01621459.1952.10483441>.
- Lisnahan, C.V. & Nahak, O.R. 2020. "Growth performance and small intestinal morphology of native chickens after feed supplementation with tryptophan and threonine during the starter phase". *Veterinary World*, 13(12): 2765-2771, ISSN: 2231-0916. <https://dx.doi.org/10.14202/vetworld.2020.2765-2771>.
- Liu., K.S. 2009. "Effects of particle size distribution, compositional and color properties of ground corn on quality of distillers dried grains with solubles (DDGS)". *Bioresource Technology*, 100(19): 433-444, ISSN: 2589-014X. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2009.02.067>.
- Mahrose, K., El-Hack, M., El-Hindawy, M. & Attia, I.E. 2016. "Productive performance of laying hens fed different levels of distillers dried grains with solubles with or without certain feed additives". *Iranian Journal of Applied Animal Science*, 6(2): 407-413, ISSN: 2251-628x.
- Martínez, Y., Li, X., Liu, G., Bin, P., Yan, W., Más, D. & Yin, Y. 2017. "The role of methionine on metabolism, oxidative stress, and diseases". *Amino Acids*, 49(12): 2091-2098, ISSN: 0939-4451. <https://doi.org/10.1007/s00726-017-2494-2>.
- Martínez, Y., Orozco, C.E., Montellano, R.M., Valdiviá, M. & Parrado, C.A. 2021. "Use of achiote (*Bixa orellana* L.) seed powder as pigment of the egg yolk of laying hens". *Journal of Applied Poultry Research*, 30(2): 100154, ISSN: 1056-6171. <https://doi.org/10.1016/j.japr.2021.100154>.
- Masa'deh, M.K., Purdum, S.E. & Hanford, K.J. 2011. "Dried distiller's grains with solubles in laying hen diets phosphorus". *Poultry Science*, 90(9): 1960-1966, ISSN: 0032-5791. <https://doi.org/10.3382/ps.2010-01184>.
- Mazzuco, H. & Bertechini, A.G. 2014. "Critical points on egg production: causes, importance and incidence of eggshell breakage and defects". *Revista Ciencia y Agrotecnología*, 38(1): 7-14, ISSN: 143-7054.
- Morales, H., Valdiviá, M. & Juárez, M. *Granos de destilería de maíz, desecados con solubles (DDGS)*. 2016. In: *Alimentos alternativos para aves, cerdos y conejos*. Valdiviá, M. (ed). 1st Ed. Ed. Universidad Autónoma de Nuevo León. Nuevo León, México, pp. 48-76.
- Mutucumarana, R.K., Ravindran, V., Ravindran, G. & Cowieson, A.J. 2014. "Measurement of true ileal digestibility of phosphorus in some feed ingredients for broiler chickens". *Journal of Animal Science*, 92(12): 5520-5529, ISSN: 0021-8812. <https://doi.org/10.2527/jas2014-7884>.
- Narushin, V., Romanov, M.N. & Griffin, D.K. 2021. "A novel egg quality index as an alternative to Haugh unit score". *Journal of Food Engineering*, 289: 110176. ISSN: 0260-8774. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2020.110176>.
- Nasri, H., Van den Brand, H., Najjar, T. & Bouzouaia, M. 2020. "Egg storage and breeder age impact on egg quality and embryo development". *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, 104(1): 257-268, ISSN: 1439-0396. <https://doi.org/10.1111/jpn.13240>.
- Pottgüter, R. 2015. "Potential for use of dried distiller's grains with solubles (DDGS) in layer diets". *LOHMANN Information*, 49(1): 18-23, ISSN: 1617-2906, Available: [https://www.ltz.de/de-wAssets/docs/lohmann-information/Lohmann-Information1\\_2015\\_Vol.-49-1-July-2015\\_Pottgueter.pdf](https://www.ltz.de/de-wAssets/docs/lohmann-information/Lohmann-Information1_2015_Vol.-49-1-July-2015_Pottgueter.pdf).
- Roberson, K., Kalbfleisch, J., Pan, W. & Charbeneau, R. 2005. "Effect of corn distiller's dried grains with solubles at various levels on performance of laying hens and egg yolk color". *International Journal of Poultry Science*, 4(2): 44-51, ISSN: 1682-8356. <https://doi.org/10.3923/ijps.2005.44.51>.
- Rodríguez, B., Vázquez, Y., Valdiviá, M. & Herrera, M. 2016. "Evaluación de granos secos de destilería con solubles de maíz en la alimentación de gallinas ponedoras White Leghorn L-33". *Cuban Journal of Agricultural Science*, 50(4): 543-548, ISSN: 2079-3480.
- Saeed, M., El-Hack, M.E., Arif, M., El-Hindawy, M.M., Attia, A.I., Mahrose, K.M., Noreldin, A.E. 2017. "Impacts of distiller's dried grains with solubles as replacement of soybean meal plus vitamin E supplementation on production, egg quality and blood chemistry of laying hens". *Annals of Animal Science*, 17(3): 849-862, ISSN: 2300-8733. <https://doi.org/10.1515/aoas-2016-0091>.
- Savón, L., Scull, I., Orta, M. & Martínez, M. 2007. "Harinas de follajes integrales de tres leguminosas tropicales para la alimentación avícola. Composición química, propiedades físicas y tamizaje fitoquímico". *Cuban Journal of Agricultural*

- Science, 41(4): 359-361, ISSN: 2079-3480.
- Sedmake, E.D., Khose, K.K., Manwar, S.J., Gole, M.A., Wade, M.R. & Wankhede, S.M. 2018. "Effect of feeding corn distiller's dried grains with solubles (DDGS) on egg quality traits in commercial layers". *International Journal of Livestock Research*, 8(8): 273-284, ISSN: 2277-1964. <https://doi.org/10.5455/ijlr.20180104062855>.
- Shalash, M.M., El-Wafa, S., Hassan, R.A., Nehad, R., Manal, M. & El-Gabry, H. 2010. "Evaluation of distillers dried grains with solubles as feed ingredient in laying hen diets". *International Journal of Poultry Science*, 9(6): 537-545, ISSN: 1682-8356. <https://doi.org/10.3923/ijps.2010.537.545>.
- Shin, H.S., Kim, J.W., Kim, J.H., Lee, D.G., Lee, S. & Kil, D.Y. 2016. "Effect of feeding duration of diets containing corn distillers dried grains with solubles on productive performance, egg quality, and lutein and zeaxanthin concentrations of egg yolk in laying hens". *Poultry Science*, 95(10): 2366–2371, ISSN: 0032-5791. <https://doi.org/10.3382/ps/pew127>.
- Shin, H.S., Kim, J.W., Lee, D.G., Lee, S. & Kil, D.Y. 2015. "Bioavailability of lutein in corn distillers dried grains with solubles relative to lutein in corn gluten meal based on lutein retention in egg yolk". *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 96(10): 3401–3406, ISSN: 1097-0010. <https://doi.org/10.1002/jsfa.7520>.
- Spiehs, M.J., Whitney, M.H. & Shurson, G.C. 2002. "Nutrient database for distiller's dried grains with solubles produced from new ethanol plants in Minnesota and South Dakota". *Journal of Animal Science*, 80(10): 2639–2645, ISSN: 0021-8812. <https://doi.org/10.2257/2002.80102639x>.
- SPSS. 2014. *Statistical Package for Social Sciences (version 23)*. SPSS Inc. Chicago, Illinois, USA.
- Sun, C., Liu, J., Yang, N. & Xu, G. 2019. "Egg quality and egg albumen property of domestic chicken, duck, goose, turkey, quail, and pigeon". *Poultry Science*, 98(10): 4516-4521, ISSN: 0021-8812. <https://doi.org/10.3382/ps/pez259>.
- Sun, H.Y. & Kim, I.H. 2020. "Effects of microbial phytase supplementation on egg production and egg quality in Hy-line brown hens during the late laying period". *The Journal of Poultry Science*, 58(3): 171-176, ISSN: 1346-7395. <https://doi.org/10.2141/jpsa.0200001>.
- Swiatkiewicz, S., Arczewska-Włosek, A., Krawczyk, J., Puchała, M. & Józefiak, D. 2013. "Effects of selected feed additives on the performance of laying hens given a diet rich in maize dried distiller's grains with solubles (DDGS)". *British Poultry Science*, 54(4): 478-485, ISSN: 0007-1668. <https://doi.org/10.1080/00071668.2013.797563>.
- Swiatkiewicz, S. & Koreleski, J. 2008. "The use of distillers dried grains with solubles (DDGS) in poultry nutrition". *World's Poultry Science Journal*, 64(2): 257-266, ISSN: 1743-4777. <https://doi.org/10.1017/S0043933908000044>.
- Szambelan, K., Nowak, J., Szwengiel, A. & Jeleń, H. 2020. "Comparison of sorghum and maize raw distillates: Factors affecting ethanol efficiency and volatile by-product profile". *Journal of Cereal Science*, 91: 102863, ISSN: 0733-5210. <https://doi.org/10.1016/j.jcs.2019.102863>.
- U.S. Grain Council. 2021. DDGS: production and exports. Available: <https://grains.org/buying-selling/ddgs/#:~:text=Production%20and%20Exports&text=DDGS%20utilization%20as%20a%20feed,million%20metric%20tons%20of%20DDGS>.
- USDA (United States Department of Agriculture). 2020. *Livestock and Poultry: World Markets and Trade*. United States Department of Agriculture Foreign Agricultural Service. Available: [https://apps.fas.usda.gov/psdonline/circulars/livestock\\_poultry.pdf](https://apps.fas.usda.gov/psdonline/circulars/livestock_poultry.pdf).
- Valdivié-Navarro, M., Martínez-Aguilar, Y., Mesa-Fleitas, O., Botello-León, A., Hurtado, C. B. & Velázquez-Martí, B. 2020. "Review of *Moringa oleifera* as forage meal (leaves plus stems) intended for the feeding of non-ruminant animals". *Animal Feed Science and Technology*, 260(2): 114338, ISSN: 0377-8401. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2019.114338>.
- Wu-Haan, W., Powers, W., Angel, R. & Applegate, T.J. 2010. "The use of distillers dried grains plus solubles as a feed ingredient on air emissions and performance from laying hens". *Poultry Science*, 89(7): 1355–1359, ISSN: 1300-6045. <https://doi.org/10.3382/ps.2009-00471>.
- Yildiz, T., Ceylan, N., Atik, Z., Karademir, E. & Ertekin, B. 2018. "Effect of corn distillers dried grains with soluble with or without xylanase supplementation in laying hen diets on performance, egg quality and intestinal viscosity". *Kafkas Universitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 24(2): 273-280, ISSN: 1300-6045. <https://doi.org/10.9775/kvfd.2017.18832>.
- Zhu, J., Zeng, Z.K., Shurson, G.C. & Urriola, P.E. 2018. "Prediction of the concentration of standardized ileal digestible amino acids in distillers dried grains with solubles for poultry: A Meta-Analysis". *Journal of Animal Science*, 96(2): 192-193, ISSN: 0021-8812. <https://doi.org/10.1093/jas/sky073.354>.

**Received: September 2, 2021**

**Accepted: October 8, 2021**