



Artículo de investigación

Efecto de oligofruktosa de agave en dietas de gallinas ponedoras en la producción de huevos

Ivón Chávez-Mora¹  M.Sc; David Sánchez-Chiprés²  Ph.D; Jorge Galindo-García²  Ph.D;
Miguel Ángel Ayala-Valdovinos²  Ph.D; Theodor Duifhuis-Rivera²  M.Sc; Julio Ly-Carmenatti³  Ph.D.

¹Universidad de Guadalajara, Centro Universitario de Ciencias Biológicas y Agropecuarias (CUCBA), Departamento de Producción Animal, Maestría Interinstitucional en Producción Pecuaria (MIPPE). Guadalajara, Jalisco, México.

²Universidad de Guadalajara, Centro Universitario de Ciencias Biológicas y Agropecuarias (CUCBA), Departamento de Producción Animal, Guadalajara, Jalisco, México.

³Instituto de Ciencia Animal (ICA), Departamento de Alimentación y Manejo de Animales Monogástricos. San José de las Lajas, Cuba.

*Correspondencia: dsanchez@cucba.udg.mx.

Recibido: Febrero 2018; Aceptado: Diciembre 2018; Publicado: Enero 2019.

RESUMEN

Objetivo. Determinar la producción de huevos en gallinas tratadas con oligofruktosa de agave (OFA). **Materiales y métodos.** Se utilizaron 300 gallinas de la línea genética *Hy-line w-36*, de 18 semanas de nacidas, distribuidas aleatoriamente en tres tratamientos con cuatro repeticiones de 25 gallinas cada uno. Los tratamientos consistieron en tres niveles de OFA, 0, 0.1 y 0.2% en alimento. La prueba duró desde las 18 hasta las 30 semanas de postura. **Resultados.** Se presentó un incremento significativo ($p < 0.05$) en el porcentaje de postura y peso del huevo, así como en índices de calidad del huevo a favor de tratamientos con OFA. Se encontraron valores significativamente ($p < 0.05$) más bajos de putrescina fecal en las gallinas tratadas con OFA. **Conclusiones.** El uso de la OFA en gallinas ponedoras puede ser una alternativa como aditivo en la alimentación.

Palabras clave: Bifidobacterias, cromatografía, fructanos, poliaminas, prebióticos (*Fuentes: MeSH*).

ABSTRACT

Objective. To determine egg production in laying hens treated with oligofruktose from agave. **Materials and methods.** Eighteen weeks old *Hy-line W-36* hens ($n=300$) were distributed randomly into 3 treatment groups: no feed supplementation (control) or feed supplementation with 0, 0.1% and 0.2% oligofruktose from agave (OFA). Hens were monitored from development until 30 weeks of egg laying. **Results.** A significant ($p < 0.05$) increase in the percent of egg-laying hens as well as increased in egg weight and egg quality occurred in hens from the OFA treatment groups relative to the control hens. Significantly lower levels ($p < 0.05$) of fecal putrescine were observed in hens from the OFA treatment groups. **Conclusions.** The oligofruktose from agave may be used as an alternative feed additive in laying hens.

Keywords: Bifidobacteria, chromatography, fructans, polyamines, prebiotics (*Sources: MeSH*).

Como citar (Vancouver).

Chávez-Mora I, Sánchez-Chiprés D, Galindo-García J, Ayala-Valdovinos MA, Duifhuis-Rivera T, Ly-Carmenatti J. Efecto de oligofruktosa de agave en dietas de gallinas ponedoras en la producción de huevos. Rev MVZ Córdoba. 2019; 24(1):7108-7112. DOI: <https://doi.org/10.21897/rmvz.1522>



©El (los) autor (es), Revista MVZ Córdoba 2018. Este artículo se distribuye bajo los términos de la licencia internacional Creative Commons Attribution 4.0 (<https://creativecommons.org/licenses/by-sa/4.0/>), que permite el uso sin restricciones, la distribución y la reproducción en cualquier medio, siempre que se otorgue el crédito apropiado al autor o autores originales y la fuente.

INTRODUCCIÓN

En México, la avicultura de huevo es uno de los sectores más dinámicos de la ganadería (1). A través de la adopción de tecnología ha sido posible obtener altos índices productivos, cubriendo con ello los requerimientos del mercado nacional. Lo anterior hace a la producción de huevo en México una actividad comparable con la de países desarrollados participando con 4.7% de la producción mundial, después de China (45.2%), Estados Unidos (9.5%), India (8.2%), Rusia (5.0%) y Japón (4.9%). La avicultura nacional constituye una actividad económica de gran importancia; en el 2017 aportó 0.75% en el PIB total, 19.7% en PIB agropecuario y 42.0% en el PIB pecuario. Asimismo, esta actividad económica es una importante generadora de empleos; al cierre del 2017 informo que 1'250,000 empleos directos e indirectos fueron generados. En este país el huevo desempeña un papel importante, tradicionalmente por su costo accesible a la mayor parte de la población, así como su alto valor nutricional y versatilidad en su preparación. El principal consumidor per cápita de huevo a nivel mundial es México; en el 2013 se reportó un valor de 21.7 kg de huevo por año (1).

Los prebióticos son ingredientes que al ser fermentados selectivamente dan lugar a cambios específicos en la composición y/o actividad de la microbiota intestinal confiriendo beneficios tanto para la salud como para el bienestar del individuo (2). Estos pueden limitar el crecimiento de ciertos organismos patógenos, ya que incrementan la población de bifidobacterias que ayudan a la salud del animal (2,3).

Los oligofructanos (azúcares simples ligados entre sí) son producidos por muchos tipos de plantas. Estos compuestos se concentran o almacenan en el tejido fino de la planta; generalmente las raíces y rizomas contienen las concentraciones más grandes. Entre los oligofructanos se encuentra la inulina, que es un ingrediente alimentario natural obtenido de la raíz de la achicoria, que también está presente en otros vegetales como ajo, cebolla, alcachofa, trigo y el agave. La inulina ofrece beneficios tecnológicos y nutricionales, y fácilmente puede ser incorporada a una gran gama de productos (4). La inulina se obtiene mediante un proceso de extracción y está formada por oligosacáridos y polisacáridos en los que el grado de polimerización varía de 2 a 65 unidades con un valor medio de 10, reservándose el nombre FOS para los productos obtenidos por hidrólisis enzimática de la inulina que tienen un grado de polimerización de 2 a 7 con valor medio de 4 monómeros (5).

En lo que respecta a la efectividad de la inulina o los FOS para mejorar la productividad, ésta parece depender de varios factores. Variables como la concentración del prebiótico, el tipo de ración, las características de los animales y sobre todo las condiciones higiénicas y de estrés medioambiental pueden influir sobre la respuesta de las aves a los fructanos del tipo de inulina (6).

A partir de numerosos estudios realizados en distintos animales y en el hombre durante los últimos veinte años, se ha podido deducir claramente uno de los efectos nutritivos de los fructanos tipo inulina (inulina y FOS): la estimulación de la absorción de algunos minerales. Así, la estimulación de la absorción de Ca por la inclusión de carbohidratos indigestibles en la dieta, lo que ha sido ampliamente documentada en animales de laboratorio, tanto en los ensayos que incluían FOS (7,8), como en los que utilizaban inulina (9).

Las poliaminas están implicadas en un amplio número de reacciones biológicas y son esenciales para el crecimiento y proliferación celular; participando en procesos de transducción de señal y en distintos pasos de síntesis de ADN, ARN y proteínas (8). Existen tres fuentes de poliaminas para el organismo: biosíntesis *in situ* a partir de aminoácidos, ingestión directa en la dieta y síntesis y liberación por la flora residente en el tracto gastrointestinal (10). La síntesis de poliaminas en células eucarióticas, se inicia con la descarboxilación de la ornitina para producir putrescina en una reacción catalizada por la ornitina descarboxilasa (ODC). Un aumento en la actividad de la ODC significa un aumento en los niveles de poliaminas y debido a que se encuentran en todas las células, es factible utilizarla como bioindicadoras de estrés.

Las técnicas modernas en los sistemas intensivos de producción de huevo, logran mediante una gestión altamente calificada obtener un producto en la mayor cantidad, de la mejor calidad y al menor costo posible. La industria productora de huevos busca encontrar medios para incrementar la demanda de los consumidores y una forma de hacerlo es ofreciendo mayor calidad y seguridad alimentaria en sus productos. El objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto de la adición de dos niveles de oligofructanos de agave (OFA) en la alimentación de gallinas ponedoras, sobre desarrollo, postura, calidad de huevo y niveles de poliaminas fecales.

MATERIALES Y MÉTODOS

Diseño experimental. Se utilizaron 300 gallinas ponedoras de 18 semanas de nacidas de la línea genética Hy-line w-36, que fueron distribuidas aleatoriamente en tres tratamientos con cuatro repeticiones de 25 aves cada uno. Los tratamientos fueron tres, un testigo (control sin aditivo), OFA al 0.1% (adicionando 0.1% del aditivo en el alimento) y OFA al 0.2% (adicionando 0.2% del aditivo en el alimento). La cantidad de adición de los oligofructanos fue determinada por experimentos previos (8).

Alimentación y manejo. El alojamiento de las aves fue en piso con cama de paja de maíz y fue acondicionado su espacio para la etapa de postura con nidos de lámina galvanizada. Durante el trabajo de investigación se proporcionó alimento a las aves a mañana y tarde de manera controlada de acuerdo con un programa de alimentación conforme a su requerimiento y garantizando un consumo apropiado de nutrientes según las tablas del NRC (11). El alimento fue servido en comederos del tipo de tolva. El agua fue suministrada en bebederos de campana. Los OFA fueron incluidos en la dieta en forma de polvo. Se llevó a cabo un calendario de vacunación de acuerdo con la zona de estudio y la referencia técnica de la estirpe aviar. El periodo de luz se ajustó a 17 horas diarias.

Producción y calidad del huevo. Se obtuvo diariamente el peso del huevo, así como su cantidad para establecer el porcentaje de postura a partir de la semana 10 de producción. La evaluación de la calidad del huevo se determinó con una muestra de 30 huevos por tratamiento al inicio, pico y final de la postura. Se determinaron las unidades Haugh (12) en un micrómetro con un bloque de calibración de acero inoxidable de 11 mm. Se estableció la calidad de cascarón utilizando un lector *Egg Force*, mostrando los datos de salida en la pantalla RS-232 (13).

Se tomaron al azar 10 huevos al inicio y pico de postura de cada uno de los tres lotes de prueba para la determinación de colesterol mediante cromatografía de alta presión. Los análisis fueron realizados de acuerdo

con procedimientos recomendados (14), para lo cual se empleó un cromatógrafo gas/líquido equipado con detector ultravioleta. Para el índice de refracción se utilizaron detectores apropiados. La columna se utilizó con una temperatura de 32°C (15). La cuantificación se hizo por la estandarización externa con concentraciones variables de 2.0 a 2.5 mg/mL para el colesterol. La identificación de colesterol se confirmó mediante el cromatógrafo de líquidos en interfase con una fuente de ionización química a presión atmosférica y detección de masas (16).

Poliaminas. Al final de la prueba se recolectaron 10 muestras de materia fecal por tratamiento para determinar la presencia de poliaminas en excretas mediante cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) con detección de fluorescencia (17).

Análisis estadístico. El diseño experimental fue un modelo completamente al azar en donde los tratamientos fueron los de la utilización de OFA en diferentes concentraciones y su efecto. Se utilizó el siguiente modelo:

$$y = \mu + V_i + R_j + \epsilon_{ij}$$

Donde:

y = la variable a medir.

μ = la media general.

V_i = el i-ésimo nivel de adición de oligofruktosa.

R_j = el j-ésimo efecto de repetición.

ϵ = error estándar.

Los datos fueron sometidos a un análisis de varianza y se aplicó la prueba de diferencia mínima significativa de Fisher con un 95% de confianza para las variables de consumo de alimento, peso de huevo, porcentaje de postura, calidad de cascarón, unidades *Haugh* y niveles de colesterol. En toda la evaluación se utilizó el paquete estadístico Minitab 16 Copyright 2014® (18).

Aspectos éticos. El protocolo experimental fue revisado y aprobado por la Coordinación de Investigación de la Secretaría Académica del Centro Universitario de Ciencias Biológicas y Agropecuarias (Dictamen CINV.106/12).

RESULTADOS

Se presentaron valores superiores en los grupos adicionados con OFA al 0.1% y 0.2% con respecto al testigo, mostraron diferencias significativas ($p < 0.05$) en la mayoría de las semanas. El grupo adicionado con 0.1% de OFA fue el que presentó una tendencia de mayor peso durante el experimento (Tabla 1).

Tabla 1. Efecto de oligofruktosa de agave sobre peso de huevo (g).

Semana de postura	Oligofruktosa de agave, %			SE ±	P
	0.0	0.1	0.2		
1	46.44	46.88	47.92	1.82	0.217
5	54.02	54.47	54.83	1.30	0.906
10	56.88 ^a	56.00 ^b	56.92 ^a	0.91	0.013
15	58.78 ^b	60.89 ^a	60.45 ^a	0.72	0.000
20	61.61 ^b	62.73 ^a	61.51 ^b	0.46	0.009
25	60.55 ^b	62.11 ^a	61.27 ^{ab}	0.59	0.022
30	61.79 ^b	64.36 ^a	62.18 ^b	0.95	0.001

^{ab} Medias con distinta literal en la misma fila son diferentes ($p < 0.05$)

En el porcentaje de postura (Tabla 2), el grupo testigo y grupo con OFA al 0.2% se comportaron de manera similar, sus valores fueron estadísticamente superiores con respecto al grupo adicionado con OFA al 0.1% a partir de la semana 20 de postura.

Tabla 2. Efecto de oligofruktosa de agave sobre porcentaje de postura.

Semana de postura	Oligofruktosa de agave, %			SE ±	P
	0.0	0.1	0.2		
1	3.57 ^b	1.86 ^c	5.91 ^a	1.28	0.000
5	64.67 ^b	63.91 ^b	74.92 ^a	6.26	0.018
10	75.38 ^{ab}	69.80 ^b	79.68 ^a	4.32	0.006
15	91.59	91.06	94.40	4.13	0.391
20	91.68 ^b	97.83 ^a	89.07 ^b	4.43	0.013
25	89.13 ^b	98.71 ^a	90.09 ^b	3.68	0.001
30	85.50 ^{ab}	88.86 ^a	80.26 ^b	4.86	0.033

^{abc} Medias con distinta literal en la misma fila son diferentes ($p < 0.05$).

En calidad de huevo, los valores de las unidades *Haugh*, se muestran en la tabla 3, donde los valores más altos, fueron para los grupos adicionados con OFA, mostrando diferencias entre tratamientos ($p < 0.05$) en tres de los cuatro muestreos.

Tabla 3. Efecto de oligofruktosa de agave sobre valores de Unidades *Haugh*.

Semana de postura	Oligofruktosa de agave, %			SE ±	P
	0	0.1	0.2		
4	65.6 ^b	71.2 ^a	75.7 ^a	1.8	0.002
10	81.9	83.9	83.3	1.4	0.611
15	84.9 ^{ab}	87.6 ^a	83.0 ^b	1.2	0.031
20	90.6 ^b	92.4 ^b	95.6 ^a	0.9	0.000

^{ab} Medias con distinta literal en la misma fila son diferentes ($p < 0.05$).

La determinación de colesterol en huevo (Tabla 4), mostró valores menores para los grupos adicionados con OFA, en la semana 4 y semana 23 de postura, para ambos casos, las diferencias significativas ($p < 0.05$).

Tabla 4. Efecto de oligofruktosa de agave sobre valores de colesterol en huevo (mg/100 g).

Semana de postura	Oligofruktosa de agave, %			SE ±	P
	0	0.1	0.2		
4	1209.4 ^b	705.0 ^a	840.0 ^a	131.7	0.000
23	1825.1 ^b	1363.5 ^a	1100.0 ^a	144.0	0.000

^{ab} Medias con distinta literal en la misma fila son diferentes ($p < 0.05$).

En la tabla 5 se muestra la resistencia del cascarón, donde el grupo adicionado con OFA al 0.1% obtuvo mejores resultados en el primer análisis con diferencia significativa ($p < 0.05$), en contraste con el segundo análisis donde los valores más altos fueron para el grupo adicionado con OFA al 0.2%, la diferencia fue de 0.1953 y 0.1776 g/mm² con el grupo adicionado con OFA al 0.1% y el grupo de testigo, respectivamente. Los tres grupos mostraron una calificación excelente en ambos análisis.

Tabla 5. Efecto de oligofruktosa de agave sobre resistencia de cascaron (en g de presión/mm²).

Semana de postura	Oligofruktosa from agave, %			SE ±	P
	0.0	0.1	0.2		
4	4392 ^{ab}	4479 ^a	4189 ^b	11	0.059
23	4023	4005	4200	157	0.393

^{ab} Medias con distinta literal en la misma fila son diferentes ($p < 0.05$).

Con respecto a los valores de poliaminas (Tabla 6), los estudios arrojaron que para el caso de putrescina los grupos adicionados con los oligofruktanos presentaron valores inferiores al testigo ($p < 0.05$). Los valores de espermidina fueron similares para el grupo testigo y el grupo adicionado con 0.2% de OFA, mientras que la espermina no fue detectada en ninguna de las muestras.

Tabla 6. Niveles de Poliaminas en excretas de gallinas (mmol/100 g).

Poliaminas	Oligofruktosa de agave, %			SE ±	P
	0.0	0.1	0.2		
Putrescina	11.37 ^a	6.04 ^b	5.35 ^b	1.77	0.017
Espermidina	0.35	0.32	0.35	0.07	0.489
Espermina	nd ¹	nd	nd	-	-

¹ No detectado; ^{ab} Medias con distinta literal en la misma fila son diferentes ($p < 0.05$).

DISCUSIÓN

Postura y peso del huevo. Los grupos adicionados con dos niveles de OFA, mostraron un incremento en el porcentaje de postura, así como el peso del huevo con respecto al grupo testigo. Estos resultados concuerdan con los informes de Chen et al (19), quien determinó que la adición de oligofruktosa al 1,0% e inulina al 1.0% a las dietas durante 4 semanas aumentaron ($p < 0.05$) la producción de huevo en un 13.35% y 10.30%, respectivamente en comparación con el grupo de control. Asimismo, Chen et al (19) observaron un aumento en el peso del huevo acumulado después de la adición de oligofruktosa (1^a semana, 7.93; en general, 12.50%). En estudios realizados en Corea se encontraron diferencias al comparar el porcentaje de postura de grupos adicionados con distintos niveles de inclusión de inulina, siendo mejores aquellos grupos con mayor cantidad de inclusión (8). Otros estudios han demostrado que al adicionar oligosacáridos a la alimentación de gallinas ponedoras, se incrementa el peso de huevo (14).

Calidad de huevo. En las unidades Haugh, los grupos adicionados con los OFA presentaron mejores valores. Esto contrasta con los resultados presentados por Chen y Chen (15) quienes informaron no existir efectos del uso de inulina y oligofruktosa sobre las unidades Haugh, en diferentes temperaturas y tiempo de análisis. Por otra parte, los trabajos realizados por Park y Park (8) mostraron una mejora en los niveles de los valores Haugh comparando diferentes niveles de inclusión de inulina,

por efecto del incremento de absorción de nutrientes, dada la producción de ácidos grasos de cadena corta, por efecto de la fermentación producida por las bacterias intestinales benéficas, este incremento de los niveles de unidades Haugh concuerda con los resultados mostrados.

Resistencia del cascarón. La resistencia de cascarón no tuvo diferencia entre tratamientos y los huevos fueron clasificados con relación a la calidad como "excelentes" y "muy buenos" según la clasificación de Peebles y McDaniel (13). Por otra parte, se ha reportado que la adición de oligofruktosa e inulina en la dieta no afecta las características de cáscara (15). También se ha observado que la inclusión de oligofruktosa en la dieta de gallinas ponedoras incrementa la concentración de calcio en el suero sanguíneo en un 8% sin efectos sobre características de la cáscara (20).

Colesterol. Los valores del colesterol concuerdan con los encontrados por Park y Park (8). Asimismo, estos resultados están de acuerdo con lo encontrado por Chen et al (21), quienes reportaron que la adición de inulina al 10% en dietas de gallinas ponedoras reduce la concentración de colesterol en un porcentaje de 164%. El efecto hipocolesterolemia de la inulina demostrado en el presente estudio no se logró comprender claramente. Sin embargo, los oligofruktanos producen ácidos grasos de cadena corta cuando es fermentada por microorganismos del intestino, los que contienen principalmente acetato, propionato y butirato. En ese sentido Wolever et al (22) encontraron que el acetato aumenta el colesterol total y disminuye la grasa.

Poliaminas. Las gallinas testigo mostraron valores de acumulación de putrescina de 11.37 mol mientras que 5.35 mol fue el hallado en el grupo adicionado con OFA al 0.2%. La respuesta general al estrés se activa por la vía de los segundos mensajeros y responde al denominado al programa intracelular de estrés. En él se observa, entre otras alteraciones metabólicas, el incremento transitorio del metabolismo de las poliaminas denominado en 1992 como *polyamine-stress-response* (PSR, acrónimo en inglés) (23). Esta respuesta cerebral lleva implícita la persistente acumulación de putrescina y una eventual reducción de espermidina y espermina. Los valores de OFA encontrados en este trabajo para putrescina concuerdan con esta teoría. Se ha postulado que una correcta regulación del metabolismo de las poliaminas es la mejor respuesta a los agentes estresantes (24).

En conclusión, la utilización de OFA en el alimento redujo los valores de colesterol en huevo. Se demostró que existe un efecto positivo sobre la calidad y peso del huevo con la adición de los OFA en el alimento de las aves.

Conflicto de intereses

Los autores declaran que no existe conflicto de intereses.

Agradecimientos

Al Departamento de Producción Animal de la Universidad de Guadalajara, México.

REFERENCIAS

- Unión Nacional de Avicultores UNA. Compendio de indicadores económicos del sector avícola. México: Instituto Nacional Avícola; 2017.
- Roberfroid M, Gibson GR, Hoyles L, McCartney AL, Rastall RA, Rowland I, et al. Prebiotics effects: metabolic and health benefits. *Br J Nutr*, 2010; 104(Supl 2):S1-S63. DOI: <https://doi.org/10.1017/S0007114510003363>

3. Damen B, Verspreet J, Pollet A, Broekaert WF, Delcour JA and Courtin C. Prebiotic effects and intestinal fermentation of cereal arabinoxylans and arabinoxylan oligosaccharides in rats depend strongly on their structural properties and joint presence. *Mol Nutr Food Res*, 2011; 55(12):1862-1874. DOI: <https://doi.org/10.1002/mnfr.201100377>
4. Corzo N, Alonso JL, Azpiroz F, Calvo MA, Cirici M, Leis R, et al. Prebióticos; concepto, propiedades y efectos beneficiosos. *Nutr Hosp*. 2015; 31(Supl 1):99-118. DOI: <https://doi.org/10.3305/nh.2015.31.sup1.8715>
5. Waleckx E, Gschaedler A, Colonna-Ceccaldi B, & Monsan P. Hydrolysis of fructans from Agave tequilana Weber var. azul during the cooking step in a traditional tequila elaboration process. *Food Chem*, 2008; 108(1):40-48. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2007.10.028>
6. Verdonk JM, Shim SB, Van Leeuwen P, Verstegen MW. Application of inuline-type fructans in animal feed and pet food. *Bri J Nutr*. 2005; 93(1):125-138. PMID: [15877885](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15877885/)
7. Reynoso R, Márquez MI, Noa E, Noa M. Particularidades del metabolismo de las poliaminas y su posible aplicación en medicina veterinaria. *Rev Salud Anim*. 2012; 34(3):144-150. Available URL In: <http://revistas.censa.edu.cu/index.php/RSA/article/view/4>
8. Park SO, Park BS. Effect of feeding inulin oligosaccharides on cecum bacteria, egg quality and egg production in laying hens. *Afr J Biotechnol*, 2012; 11(39):9516-9521. DOI: <http://dx.doi.org/10.5897/AJB12.5250>
9. Azorin Ortuno M, Urban C, Ceron JJ, Tecles F, Allende A, Barberan FA. Effect of low inulin doses with different polymerisation degree on lipid metabolism, mineral absorption, and intestinal microbiota in rats with fat-supplemented diet. *Food Chem*, 2009; 113(4):1058-1065. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.08.062>
10. Ruiz C, Herrero AM, Jiménez F. Reduction of biogenic amines levels in meat and meat products. Editors: Rai, M. and Chikindas, M.L. *Natural Antimicrobials in Food Safety and Quality*. CAB Int; Willingford: 2010.
11. NRC. *Nutrient Requirements of Domestic Animals. Nutrient Requirement of Poultry*. National Research Council. National Academy Press; Washington, District of Columbia, 1992.
12. Silversides FG, Twizeyimana F, Villeneuve P. A study relating to the validity of the Haugh Unit correction for egg weight in fresh eggs. *Poult. Sci*. 1993; 72(4):760-764 <https://doi.org/10.3382/ps.0720760>
13. Stadelman W.J. Quality identification of shell eggs. In: Stadelman W.J, Cotterill O.J, editors. *Egg Science and Technology*. 4th Revision. Binghamton, New York: Food Products Press; 1995.
14. Bozkurt M, Kucukyilmaz K, Catli AU, Cinar M, Bintas E, Coven F. Performance, egg quality, and immune response of laying hens fed diets supplemented with mannan-oligosaccharide or an essential oil mixture under moderate and hot environmental conditions. *J Poult Sci*. 2012; 91(6):1379-1386. DOI: <https://doi.org/10.3382/ps.2011-02023> PMID: [22582296](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22582296/)
15. Chen Y, Chen TC. Effect of adding chicory fructans in feed on broiler growth performance, serum cholesterol and intestinal length. *Int J Poult Sci*. 2003; 2(3):214-219. DOI: <http://dx.doi.org/10.3923/ijps.2003.214.219>
16. Mazalli MR, Sawaya ACHF, Eberlin MN, Bragagnolo N. HPLC method for quantification and characterization of cholesterol and its oxidation products in eggs. *Lipids*. 2006; 41(6):615-622. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11745-006-5010-0> PMID: [16981439](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16981439/)
17. Marcé M, Brown DS, Capell T, Figueras X, Tiburcio AF. Rapid high- performance liquid chromatographic method for the quantitation of polyamines as their dansyl derivatives: application to plant and animal tissues. *J Chromatogr B Biomed Sci Appl*. 1995; 666(2):329-335. DOI: [https://doi.org/10.1016/0378-4347\(94\)00586-T](https://doi.org/10.1016/0378-4347(94)00586-T)
18. Minitab Statistical Software. Minitab Inc: State College, PA. USA; 2014. URL Available in: <http://www.minitab.com/es-mx/>
19. Chen YC, Nakthong C, Chen TC. Improvement of laying hen performance by dietary prebiotic chicory oligofructose and inulin. *Int J Poult Sci*. 2005; 4(2):103-108. DOI: <http://dx.doi.org/10.3923/ijps.2005.103.108>
20. Loo JV. *Inulin-type fructans as prebiotics*. In: *Prebiotics: development and application*. Edited by GR Gibson and RA Rastall. John Wiley & Sons Ltd: England; 2006.
21. Chen YC, Nakthong C, Chen TC. Effects of chicory fructans on egg cholesterol in commercial Laying Hen. *International J Poult Sci*, 2005; (4): 109-114.
22. Wolever TMS, Spadafora P, Eshuis H. Interaction between colonic acetate and propionate in humans. *Am J Clin Nutr*. 1991; 53(3):681-687. DOI: <https://doi.org/10.1093/ajcn/53.3.681> PMID: [2000822](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/2000822/)
23. Gilad GM, Gilad VH. Polyamines in neurotrauma: ubiquitous molecules in search of a function. *Biochem Pharmacol*, 1992; 44(3):401-407. DOI: [https://doi.org/10.1016/0006-2952\(92\)90428-L](https://doi.org/10.1016/0006-2952(92)90428-L)
24. Chowdhury SR, Smith TK. Dietary interaction of 1,4-diaminobutane (putrescine) and calcium on eggshell quality and performance in laying hens. *J Poult Sci*. 2002; 81(1):84-91. DOI: <https://doi.org/10.1093/ps/81.1.84> PMID: [11885904](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11885904/)