

ARTICLE

글루타티온 강화 효모 배양물의 사료 내 첨가 급여가 육계 생산성, 혈액특성 및 계육 저장성에 미치는 영향

김동욱¹ · 노환국¹ · 이왕식² · 김상호^{3*}

¹국립한국농수산대학 가금학과
²제주대학교 생명자원과학대학 생명공학부
³농촌진흥청 국립축산과학원 영양생리팀

Effects of Dietary Glutathione-enhanced Yeast Culture on Growth Performance, Blood Characteristics and Meat Storage Stability in Broiler Chicks

Dong-Wook Kim¹, Whan-Gook Nho¹, Wang-Shik Lee², Sang-Ho Kim^{3*}

¹Department of Poultry Science, Korea National College of Agriculture and Fisheries, Wonju, Korea
²Department of Life Sciences & Biotechnology, College of Applied Life Science, Jeju National University, Jeju, Korea
³Animal Nutrition and Physiology Team, National Institute of Animal Science, RDA, Wanju 55365, Korea

Received: April 27, 2019
 Revised: May 30, 2019
 Accepted: June 7, 2019

*Corresponding author :
 Sang-ho Kim
 Animal Nutrition and Physiology Team,
 National Institute of Animal Science,
 RDA, Wanju 55365, Korea.
 Tel : +82-63-238-7450
 Faxl : +82-63-238-7499
 E-mail :kims2051@korea.kr

Copyright © 2019 Resources Science Research Institute, Kongju National University. This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

ORCID

Dong-Wook Kim
<https://orcid.org/0000-0003-2647-2690>
 Whan-Gook Nho
<https://orcid.org/0000-0001-7016-4658>
 Wang-Shik Lee
<https://orcid.org/0000-0002-4770-0560>
 Sang-Ho Kim
<https://orcid.org/0000-0002-7203-8863>

Abstract

This experiment was conducted to investigate the effects of dietary supplementation of glutathione-enhanced yeast culture on growth performance, blood characteristics, and meat storage stability in broiler chicks. A total of six hundred 1-d-old male broiler chicks (Cobb) were divided into 5 groups with 4 replicates of 30 birds each. The five dietary treatments fed for 5 weeks were : NC (no antibiotics), PC (virginiamycin 10ppm and salinomycin 60ppm), and glutathione-enhanced yeast culture treated groups (0.1%, 0.3%, 0.5%). The final body weight and body weight gain were significantly increased in PC and glutathione-enhanced yeast culture treated groups compared to NC (p<0.05), and were linearly increased by increasing the level of supplemental glutathione-enhanced yeast culture (p<0.05). The feed intake in PC was significantly higher than other groups (p<0.05). The feed conversion ratio in all treated group was significantly improved as compared to that of NC (p<0.05). No significant difference among the all groups were observed on blood leukocyte profile. But total white blood cell (WBC), heterophil, lymphocyte, and stress indicator (heterophil : lymphocyte ratio) tended to be decreased by increasing the level of supplemental glutathione-enhanced yeast culture. The levels of blood urea nitrogen (BUN), creatinine, aspartate aminotransferase (AST), and alanine aminotransferase (ALT), which used as the blood biochemical parameters of liver and kidney damages were significantly decreased or tended to be decreased in glutathione-enhanced yeast culture treated groups than those of NC (p<0.05). The total antioxidant activity in blood serum was significantly higher in PC and glutathione treated groups than NC (p<0.05). And thiobarbituric acid reactive substances (TBARS) values of chicken breast meat during storage period were linearly decreased by increasing the level of supplemental glutathione-enhanced yeast culture (p<0.05). In conclusion, the dietary supplementation of glutathione-enhanced yeast culture improved the growth performance and health states by controlling of reactive oxygen species toxicity. Furthermore, the glutathione-enhanced yeast culture decreased the chicken breast meat deterioration in relation to storage period. These results suggest the possibility that the glutathione-enhanced yeast culture could be used as a functional feed additive in broiler chicks.

Keywords

Broiler, Glutathione, Yeast culture, Growth performance, Meat storage stability

I. 서론

오늘날 축산물 안전, 동물 복지, 환경 보존 등에 대한 관심이 고조되면서 육계 산업 패러다임 역시 빠르게 전환되고 있다. 이를 위해 기본적으로 해결되어야 할 과제 중 하나가 육계의 건강성 유지이다. 생산성 극대화를 목표로 집약적 대규모화된 오늘날의 육계사육시스템에서는 다양한 종류의 스트레스 요인이 존재하며, 이들은 육계가 가지고 있는 본연의 유전능력이 발휘되는 것을 저해하여 출하 성적 및 농가 수익에 직접적인 영향을 미칠 수 있다(Klasing, 1988). 특히 육계의 경우, 지속적인 육종, 영양, 사료, 사양관리 기술의 발달로 체중이 부화 직후에 40-50 g인 병아리가 불과 30-35일이 사육하면 1.5-2.5 kg에 도달할 정도로 단기 고도 성장을 한다(Ravindran, 2003). 이러한 급격한 체성장 및 체내 대사는 스트레스에 대한 민감도와 대사성 질환 발생을 증가시키고, 질병·환경 저항성을 악화시키는 문제들을 유발할 수 있다. 급격한 체내 대사 및 과도한 스트레스는 체내 활성산소종(reactive oxygen species, ROS) 과다 생성의 원인이 되어 육계 생산성 및 건강성에 부정적인 영향을 미칠 뿐 아니라(El-Lethey et al., 2003; Fellenberg and Speisky, 2006), 조직 내 글리코겐 분해를 촉진하여 근육의 산성화를 유도하는데, 이는 사후 대사에 영향을 미쳐 닭고기의 품질 및 저장성 저하 문제를 유발할 수도 있다(Nahm, 1999). 예전부터 이러한 문제를 해결하기 위하여 비타민류, 무기질류를 비롯한 각종 천연·합성 향산화물질을 사료에 적용한 연구가 다수 수행되었으며(Brake, 1988; Bottje et al., 1995; Naidoo et al., 2008), 최근에는 단백질이나 향산화 펩타이드 계통의 물질을 이용한 연구들도 진행되고 있다(Lee et al., 1999; Kim et al., 2003; Sheih et al., 2009).

글루타티온(glutathione)은 glutamate, cysteine, glycine으로 구성된 tripeptide로서 동식물을 포함하여 해조류, 곰팡이, 효모 등 거의 모든 생물체에 광범위하게 존재한다. 글루타티온은 체내에서 합성이 되기 때문에 필수영양소에 속하지는 않지만, 체내 항산화 시스템에 관여하여 대사과정 및 염증 부위에서 발생하는 활성산소종을 제거하고, 비생체성분(xenobiotics)의 친전자성 대사물(electrophilic metabolite) 등의 독성을 해독하는 한편, 세포성 면역을 증진시키는 역할을 수행한다. 이 밖에도 여러 조직 및 기관의 cysteine 공급원으로 이용되기도 하며, 간 기능 개선 및 손상 예방, 스트레스 저감, 지방 소화 및 흡수 향상 등의 생리적 기능이 입증되었다(Witschi et al., 1992; Anderson, 1998; Wu et al., 2004). 특히 최근 여러 연구들에서 식이를 통한 글루타티온의 직접적인 섭취가 혈액, 조직 및 주요 기관의 글루타티온 농도를 증가시킬 수 있다고 보고됨에 따라 글루타티온을 이용한 의약품 및 건강보조식품의 개발이 활발히 진행되고 있으며(Aw et al., 1991; Favilli et al., 1997; Witschi et al., 1992), 쥐 등의 실험 동물을 대상으로 한 연구들에서 사료를 통한 글루타티온의 섭취가 체중 증가, 간 손상 예방, 혈액 및 조직 내 지질과산화 저하 등의 효과들이 보고되고 있다(Cha et al., 2005; Agbor et al., 2007). 그러나 글루타티온은 이와 같은 다양한 생리적 기능 및 효과를 발휘함에도 불구하고, 최종 산물이 고가이다보니 축산 분야에서 산업적으로 적용하는데 많은 어려움이 있었다. 최근 효모 및 젖산 생성균 등의 미생물을 이용하여 저비용으로 글루타티온 대량 생산 기법들이 개발·구축되어(Li et al., 2004), 축산 분야에서의 적용이 가능해지고 있다. 따라서 본 연구는 위에서 언급한 대량 생산 기법으로 생산된 글루타티온 강화 효모 배양물의 기능성 사료 소재로서의 이용 가능성을 확인하고자 이들을 육계에 사료를 통해 첨가 급여하여 육계 생산성, 혈액 특성 및 계육 저장성에 미치는 영향을 조사하였다.

II. 재료 및 방법

공시재료

전국의 65개 주조장에서 막걸리를 수집하여 글루타티온 생산량을 기준으로 균주를 분리, 선발하였다. 선발된 *Saccharomyces cerevisiae* (*S. cerevisiae*) 야생형 균주(KACC 93069P)에 자외선을 조사하여 돌연변이체(KACC 93070P)를 생산하였다. 이렇게 생산된 돌연변이체를 글루타티온 생산에 용이한 최적 배지에 접종하고, 30-35°C에서 1-2일간 배양·건조하여 글루타티온 강화 효모 배양물(글루타티온 농도 5%)을 생산하였으며, 이를 육계사양시험에 이용하였다.

시험동물 및 시험설계

1일령 육계 수평아리(Cobb) 600수를 공시하여 5처리, 4반복, 반복당 30수씩 배치하고, 5주간 사양실험을 실시하였다. 시험구는 항생제 무첨가구(NC), 항생제 첨가구(PC; avilamycin 10 ppm+salinomycin 60 ppm)를 대조구로 하였으며, 시험사료에 글루타티온 강화 효모 배양물을 각각 0.1%, 0.3% 및 0.5%를 첨가하여 처리구로 두었다.

시험사료 및 사양관리

기초시험사료는 NRC(1994)와 한국가금사양표준(2007)에 근거하여 전기(0-3주, 대사에너지 3,050 kcal/kg, 조단백질 22%)와 후기(3-5주, 대사

에너지 3,100 kcal/kg, 조단백질 20%) 사료로 나누어 공급하였다. 배합된 기초시험사료에 글루타티온 강화 효모 배양물을 각각 0.1%, 0.3% 또는 0.5%씩 첨가 혼합하였으며, 시험사료의 배합비 및 영양소 조성은 Table 1과 같다. 사양 실험 전 기간 동안 평사(2.0 m×1.5 m)에서 사육하였으며, 사료 급여기 및 급수기의 개수는 반복구별 동일하게 배치하였다. 사료와 물은 자유 채식 및 자유 음수시켰으며, 입추 후 3일간 24시간 점등을 실시하였고, 이후 시험 종료 시까지 23시간 점등을 실시하였다.

조사항목 및 방법

1) 육계 생산성

육계사양시험 개시(0주), 전기(0-3주), 후기(3-5주) 종료시에 반복별로 생체중 및 사료잔량을 측정하여 개체별 증체량 및 사료섭취량을 구하였다. 이렇게 얻어진 증체량과 사료섭취량을 통해 사료요구율을 산출하였다.

Table 1. Formula and calculated nutritional values of the basal diet

Ingredients	Starter (0-3wk)	Finisher (3-5wk)
	----- % -----	
Corn	53.44	61.64
Soybean meal	33.65	27.88
Corn gluten meal	4.16	4.00
Soybean oil	4.68	3.06
Limestone	1.02	1.23
Tricalcium phosphate	2.01	1.31
Salt	0.25	0.25
DL-Methionine (50%)	0.27	0.08
Lysin-HCl (98%)	0.02	0.05
Vitamin-mineral mixture ¹⁾	0.50	0.50
Total	100.0	100.0
Chemical composition ²⁾		
ME (kcal/kg)	3,050	3,100
Crude protein (%)	22.0	20.0
Methionine (%)	0.50	0.38
Methionine+cystine (%)	0.94	0.83
Lysine (%)	1.10	1.00
Ca (%)	1.00	0.90
Available P (%)	0.50	0.35

¹⁾ Vitamin-mineral mixture provided following nutrients per kg of diet: vitamin A, 15,000IU; vitamin D₃, 1,500IU; vitamin E, 20.0 mg; vitamin K₃, 0.70 mg; vitamin B₁₂, 0.02 mg; niacin, 22.5 mg; thiamin, 5.0 mg; folic acid, 0.70 mg; pyridoxin, 1.3 mg; riboflavin, 5 mg; pantothenic acid, 25 mg; choline chloride, 175 mg; Mn, 60 mg; Zn, 45 mg; I, 1.25 mg; Cu, 10.0 mg; Fe, 72 mg; Co, 2.5 mg.

²⁾ Calculated value.

2) 혈액 내 간 및 신장 손상 지표

시험 종료시 처리구당 12수씩 선발하여 익하정맥에서 혈액을 채취하고, 일반 혈액 튜브에 혈액 5 mL씩을 담아 상온에서 응고시킨 후 원심분리(2,000rpm×10mins)를 통해 혈청을 분리하여 분석에 이용하였다. 자동혈액분석기(COBAS MIRA plus, ROCHE diagnostics)를 사용하여 혈청 내 blood urea nitrogen(BUN), creatinine, aspartate aminotransferase(AST), alanine aminotransferase(ALT)를 측정하였다.

3) 백혈구 조성

백혈구 조성은 처리구별로 12수씩 선발하여 익하정맥에서 혈액을 채취하고, K3-EDTA가 처리된 혈액 튜브에 전혈 1 mL씩을 담아 혈액 채취 후 24시간 이내에 자동혈구분석기(HEMAVET[®] HV950PS, Drew Scientific, Inc.)로 분석하였다.

4) 혈액 총항산화력

시험 종료시 처리구당 10수씩 선발하여 익하정맥에서 혈액을 채취하여 분석에 이용하였다. 혈액 내 총항산화력(total antioxidant capacity)은 total antioxidant power colorimetric microplate assay kit (Oxford biomedical research Inc., UK)를 사용하여 분석하였다. 분리된 혈청 15 μ L를 phosphate buffer saline(PBS) 585 μ L로 희석한 후 Cu^{2+} 를 넣고 3분간 상온에서 반응시켰다. 반응 후 구리이온 흡착제인 bathocuproine를 넣어 환원된 Cu^{+} 와 결합시켜 안정화시키고, microplate reader(Bio-rad, USA)로 450nm에서 흡광도를 측정하였다. Uric acid로 작성한 표준곡선을 이용하여 μ M copper equivalents로 나타내었다.

5) 계육 저장기간별 지질과산화물가

닭고기의 저장성을 측정하기 위해서 시험 종료시 생체중의 평균 범위에 해당하는 개체를 처리구별로 6수씩을 희생시켜 닭 가슴살을 채취한 후, 이를 균질기를 이용하여 균질화하였다. 균질화된 닭 가슴살을 5 g씩 정량하여 4°C에서 10일간 저장하면서 1일, 5일 10일 차에 지방산과도(TBARS, thiobarbituric acid reactive substances)를 Buege와 Aust의 방법(1978)에 준해서 측정하였다. 닭 가슴살 5 g과 증류수 15mL를 혼합하여 균질기(Tissue grinder, 1102-1, Japan)를 이용하여 13,500 rpm에서 5분간 균질화한 뒤, 균질액 1 mL에 butylated hydroxyanisole 50 μ L 및 thiobarbituric acid 1.3%(wt/vol)를 함유하는 50%의 trichloroacetic acid 혼합용액(TBA/TCA) 2 mL를 가하여 혼합하였다. 발색을 위하여 상기 혼합물을 95°C 항온 수조에서 15분 동안 가온한 후 냉각시키고, 원심분리(3,000 rpm×15분)하여 상등액을 얻었다. 상등액을 spectrophotometer (Shimadzu, UV mini-1240, Japan)에서 532 nm의 흡광도로 측정하였다. 흡광도 값에 상용계수 5.88을 곱해서 구한 TBARS value를 MDA (malondialdehyde) mg/kg으로 나타내었다.

통계처리

실험에서 얻어진 모든 자료들의 통계분석은 Statistical Analysis System(SAS release ver 9.1, 2002)의 General Linear Model procedure를 이용하여 분산분석을 실시하였고, 처리구간에 유의성은 Duncan's multiple range-test(Duncan, 1955)를 이용하여 오차범위 5% 수준에서 검정하였다.

III. 결과 및 고찰

육계 생산성

육계에 대한 글루타티온 강화 효모 배양물의 사료 내 첨가 급여가 생산성에 미치는 영향은 Table 2에 제시한 바와 같다. 글루타티온 강화 효모 배양물 첨가시 종료체중 및 일당증체량이 항생제 첨가구(PC)에 비해서는 낮은 경향을 보였으나, 항생제 무첨가구(NC)에 비해 유의하게 증가하였으며($p < 0.05$), 사료요구율은 대조구를 비롯한 모든 처리구 중 글루타티온 강화 효모 배양물 0.5% 첨가구가 가장 우수하였다($p < 0.05$). 또한 글루타티온 강화 효모 배양물의 첨가 수준이 증가함에 따라 종료체중, 일당증체량 및 사료요구율이 유의하게 개선되는 경향을 보였다($p < 0.05$).

글루타티온 강화 효모 배양물의 사료 내 첨가 급여에 따른 체중 등 생산성 변화와 관련된 연구 및 자료가 극히 제한적이고, *in vitro* 시험 및 쥐 등의 실험동물을 대상으로 수행한 연구들이 대부분을 차지하고 있기 때문에 직접적인 비교가 어렵다. 그러나 Agbor et al.(2007)은 당뇨 유발 햄스터 모델에 3개월 동안 글루타티온 강화 효모를 첨가 급여한 실험에서 당뇨에 의한 체중 손실이 감소하였다고 보고하였다. 또한 Ojano-Dirain et al.(2005)은 사료요구율이 서로 다른 육계에서 분리한 심이지장 미토콘드리아의 글루타티온, 호흡사슬복합체(respiratory chain complexes)의 농도 및 활성을 비교 조사한 실험에서 사료요구율이 우수한 육계의 심이지장 미토콘드리아에서 보다 높은 글루타티온 농도와

Table 2. Effects of dietary supplementation of glutathione-enhanced yeast culture on growth performance in broiler chicks¹⁾

Items	NC	PC	Glutathione-enhanced yeast culture			SEM
			0.1%	0.3%	0.5%	
Initial body weight (g/bird)	43.9	43.6	43.6	43.5	43.7	0.01
Final body weight (g/bird)	1,646 ^d	1,784 ^a	1,689 ^c	1,715 ^{bc}	1,732 ^b	23.8
Body weight gain (g/bird/d)	45.8 ^d	49.7 ^a	47.0 ^c	47.7 ^{bc}	48.3 ^b	0.67
Feed intake (g/bird/d)	73.1 ^b	76.9 ^a	74.4 ^b	74.9 ^b	74.3 ^b	1.06
Feed conversion ratio	1.60 ^a	1.55 ^b	1.58 ^a	1.57 ^{ab}	1.54 ^b	0.02

¹⁾ NC : antibiotic-free diet, PC : basal diet with avilamycin+salinomycin.

^{a-d} Means within the same row with no common superscripts differ significantly (p<0.05).

활성을 보였으며, 글루타티온이 특정 호흡사슬복합체의 활성을 유지하거나 강화하여 사료요구율 개선에 긍정적인 영향을 미칠 수 있다고 보고하였다. 반면, Gatlin *et al.*(2008)은 양어를 대상으로 글루타티온을 0.1%, 1.0% 수준으로 첨가 급여하였을 때 생산성에 영향을 미치지 않았다고 하였으며, Tateishi *et al.*(1982) 및 Ueno *et al.*(2002)도 역시 절식 또는 당뇨가 유도된 쥐를 대상으로 글루타티온 첨가에 따른 체중 변화를 조사한 실험에서 글루타티온의 첨가에 따른 체중 변화는 관찰할 수 없었다고 보고한 바 있다.

비타민 C, 비타민 E, carotenoid, flavonoid 등의 항산화물질은 가축의 체내 대사 조절, 산화적 스트레스 감소 및 면역기능조절 등의 효과를 발휘하여 생산성을 개선시킨다는 다수의 연구 결과가 보고되고 있다(Jiang *et al.*, 2007; Selim *et al.*, 2008). 효모 배양물 역시 여러 선행 연구에서 육계를 비롯한 가축들의 생산성 개선 효과를 보고하고 있다(Stanley *et al.*, 2004; Zhang *et al.*, 2005). 효모의 종류, 구성 성분, 급여 형태 등에 따라 그 효과 및 작용기전이 다양하게 나타나지만, 일반적으로 효모 배양물 내 존재하는 단백질, 효소, 비타민, 세포벽 성분, 미지성장인자 등에 의한 소화율 개선, 스트레스 완화, 장내 미생물총 안정화 및 장관면역자극 등의 작용을 통해 가축 생산성에 긍정적인 영향을 미치는 것으로 알려져 있다(Zhang *et al.*, 2005; Gao *et al.*, 2008). Gao *et al.*(2008)은 육계에 효모 배양물을 사료 내 2.5%-5.0% 첨가 급여시 증체량, 사료요구율이 유의하게 개선된다고 보고하였으며, Zhang *et al.*(2005)은 육계에 *Saccharomyces cerevisiae*의 구성 성분을 whole yeast, yeast extract, cell wall로 구분하여 첨가 급여한 시험을 통해 효모 성분의 생산성 향상 효과를 보고한 바 있다. 본 연구에서는 글루타티온을 정제 형태가 아닌 효모 배양물 형태로 사용하였기 때문에, 이러한 생산성 개선 효과가 글루타티온의 효과인지, 효모 배양물의 효과인지 명확하게 구분하기에는 어려움이 있다. 그러나 본 연구를 통해 글루타티온 강화 효모 배양물이 육계 생산성에 긍정적인 영향을 미치는 것은 확인할 수 있었다.

백혈구 조성

육계에 대한 글루타티온 강화 효모 배양물의 첨가 급여에 따른 백혈구 조성 변화는 Table 3에 나타내었다. White blood cell(WBC), heterophil, lymphocyte 및 heterophil/lymphocyte 모두 글루타티온 강화 효모 배양물의 첨가 수준이 증가할수록 감소하는 경향을 보였으나, 통계적으로 유의성은 인정되지 않았다.

글루타티온 및 효모 배양물의 백혈구 조성 변화와 관련한 연구가 일부 수행되었다. Broome and Jeng(1973), Hamilos and Wedner(1985)는 글루타티온은 lymphocyte와 같은 세포 활성 개시 및 증진에 영향을 미친다고 보고하였으며, Smyth(1991)는 글루타티온이 혈액 내 lymphocyte population의 증식을 조절하고, Wu *et al.*(2003)은 Interleukin-2(IL-2) 합성 및 분비에 영향을 미쳐 혈액 단핵세포(mononuclear cell) 및 lymphocyte 증식에 영향을 미친다고 보고하였다. 또한 효모 배양물 및 효모 성분에는 여러 종류의 oligosaccharide가 존재하여 면역 반응을 촉진하고, 백혈구 조성에 영향을 미칠 수 있다고 보고된 바 있다(Zhang *et al.*, 2005; Paryad and Mahmoudi, 2008). Paryad and Mahmoudi (2008)는 육계에 *S. cerevisiae*의 첨가 수준을 달리하여 급여한 시험에서 *S. cerevisiae* 첨가 수준이 증가할수록 WBC가 유의하게 증가하고, heterophil/lymphocyte는 유의하게 감소하였다고 보고한 반면, Van der Peet-Schwering *et al.*(2007)은 효모 배양물의 첨가 급여가 이우자돈의 백혈구 조성에 영향을 미치지 않았다고 보고하였다.

본 연구에서는 글루타티온 강화 효모 배양물의 첨가 수준이 증가함에 따라 WBC, heterophil, lymphocyte 및 heterophil/lymphocyte가 전반적으로 감소하는 경향을 보였는데, Puvadolpirod and Thaxton(2000)은 닭에 있어 스트레스 관련 지표를 조사하기 위해 스트레스 호르몬의 하나인 부신피질자극호르몬(ACTH, adrenocorticotropin)을 투여하여 조직 및 혈액 성상 변화를 조사한 실험에서 ACTH 투여시 WBC 및

Table 3. Effects of dietary supplementation of glutathione-enhanced yeast culture on leukocytes profile in broiler chicks¹⁾

Items	NC	PC	Glutathione-enhanced yeast culture			SEM
			0.1%	0.3%	0.5%	
White blood cell (K/ μ L)	24.30	21.48	19.86	19.25	18.49	0.78
Heterophil (K/ μ L)	8.53	7.47	6.94	6.76	6.56	0.25
Lymphocyte (K/ μ L)	11.12	9.92	9.16	8.86	8.81	0.22
Heterophil/Lymphocyte	0.77	0.75	0.76	0.76	0.74	0.02

¹⁾ NC : antibiotic-free diet, PC : basal diet with avilamycin+salinomycin.

heterophil/lymphocyte 유의하게 증가하였다고 보고하였다. 또한 여러 연구들에서 스트레스 및 염증 유발시 WBC, heterophil, lymphocyte, monocyte, basophil 등의 백혈구가 유의하게 증가한다고 보고하고 있다(Siegel, 1980; Maxwell, 1993; Zahraa and Ghamdi, 2008). 본 연구에서 스트레스 관련 호르몬은 조사하지 않았으나, 글루타티온은 물론 효모 배양물의 스트레스 저감 효과는 여러 연구(Line et al., 1997; Wu et al., 2004)를 통해 입증된 바 있기 때문에 본 연구 결과 역시 이와 같은 효과에 기인한 것으로 사료된다.

혈액 내 간 및 신장 손상 지표

육계 사료 내 글루타티온 강화 효모 배양물 첨가 급여가 혈액 내 간 및 신장 손상 지표인 BUN, creatinine, AST 및 ALT에 미치는 영향은 Table 4에 제시하였다. 글루타티온 강화 효모 배양물 첨가구와 항생제 첨가구(PC)에서 BUN 및 AST는 항생제 무첨가구(NC)에 비해 유의하게 감소하였으며($p<0.05$), creatinine 및 ALT 역시 다소 감소하는 경향은 보였으나, 통계적 유의성은 나타나지 않았다.

혈액 내 BUN, creatinine, AST 및 ALT 수치는 대사 장애, 독소, 염증 등에 의한 간, 신장 등의 조직 손상을 나타내며(Lumeij, 1997), 새로운 사료 원료나 첨가제의 이용시 안전성을 판단하기 위한 지표로 이용될 수 있다(Diaz, 2003). 글루타티온은 glutathione S-transferase (GST)의 기질로 작용하여 가축에 해로운 비생체물질과 같은 독성물질과 결합하여 해독 작용하는 한편(Anderson, 1998), 강력한 항산화 작용을 통해 체내 존재하는 유리기(free radical)를 효율적으로 제거하여 간 등 주요 조직의 산화적 손상을 예방한다고 보고되고 있다(Wu et al., 2004). 이 외에도 Cha et al.(2005)은 사염화탄소 및 알코올로 간 독성을 유발한 쥐에 글루타티온 강화 *Saccharomyces cerevisiae*를 급여한 실험에서 글루타티온이 효율적으로 간 손상을 예방한다고 보고한 바 있다. 본 연구 결과, 글루타티온 강화 효모 배양물은 해독 작용 및 강력한 항산화 효과를 통해 간 및 조직의 손상을 저해하고, 육계의 건강 유지에 긍정적인 영향을 미친 것으로 사료된다.

혈액 총항산화력

글루타티온 강화 효모 배양물의 첨가 급여가 혈액의 총항산화력에 미치는 영향은 Table 5에 나타내었다. 대조구인 항생제 무첨가구(NC)와 항생제 첨가구(PC)가 각각 60.4 및 86.3 μ M copper equivalents에 비해 글루타티온 강화 효모 배양물 처리구는 각각 84.2, 127.5 및 121.2 μ M

Table 4. Effects of dietary supplementation of glutathione-enhanced yeast culture on blood biochemical parameters in broiler chicks¹⁾

Items ²⁾	NC	PC	Glutathione-enhanced yeast culture			SEM
			0.1%	0.3%	0.5%	
BUN (mg/dL)	2.58 ^a	2.55 ^a	2.50 ^{ab}	2.48 ^b	2.46 ^b	0.04
Creatinine (mg/dL)	0.40	0.36	0.36	0.35	0.33	0.06
AST (U/L)	268.8 ^a	256.7 ^{ab}	266.2 ^a	251.9 ^{ab}	245.5 ^b	0.25
ALT (U/L)	4.37	4.12	4.30	4.21	4.23	0.03

¹⁾ NC : antibiotic-free diet, PC : basal diet with avilamycin+salinomycin.

²⁾ BUN, blood urea nitrogen; AST, aspartate aminotransferase; ALT, alanine aminotransferase.

^{ab} Mean within the same row with no common superscripts differ significantly ($p<0.05$).

Table 5. Effects of dietary supplementation of glutathione-enhanced yeast culture on blood total antioxidant activity in broiler chicks¹⁾

Items	NC	PC	Glutathione-enhanced yeast culture			SEM
			0.1%	0.3%	0.5%	
Total antioxidant activity (μM copper equivalents)	60.4 ^c	86.3 ^b	84.2 ^b	127.5 ^a	121.2 ^a	21.79

¹⁾ NC : antibiotic-free diet, PC : basal diet with avilamycin+salinomycin.

^{a-c} Mean within the same row with no common superscripts differ significantly (p<0.05).

copper equivalents로 유의하게 증가하였다(p<0.05). 특히 0.3%와 0.5% 첨가구의 경우에는 항생제 무첨가구(NC)와 비교하여 2배 이상 증가하는 결과를 보였다.

글루타티온 및 효모 배양물의 항산화 효과는 이미 여러 선행 연구에서 보고된 바 있다(Anderson, 1998; Jamieson, 1998; Wu *et al.*, 2004). 동물은 superoxide anion radical, hydrogen peroxide, hydroxy radical, singlet oxygen 등 활성산소종의 독성으로부터 자신을 보호하기 위하여 일련의 항산화 시스템을 구축하고 있다. 이들 체내 항산화 시스템은 크게 catalase, superoxide dismutase, peroxidase, glutathione peroxidase, glutathione reductase 등에 의한 효소계와 albumin, ferritin, ceruloplasmin과 같은 고분자 항산화물질이나 ascorbic acid, tocopherol, carotinoid, glutathione, ubiquinone, uric acid와 같은 저분자 항산화물질 등에 의한 비효소계로 구성되어 있으며, 이들의 상호 작용에 의해 체내 항산화 시스템이 원활하게 유지된다(Halliwell and Gutteridge, 1989). 글루타티온은 glutathione peroxidase, glutathione reductase의 기질로서 효소계 항산화 시스템을 담당하는 동시에 그 자체로도 강력한 항산화 활성을 발휘하여 비효소계 항산화 시스템에도 영향을 미칠 수 있다(Meister, 1994). 본 연구 결과에서도 혈액의 총항산화력이 대조구에 비해 유의하게 증가하였는데, 이를 통해 글루타티온 강화 효모 배양물의 사료 내 첨가 급여가 체내 항산화 시스템에 긍정적인 영향을 미치는 것을 확인할 수 있었다.

계육 저장기간별 지질과산화물가

저장 기간에 따른 지질과산화물가의 변화는 Table 6에 나타내었다. 저장 기간이 경과함에 따라 지질과산화물가는 지속적으로 증가하였으며, 글루타티온 강화 효모 배양물 처리구가 저장 1일차부터 대조구인 항생제 첨가구(NC)와 항생제 첨가구(PC)에 비해 유의하게 감소하였으며(p<0.05), 글루타티온 강화 효모 배양물의 첨가 수준이 증가함에 따라 지질과산화물가도 유의하게 감소하는 것을 확인할 수 있었다(p<0.05).

닭고기는 돼지고기 및 소고기 등 타 육류에 비해 불포화지방산이 많아 지질과산화가 보다 많이 일어나기 때문에(Rhee *et al.*, 2006) 장기간의 저장 및 적절하지 못한 저장·유통 환경 하에서 품질 저하 문제가 발생할 가능성이 높다. 이로 인해 닭고기의 저장 안전성을 높이기 위해 다양한 항산화물질을 적용한 연구들이 진행되어 왔다(Cortinas *et al.*, 2005; Goni *et al.*, 2007; Kim *et al.*, 2009). 글루타티온 또는 글루타티온 강화 효모 배양물을 사료 내 첨가 급여하여 계육의 저장 안전성을 조사한 연구나 자료가 없어 직접적인 비교는 어려우

Table 6. Effects of dietary supplementation of glutathione-enhanced yeast culture on TBARS change of chicken meat during storage at 4°C¹⁾

Storage period	NC	PC	Glutathione-enhanced yeast culture			SEM
			0.1%	0.3%	0.5%	
----- MDA mg/kg -----						
1 day	0.24 ^a	0.24 ^a	0.19 ^b	0.16 ^b	0.16 ^b	0.03
4 day	0.34 ^a	0.35 ^a	0.32 ^{ab}	0.24 ^b	0.23 ^b	0.04
7 day	0.55 ^a	0.53 ^a	0.54 ^a	0.47 ^b	0.41 ^b	0.06
10 day	0.59 ^a	0.59 ^a	0.58 ^a	0.49 ^b	0.44 ^b	0.06

¹⁾ NC : antibiotic-free diet, PC : basal diet with avilamycin+salinomycin.

^{a,b} Mean within the same row with no common superscripts differ significantly (p<0.05).

나, Cha et al.(2005)은 orotic acid로 지방간을 유도한 쥐에 글루타티온 강화 *Saccharomyces cerevisiae*를 사료 내 첨가 급여한 실험에서 글루타티온 강화 *Saccharomyces cerevisiae* 첨가 급여시 간, 신장 조직의 지질과산화물이 유의하게 감소하였다고 보고하였다. 글루타티온은 생체 내에서 과산화수소나 지질과산화물을 제거하는 작용을 하는 glutathione peroxidase의 기질로 작용하는 동시에 그 자체로도 산화환원 반응에 관여하여 계육 내 지질과산화물가를 감소시킬 수 있다(DeVore et al., 1983; Hoac et al., 2006). 또한 일부 선행 연구에서 효모 배양물 및 그 구성 성분의 사료 내 첨가 급여가 저장 기간 경과에 따른 계육의 지질과산화물 생성을 감소시킬 수 있다고 보고한 바 있다(Zhang et al., 2005). Zhang et al.(2005)은 *Saccharomyces cerevisiae*의 구성 성분(추출물, 세포벽 등)을 사료 내 첨가하여 육계에 5주 동안 급여한 실험에서 닭고기 저장 6일차부터 효모 추출물과 세포벽 성분을 첨가 급여한 처리구에서 대조구에 비해 지질과산화물가의 증가가 유의하게 감소하였는데, 이는 *Saccharomyces cerevisiae* 내 존재 내당인자(glucose tolerance factor) 및 copper-zinc superoxide dismutase, 또는 세포벽 성분인 α -glucan, carboxymethyl glucan, mannans 등이 항산화 작용을 발휘하였기 때문이라고 보고하였다. 본 연구를 통해 글루타티온 강화 효모 배양물의 사료 내 첨가 급여가 저장 기간 경과에 따른 계육 내 지질과산화물 생성을 감소시켜 계육의 저장성 증진 및 품질 유지에 긍정적인 영향을 미칠 수 있음을 확인하였으며, 추후 계육 내 glutathione peroxidase 등의 항산화 효소 활성과 관련된 부분을 추가적으로 조사하여 보다 정확한 작용 기전을 확인할 필요가 있다고 사료된다.

IV. 요약

본 연구는 육계에 대한 글루타티온 강화 효모 배양물의 사료 내 첨가 급여가 육계 생산성, 백혈구 조성, 혈액 내 간 및 신장 손상 지표, 혈액 총항산화력 및 계육 저장 안정성에 미치는 영향을 조사하여 기능성 사료 소재로서의 이용가능성을 구명하고자 수행되었다. 1일령 육계 수평아리(Cobb) 600수를 공시하여 5처리 4반복, 반복당 30수씩 임의 배치하고 5주간 사양시험을 실시하였다. 시험 처리는 항생제 무첨가구(NC), 항생제 첨가구(PC)를 대조구로 하였으며, 시험 사료 내 글루타티온 강화 효모 배양물을 각각 0.1%, 0.3% 또는 0.5% 첨가한 시험구를 두었다.

종료체중 및 일당증체량은 글루타티온 강화 효모 배양물 첨가구가 항생제 첨가구(PC)에 비해서는 낮은 경향을 보였으나, 항생제 무첨가구(NC)에 비해 유의하게 증가하였으며($p<0.05$), 사료요구율은 대조구를 비롯한 모든 처리구 중에서 글루타티온 강화 효모 배양물 0.5% 처리구가 가장 우수하였다($p<0.05$). 백혈구 조성은 처리구간 유의적인 차이는 없었으나, white blood cell, heterophil, lymphocyte 및 heterophil/lymphocyte 모두 글루타티온 강화 효모 배양물의 첨가 수준이 증가할수록 감소하는 경향을 보였다. 혈액 내 간 및 신장 손상 지표인 BUN, creatinine, AST 및 ALT를 조사한 결과, 글루타티온 강화 효모 배양물 처리구와 항생제 첨가구(PC)에서 BUN 및 AST는 항생제 무첨가구(NC)에 비해 유의하게 감소하였으며($p<0.05$), creatinine 및 ALT 역시 다소 감소하는 경향은 보였으나, 통계적 유의성은 나타나지 않았다. 혈액 내 총항산화력은 대조구인 항생제 무첨가구(NC)와 항생제 첨가구(PC)가 각각 60.4 및 86.3 μM copper equivalents에 비해 글루타티온 강화 효모 배양물 첨가구는 각각 84.2, 127.5, 및 121.2 μM copper equivalents로 유의하게 증가하였으며($p<0.05$), 특히 0.3%와 0.5% 첨가구는 항생제 무첨가구(NC)에 비해 2배 이상 높았다. 저장 기간에 따른 계육 내 지질과산화물가는 글루타티온 강화 효모 배양물 처리구가 저장 1일차부터 대조구인 항생제 무첨가구(NC)와 항생제 첨가구(PC)에 비해 유의하게 감소하였으며($p<0.05$), 글루타티온 강화 효모 배양물의 첨가 수준이 증가함에 따라 지질과산화물가도 유의하게 감소하는 것을 확인할 수 있었다($p<0.05$). 본 연구 결과, 글루타티온 강화 효모 배양물의 육계 사료 내 첨가 급여는 육계 생산성 및 건강성에 긍정적인 영향을 미치는 한편, 계육의 저장 안전성을 증진시켜 기능성 사료소재로서의 이용 가능성이 높은 것을 확인할 수 있었다.

사 사

본 논문은 농촌진흥청 공동연구사업(과제번호 : PJ004862)의 지원에 의해 이루어진 것임.

References

1. Anderson ME. 1998. Glutathione: An overview of biosynthesis and modulation. *Chemico-Biological Interactions* 112:1-14.
2. Agbor GA, Vinson JA, Patel S, Patel K, Scarpatti J, Shiner D, Wardrop F, Tompkins TA. 2007. Effect of selenium-and glutathione-enriched yeast supplementation on a combined atherosclerosis and diabetes hamster model. *J Agri Food Chem*

- 55:8731-8736.
3. Aw TY, Wierzbicka G, Jones DP. 1991. Oral glutathione increases tissue glutathione *in vivo*. *Chemico-Biological Interactions* 80:89-97.
 4. Bottje W, Enkvetchakul B, Moore R. 1995. Effect of α -tocopherol on antioxidants, lipid peroxidation, and the incidence of pulmonary hypertension syndrome (ascites) in broilers. *Poult Sci* 74:1356-1369.
 5. Brake J. 1988. Stress modern poultry management. *Animal Production Highlights*. 2/87. Hoffmann-La Roche Co. Ltd. 4002 Basle.
 6. Broome JD, Jeng MW. 1973. Promotion of replication in lymphoid cell by specific thiols and disulfides *in vitro*. Effects on mouse lymphoma cells in comparison with splenic lymphocytes. *J Exp Med* 138:574-592.
 7. Buege JA, Aust SD. 1978. *Methods in enzymology*. Academic Press, New York.
 8. Cha JY, Park BK, Eom KE, Ahn HY, Cho YS. 2005. Effect of glutathione enriched *Saccharomyces cerevisiae* FF-8 on tissues lipid peroxidation in orotic acid induced fatty liver model rats. *J Life Sci* 19:322-326.
 9. Cortinas L, Barroeta A, Billaverde C, Galobart J, Guardiola F, Baucells MD. 2005. Influence of the dietary polyunsaturation level on chicken meat quality : Lipid oxidation. *Poult Sci* 84:48-55.
 10. DeVore VR, Colnago GL, Jensen LS, Greene BE. 1983. Thiobarbituric acid values and glutathione peroxidase activity in meat from chickens fed a selenium-supplemented diet. *J Food Sci* 48:300-306.
 11. Diaz GJ, Roldan LP, Cortes A. 2003. Intoxication of *Crotalaria pallida* seeds to growing broiler chicks. *Vet Hum Toxicol* 45:187-189.
 12. Duncan DB. 1955. Multiple range and multiple F test. *Biometric* 11:1-42.
 13. El-Lethey H, Huber-Eicher B, Jungi TW. 2003. Exploration of stress-induced immuno -suppression in chickens reveals both stress-resistant and stress-susceptible antigen responses. *Vet Immunol Immunopathol* 95:91-101.
 14. Favilli F, Marraccini P, Iantomasi T, Vincenzini MT. 1997. Effect of orally administered glutathione on glutathione levels in some organs of rats: role of specific transporters. *Brit J Nutr* 78:293-300.
 15. Fellenberg MA, Speisky H. 2006. Antioxidants: their effects on broiler oxidative stress and its meat oxidative stability *World's Poult Sci* 62:55-70.
 16. Gao J, Zhang HJ, Yu SH, Wu SG, Yoon I, Quigley J, Gao YP, Qi GH. 2008. Effects of yeast culture in broiler diets on performance and immunomodulatory functions. *Poult Sci* 87:1377-1384.
 17. Gatlin DM, Bai SC. 2008. Effects of dietary lipid and reduced glutathione on composition and storage quality of channel catfish, *Lctalurus punctatus* (Rafinesque). *Aquacult Res*. 24:457-463.
 18. Goni I, Brenes A, Centeno C, Viveros A, Saura-Calixto F, Rebole A, Arija I, Estevez R. 2007. Effect of dietary grape pomace and vitamin E on growth performance, nutrient digestibility, and susceptibility to meat lipid oxidation in chickens. *Poult Sci* 86:508-516.
 19. Halliwell B, Gutteridge JMC. 2010. *Free radicals in biology and medicine*, 4th ed. Clarendon Press, Oxford.
 20. Hamilos D, Wedner HJ. 1985. The role of glutathione in lymphocyte activation. I. Comparison of inhibitory effects of buthionine sulfoximine and 2-cyclohexene-1-one by nuclear size transformation. *J Immunol* 135:2740-2747.
 21. Hoac T, Daum C, Trafikowska U, Zackrisson J, Akesson B. 2006. Influence of heat treatment on lipid oxidation and glutathione peroxidase activity in chicken and duck meat. *Innovative Food Science and Emerging Technologies* 7:88-93.
 22. Jamieson DJ. 1998. Oxidative stress response of the yeast *Saccharomyces cerevisiae*. *Yeast* 14:1511-1527.
 23. Jiang ZY, Jiang Q, Lin YC, Xi PB, Yu DQ, Wu TX. 2007. Effects of soybean isoflavone on growth performance, meat quality, and antioxidant in male broilers. *Poult Sci* 86:1356-1362.
 24. Kim JM, Lee SW, Kim KM, Chang UJ, Song JC, Suh HJ. 2003. Anti-stress effect and functionality of yeast hydrolysate SCP-20. *European Food Research and Technology*.
 25. Kim YJ, Jin SK, Yang HW. 2009. Effect of dietary garlic bulb and husk on the physicochemical properties of chicken meat.

- Poult Sci 88:398-405.
26. Klasing KC. 1988. Nutritional aspects of leukocytic cytokines. *J. Nutr* 118:1436-1446.
 27. Lee JK, Godon C, Labarre J, Toledano MB. 1999. A new antioxidant with alkyl hydroperoxide defense properties in yeast. *J Biol Chem* 274:4537-4544.
 28. Li Y, Wei GY, Chen J. 2004. Glutathione: a review on biotechnological production. *Appl Microbiol Biotechnol* 66:233-242.
 29. Line JE, Bailey JS, Cox NA, Stern NJ. 1997. Yeast treatment to reduce *Salmonella* and *Campylobacter* population associated with broiler chickens subjected to transport stress. *Poult Sci* 76: 1227-1231.
 30. Meister A. 1994. Glutathione-ascorbic acid antioxidant system in animals. *J Biol Chem* 269:9397-9400.
 31. Maxwell MH. 1998. Avian blood leukocyte responses to stress. *World's Poult Sci* 49:34-43.
 32. Nahm KH. 1999. Quality poultry meat production. *Korean J Poult Sci* 26:1-25.
 33. Naidoo V, McGaw LJ, Bisschop SPR, Duncan N, Eloff JN. 2008. The value of plant extracts with antioxidant activity in attenuating coccidiosis in broiler chickens. *Veterinary Parasitology* 153:214-219.
 34. NRC 1994. Nutrient requirements of poultry. 9th rev. ed. National Academy of Science, Washington DC.
 35. Ojano-Dirain C, Iqbal M, Wing T, Cooper M, Bottje W. 2005. Glutathione and respiratory chain complex activity in duodenal mitochondria of broilers with low and high feed efficiency. *Poult Sci* 84:782-788.
 36. Paryad A, Mahmoudi M. 2008. Effect of different levels of supplemental yeast (*Saccharomyces cerevisiae*) on performance, blood constituents and carcass characteristics of broiler chicks. *Afr J Agric Res* 3:835-842.
 37. Puvadolpirod S, Thaxton JP. 2000. Model of physiological stress in chickens 2. Dosimetry of adrenocorticotropin. *Poult Sci* 79:370-376.
 38. Ravindran V. 2003. Development of digestive function in neonatal poultry : physiological limitation and potential. *Proc Aust Poult Sci. Sym.* 15:1-7.
 39. Rhee KS, Anderson LM, Sams AR. 1996. Lipid oxidation potential of beef, chicken, and pork. *J Food Sci* 61:8-12.
 40. SAS Institute 2002. SAS user's guide: Statistics. version 9.1 SAS Institute Inc. Cary, NC.
 41. Selim NA, Abdel-Khalek AM, Nada SA, El-Medany SA. 2008. Response of growing rabbits to dietary antioxidant vitamins E and C : 1. Effect on performance. *Nutrition and digestive physiology. 9th World Rabbit Congress.*
 42. Sheih I, Wu TK, Fang TJ. 2009. Antioxidant properties of a new antioxidative peptide from algae protein waste hydrolysate in different oxidation systems. *Bioresource Technology* 100:3419-3425.
 43. Siegel HS. 1980. Physiological stress in birds. *Bioscience* 30:529-534.
 44. Smyth MJ. 1991. Glutathione modulates activation-dependent proliferation of human peripheral blood lymphocyte populations without regulating their activated function. *J Immunol* 146:1921-1927.
 45. Stanley VG, Gray C, Daley M, Krueger WF, Sefton AE. 2004. An alternative to antibiotic-based drugs in feed for enhancing performance of broiler grown on *Eimeria* spp.-infected litter. *Poult Sci* 83:39-44.
 46. Tateishi N, Hirasawa M, Higashi T, Sakamoto Y. 1982. The L-methionine-sparing effect of dietary glutathione in rats. *J Nutr* 112:2217-2226.
 47. Ueno Y, Kizaki M, Nakagiri R, Kamiya T, Sumi H, Osawa T. 2002. Dietary glutathione protects rats from diabetic nephropathy and neuropathy. *J Nutr* 132:897-900.
 48. Van der Peet-Schwering CMC, Jansman AJM, Smidt H, Yoon I. 2007. Effects of yeast culture on performance, gut integrity, and blood cell composition of weanling pigs. *J Anim Sci* 85:3099-3109.
 49. Witschi A, Reddy S, Stofer B, Lauterburg BH. 1992. The systemic availability of oral glutathione. *Eur J Clin Pharmacol* 43: 667-669.
 50. Wu G, Fang YZ, Yang S, Lupton JR, Turner ND. 2004. Glutathione metabolism and its implications for health. *J Nutr* 134:489-492.

51. Zahraa H and Ghamdi A. 2008. Effects of commutative heat stress on immunoresponses in broiler chickens reared in closed system. *Int J Poult Sci* 7:964-968.
52. Zhang AW, Lee BD, Lee SK, Lee KW, An GH, Song KB, Lee CH. 2005. Effects of yeast (*Saccharomyces cerevisiae*) cell componets on growth performance, meat quality, and ileal mucosa development of broiler chicks. *Poult Sci* 84:1015-1021.