



동물복지 사육환경이 두 육계 품종의 가슴육 및 다리육의 대사체학적 특성에 미치는 효과

이동헌¹ · 정종현² · 조철훈^{3*}

¹서울대학교 농생명공학부 학생, ²정피앤씨연구소 전무, ³서울대학교 농생명공학부 교수

Effect of Animal-Welfare Environment on the Metabolomic Properties of Breast and Thigh Meat from Two Broiler Strains

Dongheon Lee¹, Jong Hyun Jung² and Cheorun Jo^{3*}

¹Student, Department of Agricultural Biotechnology, Seoul National University, Seoul 08826, Republic of Korea

²Executive Director, Jung P&C Institute Inc., Yongin 16951, Republic of Korea

³Professor, Department of Agricultural Biotechnology, Seoul National University, Seoul 08826, Republic of Korea

ABSTRACT This study investigates the metabolomic changes in breast and thigh meat from Cobb and Ross 308 chickens regarding the rearing environment. One-day-old Cobb and Ross broilers were raised for 35 days in conventional and animal welfare farms with, amongst others, different floor sizes, stock densities, and ammonia concentrations. One-dimensional ¹H nuclear magnetic resonance, orthogonal partial least squares-discriminant analysis (OPLS-DA), and pathway analyses were performed to analyze the metabolomic properties of broiler meat. For breast meat, only those from the Ross strain could be separated according to the environment in the OPLS-DA plot. Ross breast meat from animal welfare farms showed significantly higher acetate, anserine, creatine, and inosine monophosphate content than those from conventional farms ($P<0.05$). In contrast, for thigh meat, the Cobb strain was differentiated using OPLS-DA. The contents of five metabolites, such as glucose and lactate, were higher in thigh meat from animal welfare farms; however, nine metabolites, including seven free amino acids, were lower compared to those from conventional farms ($P<0.05$). Pathway analysis was performed to interpret the biological changes in chicken meat based on environmental factors. The results indicated that the animal welfare environment led to significant changes in four metabolic pathways in Ross breast meat and in 20 metabolic pathways in Cobb thigh meat ($P<0.05$). In conclusion, the animal welfare environment could influence the metabolomic properties of Ross breast meat and Cobb thigh meat, which may affect the sensory quality of meat.

(Key words: rearing environment, broiler, strain, meat, metabolomics property)

서론

닭고기는 빠른 성장과 저렴한 생산비용을 토대로 소비자가 시중에서 쉽게 접할 수 있으며, 높은 단백질 함량과 낮은 지방 함량, 다양한 생리활성물질을 함유하여 영양적 가치가 우수하며 맛 또한 좋아 수요가 높은 육류이다(Jung et al., 2015). 최근 동물복지에 대한 대중의 관심과 이해가 높아지면서 육류를 구입함에 있어 동물복지인증을 중요한 기준으로 여기는 소비자가 증가하고 있고(Velarde et al., 2015), 이에 따라 동물복지인증을 받고자 하는 육계농가 또한 급격히

증가하고 있다(Kim et al., 2021).

축산법에 따르면 국내에서 동물복지인증을 받기 위해서는 육계의 경우 사육밀도가 19 수/m² 이하 및 30 kg/m² 이하, 육계 1,000 수당 횡대 2 m 제공, 암모니아 농도 25 ppm 이하, 이산화탄소 농도 5,000 ppm 이하 등과 같은 엄격한 사육환경을 갖추어야 한다. 동물복지 사육환경의 제공은 가금류의 건강과 활동 수준을 향상시켜 동물복지에 기여할 수 있으나, 사육시설을 갖추기 위한 재정적 투자와 상대적으로 낮은 사육밀도에 따른 경제적 손실이 뒤따를 수 있다는 문제점을 안고 있다(Hong et al., 2019). 따라서 동물복지 축산

* To whom correspondence should be addressed : cheorun@snu.ac.kr

물의 효율적인 생산을 위해서는 동물복지 사육환경이 육계와 그로부터 생산되는 계육의 품질에 미치는 영향에 관한 과학적인 연구가 선행되어야 한다.

우리나라에서 가장 많이 사육되는 두 육계 품종인 Cobb종과 Ross종에 대하여 동물복지 사육환경이 육계의 사양 성적 및 스트레스 수준에 미치는 영향에 대해서는 많은 연구가 진행되었다. Jang et al.(2014)은 고밀도 사육환경에서 사육된 Cobb종 및 Ross종 육계의 사양 성적(체중, 사료 섭취량)이 공통적으로 감소하였으나 항산화 유전자 GPX mRNA 발현이 품종에 따라 다르게 나타났다고 발표하였다. Benyi et al.(2015)은 품종과 사육밀도가 육계의 사양 성적이 미치는 영향을 분석한 연구에서 7일~49일의 사육기간 동안 Ross종 육계가 Cobb종 육계에 비하여 높은 증체량 및 사료 요구율을 보였다고 보고하였다. Kim and Kang(2020)은 22 수/m² 이상의 사육밀도에서 토종닭을 사육할 경우 체중, 증체량 및 사료 섭취량이 사육밀도가 증가함에 따라 감소함을 확인하였다.

동물복지 사육환경이 식육의 품질 특성에 미치는 영향에 대해서는 Kim et al.(2018, 2020)이 일반농장 및 동물복지인증농장에서 사육된 Arbor Acres종의 가슴육 및 다리육의 품질을 각각 분석하였고 공통적으로 육색 및 전단력에서 차이를 보인다고 보고하였다. 또한 Attia et al.(2018)은 기온 32℃와 상대습도 55%의 조건에서 고온 스트레스에 노출된 35일령의 Cobb종 육계 가슴육 및 다리육이 Ross종 육계에 비하여 높은 pH를 보였다고 보고하였다. 그러나 Goo et al.(2019)은 Ross 308종 육계 가슴육의 pH, 보수력, 색도, 지질산패도가 사육밀도에 따른 차이를 보이지 않았다고 하였다. 이처럼 품종별로 식육의 물리화학적 특성이 다르게 나타난 데 반해 동물복지 사육환경이 식육의 품질에 영향을 미치는 메커니즘에 관해서는 연구가 미비하다. 동물복지 축산물에 대한 생산자와 소비자의 높은 관심을 고려할 때, 동물복지 사육환경이 식육의 품질에 미치는 영향에 대한 추가적인 연구가 절실히 요구되는 실정이다.

대사체학은 저분자 화합물에 대한 총체적인 분석을 통하여 생명체가 유전적 또는 환경적 변화에 어떻게 반응하는지 살펴보는 데 있어 유용하게 활용될 수 있다(Zhang et al., 2020). 이 중 핵자기공명분광법(nuclear magnetic resonance, NMR)은 다양한 종류의 대사체를 낮은 비용으로 빠르고 재현성 높은 분석결과를 얻을 수 있다는 장점이 있다(Kim et al., 2021a). Xiao et al.(2019)은 one-dimensional(1D) ¹H NMR을 이용하여 연령별 닭가슴육의 대사체 함량을 비교한 바 있으며, Kim et al.(2021a, 2021b) 또한 NMR을 활용하여

품종(토종닭, Cobb, 백세미)에 따른 대사체학적 변화를 비교하였다. 하지만 동물복지 사육환경에 따른 육계 가슴육 및 다리육의 대사체학적 특성 변화를 품종별로 살펴본 연구는 보고된 바 없다.

따라서 본 연구는 동물복지 사육환경이 두 육계 품종(Cobb 및 Ross)의 가슴육 및 다리육의 대사체학적 특성에 미치는 영향에 대하여 알아보고자 수행되었다.

재료 및 방법

1. 공시동물 및 사양관리

1일령의 Cobb종 육계를 두 그룹으로 나누어 한 그룹은 일반농장에서, 다른 한 그룹은 동물복지농장에서 35일간 사육하였다. 마찬가지로, 1일령의 Ross 308종 육계에서도 그룹을 나누어 두 농장에서 사육하였다. 일반농장은 사육면적이 929 m²(사육밀도: 25 수/m²)이고 계사 내 암모니아 농도가 50-100 ppm이었다. 동물복지농장은 농림축산식품부의 동물복지 축산농장 인증기준 및 인증 등에 관한 세부실시요령에 의거하여 사육면적이 1,027 m²(사육밀도: 17 수/m²)이고 계사 내 암모니아 농도가 25 ppm 미만이 되도록 조절하고, 볏짚, 톱밥, 채소를 공급하였다. 사료는 대사 에너지 및 조단백 비율이 각각 사육 0-7일째에는 3,090 kcal/kg 및 22.5%, 사육 8-19일째에는 3,180 kcal/kg 및 20.2%, 그리고 사육 20-35일째에는 3,250 kcal/kg 및 19.2%가 되도록 급이하였다.

35일의 사육기간이 종료된 이후 육계를 도계장으로 운송하였다. 도계된 육계 가슴육 및 다리육을 바로 구입하여 냉장 온도(4±2℃)에서 신속히 실험실로 운반하였다. 이후 가슴육과 다리육을 발골하여 균질 후 영하 70℃에 보관하였다.

2. 대사체 분석

시료 5 g에 0.6 M perchloric acid를 20 mL 첨가한 후 균질기(T25 digital ULTRA-TURRAX, IKA Works, Staufen, Germany)를 이용하여 16,000 rpm에서 1분간 균질하였다. 균질물은 2,265 × g에서 20분간 원심분리(Continent 512R, Hanil Co., Ltd., Daejeon, Korea) 후 상층액의 pH가 7.0이 되도록 sodium hydroxide 용액을 이용하여 적정하였다. 위와 동일한 조건으로 원심분리(Continent 512R, Hanil Co., Ltd.)하고 여과지(Whatman No. 1, Whatman PLC., Brentford, Middx, UK)를 이용하여 상층액을 여과하였다. 추출물은 동결건조(Freezer dryer 18, Labco Corp., Kansas City, MO,

USA) 후 1 mM의 3-(trimethylsilyl)propionic-2,2,3,3-d4 acid (TSP)가 포함된 deuterium oxide을 이용하여 제조한 10 mM phosphate 완충용액(pH 7.4)에 희석하여 NMR 핵자기공명분광법(NMR) 분석을 진행하였다.

¹H NMR 스펙트럼은 Bruker 850 MHz cryo-NMR spectrometer(Bruker Biospin GmbH, Rheinstetten, Germany)을 이용하여 측정하였으며 분석은 pulse program으로 zg30 (relaxation delay 1초)을 사용하여 sweep width 17,006 Hz, 128 scan으로 진행되었다. ¹H NMR 스펙트럼의 화학적 이동 (chemical shift)는 TSP를 기준으로 하여 δ(ppm)으로 표시하였다. 스펙트럼 분석은 Topspin 4.0.8(Bruker GmbH, Rheinstetten, Baden-Württemberg, Germany)을 이용하여 수행하였으며 각 피크는 Chenomx NMR suite 7.1(Chenomx, Inc., Edmonton, AB, Canada)와 Human Metabolome Database(www.hmdb.ca)를 이용하여 식별하였다.

3. 통계분석

실험 결과의 분석은 SAS 프로그램(ver. 9.4, SAS Institute Inc., NC, USA)을 이용하여 사육농장, 품종, 사육농장과 품종 간 interaction을 fixed effect로 하여 two-way analysis of variance(ANOVA)을 실시하였다. 평균값 간의 유의성 검정

을 위하여 Tukey의 다중검정법을 이용하여 통계분석 ($P<0.05$)을 실시하였으며, 결과는 평균값과 표준오차로 표시하였다. 다변량분석은 직교부분최소자승판별분석(orthogonal partial least squares-discriminant analysis; OPLS-DA)을 활용하여 수행하였으며, 대사경로 분석(pathway analysis)을 통하여 대사체의 함량 차이가 어느 대사경로에서 기인할 수 있는지 확인하고자 하였다. OPLS-DA 및 대사경로 분석은 MetaboAnalyst 5.0(www.metaboanalyst.ca)를 이용하여 수행하였으며 데이터베이스는 KEGG(Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes) pathway library(www.genome.jp/kegg)를 사용하였다.

결과 및 고찰

1. 가슴육 분석

1D ¹H NMR을 이용하여 분석한 닭 가슴육 내 25종의 대사체 함량은 품종별로 사육환경의 영향을 다르게 받는 것으로 나타났다(Table 1). Cobb종 육계는 사육농장에 따라 5종의 대사체 함량에서 유의적인 차이를 나타냈으며, 동물복지 농장에서 사육된 육계 가슴육은 일반농장에서 사육된 육계 가슴육에 비해 acetate 및 hypoxanthine 함량은 높았으나 ($P<0.01$), isoleucine($P<0.01$), phenylalanine($P=0.02$) 및 va

Table 1. The contents of metabolites (mg/100 g) in the breast meat of different broiler strain (Cobb and Ross 308) reared from conventional (Con) and animal-welfare (Wel) farms

Item	Farm	Strain		SEM ¹
		Cobb	Ross 308	
<i>Amino acid</i>				
Alanine	Con	27.52 ^b	37.25 ^a	1.478
	Wel	29.89	33.41	2.573
	SEM	1.941	2.244	
Anserine	Con	321.29	358.78 ^y	14.733
	Wel	347.93 ^b	408.15 ^{ax}	12.622
	SEM	16.512	10.185	
Aspartic acid	Con	12.61 ^b	22.51 ^a	0.900
	Wel	10.84 ^b	20.89 ^a	1.201
	SEM	0.644	1.355	
Creatine	Con	343.63 ^a	288.98 ^{by}	7.263
	Wel	343.42	315.97 ^x	9.499
	SEM	9.161	7.685	
Glutamic acid	Con	25.39	29.92	1.942
	Wel	22.72	26.69	1.573
	SEM	1.888	1.638	

Table 1. Continued

Item	Farm	Strain		SEM ¹
		Cobb	Ross 308	
Glycine	Con	37.97 ^b	46.52 ^a	2.832
	Wel	36.24	42.04	2.577
	SEM	2.119	3.189	
Isoleucine	Con	5.33 ^{bx}	7.32 ^a	0.484
	Wel	3.71 ^{by}	6.76 ^a	0.462
	SEM	0.391	0.544	
Leucine	Con	4.92 ^b	7.50 ^a	0.423
	Wel	3.89 ^b	7.17 ^a	0.342
	SEM	0.360	0.407	
Phenylalanine	Con	5.74 ^{bx}	7.67 ^a	0.351
	Wel	4.64 ^{by}	7.06 ^a	0.362
	SEM	0.302	0.404	
Tyrosine	Con	11.54 ^b	15.75 ^a	0.800
	Wel	10.86 ^b	15.49 ^a	0.674
	SEM	0.725	0.753	
Valine	Con	7.71 ^{bx}	9.80 ^a	0.602
	Wel	5.39 ^{by}	9.11 ^a	0.630
	SEM	0.496	0.716	
β -Alanine	Con	33.35	37.49	3.253
	Wel	30.33	39.20	4.018
	SEM	3.530	3.778	
<i>Nucleotide-related product</i>				
Hypoxanthine	Con	5.34 ^{by}	9.14 ^a	0.430
	Wel	7.78 ^x	8.61	0.615
	SEM	0.421	0.621	
IMP	Con	160.88	161.51 ^y	5.309
	Wel	150.36 ^b	186.63 ^{ax}	6.983
	SEM	6.454	5.941	
Inosine	Con	35.96 ^b	52.01 ^a	2.845
	Wel	38.29 ^b	46.02 ^a	2.185
	SEM	2.684	2.380	
NAD	Con	14.09	13.03	0.614
	Wel	13.41	13.34	0.896
	SEM	0.487	0.970	
UMP	Con	3.49	3.13	0.155
	Wel	3.34	2.94	0.154
	SEM	0.183	0.119	

Table 1. Continued

Item	Farm	Strain		SEM ¹
		Cobb	Ross 308	
Uracil	Con	0.53	0.71	0.074
	Wel	0.56	0.59	0.081
	SEM	0.063	0.090	
<i>Organic acid</i>				
Acetate	Con	2.88 ^y	3.12 ^y	0.079
	Wel	3.36 ^x	3.40 ^x	0.110
	SEM	0.098	0.094	
Fumarate	Con	0.08	0.05	0.013
	Wel	0.06	0.06	0.013
	SEM	0.014	0.012	
Lactate	Con	593.77	566.01	19.446
	Wel	549.79 ^b	617.10 ^a	18.220
	SEM	19.352	18.320	
Methylmalonate	Con	5.50	5.83	0.221
	Wel	5.11 ^b	6.38 ^a	0.192
	SEM	0.196	0.217	
<i>Others</i>				
Ethanol	Con	0.81	1.52	0.215
	Wel	1.02	1.52	0.205
	SEM	0.119	0.272	
Glucose	Con	11.38 ^b	16.84 ^a	0.957
	Wel	9.11 ^b	19.09 ^a	1.519
	SEM	0.899	1.553	
Niacinamide	Con	5.29 ^b	7.25 ^a	0.437
	Wel	5.31 ^b	7.86 ^a	0.208
	SEM	0.430	0.222	

¹ Standard error of mean (n=20).

^{a,b} Different letters within the same row differ significantly ($P<0.05$).

^{x,y} Different letters within the same column differ significantly ($P<0.05$).

IMP, inosine monophosphate; NAD, nicotinamide adenine dinucleotide; UMP, uridine monophosphate.

line($P<0.01$)의 함량은 낮은 수치를 나타내었다. 그러나 다변량분석 결과 위 화합물의 정량적 차이에도 불구하고 OPLS-DA에서 사육농장에 따른 구분은 뚜렷하게 나타나지 않았다(Fig. 1(a), (b)).

한편 Ross종 육계는 동물복지농장에서 길러진 육계의 가슴육 내 acetate($P<0.05$), anserine($P<0.01$), creatine($P<0.05$) 및 inosine monophosphate(IMP; $P<0.01$)의 함량이 일반농장 육계 가슴육에 비해 유의적으로 높았다. OPLS-DA 결과 Cobb종과는 다르게 Ross종 육계 가슴육은 사육농장에 따라

뚜렷하게 구분되었다(Fig. 1(c)). Variable importance in projection(VIP) score는 부분최소제곱(partial least squares) 회귀분석 모델에서 각 독립변수가 가지는 중요도를 나타내는 수치로서 VIP score가 1 이상인 변수는 그렇지 않은 변수에 비해 상대적 중요성이 높다는 것을 의미한다(Chong and Jun, 2005). VIP score가 1 이상인 물질에는 IMP, anserine, inosine, creatine, acetate, glutamate, niacinamide, methylmalonate, lactate로 총 9종의 대사체가 존재하였으며 특히 anserine, IMP, inosine($P=0.09$)은 상대적으로 높은 VIP score

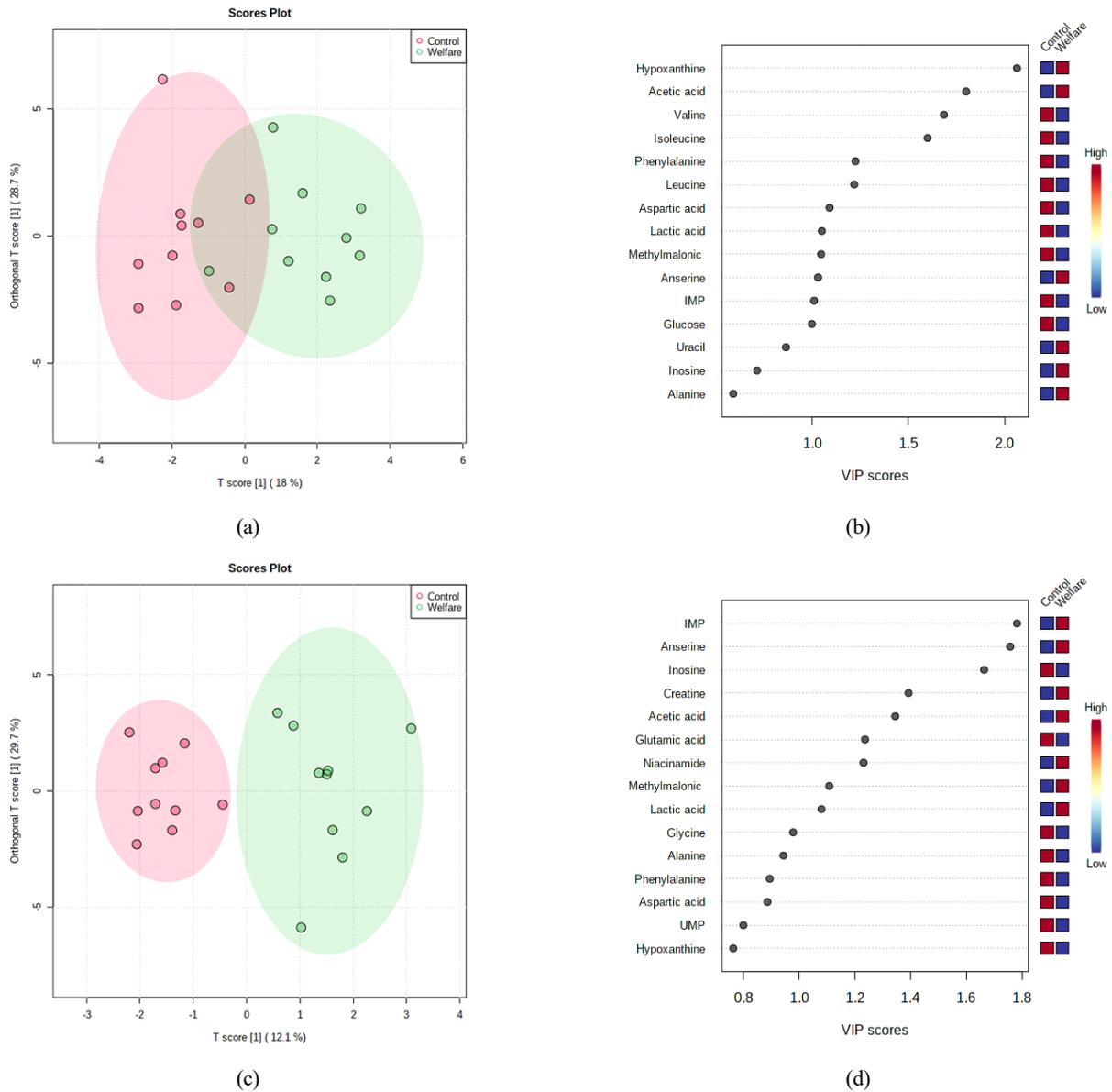


Fig. 1. Orthogonal partial least squares-discriminant analysis of metabolites in breast meat of Cobb. (a) from conventional (control) and animal-welfare (welfare) farms and its variable importance in projection (VIP) scores (b). Orthogonal partial least squares-discriminant analysis of metabolites in breast meat of Ross 308 (c) from conventional and animal-welfare farms and its VIP scores (d). A variable with VIP score > 1 was considered as an important variable for the discrimination between two groups in multivariable analysis.

를 나타내어 동물복지농장 육계 가슴육의 차별성을 가지는 데 있어 중요한 대사체로 사료된다. Anserine은 lactate, creatine과 함께 닭고기에서 높은 함량으로 존재하는 대사체로 알려져 있다(Kim et al., 2021a). Anserine은 지질 산화를 방지하는 항산화 역할을 할 수 있으며 풍미에 있어서는 bitter한 맛 형성에 기여한다고 보고된 바 있다(Dashdorj et al., 2015). 본 실험 결과와 유사하게 Kim et al.(2020)은 동물

복지농장에서 사육된 닭 가슴육이 일반농장에서 사육된 닭 가슴육에 비해 유의적으로 높은 함량의 anserine을 함유하고 있다고 보고하였다. 사육환경의 차이로 인한 anserine 함량 차는 지질산패 및 풍미형성에 영향을 줌으로써 관능적 차이를 유발할 수 있는 요인으로 작용할 수 있으리라 사료된다. IMP와 inosine은 hypoxanthine과 함께 ATP의 분해 과정에서 생성되는 산물로 계육의 신선도를 나타내는 지표로써 알

려져 있다(Wen et al., 2020). 또한 이들 화합물은 식육의 풍미 형성에 중요한 역할을 하는 풍미 전구 물질 중 하나로, IMP는 계육의 특징적인 풍미를 형성하는 ribose의 전구체로, 감칠맛을 낸다고 알려져 있다(Aliani et al., 2013; Kim et al., 2021a). 따라서 동물복지 닭가슴육 내 높은 IMP 수치는 식육의 맛에 긍정적인 역할을 할 수 있으리라 사료된다.

사육환경이 Ross종 육계 가슴육의 대사체학적 특성에 영향을 미치는 경로를 파악하기 위하여, 본 실험에서 검출된 25종의 대사체와 연관성을 갖는 29가지의 대사경로를 분석하였다. 이 중 4가지의 대사경로에서 통계적 유의성($P<0.05$)을 확인하였다(Table 2). β -Alanine metabolism에는 anserine, aspartate, uracil, β -alanine이 관여하고 있었으며(Wang et al., 2014), purine metabolism은 hypoxanthine, IMP, inosine의 생성 및 분해 과정이 포함되어 있다(Fumagalli et al., 2017). Arginine and proline metabolism은 creatine과 glutamate가 (Hsu and Tain, 2019), histidine metabolism은 anserine, aspartate, glutamate가 포함된 대사경로이다(Teloh et al., 2016; Brosnan and Brosnan, 2020). 동물복지농장의 사육환

경이 위 대사경로의 활성 정도에 영향을 미쳐 Ross종 육계의 닭가슴육에서 대사체학적 변화가 나타났을 것으로 추측된다.

분석 결과 Ross종 육계 가슴육이 Cobb종 육계 가슴육에 비하여 사육환경에 따른 대사체학적 차이를 보다 뚜렷하게 보였다. 동물복지농장에서 사육된 Robb종 육계 가슴육은 일반농장에서 사육된 경우에 비해 anserine과 IMP와 같은 풍미 전구 물질을 보다 많이 함유하고 있어 육계의 동물복지 환경 사육의 이점을 설명하기 위한 근거로써 활용될 수 있으리라 사료된다.

2. 다리육 분석

다리육 내 대사체 함량은 사육농장에 따라 다르게 나타났으며, 품종에 따라서도 차이를 보였다. Cobb종 육계의 경우 14종의 대사체에서 일반농장과 동물복지농장 다리육 간 유의적인 차이를 보였다(Table 3). 동물복지농장에서 자란 Cobb종 육계의 다리육은 일반농장 닭다리육에 비해 9종의 대사체인 glycine, leucine, uracil($P<0.05$), aspartate, glutamate,

Table 2. List of metabolic pathways with statistically significant differences ($P<0.05$) between in Ross breast meat from conventional and animal-welfare farms

Pathway	Match status	Pathway impact
β -Alanine metabolism	4/21	0.399
Purine metabolism	3/65	0.152
Arginine and proline metabolism	2/38	0.098
Histidine metabolism	3/16	0.049

Match status indicates the actually matched number from the data per total number of compounds in the pathway. Pathway impact value indicates the cumulative percentage of the importance of matched metabolites in each metabolic pathway.

Table 3. The contents of metabolites (mg/100 g) in the thigh meat of different broiler strain (Cobb and Ross 308) reared from conventional (Con) and animal-welfare (Wel) farms

Item	Farm	Strain		SEM ¹
		Cobb	Ross	
<i>Amino acid</i>				
Alanine	Con	40.79	37.61	1.828
	Wel	37.61	36.98	2.361
	SEM	1.315	2.681	
Anserine	Con	122.81 ^y	133.54	5.462
	Wel	141.46 ^x	162.98	14.709
	SEM	5.905	14.537	

Table 3. Continued

Item	Farm	Strain		SEM ¹
		Cobb	Ross	
Aspartic acid	Con	12.28 ^{bx}	16.25 ^a	0.704
	Wel	9.58 ^{by}	16.09 ^a	0.858
	SEM	0.478	1.002	
Creatine	Con	295.36 ^{by}	227.26 ^{by}	7.735
	Wel	322.13 ^x	282.78 ^x	15.682
	SEM	8.372	15.351	
Glutamic acid	Con	37.50 ^x	33.03	1.555
	Wel	31.55 ^y	35.46	2.575
	SEM	1.122	2.791	
Glycine	Con	54.28 ^x	50.07	2.510
	Wel	47.74 ^y	50.05	3.285
	SEM	1.871	3.687	
Isoleucine	Con	5.47 ^x	6.33	0.381
	Wel	4.24 ^{by}	6.09 ^a	0.518
	SEM	0.288	0.575	
Leucine	Con	5.56 ^x	6.36	0.416
	Wel	4.44 ^{by}	6.34 ^a	0.561
	SEM	0.303	0.629	
Phenylalanine	Con	5.22 ^x	5.78	0.305
	Wel	4.39 ^{by}	5.89 ^a	0.456
	SEM	0.177	0.519	
Taurine	Con	84.09	82.42	5.390
	Wel	73.41 ^b	98.68 ^a	6.211
	SEM	4.582	6.829	
Tyrosine	Con	7.82 ^b	9.32 ^a	0.462
	Wel	8.14	8.65	0.532
	SEM	0.327	0.624	
Valine	Con	7.45 ^x	8.09	0.466
	Wel	5.78 ^{by}	7.75 ^a	0.626
	SEM	0.376	0.684	
β-Alanine	Con	21.97	17.11	1.899
	Wel	27.67 ^a	18.19 ^b	2.122
	SEM	2.073	1.953	

Table 3. Continued

Item	Farm	Strain		SEM ¹
		Cobb	Ross	
<i>Nucleotide-related product</i>				
Hypoxanthine	Con	12.03	13.12	0.650
	Wel	10.51 ^b	13.79 ^a	0.959
	SEM	0.561	1.013	
IMP	Con	92.82	89.33 ^y	4.367
	Wel	107.70	112.44 ^x	7.110
	SEM	5.080	6.619	
Inosine	Con	35.97 ^a	27.62 ^b	2.041
	Wel	34.41 ^a	27.76 ^b	2.150
	SEM	2.264	1.914	
NAD	Con	4.36 ^{ay}	3.00 ^{by}	0.173
	Wel	5.04 ^x	4.48 ^x	0.405
	SEM	0.200	0.393	
UMP	Con	1.58	1.59 ^y	0.112
	Wel	1.61 ^b	2.40 ^{ax}	0.235
	SEM	0.134	0.224	
Uracil	Con	1.15 ^x	1.39	0.081
	Wel	0.91 ^{by}	1.60 ^a	0.110
	SEM	0.075	0.114	
<i>Organic acid</i>				
Acetate	Con	4.25 ^a	3.72 ^b	0.154
	Wel	4.79	4.32	0.440
	SEM	0.238	0.401	
Fumarate	Con	0.61 ^{ax}	0.24 ^b	0.029
	Wel	0.38 ^{ay}	0.26 ^b	0.023
	SEM	0.031	0.020	
Lactate	Con	275.76 ^y	317.94	14.434
	Wel	334.21 ^x	354.75	21.791
	SEM	13.922	22.121	
Methylmalonate	Con	3.37	3.81	0.167
	Wel	3.60	4.34	0.275
	SEM	0.136	0.292	

Table 3. Continued

Item	Farm	Strain		SEM ¹
		Cobb	Ross	
		<i>Others</i>		
Ethanol	Con	1.72	1.78	0.238
	Wel	1.71	2.66	0.408
	SEM	0.222	0.417	
Glucose	Con	7.37 ^{by}	11.15 ^a	0.653
	Wel	9.80 ^x	11.31	1.043
	SEM	0.522	1.114	
Niacinamide	Con	3.14	3.33 ^y	0.088
	Wel	3.25 ^b	4.18 ^{ax}	0.236
	SEM	0.077	0.240	

¹ Standard error of mean (n=20).

^{ab} Different letters within the same row differ significantly ($P<0.05$).

^{xy} Different letters within the same column differ significantly ($P<0.05$).

IMP, inosine monophosphate; NAD, nicotinamide adenine dinucleotide; UMP, uridine monophosphate.

isoleucine, phenylalanine, valine($P<0.01$) 및 fumarate($P<0.0001$) 함량은 낮았으나 5종의 대사체인 nicotinamide adenine dinucleotide(NAD), anserine, creatine($P<0.05$), glucose 및 lactate($P<0.01$) 함량은 높았다. 다변량분석을 수행하였을 때 일반 농장 닭다리육과 동물복지농장 닭다리육은 뚜렷하게 구분되었으며, 13종의 대사체가 1 이상의 VIP score를 나타내어 그룹 간 분리에 중요하게 작용한 화합물임을 확인하였다(Fig. 2(a), 2(b)).

Ross종 육계에서는 5종의 대사체[creatine, IMP, NAD, niacinamide, uridine monophosphate(UMP)]에서 유의적인 차이($P<0.05$)가 나타났으며, 모두 일반농장 닭다리육보다 동물복지농장 닭다리육에서 높은 수치를 보였다. 하지만 Ross종 육계 다리육은 총 9종의 대사체가 1 이상의 VIP score를 보였음에도 불구하고 다변량분석 시 사육농장에 따른 분리가 뚜렷하게 나타나지 않아 가슴육과 상반된 결과를 나타냈다(Fig. 2(c), 2(d)).

동물복지농장에서 사육된 Cobb종 육계 다리육은 동물복지농장 유래 Ross종 가슴육 결과와 유사하게 anserine 및 creatine 함량이 높았다($P<0.05$). Creatine은 근육 내 에너지 대사에 관여하는 중요한 물질로 muscle performance 유지에 큰 영향을 미친다(Xing et al., 2019). Funaro et al.(2014)은 Ross 708종 육계를 일반농장과 free-range 농장에서 39일(암컷) 또는 50일(수컷) 사육한 후 각 부위의 수율을 측정된 결

과 다리육(thigh 및 drumstick) 수율이 free-range 농장 유래 도체에서 유의적으로 높았으며, 이는 행동반경의 증가로 leg activity가 늘어났기 때문이라고 보고하였다. 마찬가지로 본 실험에서 Cobb종과 Ross종 모두 동물복지농장에서 사육된 경우 다리육 내 creatine 함량의 유의적인 증가($P<0.05$)를 보이고 있어 사육면적의 증가 및 사육밀도의 감소가 leg activity에 영향을 미쳤을 것으로 사료된다.

Glucose와 lactate는 glycolysis-related products로서, 이들 화합물 함량에서 유의적인 차이($P<0.01$)가 발견되었다는 것은 사육환경에 따라 해당-과정(糖酵解)이 일어나는 정도가 다를 수 있음을 암시한다(Wang et al., 2017; Zheng et al., 2020). Cobb종 닭다리육에서 검출된 26종의 대사물질과 연관성을 갖는 30가지의 대사경로를 분석한 결과, 20가지의 대사경로에서 통계적 유의성($P<0.05$)이 확인되었으며 이 중 glycolysis/gluconeogenesis이 포함되어 있었다(Table 4). 해당 과정은 도계 전 근육 내 글리코겐 함량과 깊은 관련성이 있다(Wang et al., 2017). 가축이 사육되는 동안 사육환경에 heat stress와 같은 chronic stress가 존재할 경우 스트레스에 적응하기 위하여 근육 내 글리코겐을 소모할 수 있으며(Abbas et al., 2020), 그 결과 근육에서 식육으로 전환되는 과정에서 감소된 글리코겐 함량에 의해 해당과정 발생 정도가 감소할 수 있다(Gonzalez-Rivas et al., 2020). 닭이 스트레스를 받으면 AMP-activated protein kinase(AMPK)에 의

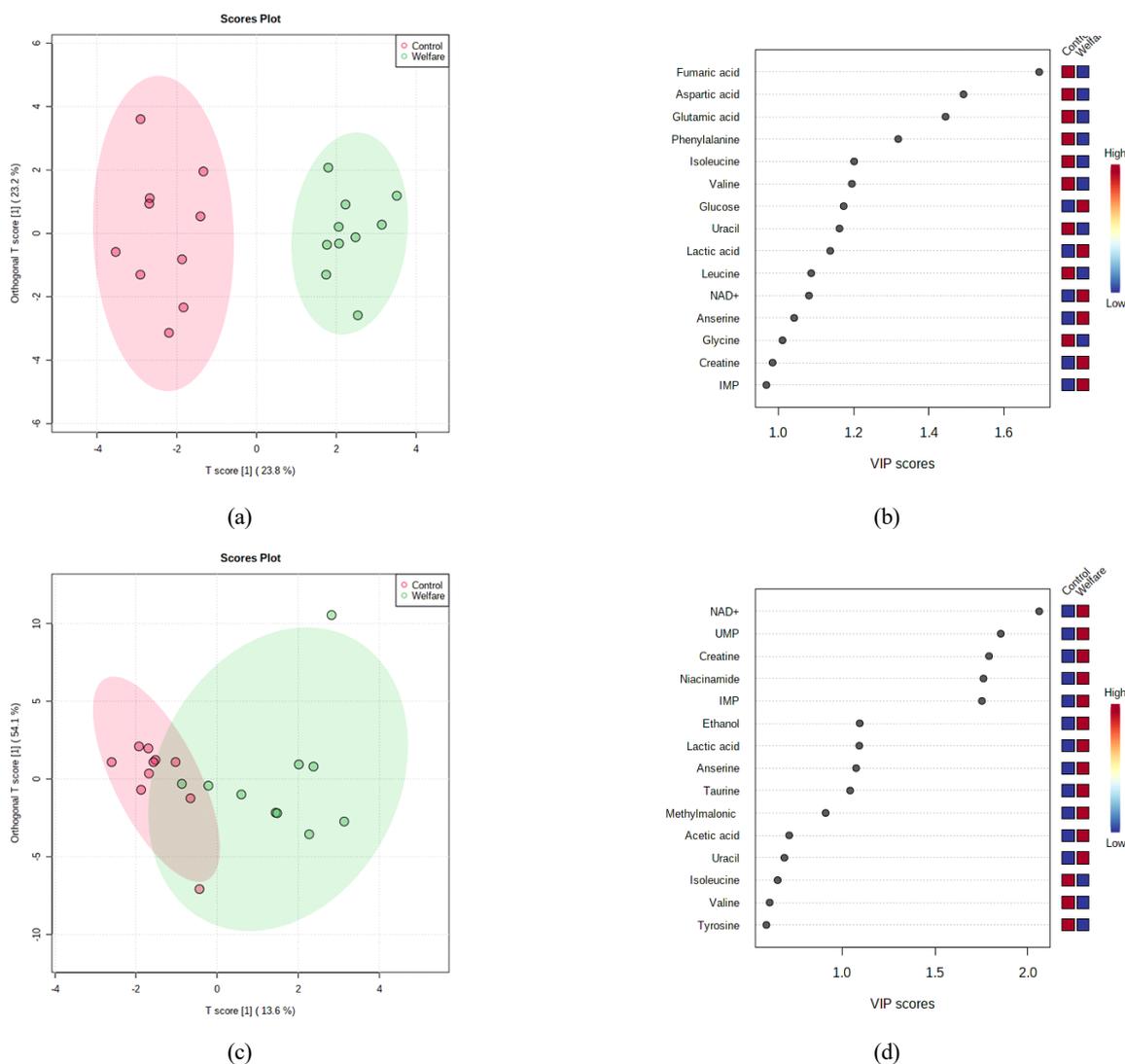


Fig. 2. Orthogonal partial least squares-discriminant analysis of metabolites in thigh meat of Cobb. (a) from conventional (control) and animal-welfare (welfare) farms and its variable importance in projection (VIP) scores (b). Orthogonal partial least squares-discriminant analysis of metabolites in thigh meat of Ross 308 (c) from conventional and animal-welfare farms and its VIP scores (d). A variable with VIP score > 1 was considered as an important variable for the discrimination between two groups in multivariable analysis.

Table 4. List of metabolic pathways with statistically significant differences ($P < 0.05$) between in Cobb thigh meat from conventional and animal-welfare farms

Pathway	Match status	Pathway impact
Phenylalanine, tyrosine and tryptophan biosynthesis	2/4	1.000
D-Glutamine and D-glutamate metabolism	1/6	0.500
Nicotinate and nicotinamide metabolism	3/15	0.429
Alanine, aspartate and glutamate metabolism	4/28	0.423
β-Alanine metabolism	4/21	0.399
Phenylalanine metabolism	2/10	0.357

Table 4. Continued

Pathway	Match status	Pathway impact
Glycine, serine and threonine metabolism	2/33	0.246
Tyrosine metabolism	2/42	0.164
Pyrimidine metabolism	3/39	0.164
Arginine biosynthesis	3/14	0.117
Glutathione metabolism	2/28	0.108
Glyoxylate and dicarboxylate metabolism	3/32	0.106
Arginine and proline metabolism	2/28	0.098
Pyruvate metabolism	3/22	0.061
Histidine metabolism	3/16	0.049
Citrate cycle	1/20	0.030
Glycolysis / gluconeogenesis	4/26	0.029
Valine, leucine and isoleucine degradation	4/40	0.023
Pantothenate and CoA biosynthesis	4/19	0.021
Primary bile acid biosynthesis	2/46	0.015

Match status indicates the actually matched number from the data per total number of compounds in the pathway. Pathway impact value indicates the cumulative percentage of the importance of matched metabolites in each metabolic pathway.

한 glucose transporter(GLUT) 유전자 발현 증가 및 glucocorticoid 분비 증가에 따라서 해당과정이 촉진될 수 있다(Liu and Zhao, 2014). 따라서 본 연구에서 동물복지농장 환경에서 사육된 Cobb종 육계 닭다리육이 일반농장에서 유래한 경우보다 높은 함량의 glucose와 lactate를 보인 것은 사육환경 차이에 의한 환경 스트레스의 영향으로 추측된다.

반면 동물복지농장 유래 닭다리육은 일반농장 유래 닭다리육에 비해 7종의 유리아미노산인 glycine 및 leucine ($P<0.05$), aspartate, glutamate, isoleucine, phenylalanine 및 valine($P<0.01$) 함량이 낮게 나타났다. 동물은 스트레스를 받으면 corticosterone 분비량이 증가하는데, corticosterone은 mitochondrial reactive oxygen species(ROS)을 발생시키는 atrogen-1을 upregulate한다(Castellini et al., 2016; Furukawa et al., 2021). ROS는 Ca^{2+} 항상성을 변화시켜 calpain과 caspase-7과 같은 단백질 분해효소를 활성화시킬 수 있다(Lu et al., 2017; Veiseth-Kent et al., 2018). 따라서 Cobb종 육계가 동물복지농장에서 사육되었을 때 닭다리육 내 유리아미노산 함량이 낮은 것은 환경 스트레스에 의한 ROS-induced proteolysis 빈도가 낮기 때문으로 사료된다.

위 결과를 통해 육계의 다리육은 가슴육과 대조적으로

Ross종 육계보다 Cobb종 육계에서 사육환경에 의한 대사체학적 변화가 더 두드러지는 것으로 판단된다. 동물복지농장에서 사육된 Cobb종 육계 다리육 내 anserine 함량은 증가하였으나, 7종의 유리아미노산 함량이 낮아져 전체적인 풍미 전구 물질의 profile은 일반농장 유래 닭다리육과 다르게 나타나 풍미의 차이가 나타날 수 있으리라 추측된다.

결론적으로 Ross종 육계 가슴육과 Cobb종 육계 다리육은 동물복지농장에서 사육된 경우 일반농장과는 다른 대사체학적 특성을 나타내었으며, 특히 풍미 물질에의 뚜렷한 차이를 보여 관능적 특성을 보일 가능성이 있다. 관능평가 및 전자혀 분석 등을 이용하여 동물복지 축산물의 차별화된 식육 특성을 확인한다면 소비자와 생산자 모두에게 동물복지의 이점과 필요성을 시사할 수 있을 것이다.

적 요

본 연구는 Cobb종 및 Ross 308종 육계가 동물복지 사육 환경에 따라 나타내는 대사체학적 변화를 연구하기 위하여 수행되었다. 일반농장과 동물복지농장(사육면적, 사육밀도, 암모니아 농도, 벅짚 등 제공)에 1일령의 Cobb종 및 Ross종

육계를 35일간 사육하고, 도계 후 가슴육과 다리육을 채취하여 분석에 이용하였다. 대사체 분석은 one-dimensional ¹H 핵자기공명분광법을 이용하였고, 직교부분최소자승판별분석(OPLS-DA)과 대사경로 분석을 함께 수행하였다. OPLS-DA 결과 육계 가슴육은 Ross종에 한하여 사육농장 간 뚜렷한 구분이 가능하였다. 동물복지농장 유래 Ross종 육계 가슴육은 acetate, anserine, creatine, inosine mono-phosphate 함량이 일반농장 닭가슴육에 비해 유의적으로 높았다($P<0.05$). 반면 육계 다리육은 OPLS-DA 결과 Cobb종 육계에서만 사육농장에 따른 구분이 뚜렷하게 나타났는데, glucose와 lactate를 포함한 5종의 대사체 함량은 동물복지농장에서 사육된 경우에 높았으나 7종의 유리아미노산을 포함한 9종의 대사체 함량은 낮았다($P<0.05$). 대사경로 분석 결과 Ross종 육계 가슴육에서는 4종, Cobb종 육계 다리육에서는 glycolysis/gluconeogenesis를 포함한 20종의 대사경로에서 사육농장 간 유의적인 차이($P<0.05$)가 나타났다. 동물복지농장에서 사육된 Ross종 육계 가슴육과 Cobb종 육계 다리육은 일반농장에서 사육된 경우와는 다른 대사체학적 특성을 나타냈으며, 특히 풍미 물질에의 뚜렷한 차이를 보여 관능적 특성에 영향을 미칠 수 있으리라 사료된다.

사 사

본 결과물은 농림축산식품부의 재원으로 농림식품기술기획평가원의 농생명산업기술개발사업의 지원을 받아 연구되었음(과제번호: 318022041HD030). 또한 본 논문은 농촌진흥청 공동연구사업(과제번호: PJ016205022021)의 지원에 의해 이루어진 것임.

ORCID

Dongheon Lee <https://orcid.org/0000-0002-6214-9295>
 Jong Hyun Jung <https://orcid.org/0000-0003-3667-7710>
 Cheorun Jo <https://orcid.org/0000-0003-2109-3798>

REFERENCES

Abbas Z, Sammad A, Hu L, Fang H, Xu Q, Wang Y 2020 Glucose metabolism and dynamics of facilitative glucose transporters (GLUTs) under the influence of heat stress in dairy cattle. *Metabolites* 10(8):312.

Aliani M, Farmer LJ, Kennedy JT, Moss BW, Gordon A 2013 Post-slaughter changes in ATP metabolites, reducing and phosphorylated sugars in chicken meat. *Meat Sci* 94(1):55-62.

Attia YA, Al-Harhi MA, Elnaggar AS 2018 Productive, physiological and immunological responses of two broiler strains fed different dietary regimens and exposed to heat stress. *Ital J Anim Sci* 17(3):686-697.

Benyi K, Netshipale AJ, Mahlako KT, Gwata ET 2015 Effect of genotype and stocking density on broiler performance during two subtropical seasons. *Trop Anim Health Prod* 47(5):969-974.

Brosnan ME, Brosnan JT 2020 Histidine metabolism and function. *J Nutr* 150(Suppl.1):2570S-2575S.

Castellini C, Mattioli S, Piottoli L, Cartoni MA, Ranucci D, Branciarri R, Amato MG, Bosco AD 2016 Effect of transport length on *in vivo* oxidative status and breast meat characteristics in outdoor-reared chicken genotypes. *Ital J Anim Sci* 15(2):191-199.

Chong IG, Jun CH 2005 Performance of some variable selection methods when multicollinearity is present. *Chemom Intell Lab Syst* 78(1-2):103-112.

Dashdorj D, Amna T, Hwang I 2015 Influence of specific taste-active components on meat flavor as affected by intrinsic and extrinsic factors: an overview. *Eur Food Res Technol* 241(1):157-171.

Fumagalli M, Lecca D, Abbracchio MP, Ceruti S 2017 Pathophysiological role of purines and pyrimidines in neurodevelopment: unveiling new pharmacological approaches to congenital brain diseases. *Front Pharmacol* 8(1):941.

Funaro A, Cardenia V, Petracci M, Rimini S, Rodriguez-Estrada MT, Cavani C 2014 Comparison of meat quality characteristics and oxidative stability between conventional and free-range chickens. *Poult Sci* 93(1):1511-1522.

Furukawa K, Toyomizu M, Kikusato M 2021 Possible role of corticosterone in proteolysis, glycolytic, and amino acid metabolism in primary cultured avian myotubes incubated at high-temperature conditions. *Domest Anim Endocrinol* 76(1):106608.

Gonzalez-Rivas PA, Chauhan SS, Ha M, Fegan N, Dunshea FR, Warner RD 2020 Effects of heat stress on animal physiology, metabolism, and meat quality: A review. *Meat*

- Sci 162(1):108025.
- Goo D, Kim JH, Choi HS, Park GH, Han GP, Kil DY 2019 Effect of stocking density and sex on growth performance, meat quality, and intestinal barrier function in broiler chickens. *Poult Sci* 98(1):1153-1160.
- Hong E, Kang BS, Kang HK, Jeon JJ, Kim HS, Son J, Kim CH 2019 Effect of different stocking densities in plastic wired-floor house on performance and uniformity of Korean native commercial ducks. *Korean J Poult Sci* 46(4):215-221.
- Hsu CN, Tain YL 2019 Impact of arginine nutrition and metabolism during pregnancy on offspring outcomes. *Nutrients* 11(7):1452.
- Jang IS, Yun SH, Ko YH, Kim SY, Song MH, Kim JS, Sohn SH, Moon YS 2014 The effect of stocking density and strain on the performance and physiological adaptive responses in broiler chickens. *Korean J Poult Sci* 41(3):205-215.
- Jung S, Bae YS, Yong HI, Lee HJ, Seo DW, Park HB, Lee JH, Jo C 2015 Proximate composition, and L-carnitine and betaine contents in meat from Korean indigenous chicken. *Asian Australas J Anim Sci* 28(12):1760-1766.
- Kim CH, Kang HK 2020 Effects of stock density on the growth performance, and meat quality of Korean native chickens. *Korean J Poult Sci* 47(1):1-7.
- Kim HC, Ko YJ, Jo C 2021a Potential of 2D qNMR spectroscopy for distinguishing chicken breeds based on the metabolic differences. *Food Chem* 342(1):128316.
- Kim HC, Yim DG, Kim JW, Lee D, Jo C 2021b. Nuclear magnetic resonance (NMR)-based quantification on flavor-active and bioactive compounds and application for distinguishment of chicken breeds. *Food Sci Anim Resour* 41(2):312-323.
- Kim HJ, Kim D, Kim HJ, Kwon JS, Jang A 2021 Physicochemical characteristics and bioactive compounds of thigh meat from Cobb broiler in animal welfare farm. *Food Life* 2021(2):67-78.
- Kim HJ, Kim HJ, Jeon JJ, Nam KC, Shim KS, Jung JH, Kim KS, Choi Y, Kim SH, Jang A 2020 Comparison of the quality characteristics of chicken breast meat from conventional and animal welfare farms under refrigerated storage. *Poult Sci* 99(3):1788-1796.
- Kim HJ, Kim HJ, Jeon JJ, Oh SJ, Nam KC, Shim KS, Jung JH, Kim KS, Choi YI, Kim SH, Jang A 2018 Comparison of quality and bioactive compounds in chicken thigh meat from conventional and animal welfare farm in Korea. *Korean J Poult Sci* 45(4):261-272.
- Liu W, Zhao J 2014 Insights into the molecular mechanism of glucose metabolism regulation under stress in chicken skeletal muscle tissues. *Saudi J Biol Sci* 21(3):197-203.
- Lu Z, He X, Ma B, Zhang L, Li J, Jiang Y, Zhou G, Gao F 2017 Chronic heat stress impairs the quality of breast-muscle meat in broilers by affecting redox status and energy-substance metabolism. *J Agric Food Chem* 65(51):11251-11258.
- Teloh JK, Dohle DS, Petersen M, Verhaegh R, Waack IN, Roehrborn F, Jakob H, de Groot H 2016 Histidine and other amino acids in blood and urine after administration of Bretschneider solution (HTK) for cardioplegic arrest in patients: effects on N-metabolism. *Amino Acids* 48(6):1423-1432.
- Veiseth-Kent E, Pedersen ME, Rønning SB, Rødbotten R 2018 Can postmortem proteolysis explain tenderness differences in various bovine muscles?. *Meat Sci* 137(1):114-122.
- Velarde A, Fàbrega E, Blanco-Penedo I, Dalmau A 2015 Animal welfare towards sustainability in pork meat production. *Meat Sci* 109(1):13-17.
- Wang X, Li J, Cong J, Chen X, Zhu X, Zhang L, Gao F, Zhou G 2017 Preslaughter transport effect on broiler meat quality and post-mortem glycolysis metabolism of muscles with different fiber types. *J Agric Food Chem* 65(47):10310-10316.
- Wang Y, Xu H, White RH 2014 β -Alanine biosynthesis in *Methanocaldococcus jannaschii*. *J Bacteriol* 196(15):2869-2875.
- Wen D, Liu Y, Yu Q 2020 Metabolomic approach to measuring quality of chilled chicken meat during storage. *Poult Sci* 99(5):2543-2554.
- Xiao Z, Ge C, Zhou G, Zhang W, Liao G 2019 ^1H NMR-based metabolic characterization of Chinese Wuding chicken meat. *Food Chem* 274(1):574-582.
- Xing T, Gao F, Tume RK, Zhou G, Xu X 2019 Stress effects on meat quality: a mechanistic perspective. *Compr Rev Food Sci Food Saf* 18(2):380-401.

Zhang T, Zhang S, Chen L, Ding H, Wu P, Zhang G, Xie K, Dai G, Wang J 2020 UHPLC - MS/MS-based nontargeted metabolomics analysis reveals biomarkers related to the freshness of chilled chicken. *Foods* 9(9):1326.

Zheng A, Lin S, Pirzado SA, Chen Z, Chang W, Cai H, Liu G 2020 Stress associated with simulated transport, changes serum biochemistry, postmortem muscle metabolism, and meat quality of broilers. *Animals* 10(8):1442.

Received Nov. 29, 2021, Revised Dec. 16, 2021, Accepted Dec. 21, 2021