

ANIMAL

Effect of suitable dietary glycine supplementation on growth production, meat quality, serum parameters, and stress alleviation of broiler under heat stress condition

Jiseon Son[†], Woo-Do Lee[†], Hyunsoo Kim, Eui-Chul Hong, Hee-Jin Kim, Yeon-Seo Yun, Hwan Ku Kang^{*}

Poultry Research Institute, National Institute of Animal Science, Rural Development Administration, Pyeongchang 25342, Korea

[†]These authors equally contributed to this study as first author.

^{*}Corresponding author: magic100@korea.kr

Abstract

This study was conducted to investigate the productivity, meat quality, blood variables, stress responses, and litter quality of broilers offered feed with different levels of Glycine (Gly) supplementation under heat stress condition. A total of 760 one-day-old Ross 308 broiler males were randomly assigned to one of the four dietary treatment groups: (1) basal diet (control; CON); (2) basal diet + Gly 0.1% (Gly 0.1%); (3) basal diet + Gly 0.2% (Gly 0.2%); and (4) basal diet + Gly 0.3% (Gly 0.3%). The environments for all the treatments groups were maintained according to broiler rearing guidelines from day 1 to day 21, and heat stress condition ($32 \pm 1^\circ\text{C}$, $60 \pm 5\%$) was created from day 22 to the end. The addition of Gly increased weight gain and affected feed intake ($p < 0.05$). Gly 0.1% group had higher pH and ferric reducing antioxidant power (FRAP) in the chicken meat and lower heterophil (HE)/lymphocyte (LY) ratio in the blood ($p < 0.05$). In particular, Gly 0.2% treatment group had lower serum corticosterone level ($p < 0.05$) than other groups. For jejunum morphology, the addition of Gly 0.2% significantly reduced the depth of the crypts ($p < 0.05$). However, the addition of Gly did not significantly affect litter quality ($p > 0.05$). In conclusion, the addition of glycine improved productivity and meat quality, alleviated heat stress, and improved intestinal function. Further studies are needed to determine the optimal level and mechanism of action of the additive when ingested.

Keywords: alleviating heat stress, blood parameter, carcass traits, glycine supplementation, growth performance

Introduction

최근 지구의 환경 온도는 급격하게 상승되고 있으며, 전 세계 열대 및 아열대 지역의 농업 분야에 심각한 영향을 주고 있다(Nawaz et al., 2021). 환경 온도의 점진적인 상승은 유기체의



OPEN ACCESS

Citation: Son J, Lee WD, Kim H, Hong EC, Kim HJ, Yun YS, Kang HK. Effect of suitable dietary glycine supplementation on growth production, meat quality, and serum parameters of broiler under heat stress condition. Korean Journal of Agricultural Science 50:603-616. <https://doi.org/10.7744/kjoas.500402>

Received: June 07, 2023

Revised: August 25, 2023

Accepted: September 13, 2023

Copyright: © 2023 Korean Journal of Agricultural Science



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.

체온 정상 범위(thermo-neutral zone)를 벗어나게 하고, 이로 인해 정상적인 생리 기능을 방해하며 세포 손상을 유발한다(Nawaz et al., 2021). 최종적으로 주변 환경 온도의 상승은 사료효율 및 성장 저하로 인해 생산성이 감소되고 신체 내 불균형과 같은 스트레스 관련 문제가 발생한다(Renaudeau et al., 2012; Nawab et al., 2018). 특히, 가금은 깃털로 덮여 있고 땀샘이 없어 체외로 열을 쉽게 발산하지 못해 고온에 매우 취약하다(Park et al., 2022). 이러한 이유로 고온 스트레스(heat stress)는 가금 산업에서만 연간 1억 2,800만 달러에서 1억 6,500만 달러의 경제적 손실이 발생하고 있으며(Nawab et al., 2018), 이에 고온 스트레스를 효과적으로 완화시킬 수 있는 방안이 필요하다(Nawab et al., 2018; Goel, 2021).

닭의 장 건강은 영양소 소화 및 흡수에 중요한 역할을 하며, 장 상피는 병원성 물질 투과에 대한 보호 기능도 한다(Goel, 2021). 하지만, 육계가 고온 스트레스에 노출되면 장 점막과 미생물의 손상 및 장의 형태학적 변화로 영양분 흡수가 저하되고, 장누수증후군(leaky gut syndrome)에 의한 병원균 침투가 증가해 염증반응이 높아진다(Goel, 2021; Wang et al., 2022), 또한, 단백질 소화 능력 저하로 소장 내 필수아미노산의 흡수가 감소했으며(Wang et al., 2022), 맹장 내 소화되지 않은 단백질의 침착은 병원성 세균의 증식으로 인한 괴사성 장염 발생을 높여 면역력을 저하시켰다(Cardinal et al., 2019). 이러한 이유로 최근 가금 사료에 아미노산을 첨가하여 고온스트레스를 완화하기 위한 연구가 진행되고 있다. 고온 환경에서 육계의 사료 내 글루타민(glutamine)의 첨가는 첨가 수준에 따라 증체량, 사료섭취량 등 생산성이 선형적으로 증가하였으며 계육 품질도 개선시켰다(Dai et al., 2009). 또한 트립토판(tryptophan)의 첨가는 고온 환경의 육계 가슴육 품질 개선과 스트레스 지표인 HSP (heat shock protein) 70과 corticosterone 수준을 낮추고 장내 병원균 수가 감소되는 것으로 보고되었다(Bello et al., 2017).

글리신(glycine, Gly)은 중요한 비필수 아미노산 중 하나로 많은 동물의 영양과 신진대사에 중요한 역할을 한다(Razak et al., 2017). Gly은 글루타치온, 포르피린, 퓨린 및 크레아틴과 같은 중요 대사 산물의 전구체이며 중추신경계에서 신경전달물질로 작용하여 항산화, 항염증, 면역조절 등 중요한 기능에 관여한다(Razak et al., 2017). 또한 일반적인 단백질 합성 역할 외 간에서 세린 하이드록시메틸트랜스퍼라제(serine hydroxymethyltransferase)의 활성을 증가시켜 세린(serine)으로도 전환될 수 있다(Yuan et al., 2012). 특히, 병아리 시기에 Gly은 체중과 사료 효율 개선에 기여하는 필수 아미노산으로 알려져 있다(Yuan et al., 2012). 하지만 아직까지 가금 사료 내 Gly을 첨가하여 고온 스트레스 완화 효과를 조사한 사례가 적다.

따라서, 본 연구는 고온 환경에서 육계 사료 내 Gly을 수준별 첨가하였을 때 생산성, 계육 품질, 혈액 성분, 스트레스 지표 및 깃털 상태에 미치는 영향을 조사하고자 수행하였다.

Materials and Methods

시험 설계 및 사양관리

본 연구에서 총 760 수의 1일령 수컷 Ross 308 육계를 공시하였다. 시험 사료는 육계의 영양 요구 사항을 충족하고 옥수수, 대두박 기반으로 한 상업용 사료를 사용하였으며, 처리구별로 Gly (99%, Samin Chemical Co., Korea)의 첨가 수준을 달리하여 첨가 및 배합하였다. 글리신의 첨가 수준은 Siegert 등(2015)과 Won 등(2023)의 연구를 고려하여 3처리(Gly 0.1%, Gly 0.2%, Gly 0.3%)로 설계하였으며 무첨가구(control, CON)를 포함한 총 4처리, 처리구당 5반복, 반복당 38수를 임의 배치 하였다. 시험기간은 총 5주간 수행하였다.

각 반복구는 크기가 같은 pen (1.0 m × 2.0 m)에 사육밀도를 동일하게 하여 수용하였다. 시험기간동안 자유 섭취 및 음수하도록 하였으며, 점등프로그램은 23L : 1D (L, light; D, dark)를 유지하였다. 본 시험은 국립축산과학원 가금연구소 실험동물 관리 및 연구윤리위원회의 규정과 허가(승인번호: 2020-470)에 따라 실시하였다.

고온 환경 조성

1일령부터 21일령까지의 계사 내 환경은 Ross 308 사양관리 매뉴얼(Aviagen, 2018)에 따라 수행하였으며, 1일령에 33°C로 설정한 후, 주마다 약 2 - 3°C를 낮춰 21일령까지 사육 온도가 21°C가 되도록 설정하였다. 22일령부터 가스온풍기를 이용해 계사 내 온도를 시간당 2°C씩 서서히 올렸으며, 최종 온도로 32 ± 1°C, 습도는 60 ± 5%를 유지하였다. 고온 환경은 2주동안 지속하였고, 로그 온습도계를 설치하여 사육환경을 관리하였다.

조사항목 및 방법

생산성

생산성 분석 항목으로 체중(body weight, BW), 증체량(body weight gain, BWG), 사료섭취량(feed intake, FI), 사료 요구율(feed conversion ratio, FCR)을 조사하였다. 체중과 사료섭취량은 매주 측정하였으며, 체중은 반복구 내 모든 수수의 무게를 측정한 후 각 반복에 대한 평균 무게 및 증체량을 구하였다. 사료섭취량은 매주 반복별 사료 잔량을 측정하여 구하였으며, 사료 요구율은 사료섭취량 대 증체량 비율로 계산하였다.

시료 채취

시험 종료 시, 반복별 2수씩 무작위로 선별하여 시료(가슴육, 혈액 및 공장)를 채취하였다. 혈액은 익하정맥 채혈법을 이용하였으며, 채취한 5 mL의 혈액은 EDTA (ethylenediaminetetraacetic acid)가 처리된 tube와 serum separator tube (Becton, Dickinson and Company, USA)에 나누어 주입하였다. Serum separator tube는 4°C, 3,000 rpm 조건으로 15분간 원심분리(Vision Scientific Co., Ltd., Korea)하여 혈청을 수집하였으며, 분석 전까지 -70°C에 보관하였다. 가슴육은 도축 직후 품질 분석 전까지 4°C에서 보관하였다. 공장의 형태학적 특성을 분석하기 위하여 공장의 중간 지점을 기준으로 약 8 cm 크기로 적출하여 식염수로 세척한 후 0.1 M PBS (phosphate buffer, pH 7.0)로 희석한 10% formalin에 고정시켰다.

혈액 내 혈구, 생화학 특성 및 corticosterone 분석

혈구분석은 EDTA가 처리된 튜브를 이용하였으며, 혈액 채취 후 24시간 이내 자동 혈구 분석기(Hemavet[®] HV950FS, Drew Scientific Inc., USA)를 사용해 측정하였다. 혈청 내 생화학 분석은 자동 혈액 생화학 분석기(AU480 Chemistry Analyzer, Beckman Coulter Inc., USA)를 이용하였으며, 분석 항목으로는 TCHO (total cholesterol), TG (triglycerides), GLU (glucose), TP (total protein), ALB (albumin), AST (aspartate aminotransferase), ALT (alanine aminotransferase), Ca (calcium), IP (inorganic phosphorus), CRE (creatinine) 및 LDH (lactate dehydrogenase)을 측정하였다.

Corticosterone 분석은 corticosterone ELISA kit (K014-H, Arbor Assays Inc., USA)를 이용하여 분석하였다.

공장의 형태학적 분석

10% formalin에 고정시켜둔 시료는 paraffin으로 고정시켜, 5 µm 두께로 절편한 뒤 H&E (hematoxylin and eosin)로 염색하였다. 염색한 절편은 40배 배율에서 형광현미경(TE2000, Nikon Corporation, Japan)을 통해 융모 높이(villus height, VH), 음와 깊이(crypt depth, CD)를 측정하였으며, 융모 높이와 음와 깊이의 비율(VH/CD)은 각 항목을 나누어 계산하였다.

가슴육 품질 분석

육색 분석은 colormeter (CR-300, Minolta Co., Japan)를 이용하여 각 시료 표면을 측정하였으며, 항목으로 L* (lightness), a* (redness), b* (yellowness)를 분석하였다. 가슴육의 pH는 계육과 증류수를 1 : 10로 혼합, 균질한 후 pH meter (pH-K21, NWK-Binar GmbH, Germany)를 이용하여 측정하였다. 가열감량은 가슴육을 일정 모양으로 성형한 후, 폴리에틸렌 백에 넣고 water bath (VS-310SWR, Vision Scientific Co., Ltd., Korea)에서 75°C, 30분간 가열하였다.

그 후 30분간 방냉하였으며, 가열전과 가열 후의 중량 차이를 비교해 중량 손실을 계산하였다.

전단력은 시료를 2 cm 두께로 절단하여 75°C 수조에서 30분간 가열, 실온에서 30분간 냉각시킨 후 직경 1.27 cm의 코어를 사용하여 시료를 준비하였다. 준비한 시료는 V blade를 이용하여 물성 분석기(Texture Analyzer TA 1, Lloyd Instruments, UK)로 측정하였다. 보수력은 0.5 g의 가슴육을 시험관에 측정하여 75°C의 수조에서 20분간 가열하였다. 이후 실온(22 ± 2°C)에서 방냉하였으며, 방냉 후 원심분리(3,000 rpm, 20분, 4°C) 하였다. 원심분리 이후에 수집한 시료의 무게를 측정하여 다음의 식(1)을 이용해 보수력을 측정하였다.

$$\begin{aligned} \text{지방계수} &= 1 - \frac{\text{지방함량}}{100} \\ \text{유리수분} &= \left[\frac{(\text{원심분리 전 무게} - \text{원심분리 후 무게})}{(\text{시료} \times \text{지방계수})} \right] \times 100 \\ \text{보수력 (\%)} &= \left[\frac{(\text{총 수분} - \text{유리수분})}{\text{총 수분}} \right] \times 100 \end{aligned} \quad (1)$$

가슴육내 항산화 특성

가슴육의 항산화 특성을 조사하기 위하여 DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) 라디칼 소거능, FRAP (ferric reducing antioxidant power)과 TBARS (thiobarbituric acid reactive substance)를 분석하였다.

가슴육 내 DPPH 라디칼 소거능 측정을 위해 Blois (1958)의 방법을 이용하였다. 메탄올로 용해시킨 0.2 mM DPPH 100 µL에 각 시료를 100 µL씩 혼합하였으며, 실온(22 ± 2°C), 암실에서 30분간 반응시켰다. 이후 517 nm에서 microplate reader (Epoch 2, BioTek Instruments Inc., USA)를 이용하여 흡광도를 측정하였다. DPPH 라디칼 소거능은 아래의 식(2)에 따라 계산하였다.

$$\text{DPPH 라디칼 소거능 (\%)} = \left(1 - \left(\frac{\text{시료 흡광도}}{\text{대조구 흡광도}} \right) \right) \times 100 \quad (2)$$

TBARS는 TBA (thiobarbituric acid)와 반응시켜 적색 영역의 흡광도를 측정하는 방법으로 수행하였다(Buege and Aust, 1978). 시료 5 g에 증류수 15 mL을 혼합한 후 균질하였으며, 균질액 1 mL에 7.2% BHA (butylated hydroxyanisole) 50 µL과 TBA-TCA (trichloroacetic acid)을 2 mL을 첨가하였다. 혼합물은 교반한 뒤, 90°C의 수조에서 15분간 가열하였으며 10분간 10분간 ice에서 방치하였다. 이후 2,000 × g에서 10분간 원심분리하였으며, 원심분리 후 상층액을 microplate reader (Epoch2, Biotek Instruments, Winooski, VT, USA)를 이용하여 531 nm에서 흡광도를 측정하였다. TBARS 값은 흡광도 수치에 5.88을 곱하여 나타내었으며, 계육 1 kg당 MDA (malonaldehyde, mg)로 식(3)으로 산출하였다.

$$\text{TBARS} \left(\frac{\text{mg MDA}}{\text{kg sample}} \right) = (\text{시료 흡광도} - \text{공시료 흡광도}) \times 5.88 \quad (3)$$

FRAP assay는 Benzie와 Strain (1996)의 방법을 이용하여 측정하였다. FRAP solution은 sodium acetate buffer (pH 3.6) 300 mM에 40mM HCl로 용해시킨 2,4,6-tripyridyl-S-triazine 10 mM 및 FeCl₃·6H₂O 20 mM을 10 : 1 : 1 (v : v : v)로 혼합하여 사용하였다. 시료 25 µL와 FRAP solution 175 µL를 혼합한 후, 37°C에서 30분간 방치하였다. 용액의 흡광도는 590 nm에서 측정하였으며, 각 샘플의 FRAP 값은 trolox(TE)를 표준물질로 하여 standard curve를 계산하였으며, uM TE/g dry matter (DM)로 표시하였다.

갈짚 내 수분 함량 측정

갈짚 내 수분 함량은 고온 환경 실험 종료 후, 각 펜별로 40 g의 갈짚을 채취하여 분석하였다. 건조기에서 105°C, 24시간 동안 건조하여 수분함량을 측정하였으며, 수분함량은 건조 전의 무게에서 건조 후 무게 차이를 백분율(%)로 나타내었다.

통계처리

본 연구에서 수집한 모든 데이터는 SAS (version 9.4, 2014, SAS Institute Inc., USA)의 GLM (general linear model) procedure를 이용하여 분석하였다. 처리구 간의 유의한 차이는 Duncan's multiple-range test에 의해 결정되었으며, 유의 수준 $p < 0.05$ 에서 검정하였다. 생산성과 갈짚 내 수분 함량은 각 펜을 실험 단위로 고려하였으며, 각 펜에서 선별한 개체는 계속 품질, 혈구 및 혈액 생화학 특성에 대한 실험 단위로 사용하였다. 또한 orthogonal polynomial contrasts test를 이용하여 사료 내 Gly 첨가량에 따른 1차(linear, L), 2차(quadratic, Q) 및 3차(cubic, C) effect를 평가하였다.

Results and Discussion

생산성

사료 내 Gly의 첨가 수준에 따른 육계 생산성에 대한 결과는 Table 1에 나타내었다. 적정 환경에서 사육된 3주차 증체량은 Gly의 첨가 수준에 따라 선형적으로 증가하였으며(linear, $p < 0.05$), 2주간의 고온 환경에 노출된 5주차의 체중은 Gly 0.1 및 0.3% 처리구에서 가장 높게 나타났다(cubic, $p < 0.05$). 또한 Gly 0.1% 그룹은 고온 환경에서 가장 많은 증체량을 보였다(cubic, $p < 0.05$). 전반적으로 Gly의 0.1% 및 0.3% 첨가는 높은 증체량과 사료섭취량을 보이며, 육계의 생산성에 긍정적인 영향을 나타내었다(cubic, $p < 0.05$). 고온 환경은 가축의 사료 섭취량 및 에너지, 영양소 이용 효율 감소와 산-염기 균형 손상, 장 장벽 기능 감소, 산화 스트레스 증가로 인해 생산능력을 저하시키는 것으로 보고되고 있다(Won et al., 2023). 특히 스트레스 조건에서 아미노산의 산화를 가속화시키고 더 많은 에너지를 요구하며(Kim et al., 2022), 이 과정에서 생성되는 요산(uric acid, UA)이 증가함에 따라 UA의 구조 분자인 Gly의 요구량을 증가시킨다(Won et al., 2023). 이러한 환경에서 불충분한 Gly의 공급은 체내 독성 암모니아가 축적되게 되며 가금의 성장 능력이나 건강에 해로운 영향을 주게 된다(Won et al., 2023). Awad 등(2017)의 연구에서는 고온 환경 내 낮은 CP (crude protein) 수준의 육계 사료에 Gly를 보충하였을 때, 증체량, 사료섭취량, FCR 등 생산성이 개선되었으며, Won 등(2023)의 연구에서도 고온 환경에서 Gly를 첨가하였을 때, 성장 능력이 개선되었다. 우리의 연구에서도 사료 내 Gly 0.1% 첨가가 증체량과 사료 섭취량을 증진시키며 고온 환경에서의 육계 생산성에 긍정적인 영향을 주었다. 이러한 결과는 Gly의 보충이 고온 환경의 육계 생산성을 향상시키는 잠재적인 수단이 될 수 있으나, 현재까지 보고된 사례가 부족하여 추가 연구가 필요할 것으로 보인다(Won et al., 2023).

가슴육 품질

Gly 첨가 수준에 따른 계육 품질 비교 결과는 Table 2에 나타내었다. 사료 내 Gly의 0.1% 첨가는 무첨가구 대비 가슴육의 pH가 높게 나타났으며(quadratic, $p < 0.05$; cubic, $p < 0.05$), 가열감량과 보수력, 육색에는 모든 처리구가 비슷하였다. 전단력은 무첨가구보다 Gly 0.1% 그룹이 유의적으로 낮았으나 Gly 첨가 그룹 (Gly 0.1%, Gly 0.2%, Gly 0.3%) 사이에서는 모두 비슷하였다(quadratic, $p < 0.05$). 고기의 pH 특성은 근육 내 젖산 함량을 나타내며, 보수력, 육색 및 전단력 등에 영향을 미친다(Dai et al., 2009). 육색, 냄새 등 고기의 외관 품질은 고기의 신선도를 나타내며,

Table 1. Effects of dietary glycine supplementation levels on performance of broilers under high temperature.

Item	CON	Gly 0.1%	Gly 0.2%	Gly 0.3%	SEM	p-value ^z		
						L	Q	C
Initial								
BW (g/bird)	37.77	38.09	38.04	38.02	0.058	1.178	1.145	1.454
1week								
BW (g/bird)	135.3	135.5	135.9	128.9	2.056	1.338	1.414	1.699
BWG (g/bird)	97.54	97.41	97.83	90.92	2.042	1.317	1.432	1.682
FI (g/bird)	118.3	117.1	116.6	119.3	1.608	1.863	1.579	1.879
FCR	1.214	1.206	1.192	1.344	1.029	1.154	1.173	1.503
3weeks								
BW (g/bird)	397.2	405.4	392.3	422.7	4.356	1.078	1.163	1.073
BWG (g/bird)	261.9b	269.9ab	256.5b	293.7a	4.865	<0.05	1.082	1.057
FI (g/bird)	517.0	612.1	557.4	567.0	16.84	1.522	1.208	1.161
FCR	1.770	2.004	1.908	1.786	1.058	1.928	1.145	1.566
5weeks								
BW (g/bird)	694.4b	764.6a	707.6ab	759.0a	9.953	1.062	1.548	<0.01
BWG (g/bird)	297.2b	359.2a	315.2ab	336.4ab	7.895	1.214	1.128	<0.01
FI (g/bird)	858.4	953.0	900.9	933.7	15.32	1.187	1.289	1.085
FCR	2.891	2.657	2.912	2.789	1.074	1.942	1.723	1.225
Overall								
BWG (g/bird)	65 6.6b	726.5a	669.5ab	721.0a	9.925	1.063	1.553	<0.01
FI (g/bird)	149 3.7b	1682.2a	1574.9ab	1620.0ab	24.95	1.169	1.109	<0.05
FCR	2.276	2.324	2.362	2.250	1.042	1.921	1.381	1.729

CON, control; Gly, glycine; SEM, standard error of the mean; BW, body weight; BWG, body weight gain; FI, feed intake; FCR, feed conversion ratio.

^z Orthogonal contrasts: L = linear, Q = quadratic, and C = cubic effect of supplemental glycine.

a, b: Means in same rows with different superscripts are significantly different (p < 0.05).

Table 2. Effect of dietary glycine supplementation levels on the meat quality of broilers under high temperature.

Item	CON	Gly 0.1%	Gly 0.2%	Gly 0.3%	SEM	p-value ^z		
						L	Q	C
pH	5.97b	6.14a	5.99b	5.95b	0.020	0.169	<0.01	<0.01
Cooking loss (%)	21.29	22.02	21.92	22.06	0.268	0.365	0.593	0.662
WHC (%)	58.26	57.46	57.64	57.89	0.272	0.713	0.350	0.713
Shear force (kg/cm ²)	3.800a	2.634b	3.078ab	3.081ab	0.127	0.102	<0.05	0.052
Meat color								
L*	49.82	49.62	49.33	49.31	0.391	0.616	0.914	0.918
a*	2.043	1.852	1.866	2.015	0.124	0.952	0.508	0.951
b*	10.32	10.63	11.57	10.92	0.358	0.405	0.510	0.501

CON, control; Gly, glycine; SEM, standard error of the mean; WHC, water holding capacity; L*, lightness; a*, redness; b*, yellowness.

^z Orthogonal contrasts: L = linear, Q = quadratic, and C = cubic effect of supplemental glycine.

a, b: Means in same rows with different superscripts are significantly different (p < 0.05).

소비자의 구매결정과 선호도에 영향을 주는 특성으로 사료 내 첨가 물질에 영향을 받을 수 있다(Lee et al., 2022). 스트레스를 받으면 계육 내 젖산의 축적이 높아져 pH가 낮아지며, 이는 myosin 등의 단백질을 변성시켜 보수력이 감소하고 육색의 L*값이 증가해 PSE육(pale, soft, exudative) 특성을 보인다(Hu et al., 2016; de Freitas Dionizio et al., 2021). 단백질의 기본 구성 요소인 아미노산의 산화 안정성 및 항스트레스의 효과가 보고되고 있다(Sifa et al., 2018). 육계의 사료 내 테아닌(theanine) 첨가는 계육 내 SOD (superoxide dismutase), GSH-PX (glutathione peroxidase)

등 항산화능 활성을 증가시켰으며, 무침가 대비 계육의 pH가 증가하고 전단력이 낮아져 육질 개선 효과를 보였다 (Saeed et al., 2018; Zhang et al., 2020). 또한, 글루타민(glutamine)을 고온 환경의 육계에 1.0% 첨가 급이하였을 때, 가슴육의 pH와 보수력, 전단력 및 육색이 개선되었다고 보고하였으며(Dai et al., 2009), Meyer와 Bobeck (2023)은 육계의 아르기닌(arginine) 급여가 혈관 확장제 역할을 함으로써 혈류와 산소 공급을 개선해 woody breast 생성 방지 등 계육 품질을 개선하는 것으로 보고하였다. 본 연구에서 Gly 0.1% 첨가는 근육 내 항산화능을 활성화시키고, 육계의 고온스트레스로 인한 계육 품질 저하를 완화시킨 것으로 판단된다.

가슴육 내 항산화 특성

Gly의 사료 내 첨가량에 따른 육계 가슴육의 FRAP, TBARS 및 DPPH 라디칼 소거능에 대한 결과는 Table 3과 같다. DPPH 라디칼 소거능과 TBARS는 사료 내 Gly 첨가량에 따라 유의적인 차이를 보이지 않았다. FRAP의 경우 Gly 0.1% 첨가구에서 가장 높았으나, 첨가량이 증가함에 따라 FRAP 수치는 점차 감소하였다(quadratic, $p < 0.01$; cubic, $p < 0.05$). 계육은 일반적으로 지질산화에 의해 품질이 저하되며, 지질 산화는 동물의 방어 시스템에서 산화 촉진제와 항산화제의 불균형에 의해 발생한다(Aslam et al., 2020). 항산화 기능이 있는 사료첨가제의 사용은 축산물의 산화 균형을 향상시킬 수 있는 가장 효과적인 방법으로(Aslam et al., 2020), 최근 여러 연구에서 기능성 사료 첨가제의 항산화력 및 육질 향상 효과가 보고되었다(Zhang et al., 2018; Aslam et al., 2020). Kopec 등(2016)은 칠면조의 사료 내 히스티딘(histidine)을 보충한 결과, 가슴육의 DPPH 라디칼 소거능이 증가되었으며, Zhang 등(2020)은 L-theanine의 첨가가 계육의 MDA와 PC (protein carbonyl)를 감소시켜 산화적 손상이 낮았음을 보고하였다. 또한 고온 스트레스를 받은 육계는 낮은 TAC (total antioxidant capacity)를 나타냈으나, 메티오닌(methionine)을 보충한 처리구는 유의적으로 높은 TAC가 확인되었다(de Freitas Dionizio et al., 2021). 이는 methionine이 독성 산화물질을 제거하고 자유 라디칼의 유해한 영향을 완화시키고 분자 및 세포 수준에서 항산화 효과에 기인한 것으로 보고되었다(de Freitas Dionizio et al., 2021). 한편, Gly는 글루타메이트(glutamate) 및 시스테인(cysteine)과 상호작용함으로써 강력한 항산화 분자인 글루타치온(glutathione) 합성에 관여하며 항산화 시스템을 조절한다(Abbasi et al., 2023). 이를 볼 때, 우리의 연구에서도 사료 내 Gly의 추가 첨가가 체내 항산화 작용을 개선하여 계육의 FRAP 수준에 영향을 준 것으로 판단된다.

혈구 조성 및 혈액 생화학 특성

사료 내 Gly 첨가에 따른 혈구 및 혈액 생화학 성분 분석 결과는 각각 Table 4, 5에 나타내었다. 혈구 분석 항목 중, Gly 0.3% 첨가구는 Gly 0.1% 첨가구에 비해 HE (heterophil)와 LY (lymphocyte) 비율이 유의적으로 높았으며(cubic, $p < 0.05$), 그 외 다른 항목은 모두 비슷하였다. 혈액 내 생화학 성분 분석 결과는 Gly의 첨가에 따른 유의적 차이가 관찰되지 않았다($p > 0.05$). 혈액 특성을 분석하는 것은 동물의 건강 상태를 평가할 수 있는 중요한 지표이며, 사육

Table 3. Effect of dietary glycine supplementation levels on the antioxidant capacity in breast meat of broiler under high temperature.

Item	CON	Gly 0.1%	Gly 0.2%	Gly 0.3%	SEM	p-value ^z		
						L	Q	C
FRAP (uM TE/mg DM)	9.80c	13.76a	12.46ab	11.51bc	0.323	0.077	<0.01	<0.05
DPPH (%)	50.45	54.07	50.30	50.96	0.693	0.714	0.279	0.058
TBARS (mg MDA/kg meat)	0.263	0.244	0.231	0.231	0.007	0.067	0.493	0.925

CON, control; Gly, glycine; SEM, standard error of the mean; FRAP, ferric reducing antioxidant power; TE, trolox dequivalent; DM, dry matter; DPPH, 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl; TBARS, thiobarbituric acid reactive substances; MDA, malondialdehyde.

^zOrthogonal contrasts: L = linear, Q = quadratic, and C = cubic effect of supplemental glycine.

a - c: Means in same rows with different superscripts are significantly different ($p < 0.05$).

Table 4. Effects of dietary glycine supplementation levels on blood composition of broilers under high temperature.

Item	CON	Gly 0.1%	Gly 0.2%	Gly 0.3%	SEM	p-value ^z		
						L	Q	C
Leukocytes								
WBC (K/ μ L)	17.778	13.820	17.380	17.483	0.598	0.593	0.084	0.043
HE (K/ μ L)	4.620	3.289	4.639	4.700	0.219	0.386	0.104	0.046
LY (K/ μ L)	10.562	9.170	10.190	10.214	0.282	0.993	0.217	0.192
HE/LY	0.435ab	0.368b	0.440ab	0.453a	0.011	0.174	0.064	<0.05
MO (K/ μ L)	1.884	1.427	1.829	1.833	0.067	0.656	0.081	0.040
EO (K/ μ L)	0.562	0.358	0.554	0.585	0.038	0.409	0.116	0.101
BA (K/ μ L)	0.153	0.081	0.166	0.153	0.014	0.495	0.302	0.054
Erythrocyte								
RBC (K/ μ L)	2.450	2.334	2.407	2.478	0.033	0.601	0.173	0.534
Hb (g/dL)	8.870	8.689	8.870	8.992	0.115	0.601	0.529	0.702
Hct (%)	23.81	22.08	23.76	23.80	0.313	0.535	0.152	0.080
MCV (fL)	97.11	97.41	97.44	97.74	0.326	0.516	0.998	0.866
MCH (g/dL)	36.19	35.92	36.90	36.30	0.236	0.537	0.732	0.202
MCHC (g/dL)	37.28	36.87	36.76	37.15	0.228	0.807	0.399	0.922

CON, control; Gly, glycine; SEM, standard error of the mean; WBC, white blood cells; HE, heterophils; LY, lymphocytes; H/L ratio, heterophils/lymphocytes; Mo, monocytes; EO, eosinophils; BA, basophils; RBC, red blood cells; Hb, hemoglobin; Hct, hematocrit; MCV, mean corpuscular volume; MCH, mean corpuscular hemoglobin; MCHC, mean corpuscular hemoglobin concentration.

^z Orthogonal contrasts: L = linear, Q = quadratic, and C = cubic effect of supplemental glycine.

a, b: Means in same rows with different superscripts are significantly different ($p < 0.05$).

Table 5. Effect of dietary glycine supplementation levels on blood biochemical parameters of broilers under high temperature.

Item	CON	Gly 0.1%	Gly 0.2%	Gly 0.3%	SEM	p-value ^z		
						L	Q	C
TCHO (mg/dL)	161.7	167.5	174.1	168.0	3.301	0.401	0.379	0.656
TG (mg/dL)	40.78	38.55	38.65	39.52	0.783	0.609	0.338	0.828
GLU (mg/dL)	255.6	247.4	272.7	257.9	4.352	0.404	0.697	0.061
TP (mg/dL)	3.578	3.395	3.508	3.503	0.048	0.798	0.363	0.344
ALB (g/dL)	1.528	1.451	1.516	1.479	0.017	0.585	0.545	0.110
AST (U/L)	287.8	264.9	273.8	262.6	4.061	0.066	0.464	0.144
ALT (U/L)	1.800	1.851	1.793	1.971	0.049	0.311	0.523	0.436
CRE (mg/dL)	0.268	0.264	0.260	0.267	0.003	0.820	0.451	0.696
Ca (mg/dL)	11.46	11.50	11.50	11.35	0.146	0.813	0.759	0.944
IP (mg/dL)	8.305	8.228	7.568	7.792	0.111	0.024	0.480	0.127
LDH (mg/dL)	2,427.0	2,242.3	2,174.2	2,165.9	60.091	0.117	0.467	0.917

CON, control; Gly, glycine; SEM, standard error of the mean; TCHO, total cholesterol; TG, triglycerides; GLU, glucose; TP, total protein; ALB, albumin; AST, aspartate aminotransferase; ALT, alanine aminotransferase; Ca, calcium; IP, inorganic phosphorus; LDH, lactate dehydrogenase.

^z Orthogonal contrasts: L = linear, Q = quadratic, and C = cubic effect of supplemental glycine.

환경이나 사료 내 영양성분에 따라 영향을 받는 것으로 알려져 있다(Lee et al., 2022; Son et al., 2022). 보고에 따르면, glutathione의 전구체인 Gly의 첨가는 혈장 내 WBC (white blood cells), lysozyme을 개선시키며 RBC (red blood cells)의 산화스트레스를 예방하고 높은 RBC와 용혈 저항성에 도움을 줄 수 있다(Abbasi et al., 2023). 또한 가금에서의 HE/LY 비율은 스트레스 요인에 의해 영향을 받는 지표로, 사료를 제한하는 등의 스트레스 환경에 비율이 증가한다(Mahboub et al., 2004; Won et al., 2023). Won 등(2023)의 연구에서 Gly의 식이 보충은 혈중 HE/LY 비율을 낮쳤으며, 이는 Gly이 체온 조절 기능이 있는 베타인(betaine)의 대사와 밀접한 관련이 있어 스트레스 완화에 긍정적인 효과가

나타난 것으로 보고하였다. 본 연구에서도 Gly 0.1% 첨가가 HE/LY 비율을 낮추었으며, 이는 Gly이 육계의 고온 스트레스 완화에 도움이 되는 것으로 보여진다.

한편, Gly은 체내 UA 및 CRE의 배설을 증가시킴으로써 혈중 내 UA, CRE 수준을 낮추는 것으로 알려져 있다 (Oshima et al., 2019). 이러한 이유로 Gly은 UA 배출 불균형에 의해 생기는 고요산혈증, 통풍을 치료하기 위해 널리 사용되고 있다(Oshima et al., 2019). Shafiekhani 등(2019)의 연구에서 납에 노출시킨 쥐에게 Gly을 첨가하였을 때 혈청 내 BUN (blood urea nitrogen)과 CRE 수준을 감소시켰으며, 당뇨병 처리가 된 mice의 경우 다른 분석 지표에는 차이가 없었으나 UA와 CRE 수치가 유의하게 낮아졌다(Wang et al., 2019). 반면, Gly의 첨가는 산란계 혈중 내 높은 TG와 낮은 LDL (low-density lipoprotein) 수준을 보였으나 ALT, TP, ALB, TCHO에 영향을 주지 않았다(EI-Atty et al., 2020). 고온 환경의 육계 사료에서도 betaine과 Gly을 첨가하였을 때 AST 수준은 낮아졌으나 ALT, CRE 및 UA에는 어떠한 영향을 주지 않았다(Won et al., 2023). 또한, 혈장 내 glucose 수준은 스트레스를 받을 때, 주로 간의 글리코겐 분해로 인해 증가한다고 보고되고 있다(Yu et al., 2022). 하지만, 본 연구에서 생화학 분석 지표에 대한 Gly의 첨가 효과를 관찰하지 못하였으며, 이에 가급에 있어서 Gly의 UA 배출 및 다른 지표의 영향에 대한 추가 연구가 요구된다.

혈액 내 corticosterone 수준

육계 사료 내 Gly의 첨가 수준에 따른 스트레스 반응 지표 corticosterone의 차이는 Table 6에 나타내었다. 사료 내 Gly의 첨가 수준이 증가함에 따라 혈액 내 corticosterone은 직선적으로 감소하는 경향이 나타났으며, Gly 0.2% 처리구가 무첨가구에 비해 유의적으로 낮은 수치를 보였다(linear, $p < 0.05$; quadratic, $p < 0.05$). 혈액 corticosterone 지표 분석은 동물의 복지를 평가할 수 있는 방법 중 하나이며, 높은 corticosterone 농도는 고온 스트레스 환경과 연관이 있다(Son et al., 2022). 이에 생균제, 약용식물 및 추출물 등 첨가제에 대한 corticosterone 감소 효과가 보고되고 있으나 아미노산 첨가에 대한 연구는 부족한 상황이다. Hwangbo 등(2013)은 methionine과 라이신(lysine)을 첨가하였을 때 고온 환경의 육계 corticosterone 수치를 낮추었으며, tryptophan의 첨가 또한 유의적인 감소 효과를 보였다(Badakhshan et al., 2021). 반면, Magnuson 등(2020)은 methionine의 첨가가 고밀도 환경에 노출된 육계의 혈액 내 corticosterone 수준에 영향을 주지 않았으며, Won 등(2023)의 연구에서도 Gly의 첨가에 따라 모든 처리구가 비슷한 수준을 보였다. 우리의 연구에서는 Gly의 첨가가 고온 환경의 육계 corticosterone을 낮추며 스트레스 완화 효과를 보였다.

공장의 형태학적 특성

Gly 첨가 수준이 육계의 공장 용모에 미치는 영향은 Table 7에 나타내었다. 사료 내 Gly 수준에 따른 용모의 높이는 차이가 없었으나, 음와 깊이에 영향을 미쳤으며(cubic, $p < 0.01$), Gly 0.2%에서 가장 낮게 나타났다. 장의 형태학적 특성은 장 건강을 나타내는 지표로(Mustafa et al., 2021), 고온스트레스에 노출되면 장 세포에 산화스트레스를

Table 6. Effect of dietary glycine supplementation levels on the content of corticosterone in blood of broilers under high temperature.

Item	CON	Gly 0.1%	Gly 0.2%	Gly 0.3%	SEM	p-value ^z		
						L	Q	C
CORT (ng/mL)	13.06a	8.70ab	8.08b	9.51ab	0.644	<0.05	<0.05	0.752

CON, control; Gly, glycine; SEM, standard error of the mean; CORT, corticosterone.

^zOrthogonal contrasts: L = linear, Q = quadratic, and C = cubic effect of supplemental glycine.

a, b: Means in same rows with different superscripts are significantly different ($p < 0.05$).

유발해 점막 상피세포 손상, 용모 위축, 장 점막 손상 등 장 건강 발달에 부정적 영향을 미치는 것으로 알려져 있다 (Mazzoni et al., 2022). 이는 장관벽 파괴로 인해 병원체 등의 투과성을 높이며, 소화능력 저하 등을 야기한다(Santos et al., 2015; Mazzoni et al., 2022). 최근 여러 연구는 스트레스 조건에서 사료 내 아미노산의 첨가가 장 형태 및 기능에 긍정적인 영향을 주는 것으로 보고되었다(Valizadeh et al., 2014; Xue et al., 2018; Zhang et al., 2018; Oxford and Selvaraj, 2019). 크레아틴(creatine)의 전구물질인 아르기닌(arginine)은 콕시듐증이 유발된 육계의 장 용모 및 배상 세포(goblet cell) 손상을 완화하고 장 형태를 개선하는 것으로 보고되었으며(Zhang et al., 2018), 트레오닌(threonine)은 살모넬라증의 육계 장 건강을 유지하였다(Valizadeh et al., 2014). Xue 등(2018)과 Oxford와 Selvaraj (2019)은 glutamine을 첨가하였을 때, 육계의 용모 및 음와 깊이가 개선되면서 생산성이 향상된 것을 확인하였다. 또한 LPS (lipopolysaccharide) 처리된 돼지에 Gly를 첨가하였을 때, 공장 음와 깊이가 감소한 것은 우리의 연구 결과와 일치하였다(Xu et al., 2018). Gly의 첨가는 고온 환경 내 육계의 장 건강에 긍정적인 영향을 주었으나 적정 첨가량과 작용 메커니즘에 대해 추가 연구가 필요하다.

갈짚 내 수분함량

고온 환경에서 육계 사료 내 Gly 첨가량에 따른 갈짚 수분 함량은 Table 8에 나타내었다. Gly의 첨가 수준은 갈짚 내 수분 함량에 영향을 주지 않았다. 갈짚의 품질을 조사하는 것은 육계 사육 복지 평가에 있어서 중요한 지표이다 (Bessei, 2006). 젖은 갈짚은 발바닥 피부염(footpad dermatitis, FPD), 무릎 화상(hock burn) 등을 일으키는 주요 원인이 되며, *Campylobacter* 감염과 양의 상관관계가 있다(Hu et al., 2022). 통증이 발생하면 상처가 치유될 때까지 움직임이 제한되고 사료 및 수분 섭취의 감소로 증체량, 사료효율 및 계군의 생산성에 부정적 영향을 준다(Koshchayev et al., 2020). 또한, 육계는 체중이 증가함에 따라 갈짚과 피부가 접촉하는 면적이 넓어지며, 이에 젖은 갈짚에 장기간 노출되면 유방 물집(breast blisters)과 같은 피부 질환을 일으킨다(Bessei, 2006). 한편, 가금의 사료 조성 및 사료 첨가제의 사용은 갈짚 품질에 영향을 주는 중요한 요소임이 보고되었다(Swiatkiewicz et al., 2017). 그 중 Hussein 등(2023)의 연구에서 복합 아미노산(threonine, arginine 및 glutamine) 첨가에서 갈짚의 수분함량을 유의적으로 낮았으며, Ospina-Rojas 등(2014)도 methionine, lysine, threonine, 발린(valine), 및 Gly의 보충에 의해 육계의 갈짚 내 질소, 암모니아 배출이 감소하는 것을 보고하였다. 하지만, methionine과 lysine의 첨가는 갈짚의 품질과 발바닥 피부염 저감에 영향을 주지 않았다(El-Wahab et al., 2015). 본 연구에서도 Gly의 첨가량에 따라 갈짚 품질에는 영향이 없었다.

Table 7. Effect of dietary glycine supplementation levels on the jejunum histological analysis of broilers under high temperature.

Item	CON	Gly 0.1%	Gly 0.2%	Gly 0.3%	SEM	p-value ^z		
						L	Q	C
VH (μm)	1,144.0	1,213.6	1,204.1	1,236.4	20.57	0.159	0.656	0.518
CD (μm)	173.5ab	198.6a	169.1b	181.5ab	3.976	0.863	0.387	<0.01
VH/CD ratio	6.67	6.27	7.19	6.88	0.149	0.235	0.886	0.057

CON, control; Gly, glycine; SEM, standard error of the mean; VH, villus height; CD, crypt depth.

^z Orthogonal contrasts: L = linear, Q = quadratic, and C = cubic effect of supplemental glycine.

a, b: Means in same rows with different superscripts are significantly different ($p < 0.05$).

Table 8. Effect of dietary glycine supplementation levels on litter moisture of broilers under high temperature.

Item	CON	Gly 0.1%	Gly 0.2%	Gly 0.3%	SEM	p-value ^z		
						L	Q	C
Litter moisture (%)	37.48	34.77	36.52	38.08	1.164	0.750	0.366	0.687

CON, control; Gly, glycine; SEM, standard error of the mean.

^z Orthogonal contrasts: L = linear, Q = quadratic, and C = cubic effect of supplemental glycine.

Conclusion

본 연구는 고온 환경 내 육계의 사료에 Gly의 첨가 수준을 달리하여 생산성, 계육 특성, 혈액 성상, 스트레스 지표, 장 특성 및 깎짚 품질에 대해 조사하였다. 1일령 육계(Ross 308) 수평아리 760 수를 공시하였으며, 처리구는 무첨가구(CON)와 Gly 0.1, 0.2, 0.3%로 총 4처리구(처리 당 5 반복, 반복 당 38 수)로 설계하였다. 1일령부터 21일령까지 사육환경은 육계 사육 기준에 준하여 유지하였으며, 22일령부터 실험 종료시까지 고온 환경($32 \pm 1^\circ\text{C}$, $60 \pm 5\%$)을 제공하였다. 시험기간동안 Gly의 첨가에 따라 증체량은 증가하였으며, 고온 환경에서도 Gly 0.1% 및 0.3% 처리구에서 높은 체중을 보였다($p < 0.05$). Gly 0.1%의 첨가는 계육의 높은 pH와 FRAP의 수준을 나타내었으며($p < 0.05$), 이는 계육의 항산화 활성에 긍정적인 영향을 주는 것으로 나타났다. 또한, 혈구 조성에서는 Gly 0.1% 첨가구가 HE/LY 비율이 낮게 나타났으며($p < 0.05$), 혈청 corticosterone은 Gly 0.2% 처리구에서 가장 낮게 나타났다($p < 0.05$). 공장의 특성은 Gly 0.2% 첨가구에서 음와 깊이가 개선되는 효과를 보였으며($p < 0.05$), 깎짚 수분 함량을 보았을 때 사육환경 개선 효과는 없는 것으로 판단되었다. 결론적으로, 사료 내 Gly의 첨가는 육계의 생산성과 계육 품질, 항산화 개선 및 스트레스 수준 완화 효과가 있었으나, 적정 첨가 수준과 체내 작용 메커니즘에 대한 추가 연구가 필요하다.

Conflict of Interests

No potential conflict of interest relevant to this article was reported.

Acknowledgements

본 연구는 2023년 농촌진흥청 국립축산과학원 전문연구원 과정 지원사업과 농촌진흥청의 공동연구사업(과제 번호: PJ01502303)에 의해 이루어진 것으로 이에 감사드립니다

Authors Information

Jiseon Son, <https://orcid.org/0000-0002-5285-8186>

Hee-Jin Kim, <https://orcid.org/0000-0002-6959-9790>

Hwan-Ku Kang, <https://orcid.org/0000-0002-4286-3141>

Eui-Chul Hong, <https://orcid.org/0000-0003-1982-2023>

Hyunsoo Kim, <https://orcid.org/0000-0001-8887-1318>

Woo-Do Lee, <https://orcid.org/0000-0003-4861-4637>

Yeon Seo Yun, National Institute of Animal Science, RDA, Researcher

References

- Abbasi M, Taheri Mirghaed A, Hoseini SM, Rajabiesterabadi H, Hoseinifar SH, Van Doan H. 2023. Effects of dietary glycine supplementation on growth performance, immunological, and erythrocyte antioxidant parameters in common carp, *Cyprinus carpio*. *Animals* 13:412.

- Aslam S, Shukat R, Khan MI, Shahid M. 2020. Effect of dietary supplementation of bioactive peptides on antioxidant potential of broiler breast meat and physicochemical characteristics of nuggets. *Food Science of Animal Resources* 40:55-73.
- Aviagen. 2018. Ross 308 Management Handbook. Aviagen, Huntsville, AL, USA.
- Awad EA, Zulkifli I, Soleimani AF, Aljuobori A. 2017. Effects of feeding male and female broiler chickens on low-protein diets fortified with different dietary glycine levels under the hot and humid tropical climate. *Italian Journal of Animal Science* 16:453-461.
- Badakhshan Y, Emadi L, Esmaeili-Mahani S, Nazifi S. 2021. The effect of L-tryptophan on the food intake, rectal temperature, and blood metabolic parameters of 7-day-old chicks during feeding, fasting, and acute heat stress. *Iranian Journal of Veterinary Research* 22:55-64.
- Bello AU, Idrus Z, Meng GY, Awad EA, Farjam AS. 2017. Gut microbiota and transportation stress response affected by tryptophan supplementation in broiler chickens. *Italian Journal of Animal Science* 17:107-113.
- Benzie IFF, Strain JJ. 1996. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of "Antioxidant power": The FRAP assay. *Analytical Biochemistry* 239:70-76.
- Bessei W. 2006. Welfare of broilers: A review. *World's Poultry Science Journal* 62:455-466.
- Blois MS. 1958. Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. *Nature* 181:1199-1200.
- Buege JA, Aust SD. 1978. Microsomal lipid peroxidation. *Methods in Enzymology*. 52:302-310.
- Cardinal KM, de Moraes ML, Andretta I, Schirmann GD, Belote BL, Barrios MA, Santin E, Ribeiro AML. 2019. Growth performance and intestinal health of broilers fed a standard or low-protein diet with the addition of a protease. *Revista Brasileira de Zootecnia* 48:e20180232.
- Dai SF, Wang LK, Wen AY, Wang LX, Jin GM. 2009. Dietary glutamine supplementation improves growth performance, meat quality and colour stability of broilers under heat stress. *British Poultry Science* 50:333-340.
- de Freitas Dionizio A, de Souza Khatlab A, Alcalde CR, Gasparino E, Feihrmann AC. 2021. Supplementation with free methionine or methionine dipeptide improves meat quality in broilers exposed to heat stress. *Journal of Food Science and Technology* 58:205-215.
- El-Atty A, Hanaa K, Attia KM, Salim IH, Yassein DM, El-Slamony AE. 2020. Effect of glycine supplementation of mandarah laying hens diets on production performance and egg quality. *Journal of Animal and Poultry Production* 11:583-589.
- El-Wahab A, Aziza A, El-Adl M. 2015. Impact of dietary excess methionine and lysine with or without addition of L-carnitine on performance, blood lipid profile and litter quality in broilers. *Asian Journal of Animal and Veterinary Advances* 10:191-202.
- Goel A. 2021. Heat stress management in poultry. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition* 105:1136-1145.
- Hu H, Bai X, Wen A, Shah AA, Dai S, Ren Q, Wang S, He S, Wang L. 2016. Assessment of interactions between glutamine and glucose on meat quality, AMPK, and glutamine concentrations in pectoralis major meat of broilers under acute heat stress. *Journal of Applied Poultry Research* 25:370-378.
- Hu JY, Mohammed AA, Murugesan GR, Cheng HW. 2022. Effect of a synbiotic supplement as an antibiotic alternative on broiler skeletal, physiological, and oxidative parameters under heat stress. *Poultry Science* 101:101769.
- Hussein MA, Khattak F, Vervelde L, Athanasiadou S, Houdijk JGM. 2023. Growth performance, caecal microbiome profile, short-chain fatty acids, and litter characteristics in response to placement on reused litter and combined threonine, arginine and glutamine supplementation to juvenile male broiler chickens. *Animal Microbiome* 5:18.
- Hwangbo J, Choi HC, Park SO, Ryu CM, Park BS, Kang HK, Seo OS, Choi YH. 2013. Diet with soy oil, molasses, methionine, lysine and vitamin C improves the growth performance of broilers exposed to extreme heat stress. *Journal of Animal and Veterinary Advances* 12:464-471.
- Kim DY, Lim B, Kim JM, Kil DY. 2022. Integrated transcriptome analysis for the hepatic and jejunal mucosa tissues of broiler chickens raised under heat stress conditions. *Journal of Animal Science and Biotechnology* 13:79.
- Kopec W, Wiliczekiewicz A, Jamroz D, Biazik E, Pudlo A, Hikawczuk T, Skiba T, Korzeniowska M. 2016. Antioxidant status of turkey breast meat and blood after feeding a diet enriched with histidine. *Poultry Science* 95:53-61.

- Koshchaev I, Mezinova K, Ryadinskaya A, Sorokina N, Chuev S. 2020. Identification of cases of pododermatitis in broiler chickens when feeding a probiotic feed additive. *E3S Web of Conferences* 210:06023.
- Lee WD, Kothari D, Moon SG, Kim J, Kim KI, Ga GW, Kim YG, Kim SK. 2022. Evaluation of non-fermented and fermented Chinese chive juice as an alternative to antibiotic growth promoters of broilers. *Animals* 12:2742.
- Magnuson AD, Liu G, Sun T, Tolba SA, Xi L, Whelan R, Lei XG. 2020. Supplemental methionine and stocking density affect antioxidant status, fatty acid profiles, and growth performance of broiler chickens. *Journal of Animal science* 98:skaa092.
- Mahboub HDH, Müller J, von Borell E. 2004. Outdoor use, tonic immobility, heterophil/lymphocyte ratio and feather condition in free-range laying hens of different genotype. *British Poultry Science* 45:738-744.
- Mazzoni M, Zampiga M, Clavenzani P, Lattanzio G, Tagliavia C, Sirri F. 2022. Effect of chronic heat stress on gastrointestinal histology and expression of feed intake-regulatory hormones in broiler chickens. *Animal* 16:100600.
- Meyer MM, Bobeck EA. 2023. Dietary vasodilator and vitamin C/L-arginine/choline blend improve broiler feed efficiency during finishing and reduce woody breast severity at 6 and 7 wks. *Poultry Science* 102:102421.
- Mustafa A, Bai S, Zeng Q, Ding X, Wang J, Xuan Y, Su Z, Zhang K. 2021. Effect of organic acids on growth performance, intestinal morphology, and immunity of broiler chickens with and without coccidial challenge. *AMB Express* 11:140.
- Nawab A, Ibtisham F, Li G, Kieser B, Wu J, Liu W, Zhao Y, Nawab Y, Li K, Xiao M, et al. 2018. Heat stress in poultry production: Mitigation strategies to overcome the future challenges facing the global poultry industry. *Journal of Thermal Biology* 78:131-139.
- Nawaz AH, Amoah K, Leng QY, Zheng JH, Zhang WL, Zhang L. 2021. Poultry response to heat stress: Its physiological, metabolic, and genetic implications on meat production and quality including strategies to improve broiler production in a warming world. *Frontiers in Veterinary Science* 8:699081.
- Oshima S, Shiiya S, Nakamura Y. 2019. Combined supplementation with glycine and tryptophan reduces purine-induced serum uric acid elevation by accelerating urinary uric acid excretion: A randomized, single-blind, placebo-controlled, crossover study. *Nutrients* 11:2562.
- Ospina-Rojas IC, Murakami AE, Duarte CRA, Eyng C, Oliveira CAL, Janeiro V. 2014. Valine, isoleucine, arginine and glycine supplementation of low-protein diets for broiler chickens during the starter and grower phases. *British Poultry Science* 55:766-773.
- Oxford JH, Selvaraj RK. 2019. Effects of glutamine supplementation on broiler performance and intestinal immune parameters during an experimental coccidiosis infection. *Journal of Applied Poultry Research* 28:1279-1287.
- Park JS, Kang DR, Shim KS. 2022. Proteomic changes in broiler liver by body weight differences under chronic heat stress. *Poultry Science* 101:101794.
- Razak MA, Begum PS, Viswanath B, Rajagopal S. 2017. Multifarious beneficial effect of nonessential amino acid, glycine: A review. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity* 2017:1716701.
- Renaudeau D, Collin A, Yahav S, de Basilio V, Gourdine JL, Collier RJ. 2012. Adaptation to hot climate and strategies to alleviate heat stress in livestock production. *Animal* 6:707-728.
- Saeed M, Yatao X, Hassan FU, Arain MA, Abd El-Hack ME, Noreldin AE, Sun C. 2018. Influence of graded levels of l-theanine dietary supplementation on growth performance, carcass traits, meat quality, organs histomorphometry, blood chemistry and immune response of broiler chickens. *International Journal of Molecular Sciences* 19:462.
- Santos RR, Awati A, Roubos-van den Hil PJ, Tersteeg-Zijderveld MHG, Koolmees PA, Fink-Gremmels J. 2015. Quantitative histo-morphometric analysis of heat-stress-related damage in the small intestines of broiler chickens. *Avian Pathology* 44:19-22.
- Shafiekhani M, Ommati MM, Azarpira N, Heidari R, Salarian AA. 2019. Glycine supplementation mitigates lead-induced renal injury in mice. *Journal of Experimental Pharmacology* 11:15-22.
- Siegert W, Ahmadi H, Helmbrecht A, Rodehutsord M. 2015. A quantitative study of the interactive effects of glycine and serine with threonine and choline on growth performance in broilers. *Poultry Science* 94:1557-1568.

- Sifa D, Bai X, Zhang D, Hu H, Wu X, Wen A, He S, Zhao L. 2018. Dietary glutamine improves meat quality, skeletal muscle antioxidant capacity and glutamine metabolism in broilers under acute heat stress. *Journal of Applied Animal Research* 46:1412-1417.
- Son J, Lee WD, Kim HJ, Kang BS, Kang HK. 2022. Effect of providing environmental enrichment into aviary house on the welfare of laying hens. *Animals* 12:1165.
- Swiatkiewicz S, Arczewska-Wlosek A, Jozefiak D. 2017. The nutrition of poultry as a factor affecting litter quality and foot pad dermatitis-an updated review. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition* 101:e14-e20.
- Valizadeh MR, Sadeghi AA, Chamani M, Shawrang P, Feizi F. 2014. The Effect of increasing dietary threonine to lysine ratio on carcass characteristics, mucin gene expression and morphological analysis of ileum of male broiler chickens challenged with *Salmonella*. *International Journal of Biosciences* 5:138-146.
- Wang Z, Shao D, Kang K, Wu S, Zhong G, Song Z, Shi S. 2022. Low protein with high amino acid diets improves the growth performance of yellow feather broilers by improving intestinal health under cyclic heat stress. *Journal of Thermal Biology* 105:103219.
- Wang Z, Zhao D, Chen L, Li J, Yuan G, Yang G, Zhang H, Guo X, Zhang J. 2019. Glycine increases glyoxalase-1 function by promoting nuclear factor erythroid 2-related factor 2 translocation into the nucleus of kidney cells of streptozotocin-induced diabetic rats. *Journal of Diabetes Investigation* 10:1189-1198.
- Won SY, Han GP, Kwon CH, Lee EC, Kil DY. 2023. Effect of individual or combination of dietary betaine and glycine on productive performance, stress response, liver health, and intestinal barrier function in broiler chickens raised under heat stress conditions. *Poultry Science* 102:102771.
- Xu X, Wang X, Wu H, Zhu H, Liu C, Hou Y, Dai B, Liu X, Liu Y. 2018. Glycine relieves intestinal injury by maintaining mTOR signaling and suppressing AMPK, TLR4, and NOD signaling in weaned piglets after lipopolysaccharide challenge. *International Journal of Molecular Sciences* 19:1980.
- Xue GD, Barekain R, Wu SB, Choct M, Swick RA. 2018. Dietary L-glutamine supplementation improves growth performance, gut morphology, and serum biochemical indices of broiler chickens during necrotic enteritis challenge. *Poultry Science* 97:1334-1341.
- Yu M, Oketch EO, Hong JS, Nawarathne SR, Vohobjonov Y, Heo JM. 2022. Evaluation of preslaughter losses, meat quality, and physiological characteristics of broilers in response to crating density for the standard of animal welfare and to seasonal differences. *Korean Journal of Agricultural Science* 49:927-936.
- Yuan J, Karimi A, Zornes S, Goodgame S, Mussini F, Lu C, Waldroup PW. 2012. Evaluation of the role of glycine in low-protein amino acid-supplemented diets. *Journal of Applied Poultry Research* 21:726-737.
- Zhang B, Lv Z, Li Z, Wang W, Li G, Guo Y. 2018. Dietary L-arginine supplementation alleviates the intestinal injury and modulates the gut microbiota in broiler chickens challenged by *Clostridium perfringens*. *Frontiers in Microbiology* 9:1716.
- Zhang C, Wang C, Zhao X, Chen K, Geng Z. 2020. Effect of L-theanine on meat quality, muscle amino acid profiles, and antioxidant status of broilers. *Animal Science Journal* 91:e13351.