

자일라나아제 및 베타 만난아제의 첨가가 양돈용 원료사료의 *in vitro* 소화율에 미치는 영향

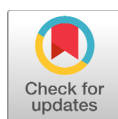
오희은 · 송윤수 · 김법균*

건국대학교 축산학과

Effects of supplemental xylanase and β -mannanase on *in vitro* disappearance of nutrients in feed ingredients for pigs

Hee Eun Oh, Yoon Soo Song, Beob Gyun Kim*

Department of Animal Science, Konkuk University, Seoul 05029, Korea



Received: Sep 6, 2025

Revised: Nov 17, 2025

Accepted: Dec 2, 2025

*Corresponding author

Beob Gyun Kim
Department of Animal Science,
Konkuk University, Seoul 05029,
Korea
Tel: +82-2-2049-6255
E-mail: beobgyun@konkuk.ac.kr

Copyright © 2025 Korean Society of Animal Science and Technology.
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

Hee Eun Oh
<https://orcid.org/0009-0009-0594-7918>
Yoon Soo Song
<https://orcid.org/0000-0001-6471-799X>
Beob Gyun Kim
<https://orcid.org/0000-0003-2097-717X>

Competing interests

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

Funding sources

Not applicable.

Abstract

The objective of the present study was to determine the effects of supplemental xylanase and β -mannanase on the *in vitro* disappearance of nutrients in wheat, copra meal, and palm kernel expellers for pigs. The ingredients were finely ground and divided into the control and treatment groups. Treatment samples were prepared to contain 999 g/kg of a test ingredient with 1 g/kg of a xylanase product (150 xylanase unit/g in the mixed sample), 997 g/kg of a test ingredient with 3 g/kg of a β -mannanase product (600 unit/g in the mixed sample), and 996 g/kg of a test ingredient with 1 g/kg of the xylanase product and 3 g/kg of the β -mannanase product. The *in vitro* ileal disappearance (IVID) of dry matter (DM) and crude protein (CP) was determined using a 2-step *in vitro* procedure, representing the digestion and absorption processes in the stomach and small intestine. The *in vitro* total tract disappearance (IVTTD) of DM and organic matter was determined using a 3-step *in vitro* procedure, which additionally simulates the digestion process in the large intestine. The magnitude of increase in IVID of DM in copra meal by β -mannanase tended to be greater with supplemental xylanase compared with no supplemental xylanase (interaction $p = 0.056$). The magnitude of increase in IVID of DM in palm kernel expellers by β -mannanase was less with supplemental xylanase compared with no supplemental xylanase (interaction $p = 0.045$). The IVID of CP increased by supplemental β -mannanase in copra meal ($p = 0.051$) and palm kernel expellers ($p = 0.042$). Supplemental β -mannanase tended to increase ($p = 0.073$) the IVTTD of DM in copra meal. In conclusion, supplemental xylanase and β -mannanase can synergistically increase ileal digestibility of DM in copra meal in contrast to palm kernel expellers, and supplemental β -mannanase can increase the ileal digestibility of CP in copra meal and palm kernel expellers for pigs.

Keywords: Digestibility, Enzyme, *In vitro* disappearance, Swine

Acknowledgements

Not applicable.

Availability of data and material

Upon reasonable request, the datasets of this study can be available from the corresponding author.

Authors' contributions

Conceptualization: Kim BG.
Data curation: Oh HE, Song YS.
Formal analysis: Oh HE.
Methodology: Kim BG.
Validation: Song YS, Kim BG.
Investigation: Oh HE, Song YS.
Writing - original draft: Oh HE.
Writing - review & editing: Oh HE, Song YS, Kim BG.

Ethics approval and consent to participate

This article does not require IRB/IACUC approval because there are no human and animal participants.

서론

양돈 산업에서 전체 생산 비용 중 가장 큰 부분을 차지하는 것이 사료이므로, 최소가격 사료 배합으로 돼지의 생산성을 극대화하는 것이 매우 중요한 목표이다[1]. 최근 국제시장의 불안정성 속에서 옥수수 및 대두박과 같은 주요 원료사료의 가격이 지속적으로 상승함에 따라 양돈용 배합사료의 가격 또한 증가하고 있어[2], 대체원료 활용에 대한 관심이 점차 높아지고 있다[3-5]. 그러나 대부분의 대체원료는 돼지의 내인성 효소에 의해 분해되지 않는 비전분성 다당류(non-starch polysaccharides, NSP)의 함량이 높다. 따라서 양돈사료에서 대체원료의 사용량이 증가할 경우, 돼지의 에너지 및 영양소 소화율이 감소하여 분뇨 배출량 증가 및 생산성 저하로 이어질 수 있다.

Arabinoxylan 및 β -mannan은 대체원료에서 흔히 발견되는 대표적인 NSP이다. Arabinoxylan은 xylose와 arabinose가 β -1,4-글리코시드 결합으로 연결되어 있으며, β -mannan 또한 mannose와 glucose가 β -1,4-글리코시드 결합으로 연결되어 있다[6]. 양돈사료에서 대체원료로서 흔히 사용되는 고섬유 원료사료인 야자박 및 팜박은 NSP를 다량 함유하고 있어 양돈 사료의 영양소 이용성을 저해할 수 있다[7,8]. 돼지는 NSP를 분해하는 효소를 분비하지 않기 때문에, xylanase나 β -mannanase와 같은 효소를 사료에 첨가함으로써 NSP에 의한 부정적 영향을 줄이고, 대체원료의 영양소 이용성을 향상시킬 수 있다[9]. 이전 연구에서 xylanase 및 β -mannanase를 각각 첨가했을 때 양돈사료의 에너지 및 영양소 소화율이 향상되었다고 보고하였다[10,11]. 한편, 한 연구에서는 xylanase 및 β -mannanase를 함께 첨가하였을 때 양돈사료의 영양소 소화율에 미치는 시너지 효과는 발견되지 않았지만[12], 이와 관련한 연구가 매우 부족하므로 추가적인 연구를 통해 두 효소간 상호작용 가능성을 규명할 필요가 있다. 또한 xylanase와 β -mannanase의 첨가가 대체원료의 영양소 회장 및 전장 소화율에 미치는 상호작용 효과를 평가한 연구는 부족한 실정이다. 주요 원료사료를 대체하여 양돈사료 배합비에 적용하기 위한 기초자료로서, 첨가제 사용에 따른 대체 원료사료의 영양소 이용성 변화를 평가하는 것은 필수적이다[13]. 따라서 본 연구에서는 xylanase 및 β -mannanase의 첨가가 원료사료 영양소의 체외회장소화율 및 체외전장소화율에 미치는 상호작용 효과를 평가하였다.

재료 및 방법

효소 제품 및 샘플 준비

본 연구에서 사용된 효소 제품은 *Pichia pastoris*에서 유래한 150,000 xylanase unit(XU)/g의 활성도를 지닌 xylanase(Xylamax®, Novus International, St. Charles, MO, USA) 및 200,000 unit/g의 활성도를 지닌 β -mannanase(Dymanase®, Novus International)이었다. Xylanase 1 XU은 pH 6.0의 50 mM trisodium citrate 완충용액의 50℃ 조건에서 Beachwood의 0.5% xylan으로부터 초당 1 nM 환원당을 방출하는 효소의 양으로 정의하며, β -mannanase 1 unit은 pH 7.0의 200 mM sodium acetate 완충용액의 50℃ 조건에서 0.5% Locus Bean Gum으로부터 분당 1 nM 환원당을 방출하는 데 필요한 효소의 양으로 정의한다. 실험원료는 밀, 야자박 및 팜박이었으며(Table 1), 원료 샘플을 균일한 크기로 분쇄한 후 실험에 사용하였다. 실험은 2 × 2 요인법에 따라 수행되었으며, 두 종류 효소(xylanase 및 β -mannanase)의 첨가 유무를 요인으로 설정하였다. Xylanase 처리구는 원료사료 999 g에 xylanase 1 g을 첨가하여 150 XU/g의 xylanase를 함유하였으며, β -mannanase 처리구는 원료사료 997 g에 β -mannanase 3 g을 첨가하여 600 unit/g의

Table 1. Analyzed composition of test ingredients (as-is basis)

Item	Wheat	Copra meal	Palm kernel expellers
Dry matter (%)	90.5	92.5	93.4
Gross energy (kcal/kg)	3,890	4,346	4,505
Crude protein (%)	12.9	20.3	16.3
Ether extract (%)	3.3	8.0	9.2
Ash (%)	2.7	6.1	4.0
aNDF (%)	9.2	53.3	64.7
ADF (%)	2.6	30.1	47.4

aNDF, amylase-treated neutral detergent fiber; ADF, acid detergent fiber.

β -mannanase를 함유하였다. 복합 처리구는 원료사료 996 g에 xylanase 1 g 및 β -mannanase 3 g을 함께 첨가하여 xylanase 150 XU/g 및 β -mannanase 600 unit/g을 함유하였다. 모든 처리구에서 건물 및 조단백질의 체외회장소화율과 건물 및 유기물의 체외전장소화율을 측정하였다.

체외소화율 분석

위 및 소장에서의 소화-흡수를 모방한 2-step 체외소화 실험법을 이용하여 건물 및 조단백질의 체외회장소화율을 측정하였다[14]. 시료 1 g을 100-mL 삼각 플라스크에 투입한 후에 위에서의 소화를 모방한 step 1에서는 sodium phosphate 완충용액(0.1 M, pH 6.0) 25 mL 및 HCl 수용액(0.2 M) 10 mL을 시료가 들어있는 플라스크에 첨가하였다. NaOH 수용액(1 M) 및 HCl 수용액(1 M)을 이용하여 산도를 pH 2.0으로 조절한 다음, 1 mL의 펩신 수용액(10 mg/mL; 250 units/mg solid, P7000, pepsin from porcine gastric mucosa; Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA)을 첨가하였다. 박테리아의 증식을 억제하기 위해 chloramphenicol 0.5 mL를 첨가하고, 39°C로 예열된 배양기에서 6시간 동안 교반하였다. Step 2에서는 소장에서의 소화를 모방하기 위해, sodium phosphate 완충용액(0.2 M, pH 6.8) 10 mL 및 NaOH 수용액(0.6 M) 5 mL을 첨가하였다. NaOH 수용액(1 M) 및 HCl 수용액(1 M)을 이용하여 pH 6.8로 조절한 후, 판크레아틴 수용액(50 mg/mL; 4 × USP, P1750, pancreatin from porcine pancreas; Sigma-Aldrich) 1 mL을 첨가하였다. 39°C로 예열된 배양기에서 18시간 동안 교반한 후, 단백질의 침전을 위해 20% sulfosalicylic acid 수용액 5 mL을 첨가하여 30분간 상온에 두었다. 이후 400 mg의 Celite가 담긴 유리 여과 크루시블(Filter Crucibles CFE Por. 2; Robu, Hattert, Germany)을 이용하여 잔류물을 회수하였다. 플라스크는 1% sulfosalicylic acid로 2번씩 씻어내었고, 에탄올 및 아세톤을 각각 20 mL씩 두 번에 나누어 크루시블에 첨가하여 씻어내었다. 마지막으로 소화되지 않은 잔류물이 담긴 크루시블을 80°C에서 24시간 건조하였다. 이후 데시케이터에서 1시간 동안 방냉한 후 크루시블의 무게를 측정하여 건물의 체외회장소화율을 계산하였다. 크루시블에 남은 소화되지 않은 잔류물의 조단백질 함량을 분석하여 조단백질 체외회장소화율을 계산하였다. 또한, 실험과정에서 첨가된 펩신 및 판크레아틴으로부터 유래한 건물 및 조단백질의 잔류량을 추정하여 건물 및 조단백질의 체외회장소화율을 보정하였다[15]. 모든 시료의 실험은 3반복으로 진행하였다.

건물 및 유기물의 체외전장소화율은 3-step 체외소화 실험법을 이용하여 측정하였다. Step 1 및 step 2의 실험과정은 체외회장소화율과 유사하나, 시료 무게, 효소 농도, 배양 시간 등의 조건을 달리 하였는데, 시료는 0.5 g, 펩신 및 판크레아틴의 농도는 각각 25 및 100 mg/mL이었으며

배양 시간은 step 1 및 2에서 각각 2시간 및 4시간이었다[16]. Step 3에서는 대장에서의 소화를 모방하기 위해, 시료에 0.2 M의 EDTA 10 mL를 첨가하고, pH 4.8로 조절하였다. 이후 미생물이 분비하는 효소에 의한 영양소의 소화를 모방하기 위해 복합 효소제(Viscozyme® L, Sigma-Aldrich) 0.5 mL를 첨가하였다. 뚜껑을 덮은 뒤, 39°C로 예열된 배양기에서 18시간 교반하였다. 배양 후 시료를 여과하고, 소화되지 않은 잔류물을 회수하여 분석하였으며, 건조 시간(130°C, 6시간)을 제외하고 체외회장소화율과 동일한 방식으로 실험을 진행하였다.

화학분석

화학 분석을 위해 원료사료를 1.0 mm 이하가 되도록 분쇄하였다. 원료사료의 총에너지는 열량측정계(Parr Instruments, Moline, IL, USA)를 이용하여 분석하였고, 건물(method 930.15), 조단백질(method 990.03), 유기물(method 942.05), 조지방(method 920.39), 조회분(method 942.05), 중성세제불용성섬유소(method 2002.04) 및 산성세제불용성섬유소(method 973.18)를 AOAC(2019)에 제시된 방법에 의해 분석하였다[17]. 체외소화 실험법 이후 회수한 잔류물의 건물, 조단백질 및 유기물 또한 같은 방법으로 분석하였다.

계산 및 통계분석

체외회장 및 전장소화율은 이전 연구에서 제시한 식을 이용하여 계산하였다[18]. 실험 데이터는 SAS(SAS Institute, Cary, NC, USA)의 GLM procedure를 이용하여 분석하였다. Orthogonal contrast를 이용하여 xylanase 효과, β -mannanase 효과 및 xylanase와 β -mannanase 간의 상호작용 효과를 분석하였다. Xylanase와 β -mannanase 간의 상호작용 효과가 유의한 경우, PDIFF 옵션 및 Tukey's adjustment를 사용하여 처리 간의 비교를 수행하였다. 실험 단위는 각각의 플라스크이며, 통계적 유의성 및 경향성은 각각 $p < 0.05$ 및 $0.05 \leq p < 0.10$ 로 설정하였다.

결과 및 고찰

본 연구에 사용된 밀, 야자박 및 팜박의 에너지 및 영양소 함량은 기존에 보고된 수치들과 유사하였다[4,19-21]. 야자박에 β -mannanase만 첨가한 경우에 비해 xylanase 및 β -mannanase를 함께 첨가했을 때 회장소화율의 증가 폭이 더 큰 경향이 나타났다(interaction $p = 0.056$; Table 2). 야자박의 경우 탄수화물의 약 60% 내지 70% 정도가 NSP인 β -mannan으로 이루어져 있는데, 이는 돼지의 소화기관에서 소화물의 점성을 높여 효소와 그 기질의 상호작용을 방해할 수 있다[22]. 아울러 야자박의 β -mannan 중 상당 부분이 galactose를 결사슬로 가지는 galactomannan이기 때문에 이러한 결사슬로 인해 β -mannanase가 β -mannan 주사슬에 효과적으로 작용하는데 방해할 가능성이 있으므로 β -mannanase만 첨가했을 때는 충분한 효과를 나타내지 않았을 수 있다[23,24]. 한편, xylanase와 β -mannanase를 함께 사용하였을 때 야자박의 건물 체외회장소화율에 있어서 시너지 효과가 나타난 이유는 명확하지 않으나, β -mannanase의 기질 분해 작용을 통해 xylanase의 침투를 더욱 용이하게 했을 가능성이 있다. 또한 복합효소의 비특이성 메커니즘으로 인해 소화물의 점성을 완화하여 효소의 침투를 용이하게 하는 등 소화율을 더욱 향상시키는데 기여했을 수 있다[22]. 한편, 팜박의 건물 체외회장소화율에서 xylanase의 첨가 효과 및 β -mannanase의 첨가 효과 간의 상호작용이 나타났는데($p = 0.045$), 팜박에서 β -mannanase만 첨가했을 때 소화율이 증가한 반면, xylanase 및 β -mannanase를 함께 첨가했을 때는 오히려 소화율이 증가하지 않았다. 야자박의 xylan 함량이 매우 작고 mannan은 주로 galactomannan으로 존재하는

Table 2. *In vitro* ileal disappearance (%) of dry matter and crude protein in test ingredients

Item	Xylanase (XU/g):	0	0	150	150	SEM	p-value		
	β-Mannanase (U/g):	0	600	0	600		Xylanase	β-Mannanase	Xylanase × β-mannanase
Wheat									
Dry matter		88.0	87.4	86.9	87.2	0.3	0.084	0.690	0.167
Crude protein		84.4	85.6	86.7	85.8	0.8	0.169	0.861	0.238
Copra meal									
Dry matter		51.5	52.8	50.9	53.4	0.3	0.970	< 0.001	0.056
Crude protein		84.7	85.0	84.2	85.2	0.3	0.627	0.051	0.257
Palm kernel expellers									
Dry matter		33.7 ^b	35.4 ^a	33.9 ^b	34.2 ^{ab}	0.3	0.132	0.009	0.045
Crude protein		74.8	76.7	75.5	75.8	0.5	0.927	0.042	0.121

Each least squares mean represents 3 observations.

^{a,b}Least squares of means within a row without a common superscript letter are different ($p < 0.05$).

XU, xylanase unit; U, unit.

것과는 다르게 팜박은 소량의 xylan을 함유하며 주로 pure mannan 형태로 존재하기 때문에 [25,26], 이러한 상이한 기질 함량과 구조적 특성이 결과에 영향을 미쳤을 수 있다.

Xylanase를 첨가했을 때 밀의 건물 체외회장소화율이 감소하는 경향을 보였으며($p = 0.084$), 이는 기존 연구에서 증가한 결과와 상반되었다[19]. 밀에서 xylanase 첨가의 부정적 영향이 나타난 이유는 명확하지 않다. 다만 이전 연구와 상반된 결과가 나타난 이유는 밀 품종에 따라 arabinoxylan의 함량과 구조가 달라 효소에 대한 반응성이 다르게 나타났을 가능성이 있으며 [27], 체외소화를 실험의 특성상 소화물의 점도가 상당히 낮은 것이 부분적인 이유가 될 수 있을 것으로 추정된다. 또한 본 연구에서 사용된 xylanase는 *Komagataella phaffii* 효모에서 유래한 반면, 이전 연구에서 사용된 xylanase는 *Bacillus subtilis* 균을 이용하여 생산되었다[19]. 이와 같은 생산 균주의 차이는 효소의 활성 조건과 기질 특이성에 영향을 미쳐 서로 다른 효능을 나타낼 수 있다[28]. 야자박 및 팜박의 영양소 체외회장소화율에서 xylanase의 첨가 효과가 나타나지 않았는데, 이는 이전 연구결과와 일치하였다[12]. Xylanase의 첨가 효과가 나타나지 않은 이유는 야자박 및 팜박의 arabinoxylan 함량이 약 3% 이하로 낮아 효소가 작용할 기질이 적거나 섬유소의 물리·화학적 특성으로 인해 효소의 침투가 제한되었기 때문으로 보인다[29]. 반면, β -mannanase 첨가는 야자박과 팜박의 건물 체외회장소화율을 증가시켰는데($p < 0.05$), 이는 β -mannanase의 기질인 β -mannan 함량이 야자박과 팜박에서 각각 약 25% 및 35%로 비교적 높기 때문이다[7,29]. β -Mannanase 첨가는 야자박의 조단백질 체외회장소화율($p = 0.051$) 및 팜박의 조단백질 체외회장소화율($p = 0.042$) 또한 증가시켰는데, 기질의 분해로 단백질 분해효소들의 침투를 용이하게 만든 결과라고 해석할 수 있다[22]. 본 연구에서 조단백질의 체외회장소화율을 측정할 이유는 동물 체내에서 아미노산의 소화·흡수가 회장 말단까지 이루어지며, 대장으로 넘어간 미소화 아미노산은 아미노산 전이반응이나 탈아미노화로 인해 변질될 수 있기 때문에 동물실험에서 T-캐놀라를 활용하여 회장소화율을 측정하는 것과 같은 이유이다[30].

본 연구에서 β -mannanase를 첨가하였을 때 야자박의 건물 체외회장소화율을 증가시키는 경향이 나타났다($p = 0.073$; Table 3). 하지만, 체외회장소화율과는 다르게 야자박 및 팜박의 건물 체외회장소화율에서 xylanase 및 β -mannanase 첨가의 상호작용 효과는 나타나지 않았다. 3-Step

Table 3. *In vitro* total tract disappearance (%) of dry matter and organic matter in test ingredients

Item	Xylanase (XU/g):	0	0	150	150	SEM	p-value		
	β-Mannanase (U/g):	0	600	0	600		Xylanase	β-Mannanase	Xylanase × β-mannanase
Wheat									
Dry matter		88.6	88.9	87.6	88.5	0.5	0.198	0.225	0.529
Organic matter		88.8	89.1	88.0	89.0	0.4	0.562	0.933	0.324
Copra meal									
Dry matter		75.5	76.1	75.1	76.0	0.3	0.494	0.073	0.672
Organic matter		76.6	76.9	76.0	76.8	0.3	0.364	0.148	0.428
Palm kernel expellers									
Dry matter		45.3	45.6	45.8	45.2	0.5	0.905	0.768	0.414
Organic matter		45.8	46.4	46.7	46.1	0.5	0.295	0.175	0.480

Each least squares mean represents 3 observations.
XU, xylanase unit; U, unit.

체외소화 실험법에서 2-step 실험법과는 다르게 다당류 복합효소인 Viscozyme®을 투입하여 대장 소화를 모방하는 과정이 추가되기 때문에, 기질의 소실률이 증가하였을 것으로 보이며 결국 xylanase 및 β -mananase의 효과가 희석되었을 것으로 보인다[8,31].

본 연구에서 진행한 체외소화 실험법은 돼지의 체내 소화과정을 모방하도록 설계된 실험 방법으로서, 동물 실험 데이터와의 강한 상관관계를 기반으로 결과의 높은 신빙성을 기대할 수 있다. 하지만 실제 동물의 실험 환경 등과 같은 외부적 요인을 반영하는 데 한계가 존재하므로, 본 연구에서 실험한 xylanase 및 β -mananase를 배합비에 적용하기 위해서는 추가적인 동물실험을 통해 돼지의 사양성적, 영양소 이용성 및 장건강에 미치는 영향을 조사할 필요가 있다.

결론

결론적으로, xylanase 및 β -mannanase를 함께 첨가했을 때, 야자박 및 팜박의 건물 체외회장소화율 증가에서 시너지 효과가 나타났다. β -Mannanase 첨가는 야자박과 팜박에서 건물 및 조단 백질의 체외회장소화율을 증가시켰다. 본 체외소화 실험 결과를 바탕으로 추가적인 동물실험을 통해 xylanase 및 β -mananase를 함께 첨가하는 것이 돼지의 사양성적, 영양소 이용성 및 장건강에 미치는 영향을 조사할 필요가 있다.

REFERENCES

1. NRC. Nutrient requirements of swine. 11th ed. Washington, DC: National Academies Press; 2012.

2. Kim H, Jang M, Park M, Park S, Kim J, Kim YY. Domestic swine farm: benefits of reducing crude protein in swine diets. Anim Ind Technol. 2024;11:39-44. <https://doi.org/10.5187/ait.2024.11.1.39>

3. Son AR, Park CS, Kim BG. Determination and prediction of digestible and metabolizable energy concentrations in byproduct feed ingredients fed to growing pigs. Asian-Australas J Anim Sci. 2017;30:546-53. <https://doi.org/10.5713/ajas.16.0607>

4. Son J, Park N, Kim BG. Energy utilization of corn, oilseed meals, and fibrous ingredients can be predicted by multi-sample simultaneous *in vitro* assay for growing pigs. *Anim Feed Sci Technol.* 2024;309:115903. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2024.115903>
5. Kim J, Jo YY, Kim BG. Energy concentrations and nutrient digestibility of high-fiber ingredients for pigs based on *in vitro* and *in vivo* assays. *Anim Feed Sci Technol.* 2022;294:115507. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2022.115507>
6. Navarro DM, Abelilla JJ, Stein HH. Structures and characteristics of carbohydrates in diets fed to pigs: a review. *J Anim Sci Biotechnol.* 2019;10:39. <https://doi.org/10.1186/s40104-019-0345-6>
7. Kwon WB, Kim BG. Effects of supplemental beta-mannanase on digestible energy and metabolizable energy contents of copra expellers and palm kernel expellers fed to pigs. *Asian-Australas J Anim Sci.* 2015;28:1014-9. <https://doi.org/10.5713/ajas.15.0275>
8. Park CS, Son J, Kim BG. Effects of supplemental β -mannanase on *in vitro* disappearance of dry matter in feed ingredients for swine. *Anim Ind Technol.* 2022;9:35-40. <https://doi.org/10.5187/ait.2022.9.1.35>
9. Liu S, Ma C, Liu L, Ning D, Liu Y, Dong B. β -Xylosidase and β -mannosidase in combination improved growth performance and altered microbial profiles in weanling pigs fed a corn-soybean meal-based diet. *Asian-Australas J Anim Sci.* 2019;32:1734-44. <https://doi.org/10.5713/ajas.18.0873>
10. Kim JS, Ingale SL, Hosseindoust AR, Lee SH, Lee JH, Chae BJ. Effects of mannan level and β -mannanase supplementation on growth performance, apparent total tract digestibility and blood metabolites of growing pigs. *Animal.* 2017;11:202-8. <https://doi.org/10.1017/S1751731116001385>
11. Cheng H, Li Z, Zhang F, Liu S, Jiang Q, Chen J, et al. Effects of xylanase on growth performance, nutrient digestibility, serum metabolites, and fecal microbiota in growing pigs fed wheat-soybean meal-based diets. *J Anim Sci.* 2022;100:skac270. <https://doi.org/10.1093/jas/skac270>
12. Tiwari UP, Chen H, Kim SW, Jha R. Supplemental effect of xylanase and mannanase on nutrient digestibility and gut health of nursery pigs studied using both *in vivo* and *in vitro* models. *Anim Feed Sci Technol.* 2018;245:77-90. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2018.07.002>
13. Koo SM, Lee E, Lee JH, Jo S, Jang JC. Assessment of feed ingredient value using precision nutrient analysis. *Anim Ind Technol.* 2024;11:13-23. <https://doi.org/10.5187/ait.2024.11.1.13>
14. Boisen S, Fernández JA. Prediction of the apparent ileal digestibility of protein and amino acids in feedstuffs and feed mixtures for pigs by *in vitro* analyses. *Anim Feed Sci Technol.* 1995;51:29-43. [https://doi.org/10.1016/0377-8401\(94\)00686-4](https://doi.org/10.1016/0377-8401(94)00686-4)
15. Song YS, Kim H, Kim BG. Estimation of dry matter and crude protein residues originating from exogenous digestive enzymes based on the amounts of pepsin and pancreatin used in 2-step *in vitro* digestibility procedures for non-ruminants. *Anim Feed Sci Technol.* 2024;309:115895. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2024.115895>
16. Boisen S, Fernández JA. Prediction of the total tract digestibility of energy in feedstuffs and pig diets by *in vitro* analyses. *Anim Feed Sci Technol.* 1997;68:277-86. [https://doi.org/10.1016/S0377-8401\(97\)00058-8](https://doi.org/10.1016/S0377-8401(97)00058-8)
17. AOAC. Official Methods of Analysis. 21st ed. Gaithersburg, MD: Association of

- Official Analytical Chemists International; 2019.
18. Pham TKT, Yoo SB, Song YS, Do DL, Kim SK, Kim BG. Prediction equations for estimating nutrient digestibility of feed ingredients based on in vitro procedures for pigs. *Anim Ind Technol.* 2025;12:53-64. <https://doi.org/10.5187/ait.2025.12.1.53>
 19. Jo H, Sung JY, Kim BG. Effects of supplemental xylanase on in vitro disappearance of dry matter in feed ingredients for swine. *Rev Colomb Cienc Pecu.* 2021;34:316-23. <https://doi.org/10.17533/udea.rccp.v34n4a08>
 20. Park KR, Park CS, Kim BG. An enzyme complex increases in vitro dry matter digestibility of corn and wheat in pigs. *Springerplus.* 2016;5:598. <https://doi.org/10.1186/s40064-016-2194-5>
 21. Ha DU, Choi H, Kim BG. Supplemental protease improves in vitro disappearance of dry matter and crude protein in feather meal and copra meal for pigs. *Rev Bras Zootec.* 2020;49:e20200095. <https://doi.org/10.37496/rbz4920200095>
 22. Lv JN, Chen YQ, Guo XJ, Piao XS, Cao YH, Dong B. Effects of supplementation of β -mannanase in corn-soybean meal diets on performance and nutrient digestibility in growing pigs. *Asian-Australas J Anim Sci.* 2013;26:579-87. <https://doi.org/10.5713/ajas.2012.12612>
 23. Gilbert HJ, Stålbrand H, Brumer H. How the walls come crumbling down: recent structural biochemistry of plant polysaccharide degradation. *Curr Opin Plant Biol.* 2008;11:338-48. <https://doi.org/10.1016/j.pbi.2008.03.004>
 24. Sundu B, Kumar A, Dingle J. Feeding value of copra meal for broilers. *Worlds Poult Sci J.* 2009;65:481-92. <https://doi.org/10.1017/S0043933909000348>
 25. Düsterhöft EM, Voragen AG, Engels FM. Non-starch polysaccharides from sunflower (*Helianthus annuus*) meal and palm kernel (*Elaeis guineensis*) meal—preparation of cell wall material and extraction of polysaccharide fractions. *J Sci Food Agric.* 1991;5: 411-22. <https://doi.org/10.1002/jsfa.2740550309>
 26. Balasubramaniam K. Polysaccharides of the kernel of maturing and matured coconuts. *J Food Sci.* 1976;41:1370-3. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.1976.tb01174.x>
 27. Whiting IM, Pirgozliev V, Bedford MR. The effect of different wheat varieties and exogenous xylanase on bird performance and utilization of energy and nutrients. *Poult Sci.* 2023;102:102817. <https://doi.org/10.1016/j.psj.2023.102817>
 28. Beg Q, Kapoor M, Mahajan L, Hoondal G. Microbial xylanases and their industrial applications: a review. *Appl Microbiol Biotechnol.* 2001;56:326-38. <https://doi.org/10.1007/s002530100704>
 29. Alshelmani MI, Loh TC, Foo HL, Lau WH, Sazili AQ. Biodegradation of palm kernel cake by cellulolytic and hemicellulolytic bacterial cultures through solid state fermentation. *Sci World J.* 2014;2014:729852. <https://doi.org/10.1155/2014/729852>
 30. Kim SW, Deng Z, Choi H. Advances of nutritional technologies and science in pig production. *Anim Ind Technol.* 2024;11:45-55. <https://doi.org/10.5187/ait.2024.11.1.45>
 31. Kong C, Park CS, Kim BG. Effects of an enzyme complex on in vitro dry matter digestibility of feed ingredients for pigs. *Springerplus.* 2015;4:261. <https://doi.org/10.1186/s40064-015-1060-1>