

琉球大学学術リポジトリ

土壌から分離された放線菌による甘蔗バガスヘミセルロースの分解について(農芸化学科)

メタデータ	言語: 出版者: 琉球大学農学部 公開日: 2008-02-14 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 安田, 正昭, 宮里, 興信, 島袋, 政朋, Yasuda, Masaaki, Miyazato, Koshin, Shimabukuro, Masatomo メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/20.500.12000/4092

土壌から分離された放線菌による甘蔗 バガスヘミセルロースの分解について

安田正昭*・宮里興信*・島袋政朋*

Masaaki YASUDA, Koshin MIYAZATO, Masatomo SHIMABUKURO:
On the decomposition of hemicellulose of sugar-cane bagasse by
Streptomyces sp. isolated from soils

I 緒 言

キシロース系多糖類は、セルロースとともに植物細胞壁の主要構成成分であり、特に木材やイネ科植物体にはその含量が高く、キシランあるいはヘミセルロースと呼ばれている。筆者ら²¹⁾は前報において甘蔗バガスのセルロース、ヘミセルロース及びリグニン含量等について調べるとともにバガスのヘミセルロースがキシロース及びアラビノースなどから成ることから、バガスは低カロリー甘味料として重要なキシロースの製造原料として有効であることを指摘した。我々は、酵素による農産廃棄物の利用化を目的として甘蔗バガスヘミセルロース分解酵素について検討を行っている。

バガス利用に関しては、パルプ³⁾、フルフラール¹⁰⁾、活性炭²⁾などの製造原料として利用する試みの他に、バガスを微生物学的に利用する試みもなされている。当山ら¹⁷⁻²⁰⁾は、アルカリ処理バガスを炭素源とした微生物の菌体生産について報告している。

木材のキシラン、イネワラのアラビノキシランを加水分解する反応を触媒する酵素については糸状菌や放線菌を用いて研究が行われているが、甘蔗バガスのヘミセルロースを加水分解する酵素についてはほとんど研究が行われていない。今回甘蔗バガスから調製したヘミセルロースを資化分解する微生物を検索した結果、ヘミセルロース分解活性の高い放線菌が土壌から分離された。本報では分離された菌株の培養条件を調べるとともに本菌株が生産するヘミセルラーゼの性質について検討したので報告する。

II 実験方法

1. 基質の調製

1) ヘミセルロースの調製

基質に用いるヘミセルロースは次のような方法で甘蔗バガスから調製した。

(1) ホロセルロースの調製

甘蔗バガスを風乾しウィレー氏粉碎機により調製した。40-60メッシュのふるいにかけた試料バガス(550g)をアルコール:ベンゼン(1:2容)混合液に加え、還流冷却器を付して60±5℃で28hr脱脂を行った。この脱脂バガスを0.5%シュウ酸アンモニウムにより85℃、3hr抽出を行い、残渣を亜塩素酸ナトリウムで処理(75±5℃、60min、3回)して脱リグニンを行った。脱リグニンバ

* 琉球大学農学部農芸化学科

ガスをモイレ法¹⁶⁾によりリグニンの不検出を確認後熱水抽出 (100°C, 8 hr, 1回)を行い,更に Cl^- がなくなるまで十分に水洗した。最後にアセトンにより洗浄後風乾してホロセルロースとした (収量, 300 g)。

(2) ヘミセルロースの調製

ホロセルロース (300 g) に5% KOH 溶液 6 ℓを加え窒素ガス気流中で, 25°C, 24 hr 振とう抽出を行い汚過した。汚液に酢酸を加えて微酸性 (pH 5.9) にし, 80%濃度になるようにアルコールを添加し一夜放置した。生じた沈澱物を遠心分離で集め 40°Cで真空乾燥を行い粗ヘミセルロース 56 gを得た。この5% KOH 溶液による抽出物 (粗ヘミセルロース) を基質として使用した。5% KOH 抽出残渣を更に 10% KOH 溶液により同様の抽出操作を行い 36 gの粗ヘミセルロースを得た。

2. 放線菌の分離とスクリーニング

1) 放線菌の分離

ブドウ糖アスパラギン寒天培地 (ブドウ糖 1.0%, アスパラギン 0.05%, KH_2PO_4 0.05%, 寒天 2.0%, pH 7.0) を用いて寒天平板培養法により土壌から放線菌を分離した。分離された菌株は上記同組成の培地にペプトン 1.0%を加えた斜面培地に採り保存した。

2) スクリーニング

甘蔗バガスから調製したヘミセルロース 2.0%, 酵母エキス 0.05%, KH_2PO_4 0.1%, $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 0.01%の培地 (pH 8.5) 5 mlを ϕ 18 mmの試験管にとり 120°C, 20 min 殺菌後土壌より分離した放線菌及び本学農学部農芸化学科応用微生物学研究室保存の放線菌株を接種し 30°C, 72 hr 振とう培養を行い, 培養液中のヘミセルラーゼ活性の高い菌株を検索した。

3. 酵素液の調製

2, 2) で述べた方法により放線菌を培養し, 12,000 rpm, 15 min 遠心分離により菌体を除去した培養液を 0.01 M クエン酸 — 0.02 M リン酸塩緩衝液 (pH 7.0) で1夜透析した。透析中に生じた不溶物を遠心分離により除去し, 清澄液を粗酵素液として使用した。

4. タンパク質の定量

酵素液中のタンパク質の定量は Lowryら⁸⁾の方法に準じて行った。

5. ヘミセルラーゼ活性の測定

酵素反応混液の組成は, 甘蔗バガスから調製した1%ヘミセルロース 3.0 ml, McIlvaine氏緩衝液 (pH 7.0) 1.0 ml, 粗酵素液 1.0 mlとし, 37°C, 60 min 酵素反応を行い生成した還元力を Somogyi-Nelson 法^{11), 14)}により比色定量しキシロースとして計算した。酵素単位は, 上記条件下で反応1分間に 1 μ molのキシロースを生成する酵素量と定義し, 比活性はタンパク質 1 mg あたりの単位数で表わした。

6. ペーパークロマトグラフィー

ペーパークロマトグラフィーは東洋紙No.51を用い上昇法により三重展開を行った。展開剤は n-ブタノール: エタノール: 水 (9:1:10 v/v/v) を用い, アニリン水素フタル酸塩¹³⁾で呈色した。

III 実験結果及び考察

1. 放線菌のヘミセルラーゼ活性

沖縄県下さとうきび畑土壌から分離された放線菌ならびに保存放線菌株を甘蔗バガスから調製したヘミセルロース (2.0%) を含むペプトン培地で 30°C, 72 hr 振とう培養を行い, ヘミセルロース分解活性について検討した結果を Table I に示した。比較的高い酵素活性を示した菌株は *Streptomyces* sp. No 131, No 68, No 63 などであった。以下の実験では供試菌株で最も高い酵素活性を示した *Streptomyces* sp. No 131 菌株を使用した。

Table I. Distribution of hemicellulase in various strains of actinomycetes

Strains	Specific activity
<i>Mycobacterium avium</i> , Chester IFO 3145	0.01
<i>Nocardia corallina</i> , Waksman IFO 3338	0.17
<i>asteroides</i> IFO 3384	0.00
<i>Actinomyces auranticus</i> IFO 13017	0.00
<i>Streptomyces flavus</i> , Waksman et Henrici IFO 3359	0.00
<i>griseus</i> IFO 3102	0.00
<i>albus</i> ATTC 3004	0.01
<i>olivaceus</i> IFO 3409	0.04
<i>griseus</i> IFO 3430	0.00
<i>aureus</i> IFO 3175	0.00
<i>Streptomyces</i> sp. No. 131	2.50
68	1.88
63	1.76
73	1.67
9	0.65

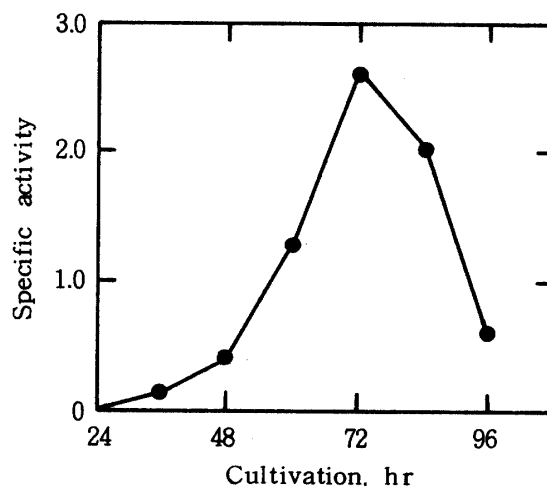
One hundred and sixty two strains of actinomycetes were tested for their abilities of hemicellulase production on the culture medium (pH 8.5) composed of 2% hemicellulose of sugar-cane bagasse, 1% peptone, 0.05% yeast extract, 0.1% KH_2PO_4 and 0.01% $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$. The actinomycetes were inoculated in 5 ml of the medium in a test tube. And the media were incubated at 30°C for 72 hr on a reciprocal shaker. The cells were removed by filtration and centrifugation. The clear supernatant was dialyzed against 0.01M citrate 0.02M Na_2HPO_4 buffer (pH 7.0) and employed as the enzyme source. The standard reaction system consisted of 3.0 ml of 1.0% hemicellulose of sugar-cane bagasse, 1.0 ml of McIlvaine buffer (pH 7.0), and 1.0 ml of enzyme solution was incubated at 37°C for 60 min. The reaction was terminated by addition of 1.0 ml of 0.1N NaOH to 1.0 ml of the reaction mixture. The amount of xylose liberated was determined by the method of Somogyi-Nelson. One unit of hemicellulase was defined as the amount of the enzyme which released 1 μmole of aldehyde group per min under the conditions mentioned above. The specific activity was expressed as unit per mg of protein.

2. 放線菌の培養時間と酵素活性

Streptomyces sp. Na 131 菌株をヘミセルロースを含むペプトン培地で各時間振とう培養し、ヘミセルラーゼ活性を調べた結果を Fig. 1 に示した。本酵素は培養24時間めから生成され、最も高い酵素活性は72時間めで得られた。以下の実験では、液体培地で *Streptomyces* sp. Na 131 菌体を 72 hr 振とう培養を行い培養液を酵素液として用いた。

Fig. 1. Effect of cultivation time on the production of hemicellulase by *Streptomyces* sp. Na 131.

Cultivation was carried out for the time indicated. Other conditions were the same as Table I.



3. 酵素生産に及ぼす培養液の初発 pH の影響

ヘミセルラーゼ生産に及ぼす培養液の初発 pH の影響について調べた結果、本酵素の生産力は培養液の水素イオン濃度に影響され、pH 8.5 付近において最大活性を示した。本酵素生産における最適 pH 範囲は狭く、pH 8.0 以下あるいは 9.0 以上では酵素生産力は低下した。これは Kawaminami ら⁵⁾ の *Streptomyces xylophagus* のキシラナーゼ生産の場合とよく一致しており、本菌の培養に際しては培地の初発 pH を厳密に管理する必要があるように思われる。尚、日下部ら⁷⁾ は、キシラナーゼ生産のために *Streptomyces* sp. を初発 pH 5.4 で培養している。

4. 酵素生産に及ぼす培養液中の炭素源の影響

ヘミセルラーゼ生産に及ぼす培養液中の炭素源の影響を調べるためにペプトンを含む基本培地に各種糖類を加え、*Streptomyces* sp. Na 131 菌株の培養を行った。Table II から明らかなように本酵素生産力は培地中の糖類の影響を受けており、酵素活性は培地中のヘミセルロースあるいはバガスのアルカリ抽出液により増大していることが明らかとなった。アラビナン、蔗糖などによっても見かけ上酵素活性の増大が見られるが、恐らく他の酵素（例えばアラビノシダーゼなど）が生成されたものと考えられるが詳細については不明である。キシロース、アラビノースなどは見るべき効果がなかった。福本ら¹⁾ は *Aspergillus niger* を穀で培養してヘミセルラーゼを抽出しているが、本菌においては穀の効果はさほど見られなかった。

酵素生産に及ぼす培地中のヘミセルロース濃度の影響について調べた所、本酵素活性は培地中のヘミセルロース濃度に依存し、2%濃度で最大の活性を示した。尚、無添加の場合には酵素生産は見られなかった。これらのことから、本酵素は培地中のヘミセルロースによって誘導的に生成されたものと思われる。

Table II. Effect of carbon sources on the production of hemicellulase by *Streptomyces* sp. No. 131^a

Carbon source	Specific activity	Relative growth ^b
Arabinose	0.02	+
Xylose	0.03	+
Glucose	0.00	++
Galactose	0.00	++
Sucrose	0.30	++
Starch	0.00	++
Pectin	0.00	++
Arabinan	0.40	++
hemicellulose of bagasse	2.50	++
Bran extract ^c	0.23	++
Bagasse extract ^d	0.28	++

^a*Streptomyces* sp. No. 131 was grown on the indicated carbon source (2%) for 72 hr. Other conditions were the same as Table I.

^bSymbols: ++, grow well; +, grow.

^cBran extract was prepared by boiling 50 g of bran for 1 hr; the solid matter was removed from the suspension and the supernatant fluid was adjusted to 1 liter.

^dBagasse extract was prepared by boiling 50 g of sugar-cane bagasse with 5% KOH solution for 1 hr, and the solid matter was removed from the suspension. The supernatant fluid was neutralized with dilute HCl, and adjusted to 1 liter.

5. 酵素活性に及ぼす pH の影響と酵素の安定性

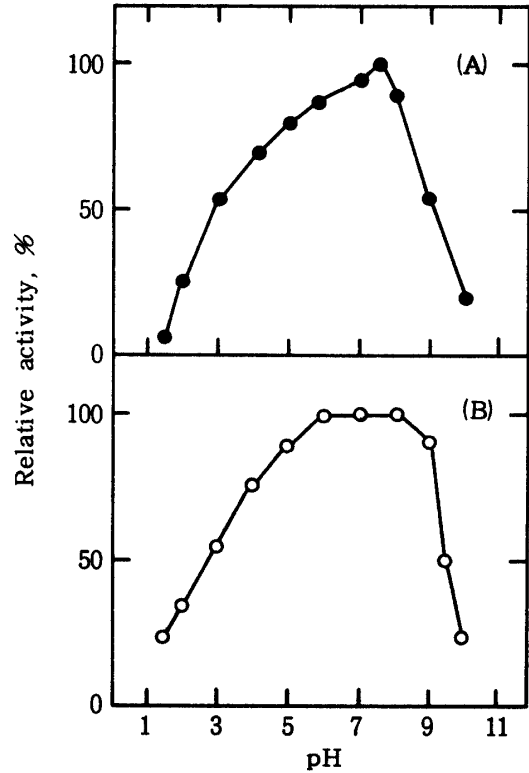
ヘミセルラーゼ活性と pH との関係を知る為に各 pH で酵素反応を行い酵素活性を調べた (Fig. 2 (A))。最も高い酵素活性は pH 7.5 付近で得られ、pH 5 以下あるいは pH 8.0 以上では活性が低下した。*Aspergillus niger*¹⁾ の精製ヘミセルラーゼは 3 種類あり、最適 pH はそれぞれ 3.5, 5.0, 5.5 であることが報告されている。*Trichoderma viride* のキシラナーゼの最適 pH は 4.2 付近であった。放線菌^{4), 7)} のキシラナーゼにおいては、最適 pH は 5~6 付近が多い。*Streptomyces* sp. No. 131 菌株の酵素の最適 pH はこれらの酵素に比べて高いことが明らかになった。

酵素液を各 pH で 50°C, 10 min 加温した後 pH 7.5 で酵素活性を調べた (Fig. 2 (B))。本酵素は pH 5.0~9.0 で安定であり、pH 3 あるいは pH 9.5 においても 50% の残存活性を示した。放線菌のキシラナーゼは pH 5~8 の範囲内で安定である場合が多い^{4), 7)}。

Fig. 2. Effect of pH on activity of hemicellulase (A) and the enzyme stability (B).

The enzyme was prepared from *Streptomyces* sp. No 131. The activity was assayed at various pHs (A). The enzyme was incubated at various pHs and 50 °C for 10 min, and the activity was then assayed at pH 7.5 (B).

Buffers used: Sodium citrate-HCl, pH 1.5-3.0; Citrate-phosphate, pH 3.0-7.0; Potassium-phosphate buffer, pH 7.0-8.0; Tris-HCl, pH 8.0-9.0; $\text{Na}_2\text{CO}_3\text{-NaHCO}_3$, pH 9.0-10.0.



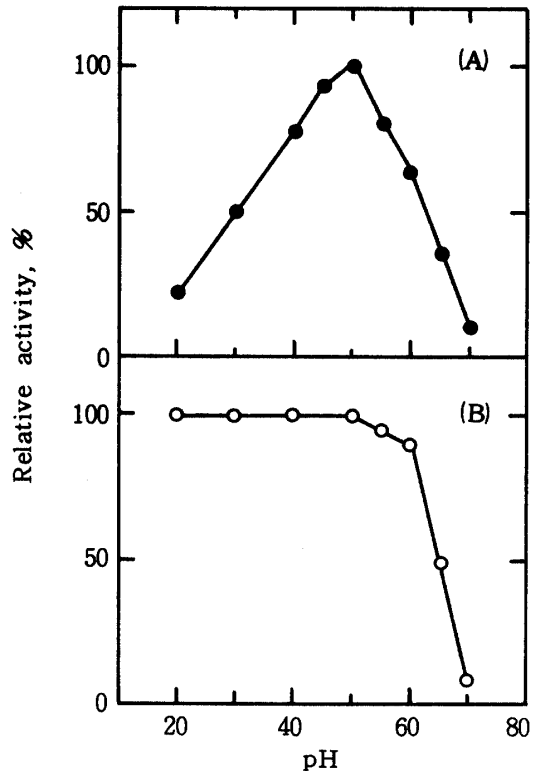
6. 酵素活性に及ぼす温度の影響と酵素の安定性

ヘミセルラーゼ活性と温度との関係を調べる為に各温度で酵素反応を行い酵素活性を調べた(Fig. 3 (A)). 本菌の生産するヘミセルラーゼの最適温度は50 °Cであり, *Malbranchea pulchella*⁹⁾のキシラナーゼと似た傾向を示したが, 他の放線菌^{4), 7)}のキシラナーゼと比べてかなり低いことがわかった。

酵素液を pH 7.5 に調製し各温度で 10 min 保持

Fig. 3. Effect of temperature on activity of hemicellulase (A) and the enzyme stability (B).

The enzyme was prepared from *Streptomyces* sp. No 131. The activity was assayed at various temperatures (A). The enzyme was incubated at various temperatures and at pH 7.5 for 5 min, and the activity was then assayed. Other assay conditions were the same as Table I.



した後の残存活性を調べた (Fig. 3(B))。本酵素は 50℃ まで安定であり、60℃ 以上では急激な熱失活を受けた。

7. 酵素によるバガスヘミセルロースの分解

甘蔗バガスヘミセルロースに対する本酵素の反応生成物をペーパークロマトグラフィーにより調べた結果を Fig. 4 に示した。検出された糖のスポットはアニリン水素フタル酸塩の発色試薬によりすべて桃色を呈したのでペントースあるいはそのオリゴ糖であると考えられる。

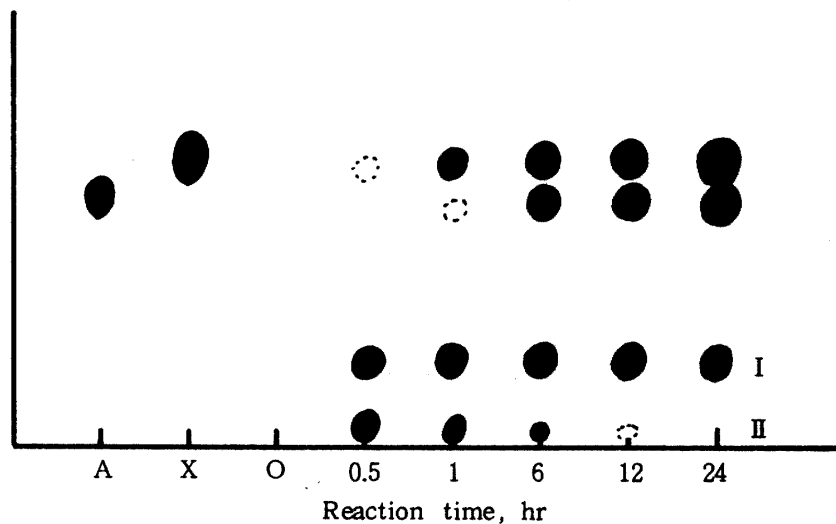


Fig. 4. Paper chromatogram of reducing sugars in the digests of sugar-cane hemicellulose with the enzymes from *Streptomyces* sp. No 131.

The enzyme reactions were carried out as described in the legend of Table I. The samples digested were spotted on a Toyo filter paper No 51. The paper was developed three times by the ascending method using the solvent system of $n\text{-BuOH}:\text{EtOH}:\text{H}_2\text{O}$ (9:1:10). The spots were detected by aniline hydrogen phthalate.

X, A, I and II indicate D-xylose, L-arabinose, oligo saccharide I and oligo saccharide II, respectively.

本酵素反応において二種類のペントースのオリゴ糖が検出され、Rf 値の高い方と低い方をそれぞれオリゴ糖 I, オリゴ糖 II と名付けた。Fig. 4 から明らかなように、反応初期においてはキシロース, アラビノースのスポットはほとんど見られなかったが、時間の経過とともにキシロースとアラビノースが約等モルずつ生成され、それとともにオリゴ糖 II は消失した。しかし、オリゴ糖 I は長時間 (24 hr) 酵素反応を行ってもそれ以上分解は進行しなかった。これらのことからバガスヘミセルロースは *Streptomyces* sp. No 131 菌株の酵素により次のように分解されるものと思われる。

基質である甘蔗バガスヘミセルロースはアラビノキシランであることが考えられる²¹⁾ ので、主鎖のキシランに本菌の生産するヘミセルラーゼが作用し、任意の大きさのオリゴ糖に切断され、あるものは更にキシロースにまで分解されるものと思われる。一方、これらのオリゴ糖がその非還元性末端で

α -L-アラビノフラノシド結合をしている場合には、 α -L-アラビノフラノシダーゼ¹⁵⁾の作用によりアラビノースが遊離されるものと思われる。尚、オリゴ糖 I は本菌のヘミセルラーゼによってはこれ以上分解を受けることは出来ない。このオリゴ糖の平均重合度については今後検討する予定である。日下部ら⁷⁾が調べた放線菌のキシラナーゼはキシランに対する最終反応産物がキシロピオースとキシロースであり、該放線菌はキシロピオースおよびフェニルキシロシドを分解する酵素を菌体外にほとんど分泌しなかった。細菌の精製液化型アラビナーゼ⁶⁾の1, 5-アラビナンに対する加水分解反応の最終生産物はアラビノピオースとアラビノースと報告されており、本酵素の場合には液化型キシラナーゼと呼ぶのが適当であるように思われる。

本酵素の特性を利用して甘蔗バガスのヘミセルロースからキシロオリゴ糖の調製が可能である。しかし、バガスから低甘味原料として重要なキシロースを調製する為には、液化型キシラナーゼの他に糖化型キシラナーゼ活性の高い菌株も検索する必要がある。また、純粋なキシロースを得る為にはヘミセルロース中のアラビノースを遊離させる酵素、 α -L-アラビノフラノシダーゼ^{15), 22)}についても同時に考慮する必要がある。

IV 要 約

放線菌のヘミセルラーゼ活性を調べた結果、さとうきび畑土壌から分離された *Streptomyces* sp. No 131. 菌株が最も高い活性を有することがわかった。 *Streptomyces* sp. No 131 菌株を甘蔗バガスのヘミセルロース (2%) を含むペプトン培地 (初発 pH 8.5), 30°C, 72 hr 振とう培養を行うことによりヘミセルラーゼがよく生産された。本酵素は培地中の甘蔗バガスヘミセルロースにより誘導生成された。

本菌の生産するヘミセルラーゼは、甘蔗バガスヘミセルロースを加水分解しキシロオリゴ糖とキシロースを生成する酵素で、液化型キシラナーゼである。本酵素の反応最適 pH は 7.5 で、反応最適温度は 50°C であった。

本研究を遂行するにあたり有益な御助言を賜わり、御便宜をはかっていただいた本学農学部農芸化学科当山清善教授、清水俊秀元教授、小波本直忠助教授ならびに香川大学農学部農芸化学科梶明教授に感謝します。

参 考 文 献

1. 福本寿一郎, 辻阪好夫, 竹西繁行 1970 ヘミセルラーゼに関する研究 (第1報) *Aspergillus niger* のヘミセルラーゼの精製とその性質, 農化 44: 447~456.
2. Gayol, J. 1970 Evaluation of bagasse as starting material for the manufacture of active carbon, I.S.J., 864: 379~379.
3. Gonin, C. R. 1975 Utilization of sugar cane bagasse in the pulp and paper industry. Trial pulping experiments, I. S. J., 915: 94~94.
4. Iizuka, H. and Kawaminami, T. 1965 Studies on the xylanase from *Streptomyces*. Part I. Purification and some properties of xylanase from *Streptomyces xylophagus* nov. sp., Agric. Biol. Chem., 29: 520~524.
5. Kawaminami, T. and Iizuka, H. 1969 Studies on xylanase from microorganisms Part III.

- Production of xylanase by *Streptomyces xylophagus* nov. sp., Agric. Biol. Chem., 33 : 1787 ~ 1789.
6. Kaji, A. and Saheki, T. 1975 Endo-arabinanase from *Bacillus subtilis* F-11, Biochim. Biophys. Acta 410 : 354 ~ 360.
 7. 日下部功, 安井恒男, 小林達吉 1969 *Streptomyces* 属の Xylanase 系に関する研究(第1報) 菌体外放線菌 Xylanase の諸性質について, 農化 43 : 145 ~ 153
 8. Lowry, O. H., Rosebrough, N. J., Farr, A. L. and Randall, R. J. 1951 Protein measurement with the folin phenol reagent, J. Biol. Chem., 193 : 265 ~ 275.
 9. 松尾勝, 安井恒男, 小林達吉 1975 高温糸状菌のキシラナーゼ(第1報) *Malbranchea pulchella* var. *Sulfurea* No. 48 によるキシラナーゼ生産とそれによるキシランの糖化, 農化 49 : 263 ~ 270
 10. Nee, C. I. and Yeh, W. F. 1975 Furfural and levulinic acid concomitantly from bagasse pith, I. S. J., 913 : 28 ~ 28.
 11. Nelson, N. 1944 A photometric adaptation of the Somogyi method for the determination of glucose, J. Biol. Chem., 153 : 19 ~ 23.
 12. 乃村和宏, 安井恒男, 清岡繁夫, 小林達吉 1968 *Trichoderma viride* のキシラナーゼ, 酵素反応の一般的性質およびキシラン糖化の予備実験, 醸工 46 : 634 ~ 640
 13. Partridge, S. M. 1949 Aniline hydrogen phthalate as a spraying reagent for chromatography of sugars, Nature, 164 : 443 ~ 443.
 14. Somogyi, M. 1952 Notes on sugar determination, J. Biol. Chem., 195 : 19 ~ 23.
 15. Tagawa, K. and Kaji, A. 1969 Preparation of L-arabinose-containing polysaccharides and the action of an α -L-arabinofuranosidase on these polysaccharides, Carbohyd. Res. 11 : 293 ~ 301.
 16. 東京大学農学部林産化学教室編 1956 林産化学実験書, 初版, p. 103 ~ 104, 産業図書株式会社
 17. 当山清善, 保井美恵子 1969 甘蔗バガスの利用に関する研究, 第1報 甘蔗バガスの微生物による分解について, 琉大農学報 16 : 147 ~ 155
 18. 当山清善, 宮里興信, 金城均 1972 甘蔗バガスの利用に関する研究, 第2報 バガス分解カビの分離ならびに酵素的性質, 琉大農学報 19 : 279 ~ 290
 19. 当山清善, 与那覇和雄, 池間洋一郎, 上原初枝 1976 甘蔗バガスの利用に関する研究, 第3報 泡盛麹菌のバガス分解酵素について, 琉大農学報 23 : 195 ~ 203
 20. 当山清善, 与那覇和雄, 上原初枝 1977 甘蔗バガスの利用に関する研究, 第4報 バガスを炭素源とする泡盛麹菌の培養, 琉大農学報 24 : 253 ~ 261
 21. 安田正昭, 金城棟秀, 比嘉賀得, 清水俊秀 1977 沖縄産甘蔗バガスの化学組成とその多糖類について, 琉大農学報 24 : 269 ~ 274
 22. 安田正昭, 宮里興信, 菊池修二 1980 土壌から分離された放線菌によるテンサイ粕アラビナンの分解について, 琉大農学報 27 : 109 ~ 117

Summary

The production and some properties of the enzyme hydrolyzing the hemicellulose of sugar-cane bagasse by *Streptomyces* sp. were described. The production of the enzyme was investigated with 162 strains of the actinomycetes isolated from soils of sugar-cane fields in Okinawa. The highest production of the enzyme was found in the culture fluid of *Streptomyces* sp. No. 131. In order to find the medium conditions required for the improvement of the enzyme production by this strain, the organism was grown in the medium containing the hemicellulose of sugar-cane bagasse. The best enzyme production was obtained when the organism was grown in the medium (initial pH 8.5) containing the hemicellulose (2%) at 30°C for 72 hr under aerobic conditions. When the hemicellulose of sugar-cane bagasse was hydrolyzed with the hemicellulase, oligo saccharide of xylose and xylose were liberated. The enzyme had the maximum reactivity at about pH 7.5 and 50°C for the hemicellulase reaction.