



Title	Rhizopus 属による有機酸醱酵に関する研究 (第1報)
Author(s)	佐々木, 西二; 高尾, 彰一
Citation	北海道大學農學部邦文紀要, 3(1), 70-75
Issue Date	1958-03-14
Doc URL	<a href="http://hdl.handle.net/2115/11647">http://hdl.handle.net/2115/11647</a>
Type	bulletin (article)
File Information	3(1)_p70-75.pdf



[Instructions for use](#)

# Rhizopus 属による有機酸醱酵に関する研究 (第1報)

佐々木 西 二\*  
高尾 彰 一\*

## Studies on the Organic acid fermentation by *Rhizopus*. (Part 1)

By

Yûji SASAKI  
Shôichi TAKAO

(Institute of Applied Mycology, Faculty of Agriculture,  
Hokkaido University)

### 緒 論

微生物による有機酸醱酵の種類は甚だ多く、それらの中には実際応用の面からも有用なものが少くない。

*Rhizopus* 属黴による有機酸醱酵もその代表的なもの1つで、これらの黴が糖類からフマル酸又は乳酸を大量に生成することから、醱酵生理学的興味と共に実際工業的生産の面についても注目され、幾多の研究が行われて来たのである。

併も黴によるフマル酸又は乳酸の生成は極めて少数の例外を除き、殆どがこの *Rhizopus* 属黴によつてのみ生成されることが知られている。

即ち、黴によるフマル酸生成は Ehrlich<sup>1)</sup> (1911) が *Mucor stolonifer* (*Rhizopus nigricans*) を用いて始めてその生成を認めて以来、*Rh. nigricans*<sup>4,6,7,9,10)</sup>, *Rh. oryzae*<sup>2)</sup>, *Rh. formosensis*<sup>2)</sup>, *Rh. candidus*<sup>2)</sup>, *Rh. chungkuoensis*<sup>2)</sup>, *Rh. hangchow*<sup>2)</sup>, *Rh. chiuniang*<sup>2)</sup>, *Rh. Delemar*<sup>2,11)</sup>, *Rh. niveus*<sup>2)</sup>, *Rh. albus*<sup>2)</sup>, *Rh. formosensis var. chlamydosporus*<sup>2)</sup>, *Rh. tonkinensis*<sup>2)</sup>, *Rh. japonicus*<sup>3,5)</sup>, *Rh. fumaricus*<sup>5)</sup>, *Rh. javanicus*<sup>10)</sup>, *Rh. achlamydosporus*<sup>10)</sup>, その他の *Rhizopus* sp.<sup>2,8,10)</sup> の外に、*Circinella* sp.<sup>7)</sup>, *Cunninghamella* sp.<sup>7)</sup>, *Mucor* sp.<sup>7)</sup>, *Aspergillus fumarius*<sup>12)</sup>, *Asp. oryzae*<sup>13)</sup>, *Asp. glaucus*<sup>14)</sup>, *Asp. wentii*<sup>15,16)</sup>, *Asp. flavus*<sup>16)</sup>, *Asp. oniki*<sup>16)</sup>, *Penicillium griseo-fulvum*<sup>17)</sup>, *Penicillium* sp.<sup>18)</sup>, *Caldari-*

*omyces fumago*<sup>19)</sup> 等によつてもフマル酸の生成されることが認められているが、*Rhizopus* 属以外の黴の中、*Circinella*, *Cunninghamella*, *Mucor* はいづれも *Rhizopus* 属と同じく *Mucorales* に入るものであり、その他の黴は大部分が *Rhizopus* 属に比し著しく生酸量の低いことが知られている。

一方、黴の乳酸生成については Eijkmann<sup>20)</sup> (1894) が *Mucor rouxii* の生成酸を乳酸と推定、Chrzaszcz<sup>21)</sup> (1901) がこれを確認し、又 Boullanger<sup>22)</sup> (1899) が *Lactomyces* (現在では *Rhizopus* と思われている) による乳酸生成の特許を得て以来、*Rh. chinensis*<sup>23,30)</sup>, *Rh. salebrosus*<sup>2)</sup>, *Rh. batatas*<sup>3,10,28,30)</sup>, *Rh. nodosus*<sup>3,28,30)</sup>, *Rh. arrhizus*<sup>26)</sup>, *Rh. nodosus* 又は *Rh. arrhizus*<sup>27)</sup>, *Rh. tritici*<sup>3,26,28)</sup>, *Rh. shanghaiensis*<sup>3,28)</sup>, *Rh. japonicus*<sup>25,28)</sup>, *Rh. oryzae*<sup>26,28,29,30)</sup>, *Rh. nigricans*<sup>28)</sup>, *Rh. javanicus*<sup>28)</sup>, *Rh. pseudochinensis*<sup>28)</sup>, *Rh. tamari*<sup>28)</sup>, *Rh. thermosus*<sup>10,28,30)</sup>, *Rh. tonkinensis*<sup>28)</sup>, *Rh. semarangensis*<sup>28)</sup>, *Rh. Peka I.*<sup>28)</sup>, *Rh. niveus*<sup>28)</sup>, *Rh. artocarp*<sup>28)</sup>, *Rh. microsporus*<sup>28)</sup>, *Rh. suinus*<sup>28)</sup>, *Rh. usamii*<sup>28)</sup>, *Rh. hangchow*<sup>30)</sup>, *Rhizopus* sp.<sup>2,10,24,28,30)</sup> 等の *Rhizopus* 属の外、これらと同じ *Mucorales* に入る *Mucor plumbeus*<sup>31)</sup>, *M. corymbifer*<sup>31)</sup>, *M. racemosus*<sup>31)</sup>, *Mucor* sp.<sup>31)</sup> についても乳酸の生成が認められているが、その他の黴としては *Monilia tamari*<sup>32)</sup>, *Blastocladia pringsheimii*<sup>33)</sup> 等ごく少数のものについてのみその生成が報告されているに過ぎない。

以上の如く黴によるフマル酸又は乳酸の生成は、

\* 北海道大学農学部応用菌学教室

その大半が *Rhizopus* 属によつて占められているが、更に高橋、坂口<sup>2)</sup> (1925) は *Rhizopus* 属をその生成酸の種類によつて、殆んどフマル酸のみを生ずるもの、殆んど乳酸のみを生ずるもの、両酸を混成するものに3大別し得ると報告している。

前記各種の *Rhizopus* については、従来それらの醱酵諸条件、醱酵機構或いは實際応用の諸問題に関し幾多の研究が行われ、就中醱酵機構に関しては他の有機酸代謝とも関連しアイソトープの利用等によつて近年その研究は著しい成果をおさめつつある。

併しこれら多くの研究にも拘らず、例えばフマル酸生成菌株と乳酸生成菌株との間の酵素化学的或いは遺伝学的な差異、好気及び嫌気状態における代謝機構の差異等にはなお幾多未解明の問題が残されており、他方これら *Rhizopus* 属による工業的有機酸生産についても種々検討すべき点が残るのである。

以上の点から著者等は *Rhizopus* 属による有機酸醱酵の代謝機構に関する疑点を究明すべく、又實際応用の面からも生酸能の大きな菌株を見出すべく、先づ多数の *Rhizopus* 属及び、これと近縁の *Mucor* 属も取上げ、これらについてフマル酸及び乳酸生成菌株の選択試験を行つたのでその結果をここに報告する。

## 実 験

### 実験 I. 酸生成菌株の第1次選択試験

#### 1. 供試菌株

北大応用菌学教室保存の *Rhizopus* 属 43 株、及びこれと近縁の *Chlamydomucor* 属 1 株、*Mucor* 属 16 株、計 60 株で第1表に示す如きものである。

試験培養液に接種するための前培養としては、葡萄糖加用馬鈴薯寒天に 32°C、7日間斜面培養したものをを用いた。

#### 2. 培養基

試験培養液は Waksman 等<sup>27)</sup> (1937) が *Rhizopus* 属の酸生成に用いたものでその組成は、葡萄糖 100g、 $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  5g、 $\text{K}_2\text{HPO}_4$  1g、 $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  0.5g、 $\text{FeCl}_3$  0.02g、水 1000cc である。

#### 3. 培養並びに試験方法

上記組成の培養液 40cc 宛を 150cc 容三角フラスコに注入、殺菌後、各菌株を3白金鉤宛接種し 32°C で培養を行つた。又、これと同時に生成酸の蓄積を考慮し、徹接種時予め滅菌した沈降性  $\text{CaCO}_3$  を 2g 宛添加したのものについても培養試験を行つた。培養後、日を追つて徹の発育状態、培養液中の様相を観察し、

$\text{CaCO}_3$  無添加のものについては予備実験より生成酸度の略最高に達する培養 14 日後に、又  $\text{CaCO}_3$  添加の場合は酸生成力の強弱を判定し得ると思われる培養 10 日後に夫々酸生成の程度を測定した。

酸度の測定は、 $\text{CaCO}_3$  無添加の場合は培養液 5cc をフェノールフタレインを指示薬とし N/10 NaOH で滴定して求めたが、 $\text{CaCO}_3$  を添加した際にはアルカリ液で直接滴定することは出来ず、又従来有機酸類の分別定量に用いられている長時間のエーテル抽出による方法は多数の菌株について酸生成菌株の選択を行う場合、種々な点で困難を伴うので、次の如き簡便法で測定を行つた。即ち、培養終了後、菌体を熱水でよく洗滌して除去し、この洗滌液は培養液と合し、接種時に添加した  $\text{CaCO}_3$  と丁度当量の 1N- $\text{H}_2\text{SO}_4$  40cc を正確に加え、一夜 27°C に放置して充分反応させた後、暫時煮沸して反応を完全にすると共に生成  $\text{CO}_2$  を駆逐する。

生じた  $\text{CaSO}_4$  の沈澱は濾過し、洗滌後濾液を一定量にし、このうちより 5cc をとつてフェノールフタレインを指示薬として N/10 NaOH で滴定しこれより培養液 5cc 中の、Ca から遊離された有機酸酸度を求めた。

前記の如く、*Rhizopus* 属にはフマル酸或いは乳酸を大量に生成するもののあることが知られているが、フマル酸石灰は難水溶性、これに反し乳酸石灰は可溶性であるため、著者等の方法による場合、 $\text{CaCO}_3$  添加培養液中で若し針状結晶塊が多量に析出し、しかも上述の方法による酸度の高いものはフマル酸生成大、又液中に結晶を生せず酸度の高いものは乳酸生成が大であるとの推定を下し得るのであり、多数の菌株の生酸能の選択を比較的簡単に且つ可成りの精度で行い得ると考えられる。

#### 4. 結果

結果は第1表に示す如くである。 $\text{CaCO}_3$  を添加しない場合はいづれの培養においても酸度低く、酸生成菌株を選択することは困難であつたが、これに対し  $\text{CaCO}_3$  を添加した場合は高い生酸能を現わす菌株が多数認められた。

表中 \* 印を付した 10 菌株、即ち *Rh. acidus* (R. 110), *Rh. chinensis* (R. 36, R. 108), *Rh. Delemar* (R. 106), *Rh. japonicus* (R. 103), *Rh. javanicus* (R. 131), *Rh. Peka II* (R. 116), *Rhizopus* sp. (R. 129, R. 130), *Chlamydomucor javanicus* (R. 39) は培養液中に多量の針状結晶塊を生じフマル酸生成

第 1 表 第 1 次 選 択 試 験 結 果

菌株 記号	菌 種 名	酸 度 cc		菌株 記号	菌 種 名	酸 度 cc	
		CaCO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	CaCO <sub>3</sub> <sup>+</sup>			CaCO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	CaCO <sub>3</sub> <sup>+</sup>
1 R. 110	<i>Rh. acidus</i>	1.45	26.4*	31 R. 122	<i>Rh. tonkinensis</i>	1.3	15.4
2 R. 15	<i>Rh. batatas</i>	1.85	19.0	32 R. 123	"	1.9	15.7
3 R. 109	"	1.1	14.0	33 R. 124	"	1.3	13.6
4 R. 34	<i>Rh. boreas</i>	1.7	8.4	34 R. 11	<i>Rh. tritici</i>	1.7	12.6
5 R. 36	<i>Rh. chinensis</i>	1.9	28.0*	35 R. 27	"	1.85	11.9
6 R. 108	"	1.4	30.1*	36 R. 28	"	1.7	14.5
7 R. 41	<i>Rh. chungkuoensis</i>	1.5	11.0	37 R. 32	"	1.75	17.1
8 R. 106	<i>Rh. Delemar</i>	1.6	24.8*	38 R. 37	"	1.9	13.6
9 R. 20	<i>Rh. formosensis</i>	1.2	13.4	39 R. 120	"	1.9	13.8
10 R. 18	<i>Rh. hangchow</i>	1.6	13.6	40 R. 121	"	1.75	15.2
11 R. 21	<i>Rh. japonicus</i>	1.3	19.6	41 R. 125	<i>Rh. Usamii</i>	1.8	17.5
12 R. 22	"	1.3	17.1	42 R. 129	<i>Rhizopus</i> sp.	1.4	25.2*
13 R. 103	"	1.6	24.1*	43 R. 130	<i>Rhizopus</i> sp. (G. 34)	1.6	28.7*
14 R. 131	<i>Rh. javanicus</i>	1.5	22.4*	44 R. 39	<i>Chlamydomucor javanicus</i>	1.65	29.0*
15 R. 29	<i>Rh. Kansho</i>	1.8	15.4	45 M. 4	<i>Mucor alpinus</i>	0	0
16 R. 101	<i>Rh. nigricans</i>	1.8	13.6	46 M. 11	<i>Mucor circinelloides</i>	1.3	2.8
17 R. 102	"	1.2	4.5	47 M. 10	<i>Mucor dimorphosporus</i>	1.3	1.7
18 R. 7	<i>Rh. niveus</i>	1.7	2.1	48 M. 2	<i>Mucor erectus</i>	1.4	2.1
19 R. 8	<i>Rh. nodosus</i>	1.4	10.6	49 M. 13	<i>Mucor hiemalis</i>	2.2	2.8
20 R. 40	"	1.5	9.8	50 M. 1	<i>Mucor Janseni</i>	0.9	1.9
21 R. 112	"	1.7	15.5	51 M. 7	<i>Mucor javanicus</i>	1.6	2.8
22 R. 6	<i>Rh. oryzae</i>	1.6	22.7	52 M. 5	<i>Mucor mandshuricus</i>	1.4	2.4
23 R. 31	"	1.5	18.5	53 M. 12	<i>Mucor plumbeus</i>	0.7	1.3
24 R. 113	"	1.6	14.7	54 M. 3	<i>Mucor Prainii</i>	0.8	1.7
25 R. 114	"	1.5	16.1	55 M. 15	<i>Mucor pusiellus</i>	0.8	4.5
26 R. 116	<i>Rh. Peka II</i>	1.6	22.0*	56 M. 6	<i>Mucor racemosus</i>	1.2	2.5
27 R. 117	<i>Rh. pseudochinensis</i>	0.6	3.1	57 M. 19	<i>Mucor Satagenerensis</i>	1.0	3.8
28 R. 118	"	0.7	1.4	58 M. 18	<i>Mucor tubes</i>	0.8	3.8
29 R. 119	<i>Rh. reflexus</i>	2.05	7.3	59 M. 8	<i>Mucor</i> I. Nakazawa	1.0	2.4
30 R. 23	<i>Rh. thermosus</i>	1.8	11.2	60 M. 9	<i>Mucor</i> II. Nakazawa	0.5	0.5

\* フ マ ー ル 酸 石 灰 結 晶 塊 析 出

能が大きいのと思われるものであり、一方結晶塊を全く生ぜず併も生酸度の高い *Rh. oryzae* (R. 6), *Rh. japonicus* (R. 21), *Rh. batatas* (R. 15) 等は乳酸生成能の大きい菌株であろうと推定される。

*Mucor* 属の各菌株は  $\text{CaCO}_3$  を添加して培養しても、いづれも生酸度極めて低く、それ故酸生成菌株としては用い得ないものと思われる。

**実験 II. 酸生成菌株の第2次選択試験**

先の実験結果からフマル酸又は乳酸を多量に生成すると思われる菌株を選択し得たので、次にこれら菌株を用い更にフマル酸、乳酸を直接定量することにより、酸生成菌株の最終的選択試験を行つた。

1. 供試菌株並びに培養基

第1次選択試験において培養液中に針状結晶塊を多量析出しフマル酸生成能が大きいのと思われる 10 菌株のうち、生酸度の高いものより 5 株、即ち *Rh. acidus* (R. 110), *Rh. chinensis* (R. 36, R. 108), *Rhizopus* sp. G. 34 (R. 130), *Chlamydomucor javanicus* (R. 39), 及び結晶を析出せず生酸度高い故に乳酸生成能が大きいのと思われる 3 菌株、即ち、*Rh. oryzae* (R. 6), *Rh. batatas* (R. 15), *Rh. japonicus* (R. 21) を選び使用した。

前培養並びに選択試験に用いた培養基は前記実験の場合と全く同じである。

2. 培養並びに試験方法

培養は沈降性  $\text{CaCO}_3$  を添加し第1次選択試験の場合と同様に行つたが、分析を酸生成の最高に達する培養時期に行うため、予め各菌株共 7, 10, 14, 17, 20,

23 日間培養したものについて前記滴定法で生酸度を試験した。その結果、すべての菌株が 14 日後略最高の酸度に達することを認めたので、この第2次選択試験では 14 日間培養のものについて発育状態、培養液中の様相を観察すると共に、菌体乾燥重量、消費糖量、揮発酸酸度、フマル酸及び乳酸の測定等を行つた。

即ち 14 日間培養後菌体を除去洗滌し 110°C で乾燥、秤量し、又培養液中の残糖量を Bertrand 法で定量、硫酸酸性水蒸気蒸溜の溜出液を N/10 NaOH で滴定して揮発酸酸度を求め、蒸溜残液は減圧濃縮後液体エーテル抽出器で 50 時間抽出した。その後エーテル可溶部よりエーテルを駆逐し残渣が結晶のみの場合はフマル酸の存在が予想されるので、各種定性試験によつてフマル酸なることを確認後、熱水より再結を繰返し乾燥秤量してフマル酸量とした。

又エーテル駆逐残渣が液状の場合は乳酸、その中に結晶の存するときはフマル酸の混在が考えられるので両酸について確認試験後、これを熱水に溶かし Ba 塩に導き、80% アルコールで処理し、可溶部と不溶部に分けた。不溶部には乳酸バリウムが存在するので  $\text{H}_2\text{SO}_4$  を添加して生ずる  $\text{BaSO}_4$  を定量し、これより乳酸量を算出した。一方、不溶部には少量の HCl を加えて放冷し、析出する結晶を集め熱水より再結した後フマル酸量を求めた。

フマル酸の定性確認にはレゾルシン硫酸法、ハイドロキノン硫酸法、 $\beta$ -ナフトール硫酸法を用い、乳酸には Hopkins 反応、Denigè 反応、Hoffmann 反応、Uffelmann 反応を用いた。

第 2 表 第 2 次 選 択 試 験 結 果

菌株 記号	菌 種 名	消費糖量 g	菌体重量 g	揮発酸* 酸 度 cc	酸 量		菌体/ 消費糖 ×100 %	酸量/消費糖×100	
					フマル 酸 g	乳 酸 g		フマル 酸 %	乳 酸 %
1	R. 110 <i>Rh. acidus</i>	4.000	0.242	3.6	1.144	0	6.05	28.60	0
2	R. 36 <i>Rh. chinensis</i>	4.000	0.284	1.2	1.286	0	7.10	32.15	0
3	R. 108 "	3.869	0.242	2.0	1.205	0	6.25	31.14	0
4	R. 130 <i>Rhizopus</i> sp. (G. 34)	4.000	0.332	3.2	0.682	0	8.30	17.05	0
5	R. 39 <i>Chlamydomucor javanicus</i>	3.918	0.230	1.6	0.777	0	5.87	19.83	0
6	R. 6 <i>Rh. oryzae</i>	4.000	0.342	5.6	0	1.608	8.55	0	40.20
7	R. 15 <i>Rh. batatas</i>	4.000	0.361	3.6	0	1.216	9.03	0	30.40
8	R. 21 <i>Rh. japonicus</i>	4.000	0.380	12.0	0.094	1.194	9.50	2.35	29.85

\* 全培養液 40 cc 当り

## 3. 結果

第2次選択試験の結果は第2表に示す如くである。

最も多くフマル酸を生成した菌株は *Rh. chinensis* (R. 36) で培養 14 日間で対糖 32.15% の収率を示した。これについては *Rh. chinensis* (R. 108), *Rh. acidus* (R. 110) がフマル酸生成量多く, *Rhizopus* sp. G. 34 (R. 130), *Chlamydomucor javanicus* (R. 39), はこれらより可成り生酸量が少かつた。

この選択試験に用いたフマル酸生成菌株 5 株中, *Rh. chinensis* (R. 36, R. 108), *Chlamydomucor javanicus* (R. 39) の 3 株は従来フマル酸生成能の報告されたことのないものである。

一方, 乳酸生成量の最も多いものは, *Rh. oryzae* (R. 6) で対糖 40.20% の収率を上げ, *Rh. batatas* (R. 15) がこれに次ぎ, *Rh. japonicus* (R. 21) は乳酸の他に少量のフマル酸を混成する菌株であることが確認された。

静置培養 14 日間で対糖 32.15% のフマル酸又は 40.20% の乳酸収率はいづれも従来の報告に匹敵する高収率であるが, 今後培養液の組成, 培養条件等の改良によつて更に生酸能を高め, 収量の増大, 醗酵期間の短縮をはかることも充分可能と考えられるのである。

## 要 括

北大応用菌学教室保存の *Rhizopus* 属 43 株, *Chlamydomucor* 属 1 株, *Mucor* 属 16 株について, フマル酸及び乳酸生成能の大きな菌株の選択試験を行つた。

その結果, フマル酸生成菌株として *Rh. chinensis* 2 株, *Rh. acidus*, *Rhizopus* sp. G. 34, *Chlamydomucor javanicus* 各 1 株を, 又乳酸生成菌株として *Rh. oryzae*, *Rh. batatas* 各 1 株を, フマル酸と乳酸を混成する菌株として *Rh. japonicus* 1 株を夫々選択した。

フマル酸を最も多量生成した *Rh. chinensis* は  $\text{CaCO}_3$  を添加した静置培養 14 日間で対糖 32.16%, 又乳酸生成量の最も多い *Rh. oryzae* は 40.20% の収率を示した。

フマル酸生成菌株中, *Rh. chinensis* 及び *Chlamydomucor javanicus* は従来フマル酸生成能の報告されたことのない菌株である。

## 文 献

- 1) F. Ehrlich: Ber., 44, 3737 (1911).
- 2) 高橋, 坂口: 日農化, 1, 344 (1925).
- 3) 高橋, 坂口: 日農化, 2, 396 (1926).
- 4) W. Butkewitsch and M. W. Federoff: Biochem. Z., 206, 440 (1929).
- 5) 宮路, 金子: 醸造学雑誌, 13, 207 (1935).
- 6) K. Bernhauer and H. Thole: Biochem. Z., 287, 167 (1936).
- 7) J. W. Foster and S. A. Waksman: J. Am. Chem. Soc., 61, 127 (1939).
- 8) 小原: 醸造学雑誌, 22, 348 (1944).
- 9) J. W. Foster and J. B. Davis: J. Bact., 56, 329 (1948).
- 10) 相田, 朝井: 醸酵協会誌, 7, 185 (1949).
- 11) J. Rauch, J. N. Miksch, R. Mielke-Miksch and K. Bernhauer: Biochem. Z., 320, 390 (1950).
- 12) C. Wehmer: Ber., 51, 1663 (1918).
- 13) 坂口: 日農化, 4, 129 (1928).
- 14) 佳木: 日農化, 5, 513 (1929).
- 15) 坂口: 日農化, 6, 317 (1930).
- 16) 佳木: 日農化, 7, 819 (1931).
- 17) H. Raistrick and P. Simonart: Biochem. J., 27, 628 (1933).
- 18) 一刀: 日農化, 9, 552 (1933).
- 19) P. W. Clutterbuck, S. L. Mukhopadhyay, A. E. Oxford and H. Raistrick: Biochem. J., 34, 664 (1940).
- 20) C. Eijkmann: Cent. Bakt. Parasitenk., Abt. I, 16, 97 (1894).
- 21) T. Chruszcz: Cent. Bakt. Parasitenk., Abt. II, 7, 326 (1901).
- 22) E. Boullanger: British Patent 13,439 (1899), German Patent 118063 (1901).
- 23) K. Saito: Cent. Bakt. Parasitenk., Abt. II, 29, 289 (1911).
- 24) F. Ehrlich: Ber., 52, 63 (1919).
- 25) E. Kanel: Microbiology USSR., 3, 259 (1934).
- 26) G. E. Ward, L. B. Lockwood, O. E. May and H. T. Herrick: J. Am. Chem. Soc., 58, 1286 (1936).

- 27) S.A. Waksman and I.J. Hutchings: J. Am. Chem. Soc., **59**, 545 (1937).
- 28) 北原, 福井: 醸工誌, **27**, 218 (1949).
- 29) K. Bernhauer, J. Rauch and J.N. Miksch: Biochem. Z., **320**, 178 (1950).
- 30) 坂口, 高橋, 片岡: 日農化, **25**, 180 (1951).
- 31) 高橋, 朝井: Cent. Bakt. Parasitenk., Abt. II, **89**, 81 (1933).
- 32) 宮路: 各務研報告, **10**, 1 (1930).
- 33) R. Emerson and E.C. Cantino: Am. J. Botany, **35**, 157 (1948).

### Summary

From 43 strains of *Rhizopus*, 1 strain of *Chlamydomucor* and 16 strains of *Mucor*, we selected 8 strains which have notable capacity

of producing fumaric or lactic acid.

In these 8 strains, *Rh. chinensis* (R. 36, R. 108), *Rh. acidus* (R. 110), *Rh. sp.* (R. 130) and *Chlamydomucor javanicus* (R. 39) were found as the fumaric acid producing strains, especially *Rh. chinensis* (R. 36) gave the highest yield of fumaric acid, 32.15% to the consumed glucose, in the surface culture with  $\text{CaCO}_3$  at 32°C for 14 days.

By the way, it has not been reported that *Rh. chinensis* and *Chlamydomucor javanicus* produced fumaric acid.

*Rh. oryzae* (R. 6) and *Rh. batatas* (R. 15) were picked out as the lactic acid producing strains and the former gave the yield of this acid, 40.20%.

*Rh. japonicus* (R. 21) produced mostly lactic acid with small amounts of fumaric acid.