

RECHERCHES SUR LES METABOLISMES DES PYRUVATE ET CARBOHYDRATE PAR BACILLE LACTIQUE

III. Sur l'effet des glucides par bacille d'homolactique.

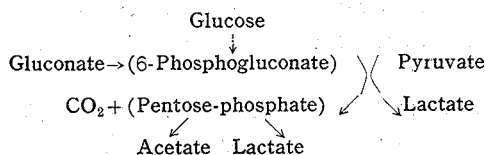
(2) Quelques remarques concernant des effets des glucides.

Kei YAMANAKA (Laboratoire de Microbiologie Technique)

(Reçu le 8 janvier, 1957)

Dans mon travail précédant⁽²⁸⁾, j'ai montré l'effet de glucose au cours de formation d'acétoïne au dépens de pyruvate par bacille d'homolactique (*L. bulgaricus*, et *L. casei*). À l'appareil de WARBURG, l'augmentation de gaz carbonique a été observé par cette bactéries à partir de pyruvate. Cette augmentation de gaz carbonique est accéléré notablement, quand on ajoute glucose avec pyruvate, mais la consommation d'O₂ est faible augmenté. Par bacille d'hétérolactique, chez *L. fermentum*, j'ai démontré la nouvelle réaction dismutasique entre pyruvate et gluconate⁽²⁷⁾. Dans cette système, le rapport entre augmentation du gaz carbonique, pyruvate utilisé, et lactate formé est 1:1:2. Les mêmes résultats ont obtenu avec glucose, 2-cétogluconate, et maltose. Mais galactose, xylose, et 5-cétogluconate ont été inactifs. Dans cette système, j'ai montré dont que la gluconate a été déshydrogéné en donnant l'acide lactique, l'acide acétique et le gaz

carbonique, en autre l'acide pyruvique a été réduit en l'acide lactique comme la formule suivante.



Le but du présent travail fut de rechercher d'effet des glucides par la formation d'acétoïne chez bacille d'homolactique.

TECHNIQUES EXPERIMENTALES

Souche bactérienne Les souches des lactobacilli employés sont *L. plantarum*, *L. bulgaricus*, et *Leuc. mesenteroides*.

Culture Ces microbes sont cultivés dans d'étuve à 37° C, en vases d'ERLERMEYER de 1 litre ou 3 litres contenant 08 ou 25 litres de milieu d'extrait du malt, respectivement.

La culture est fait pendant 40 heures, on sépare ensuite le milieu par centrifugation à la température ordinaire, on met suspension le culot bactérien dans l'eau distillée, et en centrifuge à nouveau. On répète ce lavage à deux fois. On met en suspension dans l'eau distillée, on l'homogénéise par agitation avec une bille de verre. Pour préparer la cellule sèche, on réunit la cellule bactérienne et dessèche sous vide. On détermine d'azote de cette suspension bactérienne par la microméthode de KJELDAHL.

Manométrie Je fais suivant la technique de WARBURG. Dans chaque fioles de WARBURG, on place 05 ml de cette suspension, 05 ml de tampon de phosphate M/10 à pH 6.0, et 0.1 ml de SO₄Mg de M/10, et renferme 0.2 ml de solution M ou M/2 de pyruvate de Na dans le bec latéral. Certaines fioles continnent 0.2 ml de solution à 20% de potasse dans leur compartiments centrales pour mesurer la consommation d'O₂. Pour examiner l'effet des glucides par la métabolisme de pyruvate, on ajoute 0.2 ml de solution de glucide à M/10 dans le bec latéral. La volume totale est 2.7 ml et toutes les fioles sont rempli d'air. L'incubation a lieu à 37°C pendant une heure et demie. Le gaz carbonique dégagé est indiqué en valeur de QCO₂(N) par la formule suivante.

$$Q_{CO_2}(N) = \frac{\text{Gaz carbonique dégagé (en } \mu\text{l)}}{\text{Durée d'essai (en heure)} \times \text{azote de cellule (en mg)}}$$

Acétoïne Pour détecter d'acétoïne et diacétyle, on emploie par la réaction de VOGES-PROSKAUER (V.P.) introduit par EGGLESTONE *et col.*⁽⁶⁾

RESULTATS

1. *L. plantarum*

En essai par la cellule intacte de *L. plantarum*, on observe que le dégagement du gaz carbonique est en grande, mais en contre, la consommation d'oxygène est si faible à partir de pyruvate. Ensuite, quand on l'ajoute la glucose et la pyruvate dans la suspension de cette cellule intacte en même temps, on le trouve que sont grande notablement l'augmentation du gaz carbonique dégagé et aussi même, celle d'acétoïne formée.

Des mêmes résultats sont observé avec fructose, mannose, et maltose. Mais il ne peut pas détecter ces effets avec galactose, xylose, arabinose, rhamnose, lactose et mannitole. Les Figures 1 et 2 montrent le dégagement du gaz carbonique en fonction du temps. Le gaz carbonique dégagé et l'oxygène consommé totales pendant 90 minutes se comparent dans le Tableau 1 en exprimant de la valeur "Q".

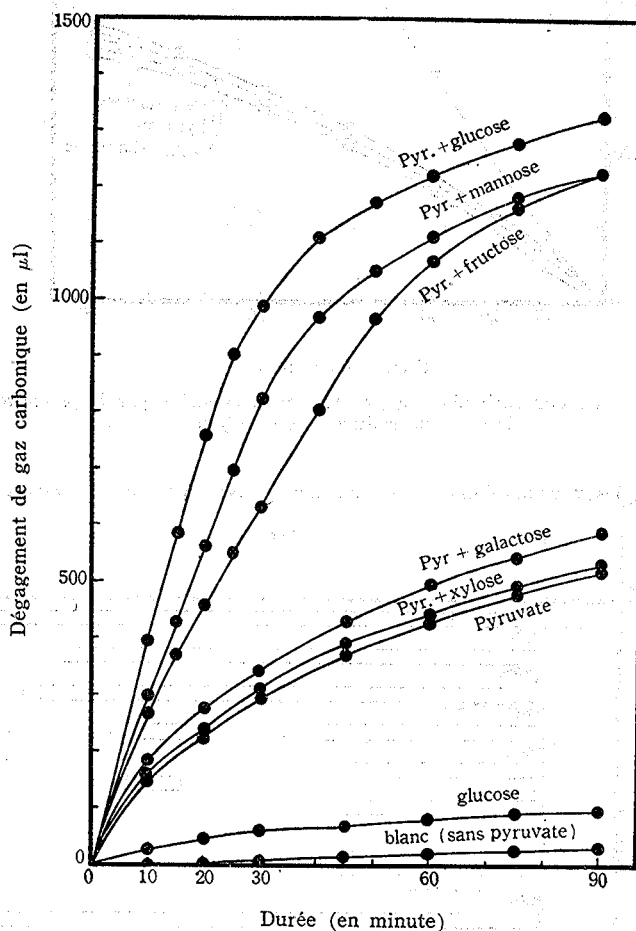


Figure 1. Dégagement de gaz carbonique à pyruvate avec glucides par *L. plantarum*. (cellule intacte)

D'azote de cellule=1.260 mg/fiole

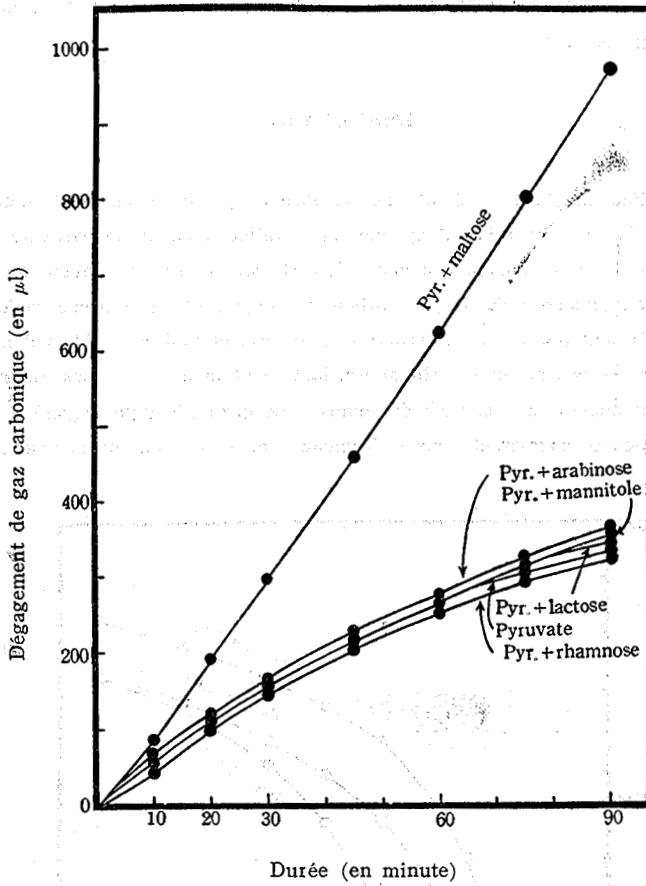
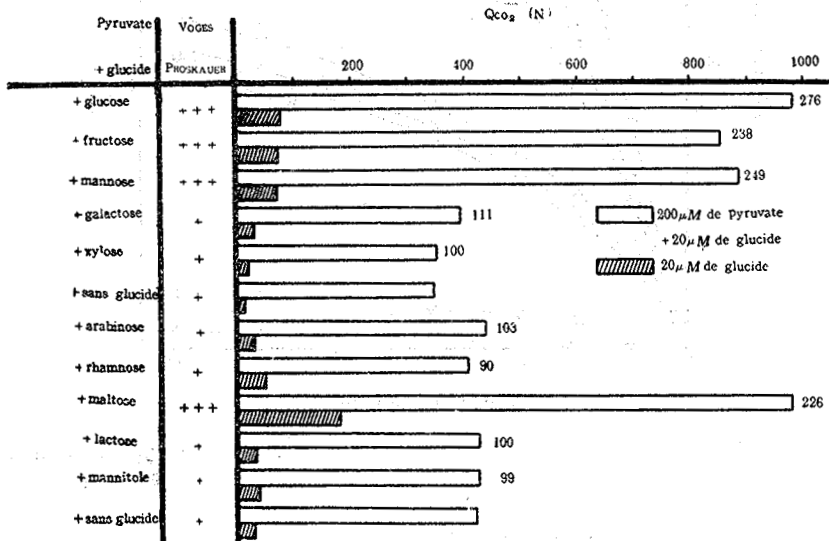


Figure 2. Dégagement de gaz carbonique à pyruvate avec glucides par *L. plantarum*. (cellule intacte)
D'azote de cellule=0.638 mg/fiole

Tableau 1. L'effet des glucides dans le métabolisme de pyruvate par *L. plantarum*. (intacte)



Ici d'ailleurs, cet effet est si faible par cette cellule sèche, et l'essai-témoin de V. P. est égal avec ou sans glucides comme montre dans les Tableaux 2 et 3.

Tableau 2. Effet des glucides dans le dégagement de gaz carbonique par *L. plantarum*. (intact)
(D'azote de cellule=1.260 mg/fiole)

Durée d'intervalle (min.)	Dégagement de CO ₂ à pyruvate plus (μl)				Durée (min.)	Rapport d'augmentation de CO ₂ * (%)		
	+Glucose	+Fructose	+Mannose	Sans glucide		+Glucose	+Fructose	+Mannose
0~10	397	253	235	155	10	242	170	181
10~20	364	194	270	73	20	317	191	232
20~30	223	173	259	65	30	322	204	266
30~40	119	170	148	46	40	296	221	263
40~50	67	165	87	46	50	292	240	261
50~60	50	105	53	40	60	276	238	249
60~70	40	66	46	30	75	262	233	238
70~80	33	55	40	30				
80~90	30	33	30	26	90	254	227	230

* montre par calculer suivant.

$$\frac{\text{CO}_2 (\text{pyruvate} + \text{glucide}) - \text{CO}_2 (\text{glucide})}{\text{CO}_2 (\text{pyruvate}) - \text{CO}_2 (\text{endogène})} \times 100$$

Tableau 3. Effet des glucides dans le métabolisme de pyruvate par *L. plantarum*. (séc)
(D'azote de cellule=1.418 mg/15 mg de cellule sèche)

Substrate	Sans pyruvate (A)		Avec pyruvate (B)		(B-A)/Pyr. × 100 (%)
	Q _{CO₂} (N)	Q _{O₂} (N)	Q _{CO₂} (N)	Q _{O₂} (N)	Q _{CO₂} (N)
Sans glucide	4.1	3.8	381	15.3	(100)
Glucose	10.1	7.6	388	23	102
Fructose	6.1	5.6	381	18	100
Mannose	4.9	4.7	389	24	102
Galactose	7.0	4.7	390	21.7	102
Xylose	5.2	3.8	376	23.2	99
Araïnose	2.9	2.8	334	20.7	101
Rhamnose	4.1	2.9	332	22.9	100
Maltose	2.9	3.8	390	21.3	102.5
Lactose	2.9	2.8	376	22.8	99
Mannitole	3.0	3.7	337	20.2	101.5

2. *L. bulgaricus*

Aussi mêmes résultats sont obtenu par la cellule intacte de *L. bulgaricus*, c'est-à-dire, du gaz carbonique dégagé et essai-témoin de V. P. augmentent avec l'addition des glucose, fructose, et mannose au pyruvate. Dans cet cas, additions des gluconate, 2-cétogluconate, 5-cétogluconaté et sucrose, on ne découvre pas cet effet par la formation d'acétoïne. On voit ici dégagement du gaz carbonique dans la Figure 3.

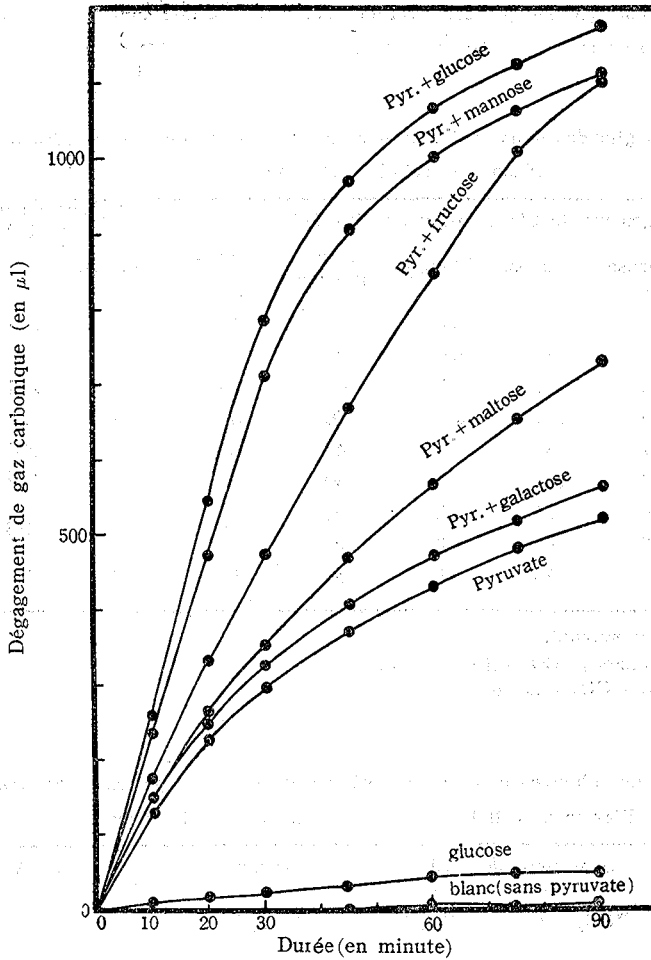


Figure 3 Dégagement de gaz carbonique à pyruvate avec glucides par *L. bulgaricus*. (cellule intacte)
D'azote de cellule=0.990 mg/ fiole

Les résultats sont illustré dans le Tableau 4 et donné dans le Tableau 5.

Tableau 4 L'effet des glucides dans le métabolisme de pyruvate par *L. bulgaricus*. (intacte)

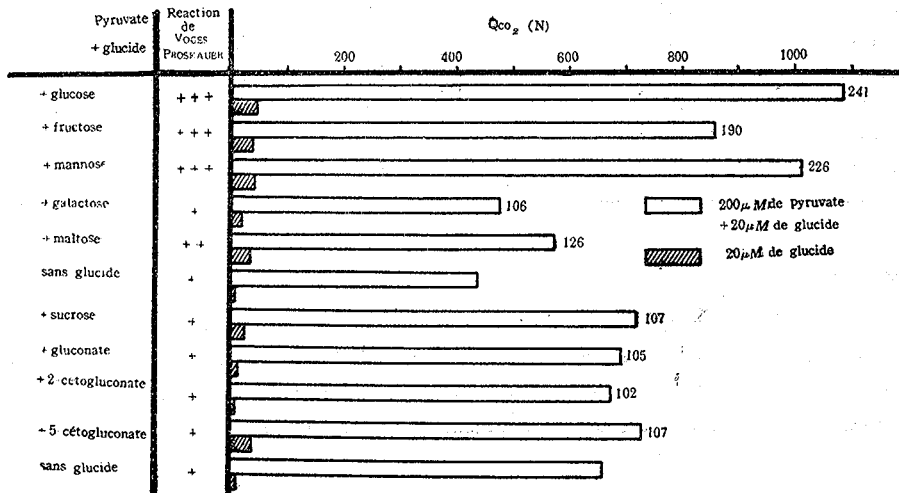


Tableau 5 Effet des glucides dans le dégagement de gaz carbonique par *L. bulgaricus*. (Intact)
(D'azote de cellule=0.990 mg/fiole)

Durée d'intervalle (min.)	Dégagement de CO ₂ à pyruvate plus (μl)					Durée (min)	Rapport d'augmentation de CO ₂ (%)			
	+ Glucose	+ Fructose	+ Mannose	+ Maltose	Sans glucide		+ Glucose	+ Fructose	+ Mannose	+ Maltose
0~10	261	178	236	150	134	10	192	130	174	111.5
10~20	284	186	237	113	92	20	237	144	206	113
20~30	248	144	241	91	69	30	264	157	237	116
30~40	140	130	150	90	50	45	255	174	237	121
40~50	85	120	80	70	40	60	241	190	226	126
50~60	60	100	45	55	30	75	229	204	214	130
60~70	40	100	40	55	30	90	220	206	207	134
70~80	40	100	40	55	30					
80~90	30	60	25	55	30					

3. *Leuc. mesenteroides*

Dans la cellule de *Leuc. mesenteroides*, une bacille d'hétérolactique, la dégagement du gaz carbonique est observé quand on l'ajoute glucose dans le mélange de réaction de pyruvate par cellule intacte et aussi sèche. Les mêmes résultats sont obtenu avec fructose, maltose, et sucrose; mais avec mannose, galactose, lactose, et xylose, on ne détecte pas les mêmes effets. Le résultat est montré dans le Tableau 6.

Tableau 6 Effet des glucides dans le métabolisme de pyruvate par *Leuc. mesenteroides*
(D'azote de cellule intacte=0.977 mg/fiole; sèche=1.524 mg/fiole)

Substrate	Cellule intacte					Cellule sèche				
	Sans pyruvate (A)		Avec pyruvate (B)		B-A/P (%)	Sans pyruvate (A)		Avec pyruvate (B)		B-A/P (%)
	Q _{CC₂} (N)	Q _{O₂} (N)	Q _{CC₂} (N)	Q _{O₂} (N)	V.P. Q _{CO₂} (N)	Q _{CO₂} (N)	Q _{O₂} (N)	Q _{CC₂} (N)	Q _{O₂} (N)	V.P. Q _{CO₂} (N)
—	2.9	1.8	306	92.8	+ (100)	1.3	0.1	120	13.5	+ (100)
Glucose	378	250	903	111	+ 173-179	38.1	21.9	344	12.0	+ 250-262
Fructose	353	239	905	95.8	+ 181-189	69.4	14.4	245	13.1	+ 147-150
Mannose	316	203	680	80.2	+ 112-119	11.1	6.9	139	14.0	+ 107-110
Galactose	15.8	14.8	312	87.3	+ 97-103	6.2	2.4	127	14.3	+ 104
Maltose	427	309	1028	90.3	+ 173-196	32.9	19.5	270	12.6	+ 193-203

Cette augmentation du gaz carbonique par addition de glucose est dû à la nouvelle dismutation de pyruvate et gluconate comme montré par *L. fermentum*, car la quantité d'acétoïne formée ne change pas dans tous les cas.

DISCUSSION ET CONCLUSION

La formation d'acétoïne par les microorganismes a fait l'objet des travaux nombreux. Dans le cas de culture, d'abord WAPOLE (1910)⁽²²⁾ a mis en évidence une transformation en 2,3-butanediol, qui avait été l'ajouté comme seul aliment carboné de milieu, d'acétoïne par *A. aerogenes* en aérobiose. Chez *B. proteus*, LEMOIGNE (1923)⁽²³⁾ a obtenu un accroissement de 2,3-butanediol en milieu de glucose-péptoné, et puis l'augmentation d'acétoïne aux dépens du 2,3-butanediol formé. WERKMAN (1930)⁽²⁵⁾ a observé cette formation en milieu de 2,3-butanediol par *Aerobacter*, MICHELSON et WERKMAN (1938)⁽¹¹⁾, STAHLEY et WERKMAN (1942)⁽²¹⁾ aussi même par *A. polymyxa* ont montré.

Par addition de bleu de méthylène aux cultures des bactéries, 2,3-butanediol formé à glucose a été oxydé en acétoïne, par *A. indologenes* de WOOD et WERKMAN (1942)⁽¹⁸⁾, par *A. aerogenes* de PARESTSKY et WERKMAN (1947)⁽¹⁷⁾.

Aux travaux signalés par lactobacilli, il convient d'ajouter ceux de MILLER et col. (1947)⁽¹²⁾, qui ont

étudié cette formation aux dépens de pyruvate par *St. faecalis*, 10Cl, dans le cas de l'addition d'arsenite; Chez même bactérie, de CAMPBELL et GUNSALUS (1944)⁽³⁾ qui a montré la formation d'acétoïne dans la fermentation de citrate.

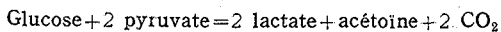
D'ailleurs, par cellules bactériennes, la production d'acétoïne chez *St. faecalis*, et *St. liquefaciens* par DAVIS (1939)⁽⁴⁾, chez *A. aerogenes* par SILVERMAN et WERKMAN (1941)⁽²⁰⁾, chez *Cl. acétobutylicum* par WILLSON et col. (1927)⁽²⁶⁾, chez *Staphylococcus aureus* par WATT et KRAMPITZ (1947)⁽²⁴⁾, et WATT (1949)⁽²³⁾, chez *B. subtilis* par LEMOIGNE et col. (1949)⁽¹⁰⁾ sont été montré.

La pH optimale est 5.5 ~ 6.0 de *St. faecalis*⁽⁵⁾; 5.5 ~ 5.7 de *Leuc. mesenteroides*⁽¹⁾; 4.6 en aérobiose, 3.7 en anaérobiose de *L. arabinosus*^(13,15); 3.9 de *L. plantarum*⁽¹⁹⁾; 5.9 d'*A. aerogenes*⁽⁷⁾. Si POF a été diminué dans la cellule, accumulation d'acétoïne en glucose a été démontré par cellule intacte de *St. faecalis*⁽¹⁶⁾. Tout d'abord KITAHARA (1949)⁽⁸⁾ a observé que la dégagement de gaz carbonique aux dépens de pyruvate a été augmenté par addition de glucose dans le suspension de cellule brute de *L. plantarum*. Puis la même observation par ROWATT (1951)⁽¹⁸⁾ a été démontré chez même bactérie. Ensuite, NOSSAL (1951)⁽¹⁴⁾ a montré que la dégagement du gaz carbonique par addition des Cl_2Mn , ClK et aussi glucose par *L. arabinosus*, 17-5, de même résultat par BLANCHARD (1950)⁽²⁾ a été montré.

L'exposé de NOSSAL, qui a prouvé aussi que fructose a été la même effet par la formation d'acétoïne, mais effet de fructose a été moins faible environ une demi que celui de glucose, est un seul travail sur effet de autre glucides outre glucose.

Puis NOSSAL⁽¹⁵⁾ a démontré qu'on n'a pourvu découvrir l'effet de glucose par les suspensions des cellules vieilles et sèches de *L. arabinosus*, 17-5. MOAT et LICHSTEIN (1953)⁽¹³⁾ a découverté que cette activité a été remarquablement augmenté quand on a l'incubé la suspension de cellule intacte avec glucose.

Dans les plusieurs résultats sur cet effet de glucose par lactobacilli, on n'expérimente pas l'effet d'autre glucides. Et, sur ce mécanisme de l'effet de glucose, KITAHARA (1949) propose la réaction suivante par *L. plantarum*.



Au contraire, NOSSAL⁽¹⁴⁾ et autre auteurs⁽¹⁹⁾ ont démontré que cet effet de glucose est catalitique.

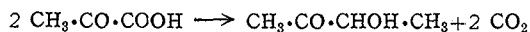
Dans ce travail présenté, j'observa le même résultat chez *L. bulgaricus* aussi chez *L. plantarum* par manométrique. Outre glucose, je montra que les mêmes effets des glucides que celui de glucose dans les cas des additions des fructose, mannose, et maltose, mais donc je ne pouvais expliquer pas sur cet effet.

Remerciements

Je suis heureux d'exprimer ici ma reconnaissance au M. Professeur H. KATAGIRI, Faculté d'agriculture, Kyoto Université, de leur suggestions et des facilités de travail qu'il m'a donné. Aussi je remercie vivement Professeur T. KUROKAMI, et Professeur K. KATAKURA.

ZUSAMMENFASSUNG

Wässrige Suspensionen von Zellen des *L. plantarum* und *L. bulgaricus* zerlegten Brenztraubensäure sehr schnell mit einer CO_2 -Bildung und einer Acetoin-Bildung auf die folgende Gleichung.



Während der Zusatz der Glukose von Pyruvate-Zellen-Mischung mit dieser Homo-Milchsäurebakterien brachtet die Zunahmen der Entstehung der CO_2 und Acetoin hervor, und die gleichen Effekte waren mit den Zusätze der Fruktose, Mannose, und Maltose beobachtet. Aber Galaktose, Laktose, Xylose, Arabinose, Rhamnose, Glukonsäure, 2-Ketoglukonsäure, und 5-Ketoglukonsäure hatten keine Effekte auf die Acetoin-bildung.

Dagegen mit getrocknete Zellen, Zusatz der alle dieser Zucker ziegten keine Effekte mehr von Acetoin- und CO_2 -Bildungen.

Andererseits mit der Zellen von *Leuc. mesenteroides*, eine Hetero-Milchsäurebakterie, die Zusätze der Glu-

kose, Fruktose, und Maltose ziegten die Zunahmen der Entstehungen der CO_2 , aber die Erzeugung des Acetoin noch immer nicht veränderte.

Literatures

- (1) BECKHORN, E. J.: *Dissertation*, Cornell Univ. (1948).
- (2) BLANCHARD, M. L., KORKES, S., del CAMPILLO, A., OCHOA, S.: Function of biotin in the metabolism of *Lactobacillus arabinosus*. *J. Biol. Chem.*, **187**, 875 (1950).
- (3) CAMPBELL, J. J. R., GUNSALUS, I. C.: Citric acid fermentation by streptococci and lactobacilli. *J. Bacteriol.*, **48**, 71-76 (1944).
- (4) DAVIS, J. G., ROGERS, H. J., THIEL, C. C.: Production of diacetyl by faecal streptococci. *Nature*, **143**, 558 (1939).
- (5) DOLIN, M. I., GUNSALUS, I. C.: Pyruvic acid metabolism. II. An acetoin-forming enzymes system in *Streptococcus faecalis*. *J. Bacteriol.*, **62**, 199-214 (1951).
- (6) EGGLESTONE, P. E., ELSDEN, S. R., GOUGH, N.: The estimation of creatine and diacetyl. *Biochem. J.*, **37**, 526-529 (1943).
- (7) HAPPOLD, F. C., SPENCER, C. P.: The enzyme formation of acetylmethylcarbinol and related compounds. *Biochim. biophys. acta*, **8**, 543-556 (1952).
- (8) KITAHARA, K.: Studies on the enzymes of lactic acid bacteria. IV. Decomposition of pyruvic acid by lactic acid bacteria. *J. Ferment. Technol.*, (醸工) **27**, 94-97 (1949). (en japonais).
- (9) LEMOIGNE, M. C. R.: *C. r. soc. biol.*, **88**, 467 (1923).
- (10) LEMOIGNE, M. C. R., HOOREMAN, M., CROSON, M.: Recherches sur la formation d'acétoïne aux dépens de l'acide pyruvate et l'éthanal par *Bacillus subtilis*. *Ann. l'inst. Pasteur*, **76**, 303-313 (1949).
- (11) MICHELSON, M., WERKMAN, C. H.: *J. Bacteriol.*, **36**, 67 (1938).
- (12) MILLER, A. K., CAMPBELL, J. J. R., GUNSALUS, I. C.: Pyruvic acid metabolism of streptococci. *J. Bacteriol.*, **54**, 22 (1947).
- (13) MOAT, A. G., LICHSTEIN, H. C.: Factors affecting the formation of acetylmethylcarbinol by *Lactobacillus arabinosus*. *J. Bacteriol.*, **66**, 324-327 (1953).
- (14) NOSSAL, P. M.: Acetoin formation from pyruvate in *Lactobacillus arabinosus*. *Biochem. J.*, **49**, xlv (1951).
- (15) NOSSAL, P. M.: The effect of glucose and potassium on the metabolism of pyruvate in *Lactobacillus arabinosus*. *ibid.*, **50**, 591-595 (1952).
- (16) O'KANE, D. J.: Influence of pyruvate oxidation factor on the oxidation metabolism of glucose by *Streptococcus faecalis*. *J. Bacteriol.*, **60**, 449-458 (1950).
- (17) PARESTSKY, D., WERKMAN, C. H.: The conversion of 2,3-butylene glycol to acetylmethylcarbinol in bacterial fermentations. *Arch. Biochem.*, **14**, 11-16 (1947).
- (18) PARESTSKY, D., WOOD, H. G., WERKMAN, C. H.: *J. Bacteriol.*, **44**, 257 (1942).
- (19) ROWATI, E.: The metabolism of pyruvate by *Lactobacillus plantarum*. *Biochem. J.*, **49**, 453-462 (1951).
- (20) SILVERMAN, M., WERKMAN, C. H.: The formation of acetylmethylcarbinol from pyruvic acid by a bacterial enzyme preparation. *J. Biol. Chem.*, **138**, 35-48 (1941).
- (21) STAHLEY, G. L., WERKMAN, C. H.: *Biochem. J.*, **36**, 575 (1942).
- (22) WAPOLE, G. S.: *Proc. Roy. Soc.*, (London) **83B**, 272 (1910).
- (23) WATT, D. D., *Iowa State Coll. J. Soc.*, **24**, 118 (1949).
- (24) WATT, D. D., KRAMPITZ, L. O.: α -Acetolactic acid, an intermediate in acetylmethylcarbinol formation. *Federation Proc.*, **6**, 301 (1947).
- (25) WERKMAN, C. H.: *J. Bacteriol.*, **20**, 121 (1930).
- (26) WILSON, P. W., PETERSON, W. H., FRED, E. B.: *J. Biol. Chem.*, **74**, 495 (1927).
- (27) YAMANAKA, K.: Pyruvic metabolism by lactic acid bacteria. II. Dismutation of sugars and pyruvate by *L. fermentum*. *J. Agr. Chem. Soc. Japan*, (農化) **30**, 269-274 (1956). (en japonais).
- (28) YAMANAKA, K.: III. On the effect of glucose to homo-type of lactic acid bacteria. *ibid.*, **30**, 274-277 (1956). (en japonais).

乳酸菌のピルビン酸及び糖類の代謝に関する研究

Ⅲ ホモ乳酸菌におけるグルコースの
効果について

(2) 糖類の効果に関する二、三の考察

山 中 啓

第3報⁽²⁸⁾で、ホモ乳酸菌のうち *L. bulgaricus*, *L. casei* について、これらの菌のピルビン酸代謝にグルコース添加の顕著な効果を認めたが、これはアセトインの生成を増加させることについて報告した。更に引続いてホモ乳酸菌の *L. plantarum*, *L. bulgaricus* の麦汁より得られる菌体におけるピルビン酸代謝に及ぼす糖類の効果について考察した。

L. plantarum の生菌体では、グルコース、フラクトース、マンノース、マルトースをピルビン酸と共に添加すると、発生 CO_2 が著しく増加し、Voges-Proskauer 反応 (V.P.) も又増大した。しかしガラクトース、ラクトース、キシロース、アラビノース、ラムノースをピルビン酸と共に作用させても、発生 CO_2 , V.P. 反応共に変化が認められなかった。

L. bulgaricus の生菌体では、グルコース、フラクトース、マンノースの添加で、ピルビン酸よりの発生 CO_2 及び V.P. 反応は共に増加し、マルトースではその効果がやや弱くなった。しかしガラクトース、シュークロース、グルコン酸、2-ケトグルコン酸、5-ケトグルコン酸では、発生 CO_2 , V.P. 反応共に変化が認められなかった。

この結果よりこれら糖類の効果はいずれも発生 CO_2 の増加と V.P. 反応が比例するので、アセトインの生成を増加させるものであろう。しかしペントース、グルコン酸、ガラクトース等は全く効果がない。又効果のあった糖のうち、その CO_2 の増加を時間的にみると、グルコースとマンノースでは同一の型を示し、その添加初期の効果が著しい。フラクトースでは時間と共に増加し、マルトースも同じ型に属する。

更にこれらの効果のあった糖類も乾燥菌体に加えた時には全く効果を認めることが出来なかったので、この効果は細胞膜の透過に関係しているものか、又は透過後の代謝に関係しているものと考えられる。

しかしヘテロ乳酸菌の *Leuc. mesenteroides* では、生菌体、乾燥菌体共に、グルコース、フラクトース、マルトース、シュークロースの添加により発生 CO_2 の増加が認められた。しかし V.P. 反応は糖の添加にかかわらず全く同一であった。この菌ではマンノース、ガラクトース、ラクトース、キシロースでは CO_2 の増加はなかった。このことからヘテロ乳酸菌では、第2報⁽²⁷⁾で *L. fermentum* について認めた共転反応が行われるものと考えられ、他方ホモ乳酸菌では糖類を添加するとアセトインの生成が増加すると考えられる。