

研究ノート

発酵現象の研究史

大堀兼男

はじめに
発酵の概念
発酵の化学説
発酵の生物説
パストゥールの発酵研究
プフナーの無細胞系
おわりに

はじめに

アルコール発酵¹⁾は古くから人類が利用してきたが、そのしくみについては近代まで科学的には不明であった。中世以降、錬金術がもとになって医学の分野において化学を応用する医化学が出てきて、発酵が生命現象の説明として用いられてきた。18世紀にラヴォアジエは発酵が化学反応であることを定量実験で明らかにした。その後、発酵の原因物質についての論争があり、パストゥールの微生物原因説が有力となった。しかし、プフナーの無細胞実験により、発酵の実体は酵素が関与した複雑な化学反応、すなわち代謝であることがわかった。

このような発酵現象の研究における論争では、その生命観が根底に存在する。本論文では、各研究者の生命観を考察しながら、発酵現象の研究の流れを概観していく。

発酵の概念

発酵の語源はラテン語の *fervere* で、沸き立つ、騒ぎ立つの意味であった。このような現象は、早くは、BC2000年以前に古代エジプト人が認識するようになり、発酵産物としてアルコールが発生することを知っていた。BC1500年までには、メソポタミア、パレスチナなどで、ビールやワインの醸造技術が確立していた。アリストテレスも発酵について

書き残している。彼は無生物による変化を生物世界の現象と類似しているとして、ブドウ汁はワインの乳児期にあたり、発酵はその成熟の過程と考えた。ギリシャの文献でヒトの息をさしたプネウマ(精気)が、ギリシャの医師や自然哲学者の間では、生命に必要な微細で揮発性のものと考えられた。そこで、ギリシャの錬金術師たちは色々な物質を蒸留するようになった。12世紀ごろになると蒸留技術が発達して、蒸留で揮発した物質を冷却して集めることができるようになり、ワインの蒸留から引火性の液体を得ることができた。中世の錬金術師にとって、分離したものはワインの精気であると考えられ、あらゆる動植物の精気を抽出するためには、発酵か腐敗させて蒸留し、再蒸留によって精製することが必要であると考えようになった。その後、錬金術に基づいて化学を応用しようと思っていた医化学者が発酵について考えるようになった。錬金術の技術を基礎にして化学療法による治療をはじめて考えたのはパラケルススであるが、その思想に傾倒したのがフェン・ヘルモントである。発酵は彼の自然哲学の中では重要な位置を占めている。彼は化学反応で生じる色々な気体を“gas”と名付けて空気とは区別した。このガスは非物質的な発酵素の作用によって物質から出てくると考えた。ブドウの発酵で出てくるガス(「酒のガス」)は木炭の燃焼で発生するのと同じガスであることを見つけた。発酵は生体のすべての営みを解く鍵であると考え、胃における消化を例

1) 発酵研究の歴史については、Bulloch (1938)、Fruton (1972)、川喜田 (1977)、Cornish-Bowden (1997) をおもに参考にした。

に挙げている。胃では、消化、吸収から造血、呼吸、代謝の各段階があり、最後の段階で栄養は各組織で、それぞれの発酵素によって料理(同化)されると説く。さらに、発酵素は作用因子であり、それを支配する不可視のアルカウエスの存在を主張した。彼の思想には、錬金術にある神秘主義がまわりついている。

17世紀になると機械論が広まり、発酵に関するファン・ヘルモントの思想と新しい粒子論との融合がみられた。その例がライデンのシルヴィウスである。彼は、ガラス器内の化学反応は生体内の反応と同じであるとし、発酵における発酵素の役割を強調した。発酵素は生理学で最も重要な化学的作用因であると主張し、消化における唾液を例に挙げた。そして、発酵の異常による体液の酸性とアルカリ性のバランスの崩壊が、病気の原因とした。また、トーマス・ウィリスも発酵によって、生理や病理の現象を説明した。発酵は粒子の完成へ向けた内部運動であり、発酵素によって生命現象が起こるとした。発酵素は分解状態にある物質で、粒子の強力な運動を持っており、その運動を発酵能力のある他の物質に伝えると考えた。その後、彼の理論の中心は燃焼論に移っていった。ウィリスの助手だったリチャード・ローワーは『心臓論』(1669)²⁾の中で、食物の発酵について述べている。この発酵による精気の生成モデルは酒の醸造と同じであり、食物を発酵母液に、乳麩を酒に、血液を蒸留酒に、精気をアルコールに対比した。発酵では発酵素を必要とした。また、生物体のモデルとして蒸留工場を考えた。

ゲオルグ・シュタールは医化学を退け、化学を医学とは独立の学問とし、化学組成と化学反応の首尾一貫した理論を発展させようとした。彼の有名な業績は、燃焼についてのフロギストン説である。彼は物質世界は崩壊に向かう性質をもつとした。一方、生物である有機体は、湿って、「粘く油性の」性状をもち、不均質の凝集物で不安定にもかかわらず、それを維持する力が働いているとした。この

力が感覚的靈魂(アニマ)である。シュタールにとって、発酵問題は重要であった。彼は、ベッカーが発酵を3種類に分類したものにもうひとつ追加した。彼はウィリスの考えをさらに発展させ、発酵素の働きはその粒子の運動を発酵可能な物質の粒子に伝え、後者の分解を促進することであるとした。そして、分離した粒子は再結合してより安定な化合物を作る。そのとき、彼がフロギストンと同定した「油性(硫黄性)」の粒子の精気が放出されると考えた。

発酵の化学説

1764年、マクブライドは、ブラックの固定空気(炭酸ガス)がファン・ヘルモントの「酒のガス」であることを発見した。また、キャベンディッシュは、水溶液中の赤砂糖を酵母で処理すると固定空気と同じ気体が発生し、その割合は57%であることを見つけた(1766)。

ラボアジェは糖の発酵により、アルコール、炭酸ガス、酢酸が作られることを見つけた(1789)。また、定量的実験を行ない、糖の中の炭素、酸素、水素の三元素の重量が、発酵産物の中の三元素の重量と同じことを確かめた。したがって、発酵においても一般の化学反応のように、その前後で物質の量は変化しないという化学量論性を証明したことになる。しかし、これは蔗糖の実際の化学組成を間違えたことや実験誤差による偶然の相殺による結果であった。彼は発酵の機構として、糖は2つに分かれ、ひとつは酸素化により炭酸ガスとなり、他方は脱酸素化によりアルコールになると考えた。したがって、炭酸ガスとアルコールが再結合すれば糖になる。彼の研究は発酵に関する化学的研究の出発点となった。

ジオバニ・ファブローニは、糖を分解する物質は動植物性の物質と考えた(1787)。彼はブドウをつぶしてできたグルテン様物質と糖を混ぜると、発酵が生じることを発見した。その現象は炭酸塩に酸を加えると、炭酸ガスが発生する化学反応と似ていた。彼は発酵過程に必須の成分は、発酵物質のアルブミン様物質の分解であり、酸素がこの過程を推進す

2) ローワーについては、中村禎里(2000), p69-76を参照のこと。

ると考えた。また、空気はあらゆる種類の種細胞 (germ) の運搬体で、発酵素のもとで糖を使って生活し成長すると考えた。この考えは注目されなかった。

ゲイ＝リュサックは、密閉して熱した容器中の空気は酸素を欠くこと、容器を開けるとブドウ汁の発酵や食品の腐敗が起ること、また、容器を水銀の下において空気から守ると発酵や腐敗は起らないことなどから、発酵や腐敗には大気中の酸素の存在が必要であると示した (1815)。また、彼はラボアジェの化学反応式の考えに基づき、アルコール発酵の方程式をまとめた。彼は蔗糖の分子式を $C_{12}H_{24}O_{12}$ とし、その 1 分子から 4 分子ずつのアルコールと炭酸ガスが作られると考えた。また、水素と酸素の割合が水と同じことから、糖を炭水化物と呼んだ。その後、アルコール発酵では、蔗糖がブドウ糖に分解することがわかり、デュマとボウレイが次のような式を発表した (1828)。



この式にしたがう発酵をゲイリュサック型の発酵と呼んでいる。

発酵の生物説

1837年、三人が同時にお互いに独立に発酵の生物説を発表した。この三人とは、カニャール・ド・ラトゥール、テオドル・シュワン、そしてフリードリヒ・キュッツィングである。ラトゥールはビール酵母を顕微鏡で観察し、出芽で増える球状粒子を見つけた。この小球は運動能力がなく、植物に属すると思われた。この酵母がアルコール発酵の原因であるとした。シュワンはあらかじめ煮沸した動植物物質の浸出液に、一度熱した空気を通すと、発酵や腐敗が起らないことを示し、大気中の微生物がその原因であるとした。ビール酵母を顕微鏡で観察すると、小粒子が連鎖状につながって見え、個々の細胞は卵円形であった。それは植物性と考えられ、彼は糖菌 (sugar fungus) と名付けた。キュッツィングも顕微鏡観察で前記二人と同様の結果を得た。

ベリセリウスはシュワンらの発酵の生物説に反対して、発酵は触媒によって生じると主

張した (1839)。最初、彼は酵母が生物であることを認めなかったが、後には認めるようになったが、発酵への役割は疑問視した。

ユストゥス・リービッヒ³⁾は酵母を煮沸して洗浄した洗液が糖の発酵を行なうことなどから、発酵素の分解によって生ずる可溶性部分が大気や水によって変化を受けて分解し、その変化を糖に伝えて発酵が起きると考えた (1839)。発酵素の不安定性とその伝達が発酵の仕組みであり、そして窒素含有物質の分解であると主張した。また、発酵は酵母の分子の振動の伝達とその酸化であることを主張した。彼の理論はシュタールのものを踏襲したことになる。

メツェルリッヒは酵母が球状で、ろ紙を通過できないほど大きいことを示した (1841)。また、酵母が糖と接触した時のみ発酵が生ずることを実験で示して、ベリセリウスの触媒説を支持した。

化学者が発酵の生物説を批判したのは、生命現象を物理・化学的な原理で説明するという、その当時の科学界の雰囲気があったためである。霊魂や精気などの生命に特有な性質で生命現象を説明すること、つまり生氣論を持ち出すことは以前の蒙昧な時代に戻ると考えられた。

しかし、発酵の生物説を支持した者もいる。ヘルムホルツはシュワンの実験を改良し、あらかじめ熱した空気と動植物性物質の浸出液との接触実験を行なった (1843)。ポーチャルダはビール酵母の小球が生存のために二種類の物質、糖と窒素含有物質を必要とすると提案した (1844)。また、マルダーとペイン (1839)、シュロスバーガー (1844) は乾燥酵母の組成が窒素物質63%、セルロース29%、脂肪2%、無機質6%であり、複雑な組成であることから、酵母は生物であると考えた。

パストゥールの発酵研究

発酵がある種の微生物によるという発酵の生物説を確立したのはパストゥール⁴⁾である。

3) リービッヒの伝記には、田中実 (1951) と Brock (1977) のものがある。

4) パストゥールの伝記は、川喜田愛郎 (1967) とギーソン (2000) を参照のこと。また、彼の論文がいくつか翻訳されている (長野敬 (1981))。

パストゥールが初めて発酵に関する研究を発表したのは、1857年の「乳酸発酵に関する報告」であった。彼はもともと化学物質の非対称性や旋光性の研究から、生命とこれらの性質との関係に注目したのがきっかけで発酵の研究を始めた。一般的な発酵はアルコール発酵であったが、パストゥールはまず乳酸発酵の研究から発表した。彼はこの報告の中で、人工培地を使って微生物を培養して、乳酸発酵を観察し、その際に顕微鏡で微生物を見いだした。また、糖類の発酵の種類によって特定の酵母（微生物）が存在することを主張し、その培養条件が微生物によって異なるとした。この微生物は大気由来することも主張した。そこで、彼はこの発酵の原因となる微生物を種細胞（胚種）と呼んだ。つぎに、「アルコール発酵に関する報告」を発表し、この発酵が二酸化炭素とアルコールだけでなく、グリセリンやコハク酸も産生することから、単純な化学反応ではないことを明らかにした。また、有機窒素を含まない合成培地でアルコール発酵を観察し、アンモニア塩の減少を観察した。これらのことはリービッヒ説に対する反証となる。その後、「酪酸発酵」の研究では、嫌気性生物を発見し、発酵は嫌気性での生活形態であることを主張した。また、「腐敗に関する研究」では、腐敗も微生物が原因であるが、複数の微生物が関与することから、発酵のように特異性に欠けることを主張した。

「酢の研究、酢酸発酵」(1868)では、アルコールの酸化を扱い、発酵過程で表面の膜から微生物（ミコデルマ・アセチと命名）を見つけ、合成培地で増殖と酢酸の産生を確認した。「ビールに関する研究」(1876)は、発酵の基礎的な問題を扱った。ここで、ビール酵母の発酵は無酸素状態で起こること、発酵は微生物のエネルギー代謝であることを述べた。

パストゥールが化学畑出身にもかかわらず、他の化学者のように酵母が行なう発酵の化学分析にまで進まず、一面では生氣論を支持するように見えたのは、当時の細胞に関する原形質説の流行があったことが考えられる。原形質という用語は、プールキニェが初めて動

物の卵の発生の研究で使った(1839)。一方、植物学の分野では、モールがこの言葉をプールキニェとは独立に、液胞を囲むコロイド状の物質として提唱した(1846)が、その後、レマークが植物学分野のこの用語を動物細胞に使った(1852)。また、コーンによって生物に共通な基本的物質として原形質という用語が確立した(1850)。このようにして、原形質は刺激性、収縮性、物質代謝の場であり、生体反応のすべてが行なわれると考えられた(原形質説)。

ブフナーの無細胞系

19世紀の中ごろ、化学者は酵素（当時は可溶性発酵素と呼んでいた）に注目するようになった。ミッチェルリッヒはアルコールを濃塩酸の作用でエーテルに変える反応で、濃塩酸自体は変化を受けない事実に着目して、このような変化を「接触作用」、この作用物質を「接触物質」と呼んだ(1834)。類似の化学反応として、二酸化マンガンによる過酸化水素水の分解や酵母の作用による砂糖のアルコールへの変化を含めた。翌年、ベリセリウスはこの現象を「触媒作用」、その仮想的な力を「触媒力」と呼んだ。また、彼は生命現象における「触媒力」の存在を予測した。

最初に酵素（発酵素と呼んだ）を発見したのは、パイアンとペルソーである(1933)。彼らは、発芽している大麦の水溶性抽出物にアルコールを加えて出来た沈殿物がデンプンを糖に変えることを見つけ、この物質をジアスターゼと名付けた。苦扁桃の芯をアルコールで抽出するとアミダグリンという結晶物質が得られる。リービッヒとヴェーラーは、このアミダグリンを苦扁桃の芯に存在するタンパク質様物質で処理すると、糖とシアン化水素酸に分解することを見出した(1837)。彼らはこの物質をエムルシンと名付け、その作用と酵母のアルコール発酵の作用とを比較した。その後19世紀の終わりころまでに、2ダースの可溶性発酵素が発見された。1876年、キューネはこのような細胞外で作用する物質を酵素と呼ぶように提案した。

化学者の中には、この可溶性発酵素（酵

素)が発酵の原因と考える者たちがいた。リービヒはパストゥールに対して反論し、酵母の崩壊が分解運動を起こし、その結果、糖の分解が起こるとした(1870)。彼は酵母は可溶性発酵素だと考えた⁵⁾。クロード・ベルナルは、アルコール発酵が生きた細胞の関与なしに腐敗した果汁で発酵することを見つけ、生きた酵母から分離できた作用因によって影響したと考えた(1878)。彼は、化学合成は生命現象であるが、化学的分解は非生命現象と考えていた⁶⁾。ただし、この発表は、彼の死後に弟子たちが遺稿をまとめ、ベルトローの序文をつけて公表したものであり、ベルナルの真意は不明のところもある。

トラウベは、発酵が生命活動に依存するのではなく、発酵素を酸化還元することによって触媒される化学反応と考えた。そこで、微生物中に分解能力のある酵素が存在するとした(1858)。1878年にも、トラウベは同一の見解を発表した。彼はリービヒの説には反対し、発酵素(酵素)は他の化学物質と同様に一定の化学組成を持って反応を進めるアルブミン様の物質であるとした。また、この発酵素がすべての生物の生命現象の要因だと考えた。ベルトローは、発酵は酵母細胞が産生する「可溶性の発酵素」の作用であるとし、生命は化学的な働きに還元できるとした。同時期には、ベルトローのインヴェルターゼ(1860)など酵素の発見があった。しかし、当時の酵素は細胞から抽出可能な物質で、その働きは加水分解だけであったので、加水分解とは異なる働きを持ち、細胞から抽出できない発酵素とは別物と考えられていた。その頃、影響力のある植物学者のネーゲリも原形質(プラズマと呼んだ)が発酵の原因であり、発酵素は必要ないと主張した(1879)。

このような状況で、無細胞系での発酵を見つけたのが、エドゥアルト・ブフナーであ

る⁷⁾(1897)。当時、彼の兄ハンス・ブフナーは、抗毒素を得る目的で細菌から原形質を取り出すための予備実験において、研究材料に酵母を選んだ。彼は、酵母を研究していた弟のエドゥアルトに酵母の破碎法を開発することを依頼した。このことからエドゥアルトは、酵母の破碎実験に参加することになった。彼は、助手のハーンが酵母の抽出液の保存にブドウ糖を加えたことにより発酵が生じたことを見つけ、その意義を理解して、この抽出液にチマーゼと名前をつけた。この研究が生化学の始まりとされている。

おわりに

古くから知られていた発酵が科学研究の対象となったのは17世紀であった。当時、錬金術をもとにした化学の医学への応用が考えられ、この分野は医化学と呼ばれた。医化学者は生命現象を発酵との類比で説明しようと考えた。その後、医学とは独立した化学の発達により、発酵を科学の対象として扱えるようになり、その理解が進んだ。特に、機械論の考えが広まり、また、ラボアジェにより定量的な研究が進み、発酵は化学変化として理解されるようになった。しかし、化学の研究レベルは十分ではなく、発酵をあまりにも単純なモデルで説明しようとして、その成果は成功したとは言えない。

19世紀中ごろになると顕微鏡の発達によって、微生物の存在が認識されるようになり、発酵が生命現象であることがわかった。この発酵の生物説を確立したのが、化学出身のパストゥールであった。しかし、彼は生物の化学的分析までは進まず、ブフナーの無細胞発酵の発見によって初めて発酵の化学的分析の道が開かれた。すなわち、発酵は微生物内で起こる酵素による代謝であることが解明された。その後、生化学が勃興して、生命現象を分子のレベルで理解できるようになった。

5) リービヒが発酵の要因として、可溶性発酵素(酵素)を考えていたことは、ヴェーラーとの往復書簡(1870年1月26日の手紙(山岡望(1980), p330)の内容からもうかがえる。

6) パストゥールもベルナルの生命観について、ベルナルへの反論の中で紹介している(長野敬(1981), p183-253)。

7) ブフナーの発見の経緯は、丸山工作(1993)に詳しい。ただし、ブフナーに対する評価は厳しい。

文献

- 川喜田愛郎『パストゥール』岩波書店（岩波新書）、1967年
- 川喜田愛郎『近代医学の史的基盤（上・下）』岩波書店、1977年
- ギーソン、ジェラルド L.（長野敬、太田英彦訳）『パストゥール』青土社、2000年
- 田中 実『化学者リービッヒ』岩波書店（岩波新書）、1951年
- 長野敬 編『科学の名著10 パストゥール』朝日出版社、1981年
- 中村禎里『生物学を創った人々』みすず書房、2000年
- 丸山工作『生化学の夜明け』中央公論社（中公新書）、1993年
- 山岡望『化学史談Ⅷ リービッヒ=ウェーラー 往復書簡（ミュンヘン時代）』内田老鶴圃新社、1980年
- Brock, Thomas D.（藤野恒三郎 監訳）『微生物学の一里塚』近代出版、1985年

- Bulloch, William, *The History of Bacteriology*, Dover Pub., 1938
- Brock, William H., *Justus von Liebig: The Chemical Gatekeeper*, Cambridge University Press, 1997
- Cornish-Bowden, A. ed., *New Beer in an Old Bottle: Eduard Buchner and the Growth of Biochemical Knowledge*, Universitat de Valencia, 1997
- Fruton, Joseph S., *Molecules and Life*, John Wiley & Sons, 1972