

基本馆藏

274439

C. П. 科斯蒂切夫院士

微生物的生理学 生物化学著作集

卷 一

成都工学院图书馆

科学出版社

466
5/2444
71

2744 19

C. П. 科斯蒂切夫院士

微生物的生理学 生物化学著作集

卷 一

余茂效 庄增辉 译

科学出版社

1960

С. П. КОСТЫЧЕВ
ИЗБРАННЫЕ ТРУДЫ ПО ФИЗИОЛОГИИ И
БИОХИМИИ МИКРООРГАНИЗМОВ I

Изд. АН СССР, Москва, 1956

內 容 簡 介

本书是根据苏联科学院 1956 年出版的科斯蒂切夫院士微生物的生理学生物化学著作集译出,共分上下两册。这册包括两部分:前 20 篇彙集了酒精发酵的化学机制方面的文章,作者以自己工作中所获得的结果参加了本世紀初期在微生物生化方面的爭論;后 13 篇文章的内容主要涉及到微生物中酶和氮素物质及酒精发酵中的中間产物等問題。最后,作者詳細地敘述了他对发酵的看法和微生物学中发酵学說的新观点。

根据現代的微生物学和生物化学的观点来看,与作者对于某些問題在有些方面的看法是有距离的,但这并没有減低作为这方面研究工作者的参考价值。

本书可供微生物学、生物化学和发酵釀造方面的研究工作者和教学工作作者作参考。

С. П. 科斯蒂切夫院士
微生物的生理学
生物化学著作集

卷 一

余茂效 庄增輝 譯

*

科学出版社出版 (北京朝陽門大街 117 号)

北京市书刊出版业营业許可証出字第 061 号

中国科学院印刷厂印刷 新华书店总經售

*

1960 年 4 月第一版

1960 年 4 月第一次印刷

(京) 0001—5,800

书号: 2148 字数: 380,000

开本: 787×1092 1/18

印张: 18 1/3 插頁: 5

定价: 2.45 元



С. П. 科斯蒂切夫
(1877—1931)

2AP 19/10/1

編 目

科斯特切夫在微生物生理学和生物化学方面的工作····· C. Д. 里沃夫	1
科斯特切夫院士已出版的科学研究著作目录·····	15

酒精发酵的化学机制

酒精发酵中乙醛的形成·····	25
第 一 篇 关于糖的酒精发酵中乙醛的形成·····	28
第 二 篇 在活体和死体酵母作用下由乙醛产生乙醇·····	37
第 三 篇 干酵母制剂发酵下形成乙醛的条件·····	48
第 四 篇 氯化鋅参予下以干酵母制剂引起糖分解的情况·····	56
第 五 篇 氯化鋅参予下以干酵母制剂引起蛋白質的分解·····	65
第 六 篇 以活体酵母引起乙醛还原的过程·····	71
第 七 篇 在各种不同条件下酵母产生的乙醛·····	75
第 八 篇 氯化鋅对于活体和死体酵母的酒精发酵的影响·····	85
第 九 篇 鋅盐和銅盐对于酵母各种酶的影响·····	91
第 十 篇 銅盐参予下干酵母的发酵·····	98
第十一篇 发酵是无氧的生活·····	107
第十二篇 在碳酸鈣参予下酵母引起发酵所产生的酸类·····	119
第十三篇 甲基乙二醛是酵母酒精发酵的中間产物·····	126
第十四篇 关于无細胞外发酵論·····	129
第十五篇 酵母对多元醇的加工·····	144
第十六篇 酵母浸漬液的发酵·····	150
第十七篇 酒酶粉 (зимин) 发酵的本質·····	162
第十八篇 酵母对甘油醛和甘油酸的关系·····	168
第十九篇 关于浸漬液中某些具有发酵能力的微生物·····	180
第二十篇 毒物对活酵母、干酵母制剂和浸漬液的作用·····	185
分析附录·····	192
关于酵母汁液使乙醛还原的問題·····	208

关于酒精发酵中乙醛的形成問題.....	211
丙酮酸是酒精发酵的中間产物.....	219
关于某些酶不存在的問題.....	221
酶的特异性.....	229
关于鋅盐和銅盐对于某些酶的鈍化作用.....	235
酶在滤过浸漬液和透析浸漬液中的作用.....	251
酵母浸漬液和压榨液发酵的温度常数和温度系数.....	255
糖参予下氨基酸的变化.....	260
酵母自溶后氮素物質的合成Ⅱ.....	267
酵母自溶后氮素物質的合成Ⅲ.....	281
关于发酵.....	287
微生物学中以及发酵学說中的一些新观点.....	308

科斯特切夫在微生物生理学和 生物化学方面的工作

謝尔盖·巴甫洛維奇·科斯特切夫(Сергей Павлович Костычев)誕生于1877年4月26日,于1931年8月21日在阿卢什塔值其天才的黄金时期遽然(患心脏麻痹症)与世长逝。享年53岁。他短暂的一生完全献给了科学事业,与許多其他伟大的学者一样,他的一生不是以繁多的外觀事业,而是以充滿着科学的創造称著于世。

他的資才的发展毫无疑问是与具有高深知識的科斯特切夫家庭有着密切的关系。他的父亲,巴維尔·阿特萊維奇·科斯特切夫(Павел Андреевич Костычев)(1845—1895)是一位有名望的伟大学者,曾任林学院的教授,并且是现代土壤学的奠基者之一。巴·阿·科斯特切夫从事土壤形成的生物过程和提高土壤肥力方法的研究。可能他启发了謝尔盖·巴甫洛維奇对科学工作的兴趣,并使他預先选择了自己的职业。

同样也应该指出他母亲对儿子教育的有益作用,根据当代人的証实,“她是一位有教养的妇女”。她在临死以前仍然保持着“不是單純的摹仿謝德林的幽默和故事的美丽形象的丰富智慧”。母亲的这些精神面貌的特征亦影响着儿子——謝尔盖·巴甫洛維奇。每个与他見過面的人都会記憶犹新,他的談話是优美的、并具有艺术家的风度,他爱交談所有自己感兴趣的感受。謝尔盖·巴甫洛維奇无疑地是清晰地表現着一个艺术家的本性,这对于他的科学創作和教学工作都有深刻的影响。

科斯特切夫的科学传记的主要里程碑——对于一位伟大的学者來說——是很普通的。在1895年他进入彼得堡大学数学-物理系的自然科学組。1900年他讀完了大学,并留在植物教研組准备考教授的学銜。不久即被派往国外在苏黎世于許尔茨(Шульце)处工作和在海登堡的柯謝尔(Косель)处工作。回国以后,就在軍医学院植物教研組(在瓦尔利赫 Варлих 教授处)任助教,但是研究工作是在彼得堡大学进行,与帕拉金(Палладин, В. И.)教授建立了密切的联系。对于科学研究的共同兴趣使他們共同进行植物呼吸的研究。孜孜不倦地从事所选择的题目的工作,科斯特切夫很快地通过正式实验期并答辯了碩士学位论文,随后即通过了博士学位論文。帕拉金逐漸辞退工作任务,因而科斯特切夫替代他开始貝斯都日夫講習班

任教授,以后(自1916年始)即在大学任教授。1922年他被选为科学院通讯院士,而自1923年成为正式院士并任植物生化生理研究室主任。在其一生最后的年代里科斯蒂切夫任全苏农业微生物研究所所长。

由于依靠自己的许多学生,科斯蒂切夫非常广泛地在各个不同方面开展了试验工作,但是他所选择的研究主要题目在当时是较复杂和困难的问题——有氧呼吸和无氧呼吸在遗传学上的关系。在这个问题上他做出了很大的成就。他在这时期所发表的一系列论文包括两大部分学位论文——硕士学位论文(植物无氧呼吸的研究,1907)和博士学位论文(植物呼吸的生理-化学研究,1910),在这些文章中他卓越地叙述了关于研究这个艰巨问题的基础性的结果。他的试验工作是十分广泛,包括了高等和低等植物。但是在他工作最初阶段,科斯蒂切夫在这方面坚信低等植物(霉菌)在方法上是十分有利的研究对象,因而甚至于可以说在这项题目中他的大部分研究工作几乎主要是选择霉菌(毛霉菌、麴霉菌和青霉菌)进行的。

评价科斯蒂切夫的作用时需要记住,当时他在从事发酵与呼吸的遗传关系问题时,这个问题是处于相当混乱的状态下,主要要负责的是当时一位很有声望的生理学家帕凡费尔和他的学生华脱门,他们以这种关系用简单化的简式表示,根据这种简式,认为呼吸作用本身是在发酵最初活动中所已经形成的乙醇分子氧化而开始的。不难证实(这部分是属于科斯蒂切夫所指出的),植物不能使酒精氧化,因而帕凡费尔-华脱门的简式是完全不能成立的。由于进行了批评争论,进行了一系列说明呼吸是完全与发酵不相关的研究试验。特别是帕拉金在某一时期内也曾支持过这种观点,但是不久,毫无疑问是受了他自己与科斯蒂切夫在试验室一起合作的那些工作的影响,他根本改变了自己的观点(在这个问题上年轻的作者科斯蒂切夫有多么大的影响!)

在这一阶段的论文中,科斯蒂切夫不止一次地援引了贾柯诺夫(Дьяконов)的工作,他的工作引起作者全面注意正确设计试验。贾柯诺夫在帕凡费尔试验室里用霉菌作为基本对象进行工作时,他找到了在无氧条件下(充氩气),如果在培养基中缺乏糖时,完全不产生二氧化碳(无氧呼吸的指示剂)。他的鸡纳酸试验——产生这种酸的真菌进行好氧性过程(正常的呼吸和生长)是很适宜的——是特别有意义的,但是当缺乏氧气时它不能作为发酵的材料。由此贾柯诺夫做出了关于两个过程之间不存在任何关系的完全合乎逻辑规律性的结论。

为了克服这种根本上威胁并暗中破坏他们所保卫的观点的危险,他进行了并发表了不少为贾柯诺夫结论而辩护的研究。首先,甚至从实际方面,贾柯诺夫工作中的试验材料不是完全无可指责的。在一些情况下(用其它有机物质替代糖的

情況下)于无氧条件下試驗進行的時間是太短了,而賈柯諾夫並沒有將試驗進行到開始顯著發酵。經常有直接中毒現象發生,而甚至有糖時發酵迅速停止。 科斯特切夫將菌絲體埋入大量糖溶液中(即超過普通定量)因而這樣顯著地減低了有毒特質的濃度,故很容易在很長期間內保持了浮游過程,這樣本身就檢驗了呼吸與發酵之間的緊密相關的規律性與真實性。

但是這方面工作在進一步的發展中,科斯特切夫成功地進行了十分廣泛、而本身是很卓越的、並且成為對於他基本論點強有力証實補充的總結。在某些工作中他曾指出,在无氧條件下于完全无糖的情況下,但是,借助這種類型的其它十分不同的物質,如酒石酸、乳酸、甘油、甘露醇和雞納酸,真菌可表現出典型的酒精發酵。所有這些情況在發酵條件下,如眾所知,發現了大量的乙醇,而酒精是靠糖才能生成的。由此我們應該得出結論,所有這些物質在引起發酵和呼吸分解過程以前,應預先轉變成糖。若是我們回憶到在油料作物種子萌發時,糖是靠了油脂的消耗而積累的,很顯然、這裡即是油脂預先轉變成糖,故我們可



謝·巴·科斯特切夫——大學生
(1895年)

得出原則上重要的結論,一般呼吸和發酵的根本基質就是糖。 賈柯諾夫的雞納酸試驗事實上尚未完全被作者所結束。只有當科斯特切夫成功地發現了酒精的生成(由雞納酸轉變成的糖而生成的),進而將此試驗才可能成為說明呼吸與發酵之間的遺傳關係中的一個特別有力的証據。

但是科斯特切夫很快証實了,不是所有被利用作為呼吸活動的物質全轉變成糖;在腺上培養霉菌的試驗指出,在无氧條件下呼吸過程中腺(氨基酸、蛋白質)直接

轉變,并釋放出二氧化碳,而沒有產生酒精。這種氮態的基物是“蛋白質態”或“原生質態”呼吸特殊類型的基础,與普通的“碳態”呼吸,按科斯特切夫的含意,即與所謂“基础的”代謝有關的呼吸相比較,它的呼吸強度是很低的。

按其化學性質是十分複雜的呼吸,這種特殊對象,如香蕈的呼吸,正如科斯特切夫所指出的,其中沒有碳水化合物,但是有甘露醇。德國學者繆茨(Muntz)証實了它們的呼吸完全依着不尋常的途徑——靠甘露醇釋放出游離態氫。科斯特切夫在方法論上是無可責疑地借助試驗發現了繆茨的這些工作是完全不能成立的,并証實了其中——細菌產生的氫,而真菌本身不分離出任何氫,但是同時亦不形成酒精,即在這方



謝·巴·科斯特切夫——教授
(1916年)

面与“蛋白質态”呼吸所固有的对象相似。可以找到不少其它对象,如低等植物之間,以及在高等植物之間,它們的“无氧”呼吸不是严格地局限于酒精发酵的范围内,因为与它們的二氧化碳产量相比較,酒精产量比定量較低,有时低得很多。这种比理論定量較低的原因可以解释为,在具有很大反应能力的发酵中,酒精最接近的前产物乙醛很易被利用来作为合成的各种不同反应,因而这样減低了酒精本身的产量,或者可以解释为在这种情况下,引致得到相同結果的“蛋白質态”呼吸与本质上的“碳态”呼吸相混合的結果。

此外获得专门解释的个别差异的問題中,并没有破坏呼吸过程的共同的局面,而科斯特切夫在其研究工作的最后总结中,得出在其工作后得到公認的总结,即关于在呼吸和发酵过程之間的深刻的遗传关系。无氧过程的发酵不是独立的活动,而仅仅是基于发酵分解初步产物的呼吸的初阶。这本身不是象科斯特切夫以前的工作者們所錯誤地揣測是酒精,而是某些比酒精更不稳定的、比酒精更早形成的和容易受氧化酶作用的另外一些物质,正如科斯特切夫曾指出的,象酒精一样,实际上几乎不能完全直接氧化的。这些碳水化合物的初步分解不稳定产物在进一步进行氧化时——在呼吸的情况下,或者在轉变成乙醇中——在发酵的情况下是呼吸和发酵的共同产物。换言之,在呼吸时糖的轉化起始阶段与发酵时相同。为了闡明呼吸的化学,必須先要研究发酵的化学。因而十分清楚,科斯特切夫在完成关于呼吸和发酵的遗传关系的大量研究工作时,約在1912年开始几乎完全投入了酒精发酵的研究。

在这方面的的工作是有系統和有計劃地进行的。关于这方面的結果,科斯特切夫发表了20篇論文,是以“关于酒精发酵”(Über die Alkoholgärung)的总标题下,在1912—1930年間陸續发表的。关于有些較为深湛討論的个别問題的論文不是在这个时期内发表的。

科斯特切夫关于酒精发酵的工作,总的是涉及到两个問題:第一,研究酒精发酵的化学机制(在这阶段这是主要和基本的工作),第二,与細胞外发酵的学說作頑強的斗争并坚决地尝试保持巴斯德的生物学說的純洁性。

科斯特切夫开始研究酒精发酵的化学时,正是发酵化学机制最初一些庸俗化的簡式[布格納尔(Бухнер)理論——通过乳酸,鮑依生-依恩申(Бойсен-Йенсен)理論——通过二羥丙酮]被駁斥为完全不能成立的时候。很明显,发酵的化学机制是比早先所假想的要复杂得多,并且需要寻找那些至今研究者沒有注意到的发酵新的內在因子。而科斯特切夫正是将自己的注意力集中到这問題新的一面,迅速精通了十分錯綜复杂的发酵化学的因子,并且立即抓住了可靠的与还原反应相联系的发酵过程綫索,这虽然很久前在酵母方面已被周知,但是一般認為这是与发酵活动无关

的。

在发酵和还原现象之间的这种关系的思想，同时以别的试验研究说明在发酵过程中有还原酶的直接参予，但事实上科斯蒂切夫是第一个以明确具体的化学简式的方式表达了这种思想，而是在其最初有关酒精发酵的论文中发表的。

在这时期以前已经普遍知道酵母中存在称作羧化酶的十分有活性的酶，非常有效地分解丙酮酸成为乙醛和二氧化碳。当然可以推测这种反应以某种关系与发酵的普通化学机制相联系，但是在这方面至今尚无任何可靠的试验材料。而科斯蒂切夫有根据坚持，他是第一个找到这种试验的证据，即应该认为乙醛是发酵的必然的中间产物。一般我们不能获得它，因为它是非常迅速地转移到下一步的变化。但是科斯蒂切夫成功地找到了一种方法抑制乙醛进一步的反应，并在发酵基物中有量的积累，这样就保证有可能进行正确的分析。根据一些理论上的概念，科斯蒂切夫决定试验锌盐和镉盐。实际上，加入于发酵基物的这些盐可以产生预期的效果——积累了显著数量的乙醛。但是，原来这种反应的理论意义与科斯蒂切夫早先所假设的是具有另一种特点。在这个环节中进一步的工作中阐明这种可疑现象的机制。事实上锌离子和镉离子能钝化还原酶（即使是部分的），这样便阻碍了那些还原反应的正常过程，正如上面所涉及的，是还原过程的基础。其中，科斯蒂切夫首先指出，自外系统所加入发酵基物的乙醛迅速地被还原成为乙醇。醛的这种还原成酒精的作用在有糖时，即在对于还原所必需的氢源的良好发酵条件下进行是特别有效的。由于还原酶遭到破坏，锌离子和镉离子阻碍了发酵的最终反应的实现，并且如同未被利用的中间产物一样，将引起乙醛的积累。

显然，镉和锌的阳离子的作用是非常特异的，因为它们对于存在于发酵基物中的其它酶（转化酶、脲酶）并不起作用。

以后找到了另一种更为有效的、收集在发酵中所生成的乙醛的方法。目前这种乙醛被亚硫酸盐固定的方法已是众所周知的。在第一次世界大战期间这是由德国化学家 Конштейн 和 Людке 研究成功的，并迅速地在德国的试验室和生产机构（制备甘油）中普遍应用，但是由于战后长期的封锁，在许多年内我们还不知道。虽然在艰苦的工作条件下，在这期间与国外科学工作完全隔绝，但在科斯蒂切夫试验室中，酒精发酵的工作仍是在继续进行，而他的一个年轻的工作者（Элиасберг, П. С., 不久即过早地逝世了）完全独立成功地研究出同样收集乙醛的方法（亚硫酸盐方法），这证实了科斯蒂切夫试验室是具有多么高度创造性。不久，同法在一些不仅仅是酒精发酵还有对其它发酵（乳酸发酵、丁酸发酵）时人工收集较不稳定的中间产物中亦被采用。为了这些目的进行氨基脲的调制剂（能与丙酮酸相结合）的研究工作中，

有可能完全无疑地确定特别重要的事实,对乳酸发酵来说,这种酸同样也和酒精发酵中一样是中间产物。

除了其它的见解以外,这种事实给予科斯特切夫建立了特别细致的化学简式,所有这三种被认为至今是彼此无关的基本类型的发酵(酒精发酵、乳酸发酵和丁酸发酵)在遗传上与一般化学关键相联。

所有这三种发酵都基于一些同样的氧化还原反应,这些反应导致丙酮酸的生成和产生不稳定的氢以促使任何一种还原反应的活化:



在这简式的方程式中体现了三种基础的发酵因素——酵母菌、乳酸细菌和丁酸细菌中任何一种,在作用于葡萄糖中进行着完全一致的初步顺序反应的复杂综合过程。只有从这个阶段开始,实际上是已将接近于完成的过程阶段时,才呈现了测定这三种发酵的专性的差异。这都是由于这些微生物所具有的那些酶的作用。在酵母中存在有活化的羧化酶和多么活化的还原酶。由此丙酮酸能很迅速地被分解成乙醛和二氧化碳,而乙醛在还原酶的作用下借助于游离的氢而还原成酒精。

乳酸细菌不含有羧化酶——这是被科斯特切夫和阿法纳西耶瓦(Костычев, С. 和 Афанасиева, М.)所确定的一个重要事实。因而丙酮酸不能分解,但是这种菌的还原酶是十分有效,并能迅速地传递给丙酮酸游离的氢,而将它转变成乳酸。当有羧化酶存在时乳酸细菌在它发酵过程方面,与酵母毫无区别,即似乎与酵母一样,是酒精发酵的因子。丁酸菌在一定程度上与乳酸菌相矛盾——与酵母一样,它们有很有效的羧化酶,但是还原酶的机能很弱。所以如同酵母的情况一样,丙酮酸能很迅速地一直分解到乙醛,但是,后者在当有少量活化还原酶存在时,则不能接受游离氢和缩合(两分子)成丁醛醇,随后很易稳定成丁酸。而游离的氢被存留下并不被利用,成为分子态而释放入大气中。

这样,发酵过程的方向和类型决定于微生物的酶系统——这就是科斯特切夫在当时所作出的原则上重要和初始性总结。似乎它指出了在发酵过程中酶因子起主导作用的结论,在科斯特切夫的看法中是应该巩固自1897年所发表的,对当时发生巨大影响而深入世界文献的布赫涅尔(Бухнер, Э.)专著“Die Zymasegärung”(“由酒化酶所引起的发酵”)的细胞外发酵的权威学说。发酵是由专门的酶所进行的过程,并很容易能在酵母细胞外进行的,如果用任何一种方法能成功地自细胞中取出酶,并使它们在体外活动的話。这些方法曾经已找到[根据布赫涅尔的方法所压榨出的汁液和按列别捷夫(Лебедев)特殊方法取得的浸渍液]。似乎巴斯德的生物学说应该最终全部让位于新的酶学说。按照本质,这学说是和科斯特切夫的发酵化学机制工作

的基本方向是完全协调一致的，实际上科斯特切夫长期間曾是細胞外发酵思想的信徒。在討論自己的資料时，他不止一次地引援布赫涅尔的专著并同意地作了評述。

但是对于同时代人完全是意料不到的，在其科学活动的后期，科斯特切夫与細胞外发酵的学說进行了决定性和原則上的斗争。必須要具有新的革新的能力和科学的敢創精神才能反对这种当时曾經已經变为伟大学者們尊敬权威的传统的信仰。科斯特切夫具有很高度的科学敢創精神和革新者的能力，因而在这种情况下，他的名字經常地出現于熾燃着新思想的剧烈的論战中心，其中他大胆地提出反对被他推翻的陈旧科学理論。科斯特切夫具有一般所公認的艺术性的天賦，不是属于平靜表达意見的学者院士型的，而相反——在卫护自己观点中是具有战斗热情，为新思想而战的熱情勇敢战士。我認为科斯特切夫这种心理学特点在他为捍卫自己新的而与所有当代权威們抗衡的观点的頑強斗争过程中起着一定的作用。科斯特切夫并不掩飾当时他在科学工作范围中所兴起的爭論，他並沒有对当代流行的有关細胞外发酵的学說作任何妥协和发生动摇，而是迅速地 and 彻底地予以反击，并恢复巴斯德的生物学說。当然，反对已經加深了的科学传统剧烈的論战應該具有科学的根据，我們必需比談其它問題更为詳細深入地研究这些根据，因为这个问题是十分重要的，鉴此一直到他发表最后的一些著作中，实际上是直到他临死以前，科斯特切夫繼續坚持了这些自己新的思想。

但是一般來說他为什么能产生对于細胞外发酵现实性的怀疑呢？研究发酵化学的机制給他指出了发酵是一个联接各种不同中間反应鏈鎖的十分复杂过程，这是應該十分确切相吻合的。若是这种鏈鎖中一个环节遭到破坏或者甚至仅仅是个别反应速度常数在不同程度上的改变都将引起总的过程的失調而遭到破坏，而整个过程将完全被攪乱了。

但是細胞外发酵如同活体酵母作用下的发酵一样是十分平稳和均匀。各种不同的酶将借什么样的方法参予到发酵中去呢？它們之間的活动可能是相吻合的，当它們与活的微生物細胞脱离关系时，則它們每个本身将具有什么呢？科斯特切夫肯定地駁斥了这种可能性并做出結論；所观察到的細胞外发酵事实上只是借助于少量活細胞所进行着的剩余发酵，而这些活細胞是經常存在的，縱使它們的数量不多，在布赫涅尔压榨液中或是在干酵母制剂中均有。为了捍卫这种原理，科斯特切夫指出这些制剂的发酵能力一般占原始活体酵母的发酵能力的1—2%。但是当計算时指出，所存在的活細胞是十分少的，在其发酵能力的一般标准中甚至不能証实这种微弱的发酵，科斯特切夫开始了专门的研究，其中希望証实在活細胞破坏时从其中所分离出的各种刺激素的影响下，尚存活的細胞发酵活力在很大程度上提高，并以此补偿它們不

足的数目。計算这些細胞的个别能量應該比过去人們所設想的无限地高, 科斯特切夫用这种方法希望所有細胞外发酵引致活体細胞更高的活力, 这些活細胞被他在各种能引起发酵的制剂中找到, 它的量时常是不多的。

在这个环节和其它有意义的观察方面的工作并不很少。显然, 科斯特切夫从事无酵母細胞浸漬液的专门研究时, 发现其中有能引起酒精发酵的活細菌, 并在精确的試驗中亦指出, 可能是通过一系列的压榨发酵引起一批去“感染”另一批。他完全是将浸漬液的发酵引起这些細菌作用的。

但是在这里, 就在这一时刻, 科斯特切夫犯了錯誤。使用新的細菌濾器得知, 通过这濾器的浸漬液是完全灭菌的, 但是糖是以一般能力过度地发酵。其它被科斯特切夫所提出的辯护自己观点的証据同样也有不是全令人信服之处, 我們將不予以討論了。但是可以提出一个問題: 如何解释科斯特切夫的一般較妥切和现实情緒的智慧以帮助他在复杂的事例迷歧中找到正确的道路, 而仅在这次走了不正确的方向。

我想在这一阶段中科斯特切夫的錯誤不是象根据第一种观点可能指出的这么大。我們目前知道, 而在科斯特切夫时代也已經部分地知悉的, 酒精发酵是不寻常的复杂过程, 它是由几乎达到十种(不久将要更多种)各种极不相同的酶所协调而依次发展的一系列总的反应所組成的, 同时这些反应彼此之間是很协调地相联系的, 完全不能停留在一点而脱离另一点。能否将这种复杂的过程作为自細胞中分离出的个别酶, 如淀粉酶、轉化酶等等活动的类型呢? 科斯特切夫认为将这种整个发酵过程的深湛的組成和奇异的配置, 在細胞压榨出的简单无生命的溶液中进行是不可能的, 这种情况按帕拉金的術語說, 酶是“繁紛地”活动着。

除了細胞以外, 科斯特切夫沒有考虑到另一类的生命活动。由此, 他的令人煩惱的尝试証实了細胞外的发酵过程是不能存在的。

在某些辯护科斯特切夫錯誤的这个問題中, 應該說, 我們至今还没有对細胞外发酵的玄奥机制有一点明确的概念。它能发生并在細胞外实际上发生。科斯特切夫在反駁这个早先已經對我們无可怀疑的事实上犯了錯誤。但是同样對我們目前來說亦是无可怀疑的, 生命的类型是多种多样的, 并不一定要与細胞相联系的。我們目前尚未完全知道, 如其中存在活化的发酵类型, 象浸漬液的这种細胞外环境。

我們认为科斯特切夫的細胞外发酵的工作在所有他的事实上是无根据的, 故只有原理上的意义, 因为这些工作促使人們考虑很久未被揣測清楚的、具有特异能力实行純粹生命特征的复杂过程的細胞外发酵环境的特性。

科斯特切夫在第一阶段科学活动中結束了大量关于呼吸和发酵問題的研究, 但是远远沒有竭尽其科学工作的能力。不可能詳細地追溯科斯特切夫全部的 科学道

路,我們將着重談一談在他以後活動中最重要階段。研究酵母和霉菌的生化逐漸吸引他到微生物領域範圍內,並給他指出這裡將有遼闊的領域進行生化特性新的巨大的研究。在其活動的晚期,他對於植物中有機酸,其中首先是檸檬酸,以後部分地是乳酸的形成問題給予很大的注意。他的有關霉菌 *Aspergillus niger* 形成檸檬酸的工作是特別重要,因為它們引導科斯特切夫建立起新的明確而嚴格地所作出的理論,同時為列寧格勒建立起通過生物方法的半工廠性生產檸檬酸奠定了基礎。

他的理論實質是:檸檬酸(一般有機酸)是在二種基本的細胞內代謝途徑——蛋白質和碳水化合物——的交互而產生的。借助於碳水化合物組成了將產生的氨基酸含碳的結構,它們吸收所存在的氮時轉變成為氨基酸。但是如果沒有氮(一般在相類似狀態下的氮)的存在,不可能實行改組化合,依靠碳水化合物所組成無氮素類型,開始產生有機酸。換言之,有機酸是沒有最終(由於缺乏氮素)形成的氨基酸。為了証實這種結論進行了一些試驗,並指出尤其是麴霉菌生成與累積檸檬酸只是在生長過程衰弱時開始的,而當時蛋白質物質的合成應該是急劇地中止。

但這個十分有意義和獨特的結論遭到了嚴酷的批評。實踐證明,絕不應適當地去除氮素營養的成長的菌絲體以期增加檸檬酸的產量,而這點就是從這種概念的基本假定同源的。但是一方面科斯特切夫的理論是正確的並且被一些較為後期的研究工作所証實——即麴霉菌能產生檸檬酸,事實上這經常是在菌絲體生長衰弱的時期時產生的。但是從這個事實不應做出結論,說在具有特殊作用的一般代謝中可去除掉有機酸,並且僅僅只是不正常合成氨基酸的間接結果,——無疑它的意義是很廣泛的,並在植物的新陳代謝中,它們應該比科斯特切夫所說的起着更為自給自足的作用。

從事微生物的工作大大地擴大了科斯特切夫的科学視界,並引導他接近各種實際的經濟問題,同時從他這方面對於實踐的需要沒有予以一點反應,而反之,每一次都是與巨大的理論問題相聯系的。此外,在這種情況下,他經常不是以一個從屬者出現,而是作為一個獨立地悉知導源于自己本身科學探索和成績中新的實踐問題的創導者出現。

這一點在他的檸檬酸工作是十分清楚的。從他關於麴霉菌形成檸檬酸的條件的理論概念出發,並且考慮到這種產物在我國生活中是非常缺乏的,科斯特切夫在和許多他所選擇一起工作的同事們合作中,設計了用生物方法(即是利用麴霉菌)生產檸檬酸的方法,並因而為蘇維埃建立第一個這種類型的專門工廠工作奠定了基礎。這個工廠經過了一系列的嘗試和改良,繼續生產並且目前很成功地生產,越來越多地滿足我們經濟上如此迫切需要的產物。

在其晚年, 科斯特切夫开始注意另一种具有更高经济意义的酸——乳酸, 是由另外一些微生物——乳酸细菌所产生的。在这一方面曾经做了不少的工作, 但是显然与时间不足有关, 这方面的工作还没有走出试探性的纯经验的探索的范围, 远不到进行大规模总结的时候, ——无情的死神夺走了尚较为年轻的科斯特切夫, 遗留了尚待继续工作的这个问题, 当时正是 1931 年。

科斯特切夫在他科学活动的后期, 虽然按字义本身不是一位微生物学家, 也是属于微生物领域内的, 如同一个禀赋天才的学者, 他很快地精通了这门对他是新的领域的科学, 不久即在微生物学方面获得了享有高度权威的地位。尤其应指出从 1923 年开始的 7 年过程中, 他担任了列宁格勒农业微生物研究所所长的职务, 同时应该强调指出, 他在研究所的工作中所起的研究组织工作的作用是十分显著的, 并且大大地活跃了所里的科学活动。

科斯特切夫自己直接涉及微生物学问题的工作中, 应该归纳成为两项特别引起他注意的题目。这首先是具有非常重要性的问题, 在文献中几乎是完全没有的, ——固氮细菌(主要是固氮菌)固定分子态氮的产物。这个问题试验研究的困难在于这过程中可能的中间产物(例如氨)不仅可能由于分子态氮合成结果而产生, 同时亦可能是早先复杂的有机氮化合物分解而产生的。必须要采用一种方法来区别合成反应, 还是分解反应。从总的反应集合中将它们区分开, 而在这种反应集合中它们往往是交织在一起的。科斯特切夫在寻找这种方法中, 在早期做了有关阐明霉菌还原硝酸盐的工作。在这项工作中他所获得的主要结论是——硝酸盐的还原是有阶段的——经过亚硝酸盐到氨。但是当研究这个过程的最后阶段中, 发生了正如我们现在所说的这种困难。要知氨可能由两种来源发生的, 在硝酸盐吸收状态或在蛋白质氨基酸分解状态下均有可能。但是由于后者在很大的范围内仅仅是从利用能量而开始的, 而起先在真菌发育的初步阶段时则完全不出现或是很少, 这里我们可能几乎在纯净的状态下获取到硝酸盐还原的产物。科斯特切夫在方法上使这项任务得到了保证, 他在这些试验中广泛地利用了他所制订的预先培养在相适应的营养液中的霉菌的方法, 然后将菌转移到所需成分的新鲜配制的溶液中。由于这种类型大量试验的结果得出了硝酸盐自开始被吸收时, 在其生命活动的这个时期尚未涉及分解过程时, 硝酸盐类随着亚硝酸盐而产生氨。

这种方法在固氮菌试验中完全被采纳了, 并得到了类似的结果。此菌的最初发育阶段时即发生了氨的积累, 事实上这是从吸收分子态氮的最初阶段开始的。

科斯特切夫做出了原则上重要的结论——各种不同的微生物, 如霉菌完全能靠着硝酸盐, 固氮菌能靠分子态氮而吸收氮, 通过相似的途径产生氨。