

毕希纳与 无细胞酵解实验

撰文 吴志强（芜湖市第十二中学）

1897年，一篇题为《无酵母细胞的乙醇发酵》的论文在杂志上发表，宣布了无细胞酵解的发现，这项成就开启了现代生物化学的大门，为生命科学的发展奠定了坚实的基础。文章的作者就是爱德华·毕希纳。然而，国内关于毕希纳及其实验的介绍相对较少，在人教版《高中生物必修1——分子与细胞》P81“关于酶本质的探索”中有

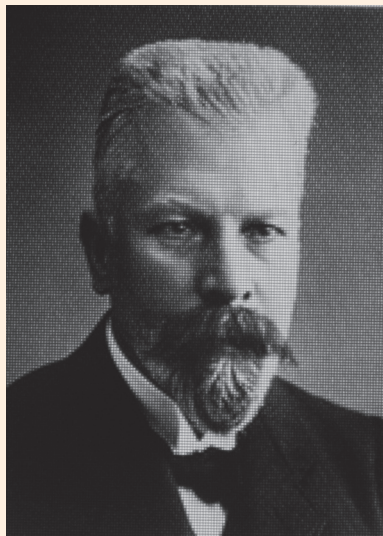
着简短介绍。但是笔者在中学教学过程中发现，无论是学生还是老师，对此实验仍有一些困惑。下面就列举这些问题进行探讨和解答。

死在战场上的科学家——爱德华·毕希纳

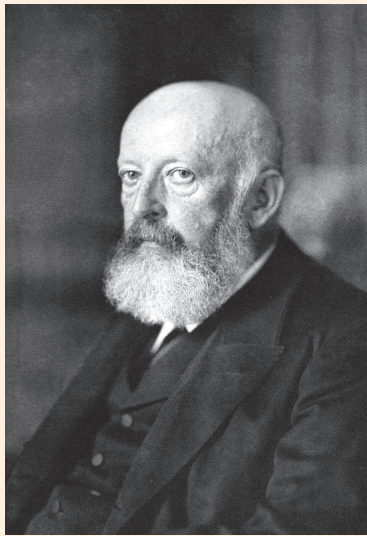
毕希纳1860年出生于德国慕尼黑，年幼时，产科和法医学教授的父亲不幸去世，他的哥哥

承当起他的教育责任，直至高中毕业。服完兵役后，在慕尼黑技术大学主攻化学，但因家庭经济困难不得不放弃学业，在一家罐头厂工作四年。经济好转后，毕希纳又重新开始自己的高等教育。顺利获得学位后，又拜著名慕尼黑大学化学家阿道夫·拜尔(1905年诺贝尔化学奖获得者)为师，后至埃尔朗根纽伦堡大学随恩斯特·奥托·菲舍

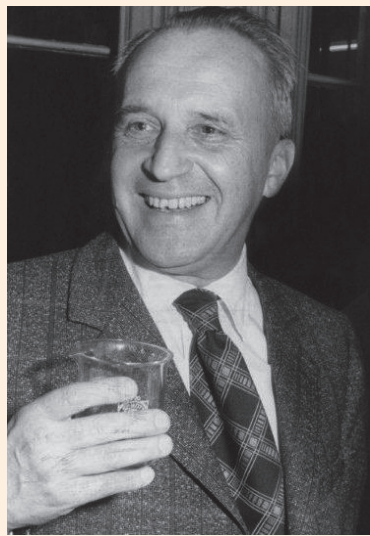
爱德华·毕希纳

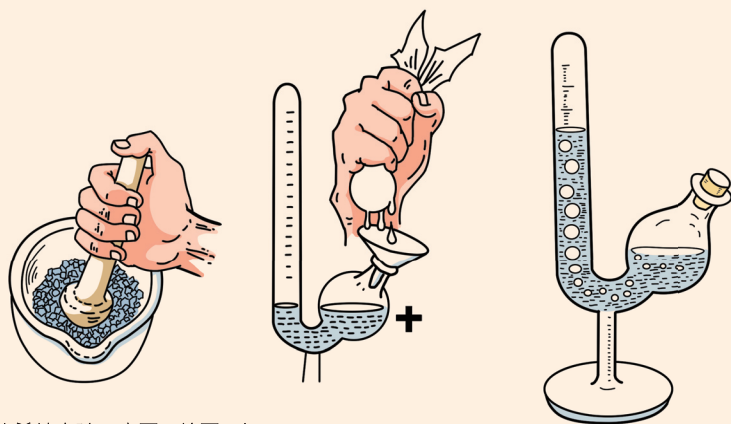


阿道夫·拜尔

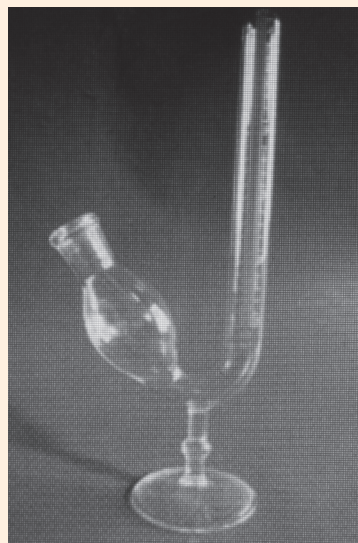


恩斯特·奥托·菲舍尔





毕希纳实验示意图 绘图/小四



毕希纳实验所用的发酵管

尔学习。1888年毕希纳在慕尼黑大学获得化学博士学位，两年后成为拜尔教学助手。1893—1913年，毕希纳历任基尔大学分析化学所主任，基尔大学教授，廷伯根大学分析药物化学教授，柏林农学院化学教授。第一次世界大战爆发后，毕希纳弃笔从戎自愿参军，在一次战斗中，身为少校的不幸受伤，在慕尼黑去世，年仅57岁。

其实毕希纳还有一重让很多师生忽视的身份——诺贝尔化学奖得主。由于“无细胞酵解现象的发现”他获得1907年诺贝尔化学奖。尽管毕希纳在当时化学界不是大师巨匠，且很多人认为他的实验过于简单，不适合荣获如此重大的荣誉，但瑞典皇家科学院还是将这项荣誉颁发给毕希纳。事实证明这个决

定是正确的，20世纪生物化学迅猛发展，近70项的诺贝尔奖都颁发给该领域。即使在分子生物学成为主流的今天，酶学仍是一大热点，如2009年诺贝尔生理学或医学奖颁给了“发现端粒和端粒酶如何保护染色体”的研究。相信在未来的几年里，抗体酶、受体依赖的蛋白激酶等成就也将是争夺诺贝尔奖的热门领域。

毕希纳实验中的玻璃仪器是什么？

毕希纳实验中使用的玻璃仪器是发酵管。它是具有高脚底座的长颈弯管，有一个直立的玻璃管和一个边管连接的玻璃泡。介绍毕希纳实验的很多资料中，总会出现发酵管左侧液面高于右侧，这是为什么呢？要想

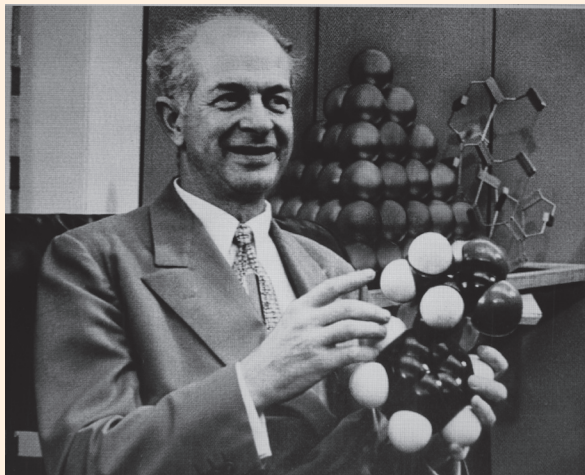
回答这个问题就必须明白发酵管的使用方法。使用发酵管实验时，先将蔗糖溶液与酵母汁混合后放入发酵管中，注入的容量为弯管处的 $1/2$ （约整个发酵管的 $4/5$ ），用手指摁住发酵管口，沿垂直面向外翻转 180° ，然后再按原翻转方向返回，这就将左侧带有刻度的管全部充满。一段时间以后，糖液与酵母汁混合液开始反应，产生气泡和酒精。由于二氧化碳气体的积累，直立管的液面开始下降。如果此时向管中加入KOH晶体，它将会吸收二氧化碳，随即左侧管中的液面将会上升到管顶部。

毕希纳实验的结论有哪些？

人类两千多年前就懂得酿酒，但对发酵的化学过程却知之甚少。随着近代科学迅猛发



路易·巴斯德



尤斯图斯·冯·李比希

展, 化学方法的逐步完善, 发酵开始成为科学研究的一项基本内容。与毕希纳同时代的法国著名微生物学家路易·巴斯德, 早在1857年就开始研究这方面内容, 他强调生物体或细胞的作用, 认为酵母发酵必需在活的状态、无氧情况下才能完成

将蔗糖转变为乙醇和二氧化碳的过程。而近代化学先驱尤斯图斯·冯·李比希更倾向于从化学角度考虑问题, 提出发酵实际是细胞内酵素发挥作用的结果, 并且酵素只能在酵母死亡后才能发挥作用。

两种观点争执不下, 毕希

纳的实验最终结束了这场争论。在研究发酵一直未取得理想结果之后, 他开始研究酵母汁的药用价值。他和助手共同研制出一种高效提取酵母汁的方法: 使用沙子和硅藻土研磨酵母, 破坏外壁使内部液体释放, 然后过滤除去未粉碎酵母及部分碎片而获得酵母汁。这种方法的优点在于避免了以前使用特殊溶剂或高压所产生的破坏性 (以今天的视角去看, 避免了酶的变性失活)。改进方法后, 毕希纳获得很多的酵母汁。如何存放这么多的酵母汁是毕希纳的一个头痛的问题。当时酵母的保护剂一般使用蔗糖 (因此毕希纳早期实验中并非使用葡萄糖, 而是蔗糖), 当他将蔗糖加入酵母汁中后发现一个奇怪现象, 混合物总会出现发泡现象。毕希纳没有放过这个异常情况, 觉得这绝不是个偶然现象。进一步分析发现蔗糖被酵母汁催化转变成为乙醇和二氧化碳, 发泡正是由于产生二氧化碳的缘故。由于酵母汁已经过研磨和过滤, 因此不存在活酵母, 这说明引起发酵的酵素不需要活酵母存在, 在体外照样可发挥催化作用。由此, 他认为发酵是由一种物质发挥作用完成, 并将这种物质命名为酵酶, 它既可以在活细胞内催化发酵, 也可在缺乏活细胞的体外环境发挥作用。

毕希纳的实验难道就只有这一点结论吗? 仔细分析我们还可以发现另一项重要结论。在用发酵管实验时, 无论有没有用软木塞封口, 蔗糖和酵母汁混合液都会发生发酵现象。这与当时巴斯德的“无氧发酵, 有氧抑制发酵”的主流观点相反。因此, 这个实验另一个重要的结论就是对于发酵概念的补充: 发酵即使在氧气存在的条件下也可发生。毕希纳虽然没有进一步阐明蔗糖转化乙醇机制, 但他却促使一大批科学家开始研究酶的本质、酵解机制等问题, 这为生物化学的发展发挥了巨大的奠基作用。

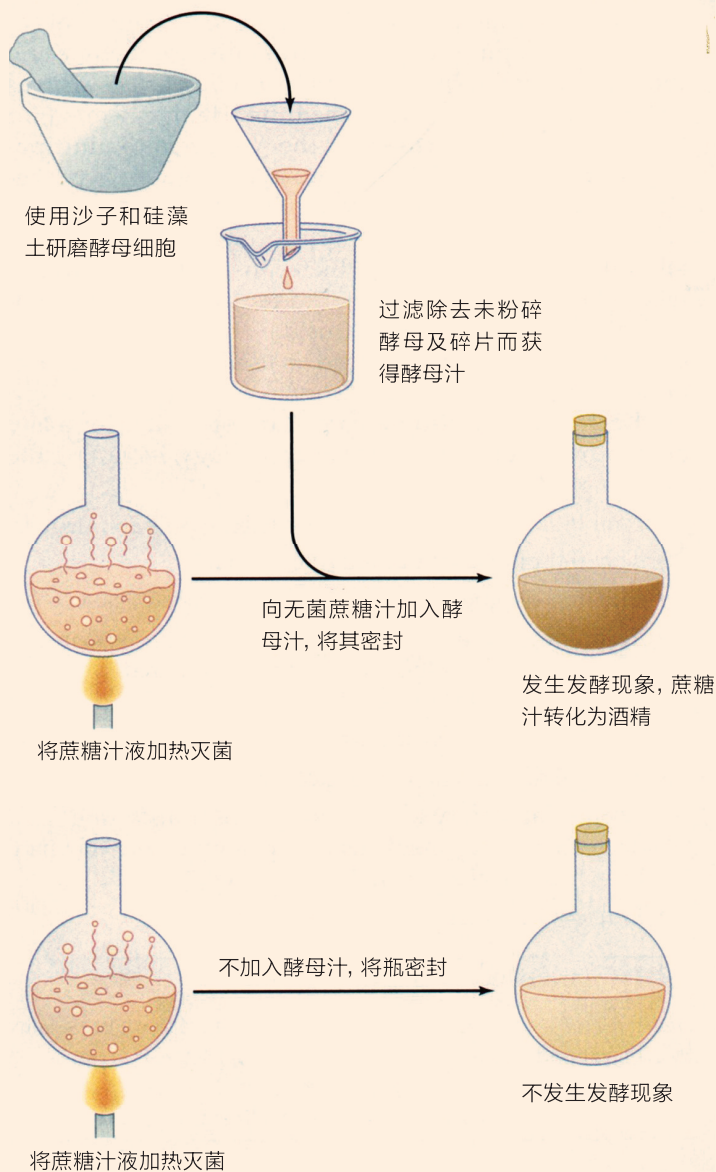
毕希纳实验成功的原因

无细胞酵解实验从实验设计到实验操作都是十分简单的。以巴斯德的学术造诣, 难道就没想过提取酵母汁来完成毕希纳的实验吗? 如果他做了实验, 为什么还会认为这种物质无法在体外发挥作用呢? 事实上巴斯德和他的学生在1860年就提取出酵母汁尝试进行无细胞发酵实验, 实验结果显示无法完成发酵, 因此才得出他们的上述结论。究其原因, 只能说巴斯德运气不佳。他的实验材料是巴黎酵母, 这是一种蔗糖酶缺陷型酵母, 故酵母汁与糖液的混

合液无法发酵。而毕希纳使用的是慕尼黑酵母, 这种酵母细胞中富含蔗糖酶, 并在他的高效提取酵母汁的方法下仍能保存活力, 所以他的实验现象非常明显。正因如此, 很多人都认为毕希纳的成功是一个意外, 也是一种幸运。但在幸运的背后,

我们也不能忽视毕希纳对于科学技术的创新精神, 对于实验中任何一个细节的关注和勇于质疑科学权威的精神, 这些都是他最终发现无细胞酵解现象不可或缺的因素。■

(责编 桑新华)



无细胞酵解实验过程示意图