

К ИСТОРИИ НАУКИ
TO THE HISTORY OF SCIENCE

М. С. Цвет и создание метода хроматографии¹

Е. М. Сенченкова, Л. В. Мельникова

M. S. Tswet and the creation of the method of chromatography

E. M. Senchenkova, L. V. Melnikova



27 мая 1972 г. исполнилось сто лет со дня рождения Михаила Семеновича Цвета, с именем которого связано создание принципиально нового метода «хроматографического анализа».

¹ В основу статьи положен доклад, прочитанный Е. М. Сенченковой 24 мая на заседании МОИП, посвященном 100-летию со дня рождения М. С. Цвета.

М. С. Цвет родился в итальянском городке Асти в семье Семена Николаевича Цвета — русского чиновника и Марии де Дороща — итальянки, воспитывавшейся в России. В Асти родители М. С. Цвета были проездом в Швейцарию. Вскоре после рождения ребенка его мать умерла, и отец вынужден был оставить его в Лозанне на попечение кормилицы.

Детство и юность М. С. Цвета прошли во французской Швейцарии. В 1891 г. в Женеве он закончил гимназию и поступил в Женевский университет на физико-математический факультет, где в течение четырех семестров прошел полный курс. Самое большое влияние на его последующую научную деятельность оказали здесь профессора ботаники Тюри и Шода.

В 1893 г. М. С. Цвет выдержал экзамены на степень бакалавра, посвятив себя затем более детальному изучению ботаники. Студентом третьего курса в 1894 г. он был награжден премией им. Деви за экспериментальное исследование по анатомии пасленовых.

В начале 1896 г. М. С. Цвет сдал экзамены по ботанике, зоологии и физике, а затем после напечатания диссертации «Исследования физиологии растительной клетки» получил в Женеве степень доктора естественных наук.

В 1906 г. М. С. Цвет впервые приехал в Россию. Его надежды на получение должности в Новороссийском университете не оправдались. Он переехал в Петербург и поступил в ботаническую лабораторию Академии наук, руководимую акад. А. С. Фаминцыным. Вскоре М. С. Цвет начал работать в частной биологической лаборатории, основанной П. Ф. Лесгафтом, где после открытия курсов вел практические занятия и читал лекции по ботанике.

23 сентября 1901 г. в Казанском университете Цвет защитил магистерскую диссертацию на тему «Физико-химическое строение хлорофильного зерна» и затем в течение 6 лет работал ассистентом ботанической кафедры Варшавского университета.

В 1907 г. М. С. Цвет женился на дочери учителя Седлецкой мужской гимназии Елене Александровне Трусевич (1874—1922), в лице которой он приобрел верного и преданного друга. Предметом особых забот Елены Александровны было слабое от рождения здоровье Михаила Семеновича, резкое ухудшение которого началось с 1911 г.

13 октября 1908 г. М. С. Цвет стал преподавателем ботаники Варшавского политехнического института. 28 ноября 1910 г. он успешно защитил в Варшавском университете докторскую диссертацию «Хромофиллы в растительном и животном мире». Этот труд М. С. Цвета был высоко оценен еще при его жизни — 29 декабря 1911 г. Российская академия наук присудила за него одну из своих премий.

М. С. Цвет всегда был в курсе исследований, проводимых как за границей, так и в России. Он часто посещал Берлин, Амстердам, Лейден, Дельфт, Киль, Париж, а также отечественные научные собрания — XII и XIII съезды русских естествоиспытателей и врачей (1910, 1913), II менделеевский съезд чистой и прикладной химии и физики (1911) и др., где выступал с докладами. Следует отметить, что с 1912 г. число научных публикаций Цвета значительно сократилось из-за ухудшения здоровья: приходилось несколько раз выезжать за границу для лечения.

В 1914 г. разразилась первая мировая война. Варшавский политехнический институт был эвакуирован в Москву и некоторое время там оставался. Летом 1916 г. институт был переведен в Нижний Новгород, где Цвет работал до 1917 г.

24 марта 1917 г. Цвет был избран ординарным профессором кафедры ботаники Юрьевского университета и осенью приступил к своим обязанностям. Однако в Юрьеве ему не пришлось долго работать. 23 февраля 1918 г. в город вступили немцы, а летом преподавательский состав был эвакуирован в Воронеж, где тогда стал создаваться Воронежский университет. Менее года ему пришлось работать и в Воронежском университете. Еще до приезда в Юрьев нижегородский врач В. П. Вицинский отмечал у Цвета «резкую форму малокровия на почве сердечной слабости»; проф. И. В. Георгиевский, бывший в 1918 г. врачом Воронежского университета, также свидетельствовал наличие у него декомпенсированного порока сердца.

Умер Цвет 26 июня 1919 г. в Воронеже.

Научное наследие Цвета состоит из 69 прижизненных публикаций, выполненных с 1894 по 1916 гг. Большие перспективы использования достижений химических исследований и методов при изучении природы растительного организма Цвет увидел в самом начале своей научной деятельности. Уже в своих первых исследованиях он стремился не только описать наблюдаемые им образования, но и понять их функцию и назначение в растении, изобретая при этом новые приемы и методы.

Подводя итог своим исследованиям в 1915 г., М. С. Цвет подразделил их на пять основных групп: 1) работы по микротехнике и микрохимии, 2) по цитологии и анатомии, 3) работы физико-химического содержания, 4) физиологического содержания, 5) биохимического содержания (Фаминцын, 1916, стр. 8—14). Уже из этих названий видно, какое значительное место в работе исследователя занимал физико-химический подход при изучении природы организма растений. Последовательность пере-

числения этих групп исследований обусловлена хронологией их выполнения, а не той научной значимостью, которую им придавал сам автор. Однако именно биохимические работы оставили значительный след в истории науки и получили заслуженное признание среди физиологов и биохимиков растений и животных, микробиологов, химиков. Широкий интерес к работам фитофизиолога со стороны специалистов различных областей науки объясняется тем значительным открытием, которое сам Цвет называл адсорбционным методом и которое теперь называется хроматографией.

Возникновению метода способствовал огромный интерес в прошлом столетии к хлорофиллу. Этот пигмент привлек особое внимание М. С. Цвета в конце 1896 г., когда он приехал в Петербург и приступил к изучению функционирования хлоропластов. В 1898 г. он опубликовал статью «Гемоглобин и хлорофилл. В каком направлении желательнее изучение последнего тела», в которой наметил программу исследований фотосинтетического аппарата растений. Однако отсутствие надежной методики исследования не давало возможности изучения истинных свойств хлорофилла и вынуждало ученых работать со смесью пигментов. Поэтому первоочередной задачей Цвет считал создание «новых тонких микрохимических методов исследования, которые подобны пионеру, пробивающему себе путь в девственном лесу» (Цвет, 1898, стр. 65).

В 1899 г. Цвет сообщил о новой, до тех пор неизвестной особенности поведения протеиновых веществ — способности разбухать, растворяться в различных водных растворах или в некоторых диоксибензолах и вновь выделяться из этих жидкостей. Это явление он назвал поворотной ликвифакцией. Выявление и изучение данного свойства протеиновых веществ побудило Цвета заняться более тщательно исследованием химической природы хлорофилла в живых клетках — гипохлорина, который, по его предположению, должен обладать белковыми свойствами, а также в целом всего хлорофилл-белкового комплекса, который он назвал хлороглобином.

15 декабря 1899 г. Цвет выступил в Петербургском обществе естествоиспытателей с сообщением о результатах исследований хлороглобина, подтверждающих его догадку о белковой природе основы этого комплекса. «Теперь, — писал он, — установлен физиологически важный факт, что красящее вещество обладает несколькими физико-химическими свойствами белковых тел (разбухаемость, сгущение красящих веществ и т. д.)» (Цвет, 1900, стр. 353). Позже (1901) он дал более подробное описание изученных им свойств хлороглобина и первым предпринял экспериментальное изучение состояния хлорофилла в живом растении. Большие усилия при этом М. С. Цвет направил на то, чтобы разработать методику изолирования естественного, неизмененного хлороглобина из растительной клетки. Высокая лабильность хлорофилла при его извлечении из растений побудила исследователя использовать для изучения этого пигмента метод дифференциального растворения в сочетании с методом дробного растворения.

Сообщения о существовании хлороглобина у растений были опубликованы как в России, так и за рубежом, но не получили должной оценки. Против гипотезы Цвета выступили известные исследователи растительных пигментов Ф. Чапек (Czapek, 1900), Н. А. Монтеверде (1900). Их критика была направлена на один из пяти методов извлечения хлороглобина. Однако М. С. Цвет не только не отказался от своей гипотезы, но в ответной статье «О природе хлороглобина» (1900б), показав необоснованность этой критики, наметил программу дальнейших исследований. «Для полного расследования хлороглобина, — писал он, — важно определить, во-первых, природу гипохлорина, во-вторых, природу зеленого и желтого начал, и, наконец, если возможно, выяснить природу химической связи, по-видимому, соединяющей эти компоненты» (Цвет, 1900б, стр. 161). Добиться успехов при этом, по его мнению, возможно лишь путем «умелого пользования методами возможными» (Цвет, 1900б стр. 162).

18 октября 1900 г. на заседании того же Общества М. С. Цвет выступил с сообщением «Хлорофиллины и метакхлорофиллины», где он высказался против широко распространенного в науке мнения о существовании в фотосинтезирующих частях растений лишь двух пигментов: зеленого — хлорофиллина, и желтого — ксантофилла. Цвет разделял мнение К. А. Тимирязева о том, что выделенный в чистом виде зеленый пигмент растений следует называть «хлорофиллином» в отличие от «хлорофилла», которым издавна именовали всю вытяжку из зеленых листьев, представляющую собой смесь хлорофиллина и неразличимого для глаза желтого пигмента ксантофилла. Именно в этом смысле употреблял термин «хлорофиллин» и Цвет. В настоящее время хлорофиллинами называют производные хлорофилла, образующиеся при действии на него щелочи.

Используя существовавшие методы исследования пигментов и введя в них ряд усовершенствований, М. С. Цвет впервые подтвердил мнение Д. Стокса (1864) и Г. Сорби (1873) о наличии в листьях растений не одной, а двух форм зеленых пигментов — сине-зеленого и желто-зеленого, которые были названы им соответственно хлорофиллинами α и β (позже они получили известность как хлорофиллы a и b). Одну форму пигмента от другой ему удалось отделить, используя лучшую раствори-

мость в спирте хлорофиллина β . Выпаривая спиртовой раствор хлорофиллина α , он смог получить мелкие кристаллы этого пигмента. Хлорофиллин β в чистом виде он выделить тогда не смог.

М. С. Цвет впервые поставил вопрос о действии внутри хлоропластов молекулярных сил, отнеся их «к категории адсорбционных» (Цвет, 1900в, стр. 284). Выяснение природы связи компонентов в хлоропласте имело большое значение при решении задачи выделения пигментов из смеси в их чистом и неизменном виде путем подбора наиболее рационального растворителя, способного преодолеть адсорбционную связь пигментов с их носителем. Уже в 1900 г. Цвет отмечал, что эти опыты «кладут основание новой методики»... (Цвет, 1900в, стр. 282). Перед исследователем стояла важная задача — найти способ разделения пигментной смеси на ее компоненты в чистом и неизменном виде, что дало бы возможность изучить пигментный состав хлоропластов и выяснить функции, соотношения, физиологический баланс и т. д. этих компонентов.

Результаты проведенных исследований были подытожены Цветом в его магистерской диссертации в 1901 г., которая явилась «зачатком» адсорбционного метода. Заслугу диссертанта точно охарактеризовал один из его оппонентов проф. Н. В. Сорокин (1901, стр. 5—6): «Из всего сказанного можно заключить о кропотливом труде г. Цвета. Решиться на то, чтобы приступить к изучению какого-нибудь хотя бы частного вопроса о хлорофилле может только человек, беззаветно любящий науку, который не пугается огромного литературного материала и который основательно подготовлен к такой работе. Исследования г. Цвета привели его к открытию новых интересных соединений, заключенных в хлоропластах, а критическая оценка прежней и современной литературы доказывает его солидную эрудицию».

Используя в своей работе известные ранее физические методы исследования, а также собственные нововведения и различные растворители в поисках сохранения пигментов в естественном состоянии, М. С. Цвет заметил, что адсорбируемость находится в зависимости от природы растворителя: чем более растворимо данное вещество в определенном растворителе, тем менее оно адсорбируемо и наоборот. Замечательная идея Цвета использовать различие в адсорбируемости для разделения смеси веществ на составляющие и выделения последних в чистом и неизменном виде легла в основу его адсорбционного анализа, являющегося, по его словам, другой формой метода дробного растворения и основанного «на различии адсорбционного сродства пигментов к мелко пористым «мицеллярным» веществам» (Цвет, 1901, стр. 75).

30 декабря 1901 г. М. С. Цвет выступил на XI съезде русских естествоиспытателей и врачей в Петербурге с докладом «Методы и задачи физиологического исследования хлорофилла» (Цвет, 1902а, стр. 523). Основные положения данного доклада были изложены и развиты в другом сообщении «О новой категории адсорбционных явлений и о применении их к биохимическому анализу», сделанном Цветом 8(21) марта 1903 г. в биологическом отделении Варшавского общества естествоиспытателей (см. М. С. Цвет, 1946). В нем Цвет экспериментально обосновал наличие адсорбционных свойств у многих веществ и дал объяснение природы этого явления.

21 июня 1906 г. в «Доклады немецкого ботанического общества» поступила статья Цвета «Физико-химическое исследование хлорофилла», где наряду с вопросами, поднятыми в предыдущей статье, он впервые предложил термин «хроматография». В этой статье сформулирован закон адсорбционного замещения, согласно которому адсорбент, уже насыщенный одним пигментом, может поглотить и удержать дополнительное количество другого, причем возможны и замены, вытеснение, например хлорофиллинами ксантофиллинов. «Существует определенный адсорбционный ряд... — писал Цвет (1946, стр. 382), — по которому вещества могут замещать друг друга». Эти положения легли затем в основу современной ионообменной хроматографии.

21 июня 1906 г. Цвет передал в тот же журнал статью «Адсорбционный анализ и хроматографический метод. Применение к химии хлорофилла». В ней он впервые дал описание хроматографических установок с приведением таблиц, познакомил с техникой хроматографического эксперимента вообще и при изучении химии хлорофилла, в частности.

Таким образом, в работах 1903 и 1906 гг. М. С. Цвет не только описал приборы и технику разделения смеси растительных пигментов, но и развил на экспериментальной основе теорию разработанного им метода. Успех разделения он видел в различии адсорбционных постоянных разделяемых веществ и их способности вытеснять друг друга из их адсорбционных соединений, а также в различной скорости передвижения зон. М. С. Цвет изучил случаи образования диссоциирующих и недиссоциирующих адсорбционных соединений и значение этих факторов для успешного осуществления основных приемов хроматографического метода — адсорбции, промывания и вытеснения — и на этой основе сформулировал закон адсорбционного замещения, который объяснил физико-химическую природу расслаивания пигментов на адсорбционной колонке. Он выяснил также зависимость величины адсорбции от природы адсорбента, природы растворенного вещества и растворителя по отношению к пигментам, исследуя вопрос об адсорбции смешанных растворов.

В последующие годы М. С. Цвет опубликовал ряд работ, выполненных с использованием открытого им метода и посвященных выделению и последующему изучению различных растительных веществ, преимущественно пигментов. Все это нашло отражение в его докторской диссертации «Хромофиллы в растительном и животном мире». Она вскоре была переведена по специальному заказу Р. Вильштеттера, и все сотрудники его лаборатории и другие немецкие исследователи пигментов знакомились с этим рукописным переводом и ссылались на него в своих работах.

Используя свой метод в сочетании с оптическими исследованиями, М. С. Цвет смог получить в химически чистом виде новые формы пигментов: были отделены друг от друга и впервые получены в химически чистом виде хлорофиллины α и β , т. е. хлорофиллы a и b . Из бурых и диатомовых водорослей удалось выделить хлорофиллин γ (ныне хлорофилл c). Еще большее число форм обнаружил и выделил М. С. Цвет у ксантофиллов, назвав их ксантофиллами α , α' , α'' , β (позже ксантофилл α стал известен как лютеин, а ксантофилл β — как тараксантин). В 1910 г. он обнаружил в листьях туи и выделил из них красно-желтый пигмент, названный им вначале туйоксантином, а затем родоксантином. Последнее наименование и сохранилось до наших дней за этой самой темной по окраске из существующих форм ксантофиллов. Обнаружив множественность форм ксантофиллов и их родство с другим известным тогда пигментом — каротином, Цвет предложил в 1911 г. объединить их в одну общую группу и назвать каротиноидами — термином, ставшим ныне общепринятым и широко используемым.

Все сказанное позволяет судить о том, что М. С. Цвет намного опередил свое время. Однако большие возможности открытия не были до конца поняты его современниками. Правда, некоторые русские ученые, такие, как А. С. Фаминцын, Д. И. Ивановский, И. П. Бородин и другие, высоко оценили работы Цвета по изучению химии растительных пигментов. Так, Ивановский в 1908 г. писал: «Я могу с полной уверенностью сказать, что когда будет, наконец, достигнуто полное разъяснение природы фотосинтетических пигментов, этим успехам наука в значительной степени будет обязана трудам г. Цвета, подготовившего почву для стоящего на очереди, но доселе неудавшегося химического исследования» (Гос. архив Горьковск. обл., ф. 2082, оп. 2, д. 319, л. 7).

Широкое признание важности хроматографии началось с 1930—1934 гг., когда появилась серия работ лабораторий Л. Цехмейстера (Венгрия), П. Каррера (Швейцария) и Р. Куна (Германия). Они использовали в своих исследованиях метод хроматографической адсорбции для выяснения химического строения каротина и его производных и выявления структуры витамина А, лежащего в основе каротина. Эти исследователи высоко оценили открытие Цвета. Сопоставление с другими методами позволило им убедиться в том, что вещества, разделяемые путем хроматографии, как правило, не подвергаются химическим изменениям. В их исследованиях убедительно продемонстрирована высокая чувствительность метода, его простота, несложность и экономичность аппаратуры и небольшая затрата времени на проведение анализа.

За работу по выяснению химической структуры каротиноидов, витаминов группы А и других соединений изопренового ряда, витаминов группы В Кун и Каррер были удостоены Нобелевской премии. При ее получении Каррер сказал: «Ни одно другое открытие не имело такого влияния и не расширило в такой степени область исследования химика-органика, как хроматографический анализ Цвета. Метод Цвета показал, что многие природные вещества, казавшиеся простыми, на самом деле имеют сложный состав. Только благодаря этому методу удалось достигнуть такого быстрого и значительного прогресса в исследовании витаминов, гормонов, каротиноидов и других природных веществ» (цит. по И. М. Хайсу, 1962, стр. 21).

ЛИТЕРАТУРА

- Монтеверде Н. А. 1900. О «хлороглобине» и его отношении к хлорофиллу. «Бот. зап. СПб. о-ва естествоисп.», вып. 15.
- Сорокин Н. В. 1901. Отзыв в физико-математический факультет на магистерскую диссертацию М. С. Цвета «Физико-химическое строение хлорофильного зерна». «Уч. зап. Казанск. ун-та», т. 68, кн. 12.
- Фаминцын А. С. 1916. В физико-математический факультет Новороссийского университета. Пг.
- Хайс И. М. 1962. Некоторые сведения из истории хроматографии на бумаге. В сб.: «Хроматография на бумаге». М., ИЛ.
- Цвет М. С. 1898. Гемоглобин и хлорофилл. В каком направлении желательно изучение последнего тела. «Изв. СПб. биол. лабор.», т. 2, вып. 3.
- Цвет М. С. 1900а. О хлороглобине. «Тр. СПб. о-ва естествоисп.», т. 30, вып. 3.
- Цвет М. С. 1900б. О природе хлороглобина. «Тр. СПб. о-ва естествоисп.», т. 31, вып. 1.

- Цвет М. С. 1900в. Хлорофиллины и метаклорофиллины. «Тр. СПб. о-ва естествоисп.», т. 31, вып. 1.
- Цвет М. С. 1901. Физико-химическое строение хлорофильного зерна. «Тр. Казанск. о-ва естествоисп.», т. 35, вып. 3.
- Цвет М. С. 1902а. Методы и задачи физиологического исследования хлорофилла. «Дневник XI съезда русск. естествоисп. и врачей». СПб.
- Цвет М. С. 1902б. Физиологическое исследование хлорофилла. «Тр. СПб. о-ва естествоисп.», т. 33, вып. 1.
- Цвет М. С. 1946. Хроматографический адсорбционный анализ. Избр. работы. М., Изд-во АН СССР.
- Czaprek F. 1900. Kohlensäure-Assimilation und Chlorophyll. «Bot. Ztg.», Jg. 58, 2 Abt.

Роль В. И. Талиева в развитии учения о растительном покрове

Ю. К. Дундин

The role of V. I. Taliev in the development of the doctrine of the vegetative cover

Yu. K. Dundin

22 февраля 1972 г. исполнилось 100 лет со дня рождения Валерия Ивановича Талиева — одного из наиболее оригинальных и ярких отечественных ботаников. Поражает необычайная многогранность его огромного научного наследия, охватывающего вопросы флористики и ботанической географии, морфологии и биологии растений, фитопатологии, охраны природы, видообразования и эволюции. Одна из причин такой широты — исключительная одаренность В. И. Талиева: первые крупные работы, выдвинувшие его в авангард русской ботанической науки, были написаны им в возрасте 24—30 лет. Особо важное место в его творчестве занимают труды в области ботанической географии, выполненные на протяжении первого, так называемого «харьковского» периода его деятельности (до 1918 г.). Не ставя перед собой задачу сколько-нибудь последовательно прокомментировать этот раздел творчества В. И. Талиева — это уже сделано Е. М. Лавренко (1957) и А. А. Щербаковой (1960), — мы хотим остановиться на некоторых фундаментальных положениях его ботанико-географического мировоззрения, для того чтобы еще раз обратить внимание на выдающуюся роль В. И. Талиева в развитии учения о растительном покрове, роль, которая, к сожалению, до сих пор еще не оценена по достоинству.

В ботанико-географических исследованиях В. И. Талиева отчетливо выражены три особенности. Во-первых, все они выполнены на основании исчерпывающего знакомства с фактическим материалом и прежде всего с флорой. (Известно, что В. И. Талиев был отличным флористом.) Поэтому любые подозрения относительно того, что некоторые его положения, кажущиеся на первый взгляд парадоксальными, фантастическими, обусловлены умозрительным, поверхностным подходом к делу, должны быть решительно отвергнуты. Во-вторых, несмотря на то, что в работах В. И. Талиева почти не используется арсенал геоботанических понятий и терминов, уже накопившийся к тому времени, большинство из них по своему духу и смыслу являются первоклассными геоботаническими работами. В. И. Талиева всегда интересовали не столько сами растения, сколько их сочетания, которые он иногда называл ассоциациями, и особенно растительный покров в целом. Один из краеугольных камней его концепции — представление о непроницаемости, свойственной всякой формации по отношению к членам другой. Можно было бы привести множество примеров, иллюстрирующих геоботаническое мышление В. И. Талиева, но, пожалуй, образнее всего оно выражено в одном из его высказываний о структуре лесного сообщества: «Естественный лес, поскольку он не искажен хозяйничаньем человека, представляет собой некоторое органическое целое, являющееся продуктом длительной геологической жизни и слагающееся из элементов, тесно связанных не только друг с другом, но и с окружающими условиями. В состав этой сложной живой и подвижной единицы входят не только деревья и кустарники, объединенные взаимным приспособлением в смысле использования света, влаги, питательных веществ, условий размножения и пр., но также травянистый покров, микрофлора почвы и, наконец, пестрый животный мир, нормально связанный с лесом. Внутренняя связь между всеми этими элементами леса, как сообщества, при беглом наблюдении почти незаметна, и тем не менее стоит ей нарушиться, как жизнь леса скажется выведенной из естественного равновесия...» (1913, стр. 107). Третья особенность — насыщенность мыслью, теоретическая оснащенность любой работы В. И. Та-