

Züchtung von Chlorella mit der Xenon-Hochdrucklampe

Von OTTO WARBURG und GÜNTER KRIPPAHL

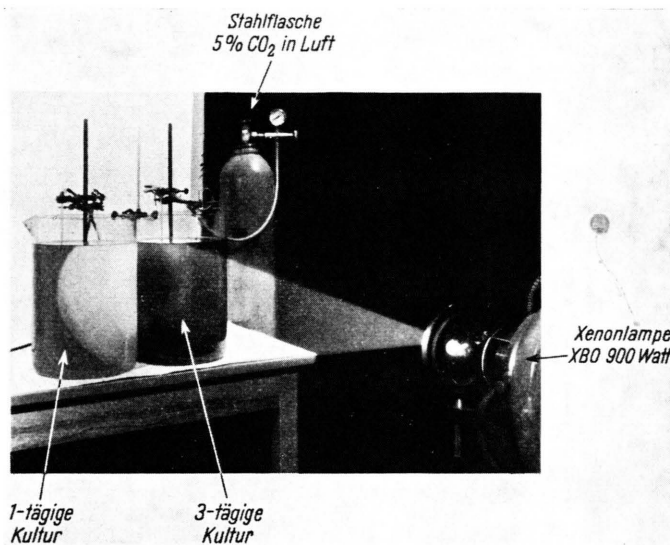
Max-Planck-Institut für Zellphysiologie, Berlin-Dahlem
(Z. Naturforsch. 17 b, 631 [1962]; eingegangen am 15. Juni 1962)

Benötigt man für Fermentisierungen Chlorellamengen der Größenordnung $100\text{ cm}^3 = 20\text{ g}$, so eignet sich die hier abgebildete einfache Anordnung, die davon Gebrauch macht, daß die Xenon-Hochdrucklampe viel mehr blaugrünes Licht, aber weniger Wärmestrahlen ausstrahlt als Metallfadenlampen, so daß man die

Kulturflüssigkeiten nicht zu kühlen braucht; während der Lichtstrahl durch 5 cm fließendes Wasser gekühlt wird.

Der Inhalt der Standzylinder beträgt 20 l, die Einsaat der Zellen 2 cm^3 , die Ernte nach 3 Tagen (bei 20° bis 25°) 40 Kubikzentimeter. Die Zusammensetzung der Kulturflüssigkeit + Mikroelemente findet man an anderer Stelle¹, pH am Anfang der Kultur ist 4,3. In der rein anorganischen Nährlösung, bei der sauren Reaktion und der kurzen Versuchsdauer ist Bakterienwachstum zwar zu vernachlässigen, doch werden zur Heranzucht der Einsaaten die üblichen geschlossenen Kulturflaschen verwendet.

Abb. 1. Kultur-Anordnung.



¹ O. WARBURG, Weiterentwicklung der Methoden, 257. Georg Thieme-Verlag, Stuttgart 1962.

Weiterentwicklung der manometrischen 1-Gefäßmethoden

Von OTTO WARBURG und GÜNTER KRIPPAHL

Max-Planck-Institut für Zellphysiologie, Berlin-Dahlem
(Z. Naturforsch. 17 b, 631—632 [1962]; eingegangen am 10. Juli 1962)

Die 1-Gefäßmethoden¹, bei denen der CO_2 -Druck durch konzentrierte Bicarbonat-Carbonatgemische konstant gehalten wird und bei denen Zellsuspensionen und Carbonatgemische räumlich getrennt sind, haben wir durch die Entwicklung neuer Gefäße wesentlich verbessert. Die neuen Gefäße haben die doppelte manometrische Empfindlichkeit und ermöglichen eine noch weitgehendere Konstanthaltung der Kohlensäuredrucke. Sie ermöglichen ferner, durch den Übergang von der Kegelform zur Kastenform, bei photochemischen Versuchen eine genauere Messung der Lichtabsorption. Die Gefäße, von denen zwei Typen als Gefäße 1 und 2 abgebildet sind, hat PETER OSTENDORF in unserem Institut

hergestellt. Das Hauptanwendungsgebiet von Gefäß 1 ist der Quantenbedarf der Photosynthese, von Gefäß 2 die Messung der Atmung der Krebszellen, wie durch die nachfolgenden Formeln begründet und durch Beispiele erläutert wird.

Formeln

Wenn in einem Manometriegefäß sowohl O_2 als auch CO_2 verschwinden oder entstehen, so ist der Umsatz des Sauerstoffs x_{O_2}

$$x_{\text{O}_2} = H k_{\text{O}_2} \left[\frac{k_{\text{CO}_2}}{k_{\text{CO}_2} + \gamma k_{\text{O}_2}} \right] \quad (1)$$

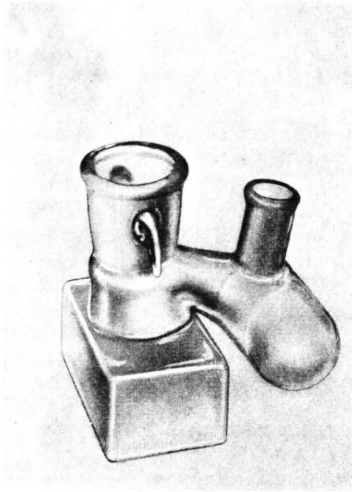
wo k_{O_2} und k_{CO_2} die einfachen Gefäßkonstanten für O_2 und CO_2 bedeuten, H die beobachtete Druckänderung ist und $\gamma = x_{\text{CO}_2}/x_{\text{O}_2}$.

Wenn ferner $r\text{ mm}^3\text{ CO}_2$ in den Anhängern in 1 cm^3 retiniert wird, falls der CO_2 -Druck um 1 mm Brodie steigt, so wird k_{CO_2} unter Berücksichtigung der Retention R

$$k_{\text{CO}_2}^R = k_{\text{CO}_2} + v_F r$$

wo v_F die cm^3 Carbonatgemisch im Anhänger bedeutet.

¹ O. WARBURG, Weiterentwicklung der Methoden. Georg Thieme, Stuttgart, u. Interscience, New York 1962.



Legende zu Gefäß 1

$v=25,85 \text{ cm}^3$, 7 cm^3 Zellsuspension im Hauptraum.
 3 cm^3 3-m. Carbonatgemisch + $0,1 \text{ cm}^3 = 2 \text{ mg}$ Cartase im
 Anhänger. $k_{\text{O}_2}^{20^\circ} = 1,5 \text{ mm}^2$.

Je größer r und v_F , um so größer wird $k_{\text{CO}_2}^R$. Ist $k_{\text{CO}_2}^R$ groß gegen γk_{O_2} geworden, so wird in Gl. (1) der eingeklammerte Ausdruck gleich 1 und es wird

$$x_{\text{O}_2} = H k_{\text{O}_2},$$

d. h. man kann x_{O_2} so berechnen, als ob nur Sauerstoff und keine Kohlensäure in dem Gefäß umgesetzt würde.

Beispiele

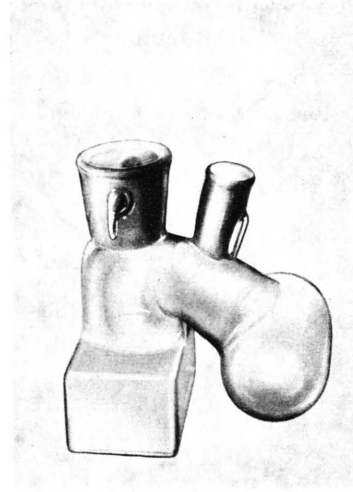
Wir betrachten als erstes Beispiel Zellen, deren γ zwischen $-0,8$ und $-1,2$ liegt, also normale atmende Zellen oder Chlorella, die atmet oder im Licht CO_2 fixiert. Die Versuchstemperatur soll 20° betragen, der CO_2 -Druck, der im Manometriegefäß konstant zu halten ist, soll etwa 500 mm Brodie betragen und erzeugt werden durch 3 cm^3 3-m. Bicarb. - Carbonat-Gemisch im Verhältnis $85 + 15$ Raumteile + $0,1 \text{ cm}^3 = 2 \text{ mg}$ Cartase. Der Hauptraum enthält 7 cm^3 Zellsuspension, z. B. Chlorella, suspendiert in ihrer Kulturlösung, deren p_{H} $4,3$ ist. Das Versuchsgefäß ist das oben abgebildete Gefäß 1. Dann ist: v_F im Hauptraum 7 cm^3 , v_F im Anhänger $3,1 \text{ cm}^3$, $k_{\text{O}_2} = 1,50 \text{ mm}^2$, $k_{\text{CO}_2} = 2,35 \text{ mm}^2$, $r = 11,5 \left[\frac{\text{mm}^3}{\text{mm cm}^3} \right]$, $k_{\text{CO}_2}^R = 2,35 + 3 \cdot 11,5 = 38 \text{ mm}^2$ und es wird

$$x_{\text{O}_2} = H k_{\text{O}_2} \left[\frac{k_{\text{CO}_2}^R}{k_{\text{CO}_2}^R + \gamma k_{\text{O}_2}} \right]$$

für

$$\begin{aligned} \gamma = -0,8 & \quad x_{\text{O}_2} = H k_{\text{O}_2} \times 1,03, \\ \gamma = -1,0 & \quad x_{\text{O}_2} = H k_{\text{O}_2} \times 1,04, \\ \gamma = -1,2 & \quad x_{\text{O}_2} = H k_{\text{O}_2} \times 1,05. \end{aligned}$$

Rechnet man also mit dem Faktor $1,04$, so macht man einen Fehler von nur 1% in x_{O_2} . Dies ist die



Legende zu Gefäß 2

$v=38,5 \text{ cm}^3$, 7 cm^3 Zellsuspension im Hauptraum.
 7 cm^3 3-m. Carbonatgemisch + $0,1 \text{ cm}^3 = 2 \text{ mg}$ Cartase im
 Anhänger. $k_{\text{O}_2}^{38^\circ} = 2,17 \text{ mm}^2$.

Anordnung, mit der heute der Quantenbedarf der Photosynthese bestimmt wird, wenn es auf den Umsatz des O_2 , und nicht auf den Umsatz der CO_2 ankommt.

Als zweites Beispiel betrachten wir Zellen, für die $\gamma = x_{\text{CO}_2}/x_{\text{O}_2}$ Werte bis zu $-6,0$ erreicht, wie in Ascites-Krebszellen, die in Serum oder in Ringer-Bicarbonatlösung ($m/50\text{-NaHCO}_3$) unter aeroben Bedingungen suspendiert sind. Die Versuchstemperatur soll 38° betragen. Der CO_2 -Druck, der konstant gehalten werden soll, sei etwa 500 mm Brodie und werde im Anhänger erzeugt durch 7 cm^3 3-m. Bicarbonat - Carbonatgemisch im Verhältnis $80 + 20$; während der Hauptraum 7 cm^3 einer Suspension von Asciteskrebzellen enthält und p_{H} etwa $7,4$ beträgt. Das Versuchsgefäß ist das oben abgebildete Gefäß 2. Dann ist: v_F im Hauptraum 7 cm^3 , v_F im Anhänger $7,1 \text{ cm}^3$, $k_{\text{O}_2} = 2,17 \text{ mm}^2$, $k_{\text{CO}_2} = 2,99 \text{ mm}^2$, $r = 16,7$, $k_{\text{CO}_2}^R = 2,99 + 7,1 \cdot 16,7 = 121,5 \text{ mm}^2$ und es

wird $x_{\text{O}_2} = H k_{\text{O}_2} \left[\frac{k_{\text{CO}_2}^R}{k_{\text{CO}_2}^R + \gamma k_{\text{O}_2}} \right]$ für

$$\begin{aligned} \gamma = -6,0 & \quad x_{\text{O}_2} = H k_{\text{O}_2} \times 1,12, \\ \gamma = -4,0 & \quad x_{\text{O}_2} = H k_{\text{O}_2} \times 1,07. \end{aligned}$$

Rechnet man also mit dem Korrektionsfaktor $1,12$ und betrachtet $\gamma = -4,0$ als die größte mögliche Abweichung von $\gamma = -6,0$, so kann man in x_{O_2} höchstens einen Fehler von 5% machen. Dies ist die Anordnung, mit der wir heute die Sauerstoffatmung der Ascites-Krebszellen messen.

Zu allen 1-Gefäßmethoden mit Carbonatgemischen ist zu bemerken, daß sie sich zur Messung stationärer Zustände eignen, nicht aber zur Messung kurzer Übergangserscheinungen, da trotz Cartase die Reaktionen zwischen Wasser und CO_2 nicht hinreichend schnell sind.