



Wilde Hefen: Isolation und Anreicherung wilder Hefen aus der Umgebung und von Oberflächen von Früchten

**BrauLabor
Wilde Hefen:**

**Anreicherung aus
der Umgebung**

Material: mittel	Aufwand: mittel-gross	Zeit: mittel-viel	Experimenttyp: Untersuchung	Anspruch: mittel
----------------------------	---------------------------------	-----------------------------	---------------------------------------	----------------------------

Einführung

Die Hefe bringt die aus dem Malz enzymatisch gewonnene Bierwürze zum Gären. Bei dieser Gärung entstehen aus Malzzucker Kohlendioxid (Kohlensäure), Alkohol und Aromastoffe. Hefe - das sind mikroskopisch kleine einzellige Mikropilze, die fast überall in der Natur vorkommen. Die Wirkung der Hefe war zwar schon den Urvölkern rein empirisch bekannt, wissenschaftlich erforscht wurde sie jedoch erst Ende des 19. Jahrhunderts. Der Franzose Louis Pasteur und der Däne Emil Christian Hansen wiesen damals verschiedene Heferassen nach, die sich zum Bierbrauen hervorragend eignen. Ohne Hefezellen gäbe es keine Gärung und ohne Gärung wiederum kein Bier. Neben dem Alkohol produzieren die Hefezellen während der Gärung bis zu 300 flüchtige und nichtflüchtige Nebenprodukte, darunter weitere Alkohole, Ester, Aldehyde u.a., die massgeblich den Geschmack des Bieres mit prägen.

In der Natur kommt Hefe in den unterschiedlichsten Stämmen vor: Heute werden i.d.R. zum Bierbrauen nur noch Reinzuchthefen, also Stämme völlig gleicher Heferassen verwendet, um eine gleichbleibende Bierqualität zu erhalten. Für den Hobbybrauer mag es aber äusserst reizvoll sein, zu versuchen, aus der eigenen Umgebung Wildhefen zu isolieren und im kleinen Massstab auf deren "Braueignung" zu testen!

Als kleiner Stimulus zur eigenen Bierhefenjagd dient vielleicht dieses Video einer professionellen Suche nach alten Bierhefestämmen
-> [siehe hier!](#)



Mit einem einfachen Verfahren sollen Wildhefen aus der eigenen Umgebung zunächst gefunden, isoliert und dann als Reinzuchtstämmen gehalten werden. Diese können später dann auf deren Eignung als Bierhefen getestet werden.

Materialien

Glaswaren/Geräte/ andere Materialien	Hefestartergefässe (3 oder mehr, z.B. Einmachgläser, Marmeladengläser, Honiggläser mit Deckel), Schnellkochtopf, Heizplatte, Messzylinder/Massbecher, pH-Meter mit Pufferlösungen pH7.0/4.0, Löffel/Polylöffel, Gärröhrchen, Bechergläser// kleine Glas-/Kunststoffbehälter, grosse Reagenzgläser oder WhiteLabs-Ampullen/PET-Flaschenfingerlinge, Pinzette, Lichtmikroskop mit Zubehör (Objektträger, Deckgläser), Präpariernadel, sterile Reagenzgläser mit Verschluss (Alukappen/Schraubkappen oder Wattepropfen)/Kulturröhrchen mit Schraubkappen, Impföse, Gasbrenner, Gärröhrchen nach Einhorn, evtl. Brutschrank, Waage, Aräometer/bzw. Elektronische Messgeräte zur Dichtebestimmung OG/Plato
Verbrauchsmaterial	Windel-Gaze, pH-Teststäbchen, starkes Gummiband, wasserfester Faserschreiber, Einmal-Plastikhandschuhe, sterile/bzw. entkeimte Pasteurpipetten, Alufolie, Vernichtungsbeutel, Wattestäbchen, sterile Petrischalen, Kosmetiktüchlein, Zahnstocher, Zündhölzchen/Feueranzünder,
Chemikalien	helles Malzextrakt (DME), ention. Wasser, Ethanol (oder Isopropanol) 70% für Oberflächenentkeimung, Kalkwasser (= gesättigte $\text{Ca}(\text{OH})_2$ -Lösung, Hefenahrung (WhiteLabs/Wyeast), evtl. Weitere Nährmediumsbestandteile (cf. Braulabor 7 Nährmedienrezepte)
Biologische Objekte	Brauhefen-Flüssigkultur (z.B. eingekaufte Hefeflüssigkultur [Wyeast, White Labs, Hefe-Anzuchtkultur aus Trockenhefe, Anstellhefe [Starterkultur] u.a.), Hopfenpellets, reiner Hefestamm für Vergleichszwecke Koloniemorphologie

OG*: Original Gravity (anfängliche spezifische Dichte, Stammwürzegehalt)/°P

Durchführung

I. Schritt I:

Isolierung von Mikroorganismen inkl. Hefen

Methode I: mittels eines Hefestarters lokale Hefen aus Umgebung/Luft fangen

I.1. Zunächst wird ein einfaches Rezept eines Hefestarters realisiert, z.B.

- 9 Teile Wasser + 1 Teil Malzextrakt → Stammwürzegehalt OG/°P von ca. 1.040/ 10.0 (die Menge richtet sich nach der Anzahl der Hefestartergefäße und deren Volumen)
- Hefestartermischung mit wenig Hopfenpellets versehen während ca. 20 min kochen (bzw. im Schnellkochtopf während 15 min autoklavieren) [Hopfen dämpft mit den antibiotisch wirksamen Inhaltsstoffen bakterielles Wachstum, z.B. *Lactobacillus*]
- Einmachgläser o.ä. heiss auswaschen und entkeimen, z.B. mit 70% Isopropanol oder mit Heissluftsterilisation im Backofen (cf. "Mikrobiologische Grundlagen" > Braulabor 6)
- eine kleine Hefestarterproben entnehmen und den pH-Wert bestimmen (z.B. mit Teststäbchen, pH-Meter) und pH-Wert protokollieren [pH-Werte-Vergleich dient später zur Kontrolle, ob eine Gärung stattgefunden hat]
- die abgekühlte Hefestarterlösung möglichst keimarm in die Glasbehälter transferieren
- mit Gazestoff (z.B. Windeleinlagen) Gläseröffnung abdecken und mit starkem breitem Gummiband fixieren [Gaze hält Insekten u.a. fern]
- Glasbehälter mit dem Hefestarter über Nacht im Freien platzieren, z.B. im Kräuter- oder Gemüsegarten, unter einem Obstbaum, unterhalb von fast reifen Weinreben [windige oder vegetationsreiche Standorte sind günstig!]
- alternativ können auch einzelne Trauben von Weinreben, einzelne Früchte oder Rindenstücke (z.B. Eiche) in den Hefestarterbehälter eingeschlossen werden

I.2. nach 1 Tag:

Glasbehälter mit jetzt beimpftem Hefestarter wieder einsammeln

I.3. Fermentationssignale wahrnehmen und beobachtend untersuchen

I.3.1. Abdeckgaze vom Glasbehälter entfernen und mit dem entkeimten Behälterdeckel locker verschliessen [→ hilft bei der Vermeidung einer Verschimmelung der Nährlösungsoberfläche].

Bessere Variante: in den Deckel ein Gärröhrchen einbauen (Typus: cf. [hier](#)) und mit z.B. einem CO₂-Indikator beschicken ("Kalkwasser": gesättigte Calciumhydroxid-Lösung Ca(OH)₂-aq, [Info](#))

I.3.2. An einem dunklen Ort einige Tage bei Zimmertemperatur stehen lassen

I.3.3. Kontrollieren, ob Anzeichen einer Fermentation (Gärung) sichtbar werden: z.B.

- aufsteigende CO₂-Gasblasen
- Gärröhrchen mit Kalkwasser wird trüb
- eine evtl. Gärung muss einige Tage beobachtbar sein → wichtig: unter keinen Umständen eine "Kostprobe" von der Gärlösung vornehmen!! Es darf höchstens mit der Nase nach dem charakteristischen "Gärbouquet" beprobt werden (cf. Pkt. 2.5.)

I.3.4. nach 2 Wochen:

1. *Pilze entfernen*: Schimmelpilzschicht von Starteroberfläche und andere Pilzformen z.B. an der Glasoberfläche entfernen (Wegwerf-Plastikhandschuhe benutzen!)

2. *pH-Wert*: erneute pH-Bestimmung: nach ca. 2 Wochen sollten evtl. Gärungen abgeschlossen sein → dies kann aus einer deutlichen Abnahme des pH-Wertes, verglichen mit dem Start-pH-Wert der Hefestarterlösung geschlossen werden! *Ein Gäransatz mit einem erhöhten pH-Wert gegenüber dem Start-pH muss entsorgt werden!*

I.3.5. Geruchstest:

wenn der Gäransatz "gut" riecht (nach Honig, Zitrusduft, Maisbrei) oder einfach angenehm, mit einer entkeimten/sterilen Pipetter eine Probe unterhalb der Oberfläche entnehmen → klare Probe nochmals dem Nasentest unterziehen und dann gemäss "4. Malzagarplatten herstellen" weiter verarbeiten

Method 2: Isolierung von Mikroorganismen inkl. Hefen von Früchten und Gemüse



Mikroorganismen, die auf der Oberfläche von Früchten und anderen pflanzlichen Produkten und Strukturen leben, sind primär Hefen und andere Mikropilze, Mikroalgen und Bakterien, vereinzelt auch Einzeller. Auf Gemüse leben typischerweise Milchsäureproduzierende "saure" Bakterien wie *Lactobacillus* und *Pediococcus*. Die Gewinnung von wilden Hefen von der Oberfläche von Früchten und Gemüse ist deutlich einfacher und weniger aufwändig als mit der Methode I "Hefestarter".

- 2.1. **Probeobjekte suchen:** nach Früchten und Gemüsearten Ausschau halten, die
 - wie mit einer feinen "Staubschicht" überzogen scheinen: typische Beispiele sind Trauben, Zwetschgen, Äpfel, Kirschen
 - Pflanzenprodukte die gerade am Beginn des Faulens sind (aber noch nicht am Boden liegen!)
- 2.2. **Probe einsammeln:**
mit einem entkeimten Gefäß passender Dimension (z.B. Reagenzglas, kleiner Glas- oder Kunststoffbehälter, cf. Abb. 1) Früchte- oder Gemüseproben ohne Händberührung (z.B. mit Pinzette) einbringen (Abb. 2)
- 2.3. **Inkubationsflüssigkeit:**
Mit Starterwürze/ Bierwürze mit geringer Stammwürzegehalt (SG: 1.010 - 1.020/ °P: 2.5 - 5.0) die Pflanzenproben überschichten, aber Gefäß nicht füllen, um genügend Volumen für Gäraktivitäten freizuhalten (Abb. 3)
- 2.4. **Belüften:**
Gefäß verschliessen und dann kräftig schütteln → Sauerstoffeintrag in Würze; anschliessend Deckel/Verschluss wieder etwas lockern
- 2.5. **Inkubation:**
Gefäß mehrere Tage im Dunkeln an warmem Ort stehen lassen
- 2.6. **Beobachtung auf Fermentation:**
vgl. Pkt. 1.3.3. Evtl. wird sogar ein Hefesediment am Boden des Gefässes sichtbar. Anschliessend gemäss "4. Malzagarplatten herstellen" weiter verarbeiten.



Abb. 1. Gefässe für Probenaufnahme: kleines Konfigüreglas, grüner PET-Flaschenfingerling, White-Labs-Ampulle; Pinzette für Probeentnahme (cf. Abb. 2).



Abb. 2. Entnahme von Kirschen ins Reagenzglas zur Gewinnung von Wildhefen.



Abb. 3. Gesammelte Früchte mit Bierwürze von geringem Würzegehalt überschichten.

Method 3: Isolierung von Mikroorganismen inkl. Hefen mittels steriler Wattestäbchen

Hefen sind überall, nicht nur in der eigenen Umgebung vorhanden (z.B. auch an den Ferien-Destinationen, in Brauereien, in Sedimenten von Bierflaschen u.v.m.). Mit der "Steriltechnik Wattestäbchen" können solche Proben ganz einfach und ohne grossen Aufwand eingesammelt und nach Hause gebracht werden.

3.1. Materialien vorbereiten:

- Sammelbehälter sterilisieren bzw. entkeimen (z.B. Reagenzglas mit Verschluss, kleines Glasgefäss, Probebeutel/Vernichtungsbeutel, Alufolie)
- Wattestäbchen in Alufolie einwickeln (Abb. 4) und im Schnellkochtopf autoklavieren

3.2. Probeentnahme:

- steriles Wattestäbchen aus Alufolie auspacken
- mit sterilem Wattekopf Probenoberfläche mehrfach abwischen (z.B. Oberflächen von Früchten, Bierzapfhahn, letzte Bierflaschentropfen aus obergärigem Bier-sediment, Gärtank, geeigneter Ort in Brauerei)
- in entkeimtem Sammelbehälter platzieren und bis zum Fermentationsansatz im Dunkeln aufbewahren

3.3. Fermentation:

- im gleichen Sammelbehälter, sofern geeignet (d.h. genügend Volumen) oder in grösserem entkeimten Fermentationsgefäss analog zu Pkt. 2.3. Bierwürze (vgl. Pkt. 2.3) zufügen, mit der Probe kontaminiertes Wattestäbchen in Bierwürze eintauchen und mehrfach kräftig aufwirbeln.
- beimpfte Bierwürze durch Schütteln mit Luftsauerstoff anreichern und im Dunkeln bei Zimmertemperatur inkubieren bzw. (oder, wenn vorhanden, im Brutschrank bei ca. 25 °C)
- Fermentationsanzeichen beobachten (vgl. Pkt. 1.3.3.)
- Anschliessend gemäss "4. Malzagarplatten herstellen" weiter verarbeiten.



Abb. 4. Sterile Wattestäbchen zur Entnahme der Oberflächenflora von verschiedensten Objekten.

Wattestäbchen in Alufolie einwickeln, unterer Teil ohne Stäbchen dient später zum keimfreien Öffnen. Grüner keimfreier Behälter zum Transport der wieder in die Alufolie eingewickelten Wattestäbchen.

Wattestäbchen können sowohl in der Alufolie direkt oder - besser in einem hitzebeständigen Vernichtungsbeutel autoklaviert werden.



Wattestäbchentechnik.

Abb. 5. Wattestäbchen-Technik zur Entnahme der Oberflächenmikroflora. Links: Traubenbeeren weisen ein weisslichen Oberflächenbelag auf, der durch mehrfaches drehendes Abstreifen mit einem sterilen Wattestäbchen entfernt werden kann. Rechts: Irgendwelche Oberflächen können mit dieser Technik auf Hefen untersucht werden, hier z.B. Auslaufhahn eines Gärtanks.

Method 4: Isolierung von Mikroorganismen inkl. Hefen mittels Malzagarplatten



Mit dieser vereinfachten "Abklatschmethode" wird 1. einfach die Oberfläche der zu untersuchenden Frucht, z.B. Traubenbeere auf einer Malzagaroberfläche in einer Petrischale in Kontakt gebracht und nachher inkubiert. Anschliessend wird 2. Eine gemäss der Hefemorphologie vermutete Kolonie zunächst mikroskopisch untersucht, und wenn tatsächlich Hefen vorliegen, wird 3. die Einzelkolonietechnik angewandt.

Vorgehen:

4.1. Materialien vorbereiten:

- Petrischale mit Malzagar (cf. z.B. Malzanzuchtmedium M2)
- Material für lichtmikroskopische Untersuchung
- Petrischalen mit Malzagar (z.B. mit Startermedium M1 inkl. Hopfenextrakt)

4.2. Abklatschmethode:

- auf die Oberfläche einer Malzagarpetrischale wird z.B. eine Traubenbeere eingebracht und durch leichtes Schütteln der Petrischale auf der Agaroberfläche hin- und her gerollt
- Inkubation: im Dunkeln bei Zimmertemperatur (oder, wenn vorhanden, im Brutschrank bei ca. 25 °C)

4.3. Lichtmikroskopische Untersuchung:

- vermutete Hefekolonien (vgl. Anleitung Braulabor "Kolonienmorphologie") im Lichtmikroskop rasch begutachten:
 - mit einer Präpariernadel/ Zahnstocher eine winzig kleine Kolonieprobe in wenig Wasser auf einem Objektträger verrühren und mit Deckglas abdecken
 - im Lichtmikroskop auf die typische Zellstruktur untersuchen: vgl. Abb. 6
 - von der/den gefundenen Hefekolonien Einzelkolonien gewinnen: cf. Pkt. 4.4

4.4. Einzelkolonien:

- gemäss Anleitung "Braulabor 13: Einzelkolonien" mit einer abgeflamten Impföse auf einem Malzagar eine geeignete Ausstrichtechnik auswählen (z.B. Abb. 4A oder B)
- aus geeignet ausgewählten Kolonien entsprechende Einzelkolonien ausstreichen
- Inkubieren und nach einigen Tagen auf einheitliche Kolonienmorphologie achten → meistens wächst nur noch eine Kolonieform → von einer dieser Hefekolonien nochmals eine Einzelkolonie heran ziehen

4.5. Stammkultur anlegen:

- gemäss Anleitung "Braulabor 16 Stammreinheit" nochmals auf Kontamination überprüfen
- gemäss Anleitung "Braulabor 14 Hefe-Stammkulturen auf Schrägagar" mehrere Stammkulturen anlegen

4.6. Gäreignung:

- gemäss Anleitung "Braulabor 22 Gäraktivität" überprüfen, ob die Hefe über geeignete Gäreigenschaften verfügt
- in einem kleinen Sudansatz überprüfen, ob der gefundene unbekannte Hefestamm sich auch zur Bierherstellung eignet (Geschmack? Aroma?)

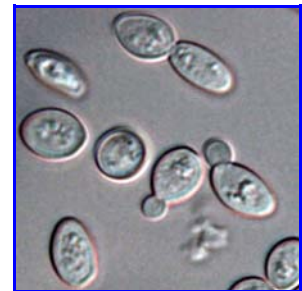


Abb. 6. Typische Hefezellen im Lichtmikroskop - rundliche bis ovale Formen mit knospenden Tochterzellen.

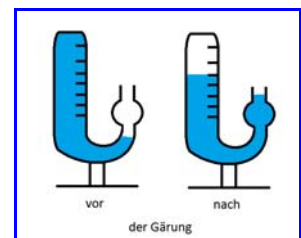


Abb. 7. Gärt meine isolierte Hefe überhaupt? Klassischer Schnelltest mit Gärröhrchen.

2. Schritt 2:

Herstellung von Malzagarplatten (Petrischalen)

Ohne die Gewinnung von reinen Hefewildstämmen würde man auf dem historischen Weg der Spontangärung wohl hie und da ein genussbares Bier gewinnen können (cf. "Kultur - Kulturgeschichte des Bieres"). Aber mit reinen Hefestämmen ist die Gewinnung eines guten Bieres deutlich einfacher (und auch sicherer, denn Fehlgärungen mit unbekanntem Hefestämmen könnten unsere Gesundheit strapazieren). Der einfachste Weg dazu ist die Herstellung steriler Agarplatten, meistens Malzagarplatten. Es gibt verschiedenste Nährlösungsrezepte, eine Auswahl davon findet sich im "Braulabor 7 Nährmedienrezepte". Es kann auch ganz einfach aus beim Brauzutatenhändler erhältliches Trockenmalzextraktpulver (TME), Hefenahrung ("Yeast nutrient", z.B. [hier](#)) sowie Agarpulver dazu eingesetzt werden.

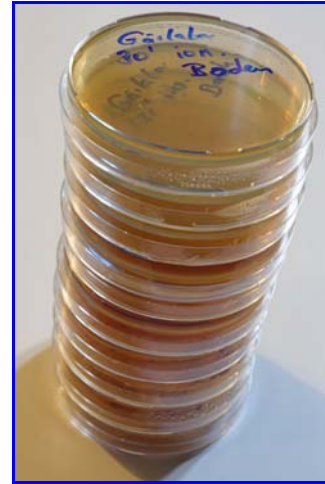


Abb. 8. Unentbehrlich: sterile Malzagarplatten zur Gewinnung von reinen Hefekolonien.

Einfachstrezept:

- 300 mL ention. Wasser
- TME für Würze: 30 g/300 mL Wasser bzw. soviel, dass eine OG von 1.040 = 10 Plato resultiert
- wenig Hefenahrung (vgl. Packungsempfehlungen)
- autoklavieren (mindestens gut aufkochen) und in Petrischalen giessen

—> genaue Anleitungen zur Agarplattenherstellung finden sich im "Braulabor 7 Nährmedienrezepte" und "Braulabor 8 Herstellung fester Nährmedien"!

3. Erzielung/Isolierung von Einzelkulturen und Kolonieauswahl

Sowohl nach Methode 4 gewonnenen Mikroorganismen-Kolonien als auch nach den Methoden 1 - 4 gewonnenen flüssigen Mikroorganismenkulturen verlangen nun nach einem Verfahren, aus der möglichen Vielzahl von herangewachsenen Mikroorganismen 1. Hefen zu identifizieren und dann daraus 2. reine Hefekulturen zu züchten. Dazu eignet sich die in "Braulabor 13 Erzielung einer Einzelkolonie im Ausstrichverfahren" beschriebene Technik. Wer dieses Verfahren schon bei den gekauften Hefekulturen angewendet hat, wählt leichter und mit größerer Sicherheit aus der Vielzahl gewachsener Mikroorganismen-Kulturen vermutete Hefekolonien zur Gewinnung einer Einzelkolonie aus - *von daher ist es empfehlenswert, sich zunächst mit dieser Methode anhand eines bekannten Hefestammes einzüben.*

3.1. Verdünnungsausstrich zur Erzielung von Einzelkolonien verschiedenster Mikroorganismen

3.1.1. Agarplatten:

Malzagarplatten bzw. Bierwürzeplatten, sofern aus dem Kühlschrank kommend, zunächst einige Stunden an Raumtemperatur adaptieren

Hinweis Kondenswasser: wenn diese wie empfohlen mit dem Bodenteil nach oben im Kühlschrank gelagert waren, hat sich wahrscheinlich störendes Kondenswasser am Deckel angesammelt. Zwischen einem (oder besser 2) brennenden Gasbrennern Petrischalen in dieser "verkehrt-Position" belassen, Bodenteil mit der einen Hand fassen, mit der anderen Hand Deckel greifen, umkehren und rasch kräftig schräg schüttelnd Kondenswasser auf Haushaltspapier abtropfen lassen. Deckel wieder auf Bodenplatte platzieren und ganze Petrischale in normale Position bringen (Bodenplatte unten, darüber Deckel).

Variante 2 der Kondenswasserentfernung: Petrischalen aus dem Kühlschrank in Normalposition bringen, zwischen brennenden Gasbrennern Kosmetiktüchlein aus Schachtel zupfen und erst mit dem 3. Tüchlein (keimarm bis keimfrei) Kondenswasser aus dem Petrischalen-Deckel aufsaugen.

3.1.2. Probeentnahmen (immer zwischen brennenden Gasbrennern arbeiten):

- aus Flüssigkultur aus Methode 1 (Hefestarterkultur): mit steriler Pipette vom Boden des Gefäßes eine Probe abziehen, einen Tropfen auf die Spitze

- einer abgeflamten und wieder abgekühlten Impföse platzieren
- aus Flüssigkultur der Methode 2 (Umgebungshefen), Methode 3 (Oberflächenhefen): mit abgeflamter und wieder abgekühlter Impföse in Flüssigmischkulturen eintauchen
- Methode 4 (Abklatschplatten): wurde bereits unter Pkt. 4.3 ff. beschrieben!



3.1.3. Ausstrichtechnik → Einzelkolonien:

gemäss der genauen Anleitung *“Braulabor 13 Erzielung einer Einzelkolonie im Ausstrichverfahren”* weiterfahren (zur Erinnerung: eine der Ausstrichtechniken in Abb. 9 auswählen)

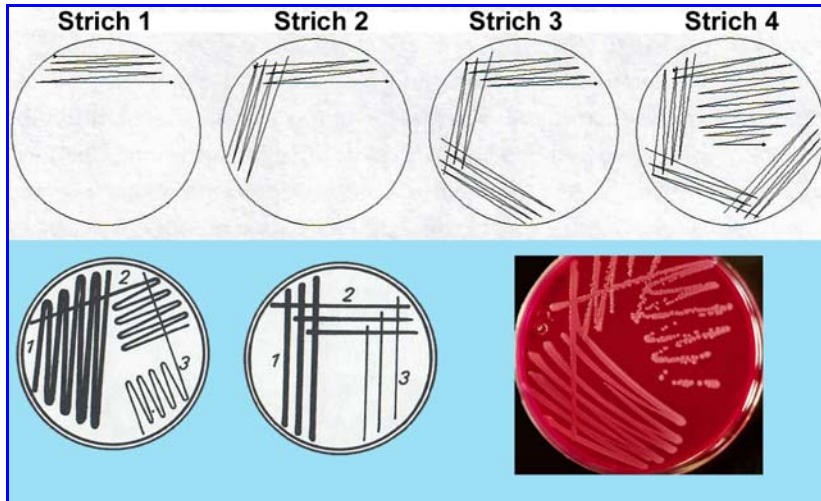


Abb. 9: Verdünnungsausstrichtechnik zur Erzielung von Einzelkolonien.

Oben: Strichabfolge mit der Mikroorganismen-beladenden Impföse; dazwischen jeweils Impföse abflammen und Petrischale drehen.

Unten: 2 weitere Ausstrichstechniken und Abb. mit dem Resultat → beim Strich 3 sind Einzelkolonien zu gewinnen.

3.1.4. Bebrütung:

Agarplatten an einen dunkeln, warmen Ort umgekehrt stellen (bzw. in einen Brutschrank, 25 °C) und mehrere Tage, evtl. sogar 1-2 Wochen bebrüten

3.1.5. Beobachtungen:

Hefekolonien sind i.d.R. als weisse bis cremefarbene kreisrunde und flach erhabene Kolonien zu erkennen (vgl. auch *“Braulabor Kolonienmorphologie”* sowie [Bilder hier](#)). Je höher die Ausstrichnummer, desto verdünnter sollten die Kolonien gewachsen sein, bis am Schluss einzelne, freie Einzelkolonien sichtbar sind.

3.1.6. Kolonienwachstum:

Es werden viele verschiedene Kolonien wachsen, da ja nicht nur Hefen isoliert worden sind. Die verschiedenen Mikroorganismen-Kolonien wachsen mit verschiedenem Tempo und können bei allzu langem Warten die anderen Kolonien überwachsen: daher täglich kontrollieren und beim ersten Hinweis auf Hefekolonien (→ Auswahl vermutlicher Hefekolonien) sofort weiter fahren.

3.2. Auswahl vermutlicher Hefekolonien zur Gewinnung einer Hefe-Reinkultur

3.2.1. Hefe-Selektionsverfahren: Auswahlverfahren zur Erhöhung der Wahrscheinlichkeit, eine Hefekolonie zu erwischen

- 1. Vergleich mit bekannten Hefekolonien, die man entweder selbst schon aus bekannten Hefestämmen gezüchtet hat
- 2. Vergleich mit der Anleitung *“Braulabor Kolonienmorphologie”*
- 3. Vergleich mit der Bilderbank *“Microbe Portrait Gallery”*
- 4. **Lichtmikroskopische Untersuchung:** vgl. Methode 4, Pkt. 4.3. (**Allgemeine Hinweise zur lichtmikroskopischen Untersuchungen** *“Braulabor 3 Mikroskopische Untersuchungen”* sicherste Methode !!)

3.2.2. Verdünnungsausstriche:

mit den wahrscheinlichsten Hefekolonien (Vergleichsverfahren 1-3) bzw. mit der sicheren Hefekolonie (lichtmikroskopische Bestimmung) gemäss Pkt. 3.1.2 bis 3.1.5. weiter fahren.

Hinweis: jeweils pro in Frage kommende Hefekolonie eine eigene Malzagarplatte zur Ausstrichtechnik verwenden!

3.2.3. Inkubieren

Agarplatten Inkubieren und nach einigen Tagen auf einheitliche Koloniemorphologie achten → meistens wächst nur noch eine Kolonieform → von einer dieser Hefekolonien nochmals eine Einzelkolonie heran ziehen.



3.2.4. Stammkultur anlegen:

- gemäss Anleitung "Braulabor 16 Stammreinheit" nochmals auf Kontamination überprüfen (vgl. auch Abb. 6)
- gemäss Anleitung "Braulabor 14 Hefe-Stammkulturen auf Schrägagar" mehrere Stammkulturen anlegen

3.2.5. Gäreignung:

- gemäss Anleitung "Braulabor 22 Gäraktivität" überprüfen, ob die Hefe über geeignete Gäreigenschaften verfügt (vgl. Abb. 7)
- in einem kleinen Sudansatz überprüfen, ob der gefundene unbekannte Hefestamm sich auch zur Bierherstellung eignet (Geschmack? Aroma?)



Abb. 10. Eigene lokale Hefestämme - der Wunsch jeden ambitionierten Heimbrauers. Links: Hefestamm aus CH-9476 Fontnas. Rechts: Hefestamm aus dem Barolo-Weingebiet im Piemont/Italien.