



Rasche Hefezellzahl-/Zellgrößen- und Viabilitätsbestimmung mit dem Smartphone-Mikroskop-System "Oculus"

BrauLabor 28
Hefezellzahl
Hefeviabilität
wieviele gärfreudige Hefezellen?

Aufwand: gering	Material: hoch	Zeit: gering	Experimenttyp: Untersuchung/Beobachtungen	Anspruch: einfach-mittel
---------------------------	--------------------------	------------------------	---	------------------------------------

Einführung

Die **Konzentration als Hefezellzahl/mL** als auch der Anteil an **lebenden Hefezellen (Viabilität)** sind sehr wichtige Faktoren, die sowohl den Geschmack als auch die Qualität des Bieres beeinflussen. Eine falsche Anstellkonzentration (meistens eine zu geringe) kann zu erhöhter Ester- und Fuselbildung führen, erkennbar am sehr unangenehmen "Kater danach".

Funktionsprinzip Oculus: "Wir analysieren das gleiche Volumen einer Thoma-Zählkammer, sind aber 10 mal schneller und menschliche Fehler sind ausgeschlossen. Das System ermittelt für Methyleneblau gefärbte Hefezellen automatisch die Viabilität (Lebend-Tot-Anteil)" [Quelle: [hier](#), (Abb. 1)]. Weitere Informationen zur Hefezahlbestimmung mit der klassischen Zählkammer sind im "Braulabor 5 Gesamtzellzahlen bestimmen" zu finden ([hier](#)), die korrekten Anstellhefezahlen sind im "Braulabor 19 Bestimmung der optimalen Anstellzellzahl (Hefegabe)" beschrieben

([hier](#)) und die Hefeviabilität wird im "Braulabor 22 Bestimmung der Hefeviabilität ("Gesundheitszustand")" ([hier](#)) behandelt.

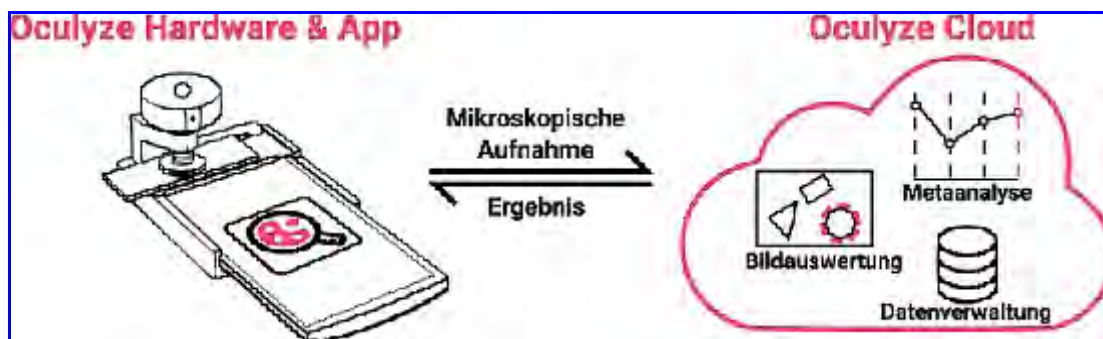


Abb. 1. Funktionsweise Oculus-Mikroskop.

1. **Smartphone-Mikroskop:** Das Oculus Mikroskop hat eine ca. 400-fache Vergrößerung. Es können Objekte von 2-50 μm Größe betrachtet werden. Das App im Smartphone sendet Mehrfach-Hefebilder über WLAN oder mobile Datenverbindung an einen Server. 2. **Automatische Bild-erkennung:** Das System zur Bilderkennung automatisiert die Bestimmung von Hefekonzentration, Hefegrößenverteilung und Viabilität. 3. **Cloud-Verarbeitung:** Die Bilderkennung erfolgt in der Cloud. Bilder und Ergebnisse sind immer zugänglich und geschützt. 4. **Cloud-Datenauswertung:** Meta-Analysen von allen Messungen ermöglichen ein schnelles Erkennen von Trends. [Quelle].



Abb. 2. Das Oculus-Mikroskop-System.

1: Smartphone inkl. Zubehör und App (Oculus Better Brewing, [Info](#)). 2: Oculus-Mikroskop (ca. 400x). 3: 100 mL Messzylinder. 4: PET-Pasteurpipette. 5: 2 mL Reaktionsgefäß. 6: Methyleneblaulösung. 7: 5 mL Kunststoffspritze. 8: Probestkammer.

Reinigungselemente 9: Blasebalg. 10: Reinigungstücher. 11: Wattestäbchen.

12: Handbuch.



Mit dem Oculyze-Mikroskopsystem optimale Hefebilder* aufnehmen und die Ergebnisdarstellung** (Bildauswertung) korrekt interpretieren lernen für die bestmögliche Anstellung der Hauptgärung.

*: bezüglich Zelldichte und Methyleneblaufärbung.

***: Zellkonzentration [Zellen/mL], Viabilität [% lebende Zellen], Histogramm: Verteilung Zellgrößen inkl. lebend/tot-Anteil.

Materialien

Glaswaren/Geräte/ andere Materialien	Smartphone inkl. Zubehör und App (Oculyze Better Brewing), Oculyze-Mikroskop (ca. 400x), 100 mL Messzylinder, PET-Pasteurpipetten, 2 mL-Reaktionsgefäße (Eppendorf Reaktionsgefäße mit Deckelverriegelung, Info). 5 mL Kunststoffspritze, Probenkammer, Blasebalg, Handbuch (Info), evtl. Messpipetten 1.0, 10.0 mL für Verdünnungsreihe, weiche LPDE-Laborspritzflasche
Verbrauchsmaterial	Linsoft (Kosmetiktüchlein), Haushaltspapier, Reinigungstücher, Wattestäbchen
Chemikalien	Methyleneblau (Info , Sicherheitsdatenblatt), 0.1 M Glycin-Puffer (pH 10.6), dest./ention. Wasser. Alkalische Methyleneblau-Lösung - Stammlösung MB: 0.1 g Methyleneblau in 100 mL dest. Wasser lösen, 10 mL MB-Lsg. mit 90 mL Glycin-Puffer, dest./ention. Wasser mischen
Biologische Objekte	Brauhefen (Reinstammhefen, Resthefen, Erntehefen), Backhefen, Wildhefen; alle Hefen zentrifugiert oder aus dem Sediment entnommen

Durchführung der Analyse

Voraussetzungen:

- das mitgelieferte Smartphone ist eingerichtet (cf. [Handbuch](#) dazu)
- das Oculyze App Better Brewing ist installiert

I. Probenvorbereitung:

- pro auswertbares Messbild (cf. Pkt. 5) sollten ca. 5-100 Zellen sichtbar sein (Abb. 5) → diese optimale Verdünnung muss u.U. zuerst durch eine Verdünnungsreihe erprobt werden, z.B. in 10er-Schritten: 1 mL Hefesuspension + 9 mL Wasser → 1:10, 1 mL Hefesuspension + 99 mL Wasser → 1:100 (oder: 1 mL 1:10-Verdünnung + 9 mL Wasser → 1:100)

[vgl. Abb. 4, sowie auch "Braulabor II Bestimmung der Lebendzellzahl (Verdünnungsreihe)", Abb. 1, cf. [hier](#)]

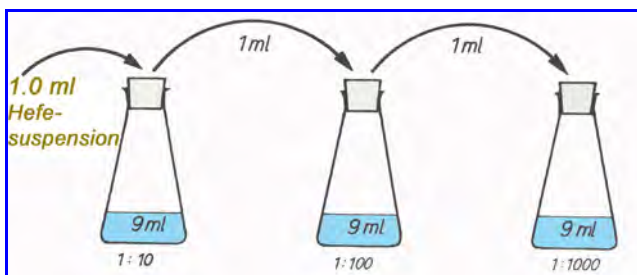


Abb. 4. Verdünnungsreihe.

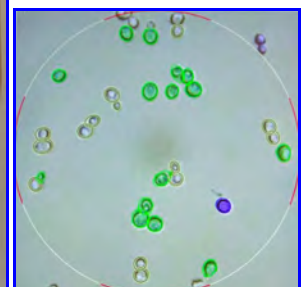
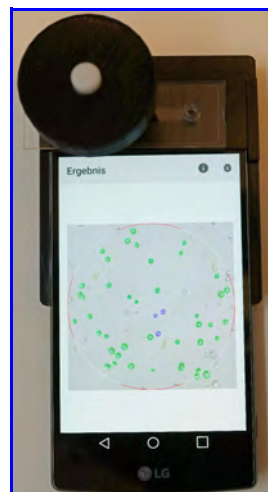
Wenn die Ausgangshefesuspension eine zu hohe Konzentration aufweist, muss in einer Verdünnungsreihe die für die Bildauswertung optimale Hefezellzahl ermittelt werden. Meistens genügt eine 1:10 oder eine 1:100 Verdünnung.

Abb. 5. Oculyze-Ergebnisbilder.

Beide Hefezellanalysen zweier verschiedener Analysen zeigen eine günstige Hefezellkonzentration für den optimalen Messbereich des Gerätes: > 5 bis < 100 Zellen.



Abb. 3. Oculyze-Mikroskopsystem. Die Hardware besteht aus 1: Mikroskop, 2: Smartphone, 3: Probenkammer, 4: Einführschiene für Probenkammer. Die Software besteht aus der App "Oculyze Better Brewing" und einer Cloud-basierten Bilderkennungssoftware.



Video: Wie man die Hefeprobe verdünnt

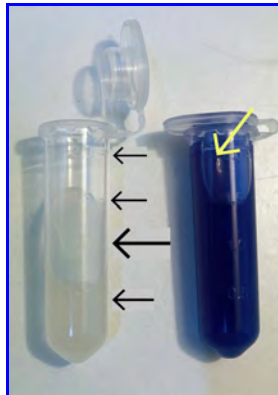
2. Viabilitätsfärbeverfahren: siehe Abb. 6,7

siehe auch [Videsequenz ANFÄRBUNG hier](#) > 3. Video

Hinweis: Die Methyleneblaufärbung von Hefen ist ein Standardverfahren zur Viabilitätsbestimmung [cf. "Braulabor 4 Hefequalität I: Viabilitätstest ("Lebensfähigkeit"), [hier](#)]. Will man nur die Hefezellzahl/Konzentrationsbestimmung durchführen, braucht es diesen Arbeitsschritt nicht.

Auch hier kann zunächst eine optimale Mischung **Farbstoff : Hefezellsuspension** im Bereich von 1:1 bis etwa 1:5 gesucht werden, meist führt aber eine 1:1-Mischung zu guten Resultaten.

- 1:1-Mischung: zuerst 1 Teil Hefeprobe = 1 mL mit der PET-Pasteurpipette in ein 2 mL-Reaktionsgefäß einfüllen (Abb. 6, links), anschliessend mit der Pasteurpipette 1 Teil Methyleneblau = 1 mL ins gleiche Reaktionsgefäß eintropfen (Abb. 6, rechts).



- Reaktionsgefäß mit dem Deckel verschliessen, mittels Schütteln gut durchmischen und ca. 5 min Färbezeit abwarten (Abb. 6).

Abb. 6. Reaktionsgefässe: sind mit 0.5 mL-Markierungen versehen (= schwarze Pfeile; zweiter schwarzer Pfeil: 1.0 mL-Marke mit Hefesuspension; gelber Pfeil: 2.0 mL-Marke mit dem Farbstoff Methyleneblau angefärbte Hefezellen).



Abb. 7. Anfärbung der Hefezellen für die Viabilitätsbestimmung. 1: Probenkammer. 2: verdünnte Hefesuspension mit Pasteurpipette. 3: 2mL-Reaktionsgefäss mit 1.0 mL Hefesuspension gefüllt. 4: dito wie 3, aber zusätzlich mit 1.0 mL Methyleneblaulösung → 1:1-Mischung, pipettiert mit 6: Pasteurpipette mit 1.0 mL Methyleneblaulösung, die aus 7: einer geeignet verdünnten Methyleneblau-Stamm-lösung herkommt.

3. Probenkammer beladen

ca. 0.3 mL der durchmischten blauen Hefeprobe mit einer Pasteurpipette luftblasenfrei entnehmen und in eine der runden Öffnungen wenige Tropfen einführen → sofort wird sich die "blaue Hefelösung" aufgrund kapillarer Sogkräfte in der dünnen Kammerzone einziehen und gleichmässig verteilen (Abb. 8); dann ca. 1 min ruhen lassen → Sedimentation der Hefezellen.



Abb. 8. Beladen der Probenkammer.

siehe auch [Videsequenz PROBENKAMMERBELADUNG hier](#) > 4. Video

A: Wenige Tropfen in eines der beiden Öffnungen einbringen. B: Durch Kapillarkräfte wird die gefärbte Hefesuspension durch die dünne Kammerschicht hindurch gezogen. C: Die ganze Kammer ist vollständig gleichmässig gefüllt.

Wichtiger Hinweis: bei mehrfacher Verwendung hinter einander muss die gespülte Probenkammer absolut frei von verbleibendem Wasser sein, sonst können die Kapillarkräfte nicht wirksam werden → unbedingt Kammer gegen das Licht halten und sorgfältig überprüfen. Wasserentfernung: vgl. Pkt. 9.

4. Oculyze-Mikroskop: Messung vorbereiten

siehe auch [Videsequenz MESSUNG hier](#) > 5. Video

- Mikroskop (Nr. 1 in Abb. 3) von oben bis zum Anschlag sanft auf das Mobilphone aufschieben
- gefüllte Probenkammer von vorne sorgfältig zwischen den beiden Öffnungen ins Mikroskop einbringen (Abb. 9) und dann flach auf der Einführschiene platzieren
- mit Druck auf den Knopf oben auf der Drehschraubenoberfläche (Abb. 10:3) das Licht anschalten

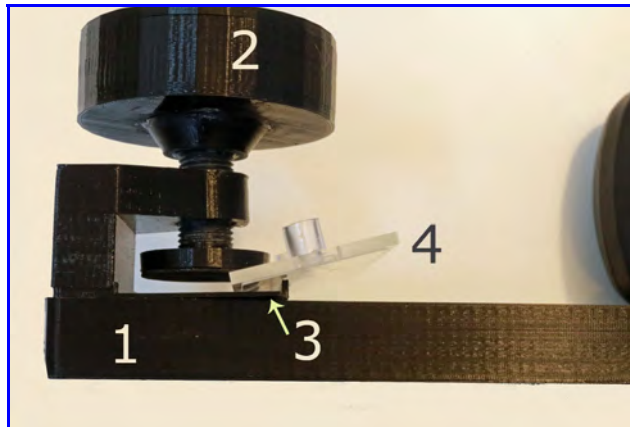


Abb. 9. Oculyze-Mikroskop mit Probenkammer bestücken.
1: Oculyze-Mikroskop. 2: Drehknopf. 3: Führungsschiene für Probenkammer. 4: Probenkammer.

Gefüllte Probenkammer zwischen den beiden Probeöffnungen seitlich vorsichtig unter die etwas geöffnete Drehschraube des Mikroskops auf die Einführschiene einschieben und flach platzieren, dann sanft mit Drehschraube fixieren.

4. Login/ Synchronisation mit Server:

- erstmaliges Login: cf. Handbuch (S. 12 ff., [hier](#))
- App-Einstellungen: cf. Handbuch (S. 14 ff., [hier](#))
- übliches Login:
 - auf der Handyrückseite die On-Taste drücken
 - mit einem Fingerwisch nach oben Startbildschirm holen
 - Menü wählen: 1. **Vollanalyse Viabilität & Konzentration**
 - 2. **Nur Konzentration**
 - 3. **Verlauf** (Ergebnisse vorheriger Analysen)

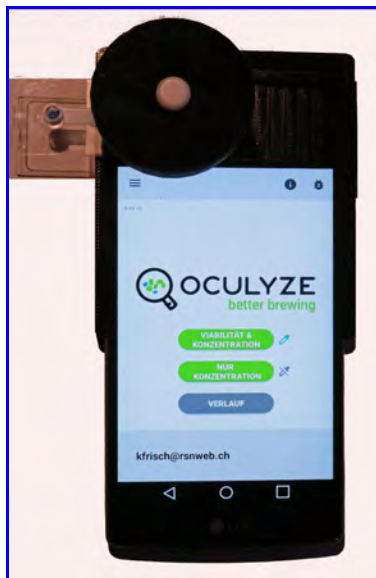


Abb. 11. Startbildschirm mit Menüwahl: 1 Viabilität & Konzentration, 2 Konzentration, 3 Verlauf.

- Probenkammer nach links zur ersten Markierung auf der Führungsschiene schieben (Abb. 10:1).
- Smartphone anschalten und App starten

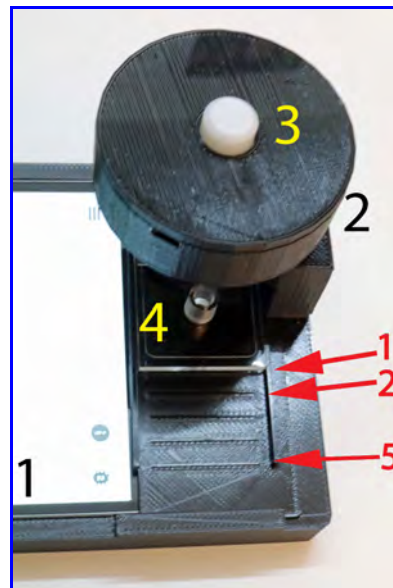


Abb. 10. Positionierung der Probenkammer im Oculyze-Mikroskop (von oben). Die Probenkammer muss auf der Führungsschiene Abb. 9:3 bis zur ersten Markierung Abb. 10:1 geschoben werden = Startposition.

1: Smartphone. 2: Drehschraube. 3: Lichtschalter. 4: Probenkammer mit einer der Einfüll-Öffnungen. **Rote Pfeile: 1,2,5:** Markierungen zur Positionierung der Probenkammer während der 5 Kameraaufnahmen.

5. Bildaufnahmen:

- gewünschtes Menü antippen
- Livebild erscheint: fokussieren durch sanftes Drehen am Drehknopf Abb. 9:2, bis scharfes Bild erscheint mit
 - ▶ lebenden Hefezellen grünlich-transparent
 - ▶ toten Hefezellen blau
- über den weissen Knopf mit grünem Ring auf dem Bildschirm können nun die Bildaufnahmen ausgelöst werden:
 - 5 mal auslösen - jedesmal zwischen jeder Aufnahme **um eine Position** (Abb. 10, Nr. 1 - 5) verschieben → Zähler zeigt an: 0/5 1/5 2/5 3/5 4/5 5/5
- nach jedem Bild: Bild "LÖSCHEN" oder "BEHALTEN" (zu hohe Zellkonzentration wird ebenfalls angezeigt → verdünnen gemäss Pkt. 1, Abb. 4)

6. Probeninformationen eingeben: siehe auch [Videsequenz PROBENDATEN hier](#) > 6. Video

- Probenname - Verdünnung - Mischverhältnis Probe : Farbstoff - Kommentare

7. Cloud-Analyse:

nach Eingabe der Analysedaten Pkt. 6 werden die Daten automatisch übertragen

und ein Statusbildschirm zeigt den Fortschritt der Auswertung an

8. Anzeige der Auswertung:

nach der externen Auswertung erscheint ein Ergebnis-Bildschirm (Abb. 12) mit:

- ▶ Viabilität [%]
- ▶ Konzentration [Millionen Zellen/mL]
- ▶ Zellgrößenverteilung [Anzahl/Zellgröße [µm]]
- ▶ 5 Ergebnisbilder (verschiebbar, anklickbar zur Vergrößerung)
 - grüne Zellen = lebendig
 - blaue Zellen = tot
 - gelb-schwarz umrandet: teilende Mutterzellen oder grosse Tochterzellen (werden für die Viabilität nicht gezählt)
 - gelb umrandet: kleine Tochterzellen (werden für die Viabilität und Konzentration nicht gezählt)

9. **Reinigung der Probenkammer:** siehe auch [Videsequenz WARTUNG hier](#) > 7. Video
Wichtiger Hinweis: für jede Analyse muss die Probenkammer unbedingt wieder **gereinigt** und **getrocknet** werden.

- dest./ention. Wasser mit der Spritze Abb. 2:7 aufziehen oder eine Laborspritzflasche mit dest./ention. Wasser füllen
 - vorsichtig, aber kräftig durch beide Öffnungen der Probenkammer injizieren
 - Durchspülen mehrfach wiederholen
 - Blasebalg Abb. 2:9 dicht an beiden Öffnung ansetzen und mehrfach (> 5fach) kräftig blasen, bis kein Wasser mehr sichtbar ist
- Tipp: Probenkammer gegen das Licht halten und Kontrolle - es darf kein noch so kleiner dünner Wasserfilmstreifen mehr in der Durchflusskammer sichtbar sein, sonst funktioniert die kapillare Ansaugung nicht!

10. Reinigung des Gerätes, Batteriewechsel, Troubleshooting:

- periodische Reinigung: cf. Handbuch, S. 27 ff., [hier](#)
- Batteriewechsel: cf. Handbuch S. 30, [hier](#).
- Troubleshooting: cf. Handbuch, S. 32 ff., [hier](#)

Tip p: eine leere Batterie äussert sich darin, dass das Bild nicht mehr fokussiert werden kann und der Bildschirm flackert

Tip p: unbedingt einmal durchlesen!



Abb. 12. Ergebnisbildschirm.

Infoquellen: [Info allg.](#) [Handbuch](#) [Trainingsvideos](#) (Gesamtvideo, einzelne Arbeitsschritte)
[Gutachten zur Methode](#)