



Stammkulturen: Anlegen einer frischen Hefe- Stammkultur durch Überimpfung Stammkultur alt → Stammkultur neu

**BrauLabor
14
Überimpfung
Anlegen einer
frischen
Stammkultur**

Aufwand: mittel	Material: mittel	Zeit: mittel	Experimenttyp: Hefekultivation: Stammhaltung	Anspruch: mittel
---------------------------	----------------------------	------------------------	--	----------------------------

Einführung

Mittels Hefestammkulturen lassen sich die kostbaren definierten Hefereinstämme auf einem Schrägagarröhrchen* oder in Kryoröhrchen über längere Zeit halten. Davon können sog. Arbeitskulturen abgeimpft werden, damit jederzeit reine Hefestämme verfügbar sind, ohne die Gefahr einer Kontamination der kostbaren Originalstammkultur.



Ziel Kennen lernen einer etwas technisch schwierigeren Überimpfmethode von Kulturröhrchen 1 auf Kulturröhrchen 2.

Materialien

Glaswaren/Geräte/ andere Materialien	Gasbrenner, Impföse, RG-Gestell, Impfösenhalter
Verbrauchsmaterial	Zündhölzchen/ Gasanzünder, Kulturröhrchen mit Alukappe
Chemikalien	Schrägagarröhrchen (Würzeagarröhrchen) steril (siehe <i>Braulabor 7</i> : Nährmedienrezepte für Hefen und Bakterien - <i>Rezept 3</i>)
Biologische Objekte	Brauhefen-Stammkultur (Würzestammkultur)

Wachstumsbasierte Methode der Hefekultivation: Übertragung von Mikroorganismen Gewinnung einer frischen Hefe-Stammkultur aus einer älteren Hefe-Stammkultur

Vorgehen Überimpfung Schrägagar → Schrägagar

- Arbeitsplatz "Mikrobiologie-gerecht" einrichten: vgl. Website "Mikrobiologische Aspekte" > Minimaltechnik I sowie 2.5.1. Giessen von Nähragarplatten, Pkt. 1+2
- Beide Schrägagarkulturröhrchen (SA) in die linke Hand nehmen (vgl. Abb. 1A)
- Impföse zwischen Daumen und Zeigefinger der *rechten Hand* halten und wie in Abb.2 durch Abflammen in der Gasbrennerflamme sterilisieren

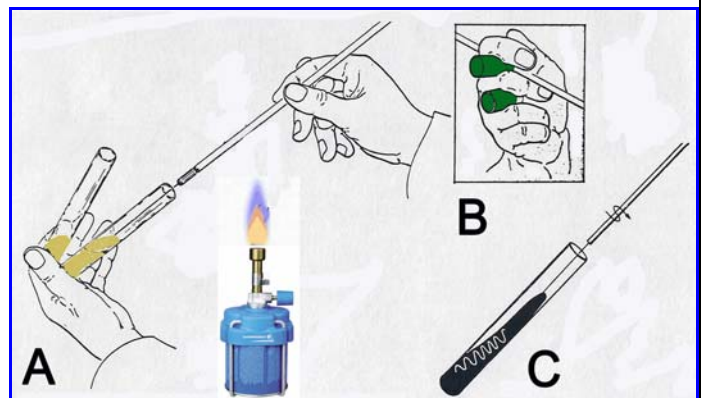


Abb. 1. Überimpfen von Kulturröhrchen zu Kulturröhrchen.
A: korrekte Impfmethode mit 2 Schrägagarröhrchen
B: Halten der Kappenverschlüsse zwischen den Fingern der "Impfhand"
C: Beimpfung des Schrägagars in S-Linien.

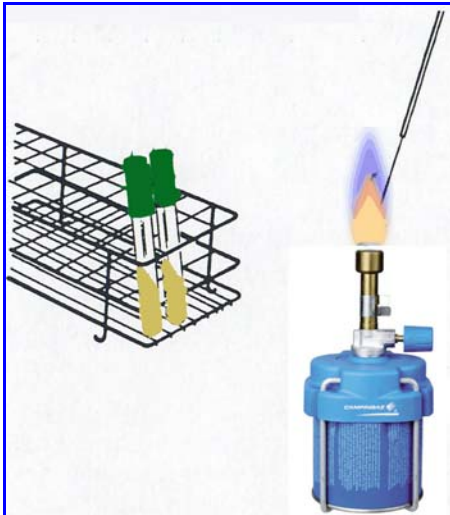


Abb. 2. Abflammen der Impföse.

Impföse steil in die Gasflamme hinein halten und warten, bis der Draht glüht.
Falls der Schaft auch aus Metall ist, den unteren Teil ebenfalls durch die Flamme ziehen.

3. Die beiden Kappenverschlüsse der Kulturröhrchen zwischen dem 2. und 3. sowie 3. und 4. (Abb. 1B) oder auch 3. und 4. sowie dem 4. und 5. Finger der *rechten Hand* nacheinander so entfernen, dass die Kappenmündung nach oben zeigt (Ellbogen nach oben kippen, mit der Handoberseite Kappenverschlüsse wegziehen!)
4. Offene Mündungen der beiden Kulturröhrchen abflammen, d.h. kurz in der Flamme drehen
5. Mit der abgekühlten (!) Impföse aus dem Organismen enthaltenden Kulturröhrchen Impfmateriale entnehmen:
Schrägagarröhrchen: durch *sanftes Abstreifen* der Oberfläche
Flüssigkulturröhrchen: durch *Eintauchen der Impföse und anschliessend langsames Herausziehen aus der Organismensuspension* dann auf der Nähragaroberfläche des anderen unbeimpften Röhrchens in S-Linien sanft ausstreichen (*resp. durch leichtes Schwenken in die frische Flüssigkultur übertragen*)
6. Kulturröhrchenöffnungen (evtl. Verschlüsse) abflammen und Röhrchen verschliessen; ebenso Impföse wie oben beschrieben ausglühen und im Halter ablegen



7. Frischbeimpfte Schrägagarröhrchen wie üblich beschriften: mindestens mit Datum, Name des Organismus, Nährmedium (z.B. 12.08.2017, WLP 300 Hefeweizen, Malzagar M3)

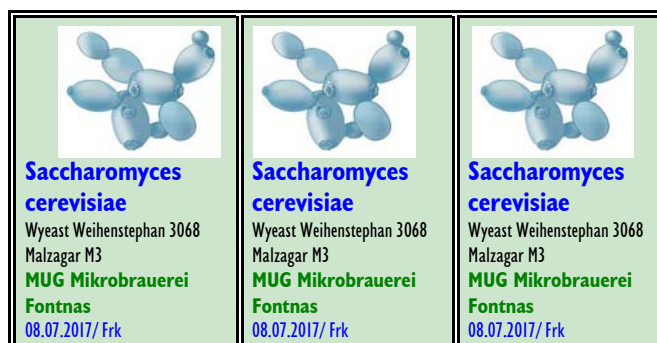


Abb. 3. Beispiel für eine Stammkultur-Etikette.



Abb. 4. Hefestammkulturen auf Schrägagar.

8. Bebrütung:
 - z.B. zunächst bei Raumtemperatur, lichtgeschützt oder besser im Brutschrank bei suboptimaler Organismus-Temperatur, bis eine geringe Organismenmasse sichtbar ist (z.B. bei Wyeast Weihenstephan Weizen 3068: 19°C)
 - nach dem Anwachsen zur Vermeidung von raschem Austrocknen mit Plastikklebeband (oder Parafilm, sterilen Gummistopfen u.ä.) Verschliessen und bei leicht höherer Temperatur 2-3 Tage wachsen lassen zwischen 20-21°C.
9. Lagerung:
 - in der Regel dunkel und im Kühlschrank (< 4°C)
10. Haltbarkeit:
 - Die Haltbarkeitsdauer, der Zeitraum also, bis auf ein neues Schrägagarröhrchen überimpft werden muss, ist vom Organismus abhängig: sie schwankt zwischen 6 Monaten bis maximal einem Jahr.
 - Kontrolle der Reinheit beim erneuten Überimpfen der Stammkultur vornehmen: siehe *Braulabor 13* und *Braulabor 16*.