



## Isolation von Bierhefen aus kommerziellen Bierflaschen: Gelingt es, aus meinem Lieblingsbier den verantwortlichen obergärigen Hefestamm zu isolieren?

**BrauLabor 18**  
Bierflaschen:

**Isolierung von Hefen aus Bierflaschen**

<b>Aufwand:</b> mittel	<b>Material:</b> mittel	<b>Zeit:</b> mittel	<b>Experimenttyp:</b> forschendes Experimentieren	<b>Anspruch:</b> mittel
---------------------------	----------------------------	------------------------	------------------------------------------------------	----------------------------

### Einführung

Grossbrauereien filtrieren und pasteurisieren meist ihr Bier, damit es den schwierigen Lagerbedingungen in Geschäften (Zimmertemperatur, Lichteinfall) über längere Zeit ohne allzu starke Geschmacksveränderungen widerstehen kann.

Kleinbrauereien aber hinterlassen ihre obergärigen Hefen im meist unfiltrierten Bier, die dann relativ leicht isoliert und weiter gezüchtet werden können. Somit kann man die Idee, sein kommerzielles "Wunschbier" zu klonen, realisieren. Neben der einigermaßen ähnlichen Malzmischung sind es vor allem die Hefen, die uns helfen, ein realistisches Klonbier zu gewinnen. Aber Vorsicht: einige Brauereien verwenden für die Primärgärung einen anderen Hefestamm als für die sekundäre Flaschengärung (z.B. bayerische Hefeweizen enthalten meist einen Lagerbierhefestamm, nicht einen Hefeweizenstamm - Ausnahme Schneider Weisse).



Mein Lieblings-Markenbier, wenn ich es doch nur "klonen" könnte! Neben der geeigneten Malzmischung, die man häufig im Internet finden kann oder auch aus Rezeptbüchern annähernd entnehmen kann (vgl. diese Website "Info"-Button > Brauliteratur > Rezeptsammlungen/ oder "Info"-Button > Quellen zu Braurezepten), ist der richtige Hefestamm dazu unentbehrlich. Diese Anleitungen haben etwas detektivisch-spannendes an sich: Gelingt es, den begehrten obergärigen Hefestamm aus der Originalflasche zu isolieren?

### Materialien

Glaswaren/Geräte/ andere Materialien	mikrobiologischer Arbeitsplatz (insbes. Gasbrenner, Impföse), Schnellkochtopf (oder Kochherd/Heizplatte, Pfannen), Chemikalienspatel, diverse Glasbehälter wie Erlenmeyerkolben oder Bechergläser (Ersatz: Minikonfitürengläser), sowie passende Stopfen/Alukappen, Waage, Messzylinder. Warmer Ort (oder Brutschrank) zur Inkubation der Hefestarter und Malzagarplatten, Thermometer, Flaschenöffner, evtl. Gärspond/oder Sterilock <a href="#">[Info]</a> , Reagenzgläser mit Alukappen/Kultivationsröhrchen mit Schraubverschluss für Stammkulturen
Verbrauchsmaterial	Alufolie. Sterile Petrischalen (Einwegschalen aus Kunststoff/oder selbst sterilisierbare Glaspetrischalen), Haushaltspapier
Chemikalien	Ethanol oder Isopropanol 70%, Nährmedien, z.B. aus Trockenmalzextrakt (TME), Agarpulver, Hefenahrung (z.B. <a href="#">Info 1</a> , <a href="#">Info 2</a> ), ention. oder dest. Wasser, Hopfenpellets (antimikrobielle Wirkung!)
Biologische Objekte	Biere mit Flaschengärung (obergärig): Biere von Mikrobrauereien, Belgische Biere, Hefeweizen-Biere

### Isolierung von Bierhefen aus Bierflaschen: Methode I mit Hefestartern

#### I. Wahl einer potenziellen Hefequelle:

- keine Biere von grossen CH-Produzenten wie z.B. Heineken-Biere (Calanda, Eichhof), Carlsberg-Biere (Feldschlösschen), Schützengarten u.a.
- flaschengegärte Biere von kleinen lokalen Brauereien wählen, insbes. Hefeweizen, aber auch in belgischen Bieren kann man fündig werden
- am Boden der Bierflasche muss ein Sediment sichtbar sein
- unmittelbar nach dem Öffnen der Bierflasche mit dem Isolationsprozedere beginnen, um Kontaminationen möglichst zu vermeiden



Abb. 1. Bsp. einer idealen Hefequelle [\[Info\]](#)

## 2. Herstellung Hefe-Nährlösung (Hefestarter):

- Vorbereitung: eine Hefestarterwürze herstellen mit einem spezifischen Gewicht SG\* zwischen 1.015 bis 1.020:  
den "Captain Brew"-DME-Rechner benutzen (DME Dry Malt Extrakt): siehe [DME-Calculator](#)  
**Beispiel:** für eine Starterwürze von z.B. 5 °P = (Plato → [SG-Umwandler](#) →) 1.020 eingeben, Masseinheit auf [Liter] und gewünschtes Startervolumen eingeben, z.B. 500 mL = 0.5 L  
→ GO klicken: startet den Rechner →  
Ergebnis: 29 g Trockenmalzextrakt TME in 0.5 L Wasser ergibt eine Starterwürze von 1.020.

- 3 g TME, eine Spatelspitze Hefenahrung (z.B. Wyeast Hefenahrung [\[Info\]](#)) in 50 mL Wasser einrühren und in einem 100 oder 250 mL Erlenmeyerkolben mit einer Alukappe entweder im Dampfschnelltopf 15 min autoklavieren oder in einer Pfanne einfach während 15-20 min aufkochen
- zur Unterdrückung von bakteriellem Wachstum 4-5 Hopfenpellets dazu geben und nochmals während ca. 10 min kochen
- keimgeschützt bis auf eine Temperatur zwischen 18-20°C abkühlen lassen
- vor der Verwendung geschlossenen EMK zur Sauerstoffanreicherung kräftig schütteln



Abb. 1. Der Hefe-Cowboy.  
So kann man natürlich keine Mikroorganismen einfangen  
[Quelle: Colby, C., [hier](#), 26.09.2017]

## 3. Hefeinkubation in Bierflasche:

- gekaufte Bierflasche am Flaschenhals und insbesondere Kronkorken kräftig desinfizieren, z.B. mit 65%-Isopropanol besprühen
- mit ebenfalls desinfiziertem Flaschenöffner Flasche öffnen und Flaschenhals mit der Öffnung mehrfach abflammen
- Bier nach Erkalten der Flaschenöffnung vorsichtig in ein Trinkglas ausleeren (und später dann geniessen ....) ohne dass das Hefesediment durchmischt wird
- **Hefestarter 1:** Flaschenöffnung nochmals abflammen, ca. 3-5\* mL sterile zimmertemperaturwarme TME-Würze in Bierflasche keimfrei eingiessen (am besten zwischen 1 - 2 brennenden Gasbrennern) und nochmals abflammen  
\*Hinweis: muss nur knapp den Boden der Bierflasche bedecken
- Bierflasche mit entkeimter Alufolie (oder mit einem Gärspund, z.B. Sterilock antibakterieller Gärspund [\[Info\]](#)) abschliessen
- Bierflasche sanft schwenken, um Sediment mit (hoffentlich) Hefen und der Nährlösung durchzumischen
- je nach Hefe-Viabilität Bierflasche nun während 1 - 3 Tagen bei Temperaturen zwischen 21 - 32°C lichtgeschützt inkubieren (Inkubieren in Wärmeschrank, auf dem Entlüftungsrost eines Kühlschranks, in der Nähe einer Wärmequelle wie Heizkörper)
- **Kenzeichen einer Gärung:** Schaumbildung, Trübung der Starterwürze, Bildung von Gasblasen.

## 4. Hefestarter 2:

- gärende Hefestarterlösung Nr. 1 spätestens nach 3 Tagen in eine frischer Hefestarterlösung Nr. 2 von ca. 15 mL einbringen (Abdeckung der Bierflasche entfernen, aus abgeflammter und wieder abgekühlter Bierflasche in kleinen sterilen EMK umgiessen, z.B. 50-mL-EMK mit Kappe, steriles Reagenzglas mit Kappe oder keimfreies Minikonfitürenglas (Abb. 2))
- verschlossenes Gefäß schütteln und wieder unter Lichtausschluss und in der Wärme (21°C - 32°C) inkubieren
- Gärungsindikatoren: wiederum sollte innerhalb von 1 - 3 Tagen die oben genannten Kennzeichen einer Gärung, zusätzlich sogar eine Hefeschicht am Boden des Kulturbehälters sichtbar sein

## 5. Propagationsschritt 3: Hefestarter 3

- die beiden nächsten Propagationsschritte können - sofern die Hefestarterkultur 2 deutlich gegärt hat - in 1:10-Schritten erfolgen: von 15 mL (= Hefestarter 2) über 150 mL (= Hefestarter 3) zu 1'500 mL (= Hefestarter 4)-Kulturen bis zum Anstellen des 20-Liter-Suds
- **Hefestarter 3:** kann mit einer SG-/°P-Wert von 1.030-1.035/7.5-8.5 angesetzt werden → siehe [DME-Calculator](#) → 13-15 g TME in 150 mL Wasser lösen + eine kleine Spatelspitze Hefenahrung, in 250 mL Erlenmeyerkolben mit einer Alukappe entweder im Dampfschnelltopf 15 min autoklavieren oder in einer Pfanne einfach während 15-20 min aufkochen
- sterilen abgekühlten Hefestarter 3 durch kräftiges Schütteln belüften, mit der vergärten Hefestarterlösung 2 steril beimpfen (Öffnungen der beiden Gefäße jeweils abflammen und bei brennendem Gasbrenner hinein dekantieren und



sofort wieder verschliessen)

- Inkubieren: während 2-5 Tagen bei 21 - 27°C lichtgeschützt stehen lassen (hie und da schütteln, bzw. wenn ein Magnetrührer vorhanden ist, mässig rühren)
- Gärung beobachten: vgl. obige “Kennzeichen einer Gärung” inkl. Kräusenbildung und -zerfall
- **Beurteilung der gewachsenen Hefen:** bevor der letzte Propagationsschritt durchgeführt wird, sollte die “Qualität” der Hefe als “Bierbrauerin” wie folgt beurteilt werden
  1. ca. 50 mL der vergärten bierähnlichen Hefestarterflüssigkeit in einen 50 mL Erlenmeyerkolben (oder irgend ein verschliessbares Gefäss mit ähnlichem Volumen) dekantieren, Gefäss vollständig füllen und luftdicht verschliessen
  2. Gefäss über Nacht in den Kühlschrank stellen → Hefe und andere Trubstoffe sollten sedimentieren
  3. vergorenen Hefestarter 3 auf Geschmack und Geruch beproben → falls für gut befunden, weiterfahren mit Hefestarter 4
  4. unbedingt spätestens jetzt eine reine Hefestammkultur für eine Schrägagar isolieren: Verfahren gemäss “Braulabor 13 Erzielung von Einzelkolonien im Ausstrichverfahren” sowie gemäss “Braulabor 14 Hefe-Stammkulturen auf Schrägagar”

#### 6. Propagationsschritt 4: Hefestarter 4

- kann mit einer SG-/°P-Wert von 1.035/8.5 angesetzt werden → siehe [DME-Calculator](#) → 150 g TME in 1500 mL Wasser lösen + eine kleine Spatelspitze Hefenahrung, in 2000 mL Erlenmeyerkolben mit einer Alukappe entweder im Dampfschnelltopf 15 min autoklavieren oder in einer Pfanne einfach während 15-20 min aufkochen
- sterilen abgekühlten Hefestarter 4 durch kräftiges Schütteln belüften, nur mit dem Hefesediment der vollständig Hefestarterlösung 3 steril beimpfen, d.h. Gefäss einige Zeit stehen lassen, bis sich das Hefesediment gebildet hat
- Öffnungen der beiden Gefässe jeweils abflammen, Gefäss mit verbliebenem Sediment kräftig schütteln und bei brennendem Gasbrenner in sterilen Hefestarter 4 hinein dekantieren und sofort wieder verschliessen
- Inkubieren: solange bei 21 - 27°C lichtgeschützt stehen lassen (hie und da schütteln, bzw. wenn ein Magnetrührer vorhanden ist, mässig rühren), bis deutliche Zeichen einer Gärung vorhanden sind

#### 7. Der letzte Schritt: das Anstellen

- evtl. nochmals auf Geschmack beproben und/oder
- direkt zum Anstellen einer 20 L-Anstellwürze verwenden

## Isolierung von Bierhefen aus Bierflaschen: Methode II

### I: Erzielung einer Einzelkolonie, 2: Anlegen einer reinen Hefestammkultur, 3: Propagation mit Hefestartern

Dieses zweite Verfahren zur Gewinnung der begehrten Hefestämme kann u.U. etwas rascher zum Ziel führen

#### 1. Wahl einer potenziellen Hefequelle:

cf. “Methode I mit Hefestartern”, Pkt. I

#### 2. Herstellung von Hefe-Malzarplatten:

- gemäss Pkt. 2 eine Hefestarter-Nährlösung mit SG-/°P-Wert von 1.020/5.0 herstellen: siehe [DME-Calculator](#) → 11 g TME in 200 mL Wasser lösen + 15-20 Hopfenpellets + 3.0-4.0 g Agar dazu geben und unter Rühren und evtl. leichtem Erwärmen in Lösung bringen
- sterilisieren im Schnellkochtopf (15 min) oder durch Kochen während 15-20 min in mit Alufolie geschlossenem Gefäss
- in sterile Petrischalen giessen: ca. 15 mL/Petrischale: vgl. genaue Anleitung in “Braulabor 8: Nährmedienzubereitung für Hefen und Bakterien > Giessen von Nähragarplatten”

#### 3. Hefeisolierung aus der Bierflasche:

- gekaufte Bierflasche am Flaschenhals und insbesondere Kronkorken kräftig desinfizieren, z.B. mit 65%-Isop-

ropanol besprühen

- mit ebenfalls desinfiziertem Flaschenöffner Flasche öffnen und Flaschenhals mit der Öffnung mehrfach abflammen
- Bier nach Erkalten der Flaschenöffnung vorsichtig in ein Trinkglas ausleeren (und später dann geniessen ....), aber einen kleinen Resten zur Aufmischung des Sedimentes in der Flasche belassen
- Bierflasche kräftig schütteln und aufgewirbeltes Sedimentsuspension in kleinen sterilen Behälter (z.B. Becherglas, EMK) dekantieren



#### 4. Hefen-Einzelkolonien gewinnen:

Aus dem gewonnenen Biersediment soll nun eine Hefe-Einzelkolonie erzielt werden, die dann später als Reinstammkultur auf Schrägagar im Kühlschrank gehalten und mittels eines mehrstufigen Propagationsverfahren zur Anstellwürze gezüchtet werden kann:

- Vorgehen zur Gewinnung einer Hefe-Einzelkolonie:  
mit einer abgeflamten Impföse eine Probe aus dem Biersediment entnehmen  
weiteres Vorgehen: gemäss "Braulabor 13 Erzielung von Einzelkolonien im Ausstrichverfahren"

#### 5. Hefe-Stammkulturen anlegen:

Aus den erzielten Einzelkolonien kann nun eine reine Stammkultur des "unbekannten" Hefestammes, den man aus der Flasche einer bekannten Biermarke isoliert hat, angelegt und demnach auch danach benennet werden (z.B. Potsdamer Weisse [[Info](#)])

- Vorgehen zur Anlegung einer reinen Hefe-Stammkultur: gemäss "Braulabor 14 Hefe-Stammkulturen auf Schrägagar"

#### 6. Anzucht zu Anstellhefen:

Ab einer Schrägagarkultur können nun die zur Animpfung einer 20 Liter-Anstellwürze benötigten Hefen mit einer mehrstufigen Anreicherung (Propagationsverfahren) erreicht werden, z.B.

- wie hier beschrieben: Methode I, ab "Hefestarter I" - mit abgeflamter Impföse direkt aus einem Schrägagarröhrchen die Hefen entnehmen und in das erste Propagationsvolumen, 3-5 mL, einbringen und inkubieren; dann weiter fahren wie beschrieben ab Pkt. 4., Hefestarter 2, oder
- gemäss "Braulabor 20 Hefestarter: Anzucht der Anstellhefen" sowie "Braulabor 21 Beimpfung der Anstellwürze" verfahren.

Zusatzinfos: es gibt diverse Videos, welche die Gewinnung von Hefen nach verschiedenen Verfahren aus Bierflaschen demonstrieren, z.B.

[Video 1](#) [Video 2.1](#) & [Video 2.2](#) [mehr Videos](#)

(Anmerkung: nicht alle gezeigten Sequenzen entsprechen dem üblichen korrekten mikrobiellen Arbeitstechniken, resultieren aber trotzdem meistens in brauchbaren Resultaten)

