

Arbeitsanleitung des Hefe-Projektes

im Jahr 2025

Grundlage ist eine Anleitung aus dem Färbekit Hefe von SafeLINE

Es soll in einem Workshop festgestellt werden wie viele tote Hefezellen sich in einer Aufschwemmung von Bäckerhefe befinden. Wir erstellen ein Frischpräparat bei dem wir tote Hefezellen anfärben und ihre Häufigkeit abschätzen. Lebende Zellen werden nicht gefärbt.. Im Normalfall gibt es weniger als 5 % tote Hefezelle in der Aufschwemmung von Trockenhefe.

Es wird eine Phosphat-Pufferlösung pH-Wert = 7,0 und eine wässrige Methylenblau-Lösung 0,1 % benötigt. Sowie Trockenhefe (Bäckerhefe) aus dem Supermarkt (z.B. EDEKA).

Herstellung der Methylenblau-Lösung 0,1 %

Es ist eine 1 %-ige Methylenblaulösung vorhanden. Um daraus eine 0,1 %-ige Lösung zu machen wird 1 ml 1 %-ige Methylenblaulösung (20-25 Tropfen) mit 9 ml Aqua dest. gemischt.

Herstellung der Pufferlösung:

nach www.aeisner.de (Rezepte, Phosphat-Puffer nach Sörensen)

Kaliumdihydrogenphosphat KH_2PO_4 hat eine molare Masse von 136,09 g/mol.

Dinatriumhydrogenphosphat-Dihydrat $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ hat eine molare Masse von 177,99 g/mol.

Laut „aeisner“ werden folgende Stammlösung hergestellt:

- | | | | |
|----|---|----------|--------------------------------------|
| A) | KH_2PO_4 | 9,078 g | mit Aqua dest. Auf 1000 ml auffüllen |
| B) | $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ | 11,876 g | mit Aqua dest. Auf 1000 ml auffüllen |

Um eine Pufferlösung von pH-Wert 7,0 herzustellen werden

61,2 ml der Stammlösung B mit Stammlösung A auf 100 ml aufgefüllt. (laut Tabelle)

Wir stellen jeweils nur 150ml Stammlösungen her: pH-Wert gemessen

- | | | | |
|----|---|----------|---|
| A) | KH_2PO_4 | 1,3617 g | mit Aqua dest. Auf 150 ml auffüllen (4,5) |
| B) | $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ | 1,7814 g | mit Aqua dest. Auf 150 ml auffüllen (8,5) |

Anleitung: Herstellung der 150 ml Stammlösungen

Es wird jeweils die Chemikalie abgewogen und in einem Becherglas in 100 ml H_2O (Aqua dest.) aufgelöst. Dann wird diese Lösung ca. 5 Minuten homogenisiert. Das heißt: Auf einem Magnetrührer gut durchgemischt. Anschließend wird auf 150 ml Endstand mit H_2O (Aqua dest.) aufgefüllt und nochmals durchmischt.

Es wird zum Schluss der pH-Wert mit Indikator-Teststäbchen festgestellt.

Arbeitsanleitung des Hefe-Projektes

im Jahr 2025

Grundlage ist eine Anleitung aus dem Färbekit Hefe von SafeLINE

Wir stellen nur 50ml Pufferlösung von pH-Wert 7,0 her:

30,6 ml der Stammlösung B werden mit Stammlösung A auf 50 ml aufgefüllt und gut durchgemischt. Es wird der pH-Wert mit Indikator-Teststäbchen kontrolliert und gegebenenfalls nachgebessert.

Für ein **Frischpräparat** geht man folgendermaßen vor:

Man gibt 5 ml der Pufferlösung (pH=7,0) in ein Becherglas und gibt 1 Gramm Trockenhefe (z.B. von EDEKA) hinzu und verrührt diese Mischung. Dann lässt man diese Mischung ca. 5 - 8 Minuten ruhen.

Mit einer Pipette werden 2 - 3 Tropfen dieser Hefeaufschwemmung (keine Klumpen ansaugen) in ein Uhrglas gegeben und 2 - 3 Tropfen der Methylenblaulösung (0,1 %) darauf gegeben und vermischt.

Luftblasen werden mit einer Präpariernadel zerstochen.

Mit einer Pipette wird ein Tropfen der gefärbten Hefeaufschwemmung auf einen Objektträger gegeben. Darauf legt man ein Deckglas, drückt dieses leicht an und mikroskopiert.

Man beginnt mit einem 10er (9er)-Objektiv und steigert sich über 20er- zum 40er-Objektiv. Nähere Betrachtung mit dem 100er (90er) Öl-Objektiv.

Es ist mir trotz mehrfachen Versuchen mit verschiedenen Eindeckmitteln nicht gelungen ein **Dauerpräparat** zu erstellen.

Die Eindeckmittel entzogen den toten Hefezellen den Farbstoff.

Methylenblau ist im oxidierten Zustand blau, im reduzierten Zustand farblos.

In der Chemie kann dieser Effekt im Blue-Bottle-Experiment gezeigt werden.

Vitale (lebende) Hefezellen entziehen aufgrund ihres Stoffwechsels dem Farbstoff Sauerstoff. Deshalb erscheinen vitale Hefezellen farblos.

Tote Hefezellen haben keinen Sauerstoff mehr und können deshalb dem Methylenblau keinen Sauerstoff entziehen. Sie bleiben deshalb blau.

Bei toten Hefezellen sind manchmal Fette und Zucker in der Zellwand eingelagert, so dass das Methylenblau nicht in das Zellinnere gelangen kann. Die tote Zelle bleibt farblos und wird irrtümlich für eine vitale gehalten.