

PASTEUR'S ONDERZOEKINGEN OVER DE GISTING.

DOOR

Dr. J. ZAAIJER A. z.

Beoefening der wetenschap om haarzelve, afgescheiden van het mogelijke nut, dat zij kan afwerpen, is terecht steeds de leuze van de uitnemendste vertegenwoordigers der wetenschap geweest. De mannen der praktijk zullen wel doen deze leuze te eerbiedigen; want met tal van voorbeelden is aan te toonen, dat de zuiver wetenschappelijke onderzoekingen in ruime mate aan de bedrijvige maatschappij ten goede komen. Sommige wetenschappelijke onderzoekingen staan echter meer in onmiddellijk verband met de nijverheid, en onder deze nemen die van PASTEUR een eerste plaats in. Deze hebben alle een zelfde onderwerp: de wijze van ontstaan en de voortplanting van gisting wekkende lagere organismen. Dit is de levenstaak, die PASTEUR zich heeft gesteld. Dat PASTEUR's arbeid voor een goed deel over het gebied der nijverheid zich uitstreckte, bewijzen reeds de titels van sommige zijner werken, als zijn *Études sur le vin*, *Études sur le vinaigre*, *Études sur la maladie des vers à soie*. PASTEUR was het, die, na de lagere organismen aangewezen te hebben als oorzaak van wijnbederf, het middel tot genezing aan de hand deed, hetwelk eenvoudig bestond in het verwarmen van den wijn, welk middel thans in het Zuiden van Frankrijk met uitnemend gevolg wordt toegepast. PASTEUR was het, die aantoonde, dat de azijn door gisting onder den invloed van de *mycoderma aceti*

tot stand komt, en die eveneens de oorzaak van het bederf van den azijn en de middelen tot voorkoming aanwees. PASTEUR heeft ook, door de ziekte der zijderupsen te bestudeeren en het middel daartegen te ontdekken, de zijde-industrie in Frankrijk van een schijnbaar wissen ondergang gered.

In 1876 verscheen weder een lijvig werk van PASTEUR, waarin hij de vruchten van zijn arbeid sinds 1870 heeft weggelegd.¹ Het onderzoek van het bier was het doel van dien arbeid; maar langzamerhand kreeg dit doel grooteren omvang, zoodat het ten slotte op een volslagen gistings-theorie uitliep. Ik meen den lezers van het *Album der Natuur* geen ondienst te bewijzen, door omtrent dezen arbeid van PASTEUR, die nog niet in het Album besproken werd, een en ander mee te deelen.

Men weet, hoe in hoofdzaak het bier wordt vervaardigd. Men laat gerst, de goedkoopste graansoort, in water weeken en kiemen. De reden van deze bewerking is hierin gelegen, dat bij het kiemen in den graankorrel een stof, de zoogenoemde diastase, ontstaat, die het zetmeel van den korrel een schoikundige verandering doet ondergaan, zoodat dit in druivensuiker wordt omgezet. De gekiemde gerst wordt vervolgens gedroogd, dan gemalen en met water goed doorengemengd, waardoor men de mout verkrijgt. Deze kookt men met hop, laat ze bezinken, tapt het helderste deel af en koelt snel af; dan brengt men de mout in de gistkuip, waar er gist bij gedaan wordt. Door deze gist ondergaat nu de suiker der mout een scheikundige verandering. Er ontstaat alcohol en koolzuur, benevens barnsteen- en glycerine in geringe hoeveelheden. Het ontstaande schuim, verzameld en uitgeperst, geeft nieuwe gist. Men laat verder de vloeistof bezinken, tapt af en doet ze in vaten of flesschen, om als bier verzonden te worden.

Wat is nu die gist? LEEUWENHOEK vond reeds in 1680, dat ze uit kleine kogelvormige lichaampjes bestond. CAGNIARD LA TOUR en SCHWANN (1835) zagen ze in eene geschikte vloeistof onder het mikroskoop groeien en zich vermenigvuldigen door zoogenaamde knopvorming. Aan een gistlichaampje wordt na eenigen tijd een knopje waargenomen, dat in omvang toeneemt en eindelijk zelf de afmetingen van een volwassen gistbolletje heeft; deze twee groeien na eenigen tijd op dezelfde wijze

¹ Études sur la bière, ses maladies, causes qui les provoquent, procédé pour la rendre inaltérable, avec une théorie nouvelle de la fermentation, par M. L. PASTEUR.

tot vier aan enz., zoodat na verloop van eenige uren uit een enkel gistbolletje of celletje ontelbare andere ontstaan zijn. De gist bestaat dus uit levende wezens: lagere organismen, die zich door knopvorming vermenigvuldigen. Bij de bierfabricatie nu worden deze lagere organismen als gist in de mout gezaaid, in welke suikerhoudende vloeistof ze zich voeden en vermenigvuldigen. Maar tegelijk doen ze iets anders: ze ontlede de suiker in alcohol en koolzuur, en brengen dus de alcoholische vloeistof voort, die de bierbrouwer verlangt.

Deze fabricatie heeft in de laatste jaren een groote verandering ondergaan. Vroeger kende men alleen de zoogenaamde *bovengisting*. Bij deze brouwmethode is de temperatuur vrij hoog, tot 20° à 21° C.; maar de naam is er nog meer daarom aan gegeven, wijl de gevormde gist in de vloeistof naar boven komt. Thans kent men echter geruimen tijd ook de zoogenaamde *ondergisting*. Deze geschiedt bij lage temperatuur en de gist zet zich op den bodem af. De bierfabricatie met bovengisting is op het vasteland van Europa sterk aan het af-, die met ondergisting sterk aan het toenemen. In Bohemen b. v. waren in 1860: 281 brouwerijen met bovengisting en 135 met ondergisting, en in 1870: 18 brouwerijen met bovengisting en 831 met ondergisting. In Frankrijk is men nog in een overgangstijdperk; maar ook daar neemt elk jaar het brouwen met ondergisting toe. Voor zijn gemak of omdat het goedkooper is, brouwt de bierbrouwer zeker niet bij voorkeur met ondergisting. Terwijl toch de bovengisting in 3 à 4 dagen afloopt, zijn daarvoor bij de ondergisting 10, 15 tot 20 dagen noodig. Daarenboven moeten bij ondergisting lage temperaturen worden aangewend; van daar dat het brouwen gewoonlijk 's winters geschiedt. Het bier wordt vervolgens in ijskelders bewaard; het heet dan ook *lagerbier*, *bière de garde*. Alleen de beroemde brouwerij van DREHER te Weenen gebruikt elk jaar 45 millioen kilogram ijs. Men rekent, dat men voor 1 hectoliter bier 100 kilogram ijs noodig heeft, van de afkoeling der mout tot aan den verkoop van het bier toe. Niets van dit alles treft men bij de bovengisting aan; daar loopt alles zeer eenvoudig af, zonder al die kosten en omslag.

Van waar dan die algemeene vervanging van de bovengisting door de ondergisting? Het kan niet alleen aan den smaak van het bier liggen, ofschoon die er wel toe meegewerkt heeft. Maar in Engeland heeft toch nog algemeen het brouwen met bovengisting plaats, en de smaak van de bieren wordt zeer op prijs gesteld. De reden is eene

andere, en wel hierin gelegen, dat de door ondergisting verkregen bieren minder aan verandering onderhevig zijn, dus langer goed blijven dan de door bovengisting gebrouwde. De laatste moeten daarom dadelijk na het brouwen gebruikt worden; de brouwer moet dus brouwen naar gelang van de consumtie. Daar deze nu van verschillende omstandigheden, maar vooral van het weer afhankelijk is, mist zijne industrie de zoo onmisbare stabiliteit. Bij het brouwen met ondergisting bestaat dit bezwaar niet; daarbij kunnen de bieren op een bepaald tijdstip in groote hoeveelheid gebrouwen en op een ander tijdstip afgeleverd worden, naar gelang van de behoefte.

Met de veranderlijkheid van het bier staan nog andere handelwijzen in verband. Buiten de ijskelders moet men het bier in tonnetjes van zeer kleinen inhoud doen, opdat het spoedig opgebruikt zou zijn. Wil men het in flesschen aftappen, dan moet men de hoeveelheid zoo groot nemen, dat ze in een maand, hoogstens 6 weken, verbruikt is. In het Noorden van Duitschland en in Beieren wordt het bier in flesschen wel tot 55°C verwarmd, welke handelwijze men, naar PASTEUR, die ze het eerst bij den wijn invoerde, *pasteurisatie* noemt. Maar voor bier gelukt dit niet zoo goed als voor wijn, daar de fijne smaak van het bier er dikwijls door veranderd wordt. Dat men in Engeland nog steeds met bovengisting brouwt, ligt volgens PASTEUR aan de onmogelijkheid om, in een stad als Londen, aan de brouwerijen zoodanige uitbreiding te geven, als voor het brouwen met ondergisting noodig is. De smaak van het engelsche publiek zal zeker ook wel groot gewicht hierbij in de schaal legen. Bovendien is de bovengisting in Engeland zeer verbeterd. Bij het vervoer der engelsche bieren heeft men echter met de groote veranderlijkheid te kampen. Men verhaalt van een engelsche brouwerij, die bij een scheepslanding bier, naar Indië bestemd, een verlies van f 600,000 leed, daar al het bier bedorven aankwam.

Wat is nu de oorzaak van een en ander? Waaraan is deze veranderlijkheid van het bier toe te schrijven? Het antwoord op deze vraag leidt ons tot PASTEUR's onderzoekingen, waardoor deze de grondslagen voor eene wetenschappelijke behandeling der bierbrouwerij, even als vroeger die voor de wijnbehandeling heeft gelegd.

PASTEUR's eerste stelling, geheel overeenkomende met hetgeen hij vroeger voor den wijn gevonden had, was deze: "Elke ziekelijke verandering in de hoedanigheid van het bier valt samen met de ontwikkeling in het bier van mikroskopische organismen van anderen aard dan de eigen-

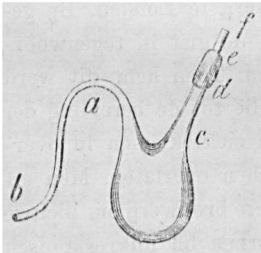
lijke biergist." Het door PASTEUR hiervoor geleverde bewijs is dood eenvoudig. Hij nam eenige flesschen bier van hetzelfde brouwsel, verwarmde een gedeelte daarvan tot bij 60°C., de overige niet, en liet ze vervolgens eenige weken staan, waarna hij het grondsap mikroskopisch onderzocht. In de niet verwarmde flesschen vond hij naast de gist draadvormige lagere organismen, terwijl het bier bedorven en zuur was geworden. Het verwarmde bier daarentegen was goed en giste nog; men vond er wel enkele van die draadvormige organismen in, maar deze waren gedood. Aan een verwarming tot 55°C. kunnen ze geen weerstand bieden, terwijl de gistcellen daardoor niet worden gedeerd.

Door deze ziekte-kiemen, zooals we ze tot bekorting zullen noemen, wordt dikwijls, zonder dat de brouwer er iets van weet, het geheele brouwsel bedorven. De klanten gaan klagen, en dan brengt de brouwer verandering aan. Hij vraagt gist van een collega, die altijd bereid is hem daarmede te helpen; een gebruik, dat algemeen door de brouwers geëerbiedigd wordt, wijl ieder op zijn beurt deze hulp noodig heeft. Daar de verwisseling van gist meest ten gevolge van de aanwezigheid van ziektekiemen plaats heeft, zou men door mikroskopisch onderzoek het kwaad kunnen herkennen, lang voordat het slechte brouwsel er de aandacht op vestigde. PASTEUR deelt daarvan een merkwaardig voorbeeld mede van een groote brouwerij te Londen. Bij gelegenheid dat PASTEUR deze bezocht, vroeg hij de gist in tegenwoordigheid van de directeurs te mogen onderzoeken. Toen hem dit werd toegestaan en hij tot het onderzoek der gist, die tot de bereiding der *porter* gediend had, overging, vond hij daarin ziektekiemen in overvloed. Het brouwsel moest dus veel te wenschen overlaten. Men erkende dan ook, dien zelfden dag naar een andere brouwerij om nieuwe gist gestuurd te hebben. Deze gist vond PASTEUR bij mikroskopisch onderzoek veel zuiverder. Hij onderzocht ook de gist van de *ale*, welke in die fabriek gebrouwen werd, en vond er eveneens ziektekiemen in, maar minder dan in die der *porter*. In de *ale*, die aan dit brouwsel voorafging, ontdekte hij de ziektekiemen eveneens. PASTEUR voorspelde dat deze *ale* spoedig zou bederven en ried daarom aan, haar snel in consumtie te brengen. Hij beweerde, dat ze op dat oogenblik al niet zuiver van smaak moest zijn, hetgeen de directeurs, na zeer verklaarbare lange aarzeling, toestemden. PASTEUR vroeg hierna inlichtingen over de verliezen, die de brouwers konden lijden door het bederven van het bier. Eerst lieten de directeurs hierover weinig los;

maar daar zij zeker begrepen, dat zulke vertrouwelijke mededeelingen aan een wetenschappelijk man niet zonder practisch nut voor den fabrikant konden zijn, bekenden zij eindelijk, dat zij in hunne brouwerij een groote partij bier in reserve hadden, die hoogstens 14 dagen na het brouwen in de vaten bedorven was. Toen PASTEUR het grondsap van dit bier onderzocht, vond hij, dat dit enkel uit ziektekiemen bestond, zonder een enkele gistcel. De nagisting, die altijd plaats heeft na het brouwen en waardoor het bier schuimend wordt, had hier dus uitsluitend door ziektekiemen plaats gehad. PASTEUR's bezoek aan deze brouwerij had ten gevolge, dat men er dadelijk een mikroskoop aanschafte en alle gist veranderde.

De tweede stelling, de aanvulling van zijn eerste, formuleerde PASTEUR aldus: "De afwezigheid van verandering in de mout en in het bier valt samen met de afwezigheid van vreemde organismen." Deze aanvulling was noodig, wijl men zou kunnen tegenwerpen, dat de ziektekiemen het gevolg en niet de oorzaak van het bederf van het bier zijn; daarom moest worden aangetoond, dat bij uitsluiting der ziektekiemen geen bederf ontstaat. De wijze, waarop deze stelling werd aangetoond, munt alweder uit door eenvoudigheid.

Van een glazen kolfje werd de hals uitgetrokken en omgebogen in den



vorm ab ; het kolfje werd van eene zijdelingsche open buis cd voorzien, waarover een buisje van caoutchouc was geschoven, dat door een glazen staafe ef kon gesloten worden. Door de zijdelingsche buis wordt de vloeistof in het kolfje gebracht, waarna men het glazen staafe ef de caoutchoucbuis laat afsluiten. De vloeistof, de mout of het bier, wordt aan het koken gebracht,

om de ziektekiemen te doodden, de gevormde waterdamp kan bij b ontwijken. Bij b wordt vervolgens een propje asbest aanggebracht, en daarna laat men het kolfje aan zichzelf over. Hoe lang men nu de mout of het bier ook er in laat staan, ze blijven onveranderd; geen verschijnsel van ziekte of bederf doet zich voor. Brengt men zuivere biergist met een zuiver staafe door de opening bij e in de mout van het kolfje, dan gaat ze groeien en zich voortplanten; na 24, 48 of meer uren, naar gelang van de temperatuur en de vitaliteit der gistcellen, komt een witte aanslag van gist tegen de wanden van het kolfje en een fijn schuim aan de oppervlakte der vloeistof; daarna

overvloedig schuim. Na 2 à 3 dagen valt het schuim, de gisting houdt eindelijk op, het bier is klaar. Dit bier kan men ook zoo laag in het kolfje bewaren als men wil; het bederft nooit. Wanneer men echter gist gebruikt, die, in welke mate ook, met ziektekiemen verontreinigd is, zelfs zoo weinig, dat een geoefend onderzoeker moeite zou hebben ze met het mikroskoop te ontdekken, dan vermenigvuldigen deze zich toch in het bier en doen het bederven. PASTEUR's twee stellingen, nu op deze wijze bewezen, toonen onweerlegbaar aan, dat het bederf van het bier het gevolg is van de aanwezigheid van ziektekiemen.

Als toepassing van zijn onderzoekingen heeft PASTEUR een verbeterde methode van bierfabricatie voorgesteld, waarvan de hoofdbeginselen zijn het doden der ziektekiemen in de mout door verwarming en het aanwenden van zuivere gist. Een proef op kleine schaal genomen, waarbij op deze wijze bier werd gemaakt, leverde een bier zuiver in smaak en zonder ziektekiemen, dat gedurende den zomer in een flesch maanden lang goed bleef.

PASTEUR heeft vervolgens een toestel laten vervaardigen, waarmee hij deze methode in het groot kon toepassen. Deze nieuwe methode werd beproefd en met goed gevolg bekroond in de brouwerij te Tantonville. Het bier was goed van smaak en bleef langen tijd goed.

Gelijk de biermout en het bier, toonden eveneens urine, bouillon, wijnmost en in het algemeen alle voor rotting of gisting vatbare vloeistoffen, die de eigenschap hebben de microscopische kiemen te doden, wanneer hare temperatuur tot ongeveer 100° C. gebracht wordt, geen spoor van bederf of gisting. Alle organische vloeistoffen verhouden zich als de biermout; maar de minimum-temperatuur, waarbij de kiemen gedood worden, is verschillend. Voor azijn is deze 50°, voor wijn wat hooger, voor biermout zonder hop 90° C. en voor melk 110° C.

Toch houden sommigen nog vol, dat organische levenlooze stoffen in levende organismen overgaan door zoogenaamde *generatio spontanea* of *abiogenesis*. PASTEUR vindt het noodig, deze bewering nogmaals aan de vuurproef te onderwerpen. Hij liet bloed en urine met de noodige voorzorgen onmiddellijk uit de vaten der dieren in zijne kolfjes stroomen, zonder dat er uit de lucht kiemen bij konden komen, en vindt dat ook zonder verwarming dezer vloeistoffen geen rotting ontstaat. Dit was een genadeslag voor de voorstanders der *generatio spontanea*; daar dezen tegen vorige proeven van PASTEUR meermalen hadden ingebracht, dat de vloeistoffen door koking niet meer in haar natuur-

lijken toestand waren en niet meer geschikt om de kiemen zich te doen ontwikkelen. Nu had PASTEUR de vloeistoffen in het geheel niet verwarmd, en toch was geen rotting ontstaan, als hij maar zorgde, dat geen kiemen uit de lucht er in konden komen.

Ook met druivensap nam PASTEUR afdoende proeven. Volgens FRÉMY zou druivensap, in aanraking met de lucht, door omzetting gistkiemen doen ontstaan, die het sap tot gisting brengen. PASTEUR vult nu 40 kolfjes met gefiltreerden druivenmost, dien hij kookt om de kiemen er in te doodden. Hij wast den steel en de druiven van een druiventros af, en brengt in 10 kolfjes eenige druppels van dit afwaschwater, dat onder het mikroskoop krioelde van organismen; in 10 andere kolfjes laat hij eenige druppels van hetzelfde water vallen, nadat dit gekookt was. In het derde 10tal brengt hij een druppel druivensap met groote voorzichtigheid binnen uit de druif genomen, en in het vierde 10tal voegt hij niets bij. Hij laat nu alle kolfjes eenigen tijd staan. In de laatste 10' ontstaat in het geheel geen verandering; evenmin in die, waarin hij druppels gekookt afwaschwater had gebracht; en ook niet in die, welke een enkelen druppel uit het binnenste der druif genomen druivensap bevatten. Alleen in de 10, die druppels ongekokt afwaschwater bevatten, geraakt de druivenmost in alkoholische gisting. Het besluit, dat PASTEUR uit deze proeven trok, was, dat de gistkiemen die het druivensap tot gisting brengen, niet uit het druivensap ontstaan, maar van buiten, van de schil en de steelen der druif, komen.

Wat bracht nu FRÉMY daartegen in? Dit, dat hij had bevonden, dat het bijna onmogelijk was een merkbare alkoholische gisting voort te brengen in een enkelen druppel druivensap, en dat deze gisting nog moeilijker moest zijn, als die druppel als het ware verdronken was in een aanzienlijke hoeveelheid sap, dat eerst aan koking was blootgesteld geworden. Dit blijkbaar gezochte antwoord gaf FRÉMY in een zitting der *Académie des Sciences*. PASTEUR's antwoord was afdoende. In de volgende vergadering bracht hij een menigte kleine gesloten kolfjes mee, waarin hij een druppel druivensap, nu niet met alle voorzorgen binnen uit de druif gehaald, maar van stuk gewreven druiven verkregen, had gebracht. De uitgetrokken punt van eenige dier kolfjes brak hij af, en allen bewezen duidelijk de gisting van dien druppel druivensap, door het fluitend geluid bij het ontsnappen van het door gisting ontstane gas, dat op een afstand kon gehoord worden. FRÉMY, die er bij tegenwoordig was, zweeg.

PASTEUR wijdt verder in zijn boek een hoofdstuk aan den beweerdten overgang van verschillende organismen in elkander, en toont aan, dat deze niet plaats heeft. Bij deze proeven moet men bijzondere voorzorgen nemen om de organismen, die men wil aankweken, zuiver te krijgen. In de lucht en aan de oppervlakte der verschillende voorwerpen komen kiemen van allerlei lagere organismen voor. Men moet zich niet voorstellen dat op alle plaatsen al de verschillende organismen aanwezig zijn; integendeel, de verspreiding is zeer ongelijkmatig, en op sommige plaatsen komen kiemen voor, die elders weer ontbreken. Maar in elk geval zijn in meerdere of mindere mate, en met meer of minder verscheidenheid, overal kiemen aanwezig, en deze bemoeielijken de proeven om één organisme zuiver aan te kweken zeer, door zich ongemerkt er onder te mengen. Ja, zelfs kunnen ze bij het groeien de overhand krijgen, wanneer de vloeistof voor hun ontwikkeling gunstiger is dan voor die van de organismen, die men zuiver wil aankweken. In een zelfde vloeistof kunnen alle organismen niet even goed leven. Zoo schaadt b. v. de zuurheid van een vloeistof aan de ontwikkeling der bacteriën, organismen die bij elke rotting optreden, en is daarentegen voordeelig voor den groei der schimmels. Een alkalische vloeistof werkt juist omgekeerd. Men begrijpt, dat deze toevallige bijmenging van vreemde kiemen en het dientengevolge ontstaan van vreemde organismen in een vloeistof, waarin men meende een enkel organisme zuiver gezaaid te hebben, aanleiding kon geven tot de meening, dat deze vreemde organismen ontstonden of uit niet levende stof, of door vervorming van de organismen, die men meende gezaaid te hebben.

Bekend met deze bron van fouten, wist PASTEUR ze te vermijden. Hij deed in de eerste plaats proeven met *Penicillium glaucum*, een zeer gewone schimmelplant. Om deze zuiver te krijgen, vulde hij verscheiden glazen ballons met een zuurachtig vocht, dat voor de ontwikkeling van schimmels geschikt was, kookte dit, trok de halzen der ballons uit en smolt ze dicht. Daarna brak hij er op de eene of andere plaats de punt af. De lucht treedt snel binnen en voert kiemen mee, die in de vloeistof vallen. De ballons worden dadelijk weer dichtgesmolten. In een zeker aantal ziet men schimmels ontstaan; dikwijls ziet men *Penicillium glaucum* alleen groeien, omdat de kiemen daarvan in de lucht zeer talrijk zijn en dus de meeste kans hebben in de ballons te vallen bij het openen. Men neemt nu wat sporen van de zuivere *Penicillium* op een platina-draadje dat door verwarming van kiemen gezuiverd is, en met

een op dezelfde wijze gezuiverde pincet wordt vastgehouden, laat het platina-draadje met de *Penicillium* door de zijdelingsche buis in het vroeger beschreven kolfje met uitgekookte suikerhoudende mout vallen en sluit de buis. Onder die omstandigheden nu heeft PASTEUR nimmer iets anders dan *Penicillium glaucum* in de kolfjes zien ontstaan, en nooit deze schimmel in gistcellen zien overgaan, zooals dit wel van andere zijde beweerd was.

Wel ontstonden gistcellen en ook bacteriën, wanneer PASTEUR deze voorzorgen niet nam en eenvoudig *Penicillium* zaaide, dat aan de lucht was blootgesteld geweest. Een minder nauwkeurig waarnemer dan PASTEUR kan in zulk een geval meenen, dat er werkelijk vervorming van *Penicillium* in gistcellen of bacteriën heeft plaats gehad; en daaraan zijn dan ook de uitkomsten toe te schrijven, waartoe verschillende duitsche en enkele fransche onderzoekers gekomen zijn.

Dergelijke proeven als met *Penicillium glaucum* nam PASTEUR met *Aspergillus glaucus*, *Mycoderma vini*, *Mycoderma aceti* en *Mucor racemosus*. Met al deze schimmelsoorten kreeg hij dezelfde uitkomst. Nam hij de noodige voorzorgen, dan gingen zij nooit in andere organismen over.

Bij deze proeven kwam PASTEUR tot een andere hoogst belangrijke uitkomst. De verschillende schimmels, waarmede hij experimenteerde, groeien allen aan de oppervlakte der vloeistoffen en zijn daardoor in staat de zuurstof, die zij voor hun groei nodig hebben, uit de lucht op te nemen. Maar wat zou plaats grijpen, wanneer men ze in de vloeistof onderdompelde en dus den toevoer van zuurstof afsneed? Proeven, die PASTEUR deed, om het antwoord op deze vraag te ontvangen, gaven de volgende uitkomst. De schimmels, in de vloeistof ondergedompeld, blijven voortleven en groeien, ofschoon op kommerlijke wijze. Ze worden niet in andere organismen veranderd; alleen krijgen hunne cellen en sporen onder deze levensomstandigheden zeer onregelmatige vormen. Maar het merkwaardigste is, dat deze schimmels, die op de gewone wijze aan de oppervlakte der vloeistof in aanraking met de lucht leven, in suikerhoudende mout nooit alcohol vormen, maar dit wel doen, wanneer ze in deze vloeistof worden ondergedompeld. Het voorloopig besluit, waartoe PASTEUR tengevolge van deze proeven kwam, met betrekking tot de alcoholische gisting, was het volgende. De alcoholische gisting is een scheikundige werking, gebonden aan het plantaardig leven van cellen van verschillenden aard, en ontstaat op het oogenblik, dat aan deze cellen de zuurstof onttrokken

wordt, die ze voor haar leven noodig hebben; in dat geval ontledeu ze de zuurstofhoudende vloeistoffen. Het karakter van ferment, d. i. gist, vertoont zich dus niet als een bijzondere eigenschap van het een of ander levend wezen, maar als een algemeene eigenschap van de levende cel in de genoemde omstandigheden. Het kan zwakker of sterker werken, naar gelang de plant of het orgaan of de cel zich in die omstandigheden min of meer gemakkelijk kan vermenigvuldigen. *Aérobie* noemt PASTEUR nu een organisme, dat niet zonder lucht kan leven; *anaérobie* zulk een, dat althans voor een zekeren tijd, daar wel buiten kan.

Aan de eigenlijke gist, die de alcoholische gisting bij wijn en bij bier veroorzaakt, wijdt PASTEUR een afzonderlijk onderzoek. Wij zagen reeds vroeger, dat PASTEUR's arbeid aan het licht bracht, dat de gistcellen, die de alcoholische gisting van den druivenmost veroorzaken, buiten op de druif en op de steelen zich bevinden. PASTEUR stelde zich de vraag: wanneer verschijnen deze gistcellen op de druiven? Hij maakte verscheidene kolfjes met druivenmost gereed, die hij door koking onveranderlijk maakte. Hij bracht daarin druiven met hun steelen, die hij achtereenvolgens geplukt had van den tijd dat zij nog onrijp waren af, tot aan het tijdstip van rijpheid. Zoolang de druiven nog onrijp waren, in het eind van Juli en de eerste helft van Augustus, ontstond er geen gisting in den druivenmost, waarin ze gebracht waren. In het laatst van Augustus giste de most in enkele kolfjes; in den loop van September nam het getal steeds toe. Altijd waren er echter eenige kolfjes, die niet gisten, zelfs op het tijdstip van den wijnoogst. Daaruit blijkt dus, dat niet elke druif individueel gistingskiemen aan de oppervlakte draagt. Een tweede vraag was: tot welk tijdstip na den wijnoogst behouden de kiemen aan de oppervlakte der druif de eigenschap van te gisten? Op 21 December, circa 3 maanden na den wijnoogst, kreeg PASTEUR slechts gisting in 4 van de 12 kolfjes met druivenmost, waarin hij druiven bracht; op 21 Januari slechts in 2 van de 12; op 2 Maart nog in 2 van de 12; in 't begin van April in geen enkele. Na dien tijd nam hij nog tal van proeven, zonder dat hij ooit gisting verkreeg. Zelfs een versche tros blauwe druiven, in een broeikas geteeld, op 16 April gekocht, gaf geen gisting.

Tot zeer merkwaardige uitkomsten kwam PASTEUR met betrekking tot het polymorphisme van de gistsoort, die vooral bij de gisting van den druivenmost optreedt, de zoogenaamde *saccharomyces pastorianus*. Brengt men gist in een vloeistof, die er voor geschikt is, dan vermenigvuldi-

gen zich de gistcellen snel en vormen knoppen geheel gelijk aan de moeder-cellen. Brengt men de gistcellen echter in een vloeistof, die niet in staat is ze te voeden, zooals zuiver suikerwater, dan veroorzaken ze wel een begin van gisting, maar houden weldra met knopvorming op, krijgen een bruine kleur en zouden sterven als men ze lang genoeg in die omstandigheden liet. PASTEUR noemt de gist in dezen toestand *uitgeput*. Zaait men deze uitgeputte gist nu in een vloeistof, die er een geschikt voedsel voor oplevert, b. v. biermout, dan wordt ze weer verjongd, en brengt cellen voort, die in vorm van de vroegere verschillen. In die omstandigheden gaan de cellen van de gist, *Saccharomyces pastorianus*, gelijken op die van *Dematium*, een schimmelsoort, die op de oppervlakte der bladeren of van dood hout leeft en op het eind van den zomer vooral veelvuldig voorkomt op het hout van den wijnstok. PASTEUR meent, dat deze *Dematium* de gistkiemen van de druif levert, en dat de *Saccharomyces pastorianus* dus een orgaan zou zijn, dat zich van een meer samengestelde plant, de *Dematium*, heeft losgemaakt; en hij acht het niet onwaarschijnlijk dat deze *Dematium* weer afkomstig is van een nog meer samengestelde plant, de *Mucor racemosus*.

De gist, die de alcoholische gisting der druif veroorzaakt, waardoor de wijn ontstaat, wordt, gelijk uit het voorgaande blijkt, niet door kunst voortgebracht, maar komt vrij in de natuur voor. Op dergelijke wijze echter heeft de biergisting niet plaats. Daarbij is de gist van brouwerij tot brouwerij overgegaan. Natuurlijk moet de eerste brouwerij van vrij in de natuur voorkomende gist gebruik hebben gemaakt. Laat men de biermout gisten onder den invloed der gistkiemen in de lucht, dan krijgt men nooit de onder- of bovengist, die in de brouwerijen gebruikt wordt; maar wel gist, die min of meer overeenkomt met die van den wijn. Van waar komen dan de boven- en de ondergist der bierbrouwerijen? PASTEUR weet daarop geen zeker antwoord te geven; maar meent, dat men hier een nieuw voorbeeld heeft van veranderingen, die levende wĳzens onder den invloed van veranderde levensomstandigheden ondergaan en die op den langen duur erfelijk worden en op de nakomelingen overgaan. Men heeft hier een analoog geval als bij het graan, of de zijderups, die men ook niet in wilden toestand kent, en waarvan de oorsprong even onbekend is.

De boven- en de ondergist der brouwerijen zijn afzonderlijke gistsoorten. De bovengist heeft de eigenschap in de kuip naar de oppervlakte van de mout te stijgen; de ondergist blijft op den bodem. Maar

vooral de wijze van groeien verschilt; deze is bij de bovengist veel meer vertakt. Ook geven boven- en ondergist een zeer verschillenden smaak aan het bier. PASTEUR heeft zelfs een nieuwe bovengist ontdekt en daarmee bier gemaakt. Dit geleek in smaak op geen der bekende bieren. Een andere gist, die PASTEUR uit bovengist verkreeg en waaraan hij den naam van *kaasachtige gist* geeft, gaf eveneens een bier van bijzonderen smaak. Deze kaasachtige gist speelt naar PASTEUR'S meening ook bij de ale eene rol.

Elke gistsoort geeft dus eene alcoholische vloeistof van een eigenaardigen smaak. Men kan daaruit afleiden van welk een gewicht het voor den zuiveren smaak der alcoholische dranken is, dat men de gist zooveel mogelijk zuiver heeft. De wansmaak van het bier is dikwijls het gevolg van een menging van verschillende gistsoorten. Vooral de zoogenaamde *wijnsmaak* wordt door de brouwers bij het bier zeer gevreesd. Bij onderzoek bleek aan PASTEUR, dat deze veroorzaakt wordt door de vermenging der biergist met *Saccharomyces pastorianus*.

De zuivering der gist heeft dikwijls van zelf plaats, wanneer de vloeistof gunstiger levensvoorwaarden voor de eigenlijke gist dan voor de bijmengselen aanbiedt. Zoo wordt in de wijnmost den *Saccharomyces apiculatus* eerst verdrongen door de *Saccharomyces pastorianus* en deze op naar beurt door de *Saccharomyces ellipsoideus*, de gewone druivengist. Ook uitputtingsproeven kunnen dikwijls de gewenschte zuivering tot stand brengen. Eindelijk, bij ondergist wordt door verlagings van temperatuur de ontwikkeling van vreemde gistingselementen tegengegaan.

Wij bespraken hierboven het verschijnsel, dat de schimmels, die aan de oppervlakte der vloeistoffen leven, wanneer ze ondergedompeld worden, het karakter van gist krijgen en alcohol gaan vormen. Het omgekeerde van dit verschijnsel nam PASTEUR waar bij biergist. Wanneer men zuivere gist in biermout brengt en de gisting geëindigd is, dan zetten de gistcellen, zoo men ze in het bier laat, zich op den bodem neer en verouderen; als men ze gebruikt om in nieuwe mout nieuwe gisting tot stand te brengen, dan heeft men daarmee meer moeite naarmate ze ouder zijn; blijven ze lang op den bodem, dan sterven ze eindelijk. Zoo gaat het echter niet met al de gistcellen. Een gedeelte er van begint, na de gisting veroorzaakt te hebben, knoppen te vormen; ze vermenigvuldigen zich onder medewerking der zuurstof uit de lucht, en vormen aan de oppervlakte een vlies van gist. Deze gist leeft op de wijze van de schimmels, zuurstof uit de lucht

opnemende en koolzuur afgevende. PASTEUR noemt ze *aërobie gist* of *schimmel-gist*. Zij verschijnt aan de oppervlakte van alle gegiste vloeistoffen en in sterkere mate naar gelang de lucht gemakkelijker toegang heeft. Deze schimmelgist heeft in knopvorming dezelfde eigenschappen als de gist waaruit ze ontstond. Toch zijn ze niet een en dezelfde gist. De schimmelgist van een ondergist afkomstig, is zelf een bovengist en geeft, tot gisting gebezigd, een ander bier dan de ondergist. De eigenschappen van een schimmelgist zijn erfelijk in volgende generaties. Elke gist heeft haar afzonderlijke schimmelgist. Het is niet onmogelijk, dat de gewone bovengist een aërobie-vorm van een ondergist is; maar PASTEUR kent deze ondergist niet, waaruit de gewone bovengist dan zou ontstaan zijn.

Om aan te toonen, dat de biergist niet het eenige levende ferment is, dat buiten invloed van vrije zuurstof kan leven, heeft PASTEUR proeven genomen met *vibrionen*. Hij toonde aan, dat deze zich zonder vrije zuurstof vermenigvuldigen, ja, dat de zuurstof zelfs een nadeeligen invloed er op uitoefent; juist het tegenovergestelde van hetgeen PASTEUR voor de *bacteriën* vond, die zonder zuurstof sterven.

Wanneer men nu hetgeen omtrent het ontstaan der aërobie-gist is gezegd, in verband brengt met de gistende werking der schimmels, die in een gistingsvloeistof worden ondergedompeld, dan is PASTEUR's physiologische gistingstheorie, die hij in het breede ontwikkelt, gemakkelijk te begrijpen. We willen deze thans nog kortelijk meedeelen.

Zonder zuurstof kan gist niet leven; bevindt de gist zich aan de oppervlakte der suikerhoudende vloeistof, dan neemt ze de zuurstof uit de lucht op, en ontleedt van de suiker slechts zooveel als ze tot haar voeding noodig heeft. Is de gist in de vloeistof ondergedompeld en vindt ze geen vrije zuurstof, dan ontleedt ze de zuurstofhoudende suiker, waaraan ze de noodige zuurstof onttrekt. De hoeveelheid suiker, die de gist ontleedt en in alcohol en koolzuur omzet, is evenredig aan de zuurstof, die ze voor haar bestaan noodig heeft: daarom is de hoeveelheid ontleede suiker zeer groot met betrekking tot de hoeveelheid gevormde gist. Hoe meer vrije zuurstof men aan de gist in de vloeistof toevoert, hoe minder suiker er ontleed wordt, hoe meer de gist in haar levensverschijnselen op de schimmel gaat gelijken. De gisting door de gist veroorzaakt, is dus het gevolg van het leven der gist zonder aanwezigheid van vrije zuurstof. Ondertusschen, al is de zuurstof niet noodig, ja zelfs nadeelig om de gisting te onderhouden, ze

is dikwijls onmisbaar om deze aan den gang te maken. Oude gistcellen moeten door de vrije zuurstof eerst als het ware verjongd worden, voor ze de gisting op voldoende wijze tot stand brengen. In goede brouwerijen zorgt men ook, dat de mout lucht kan opnemen om ze beter voor de gisting gereed te maken.

Daar wij boven zagen, dat de gewone schimmels, als men ze zonder toevoer van zuurstof in eene suikerhoudende vloeistof onderdompelt, ook alcoholische gisting veroorzaken, komen wij tot het besluit, dat de eigenlijke gist slechts in hoogere mate een vermogen bezit, dat aan vele, zoo niet aan alle schimmels, in minderen graad ook eigen is. Het karakter van ferment is bovendien niet een levensvoorwaarde der gist, daar zij bij voldoende toevoer van zuurstof dit karakter verliest. De gist is dus eene plant als elke andere, die slechts in bijzondere levensomstandigheden het kenmerk van ferment vertoont, welke eigenschap andere planten in mindere mate met haar gemeen hebben.

Aan deze beschouwingen sluiten zich ten nauwste PASTEUR'S proeven over de gisting van suikerhoudende vruchten. PASTEUR kwam op het denkbeeld, dat de gisting een algemeen levensverschijnsel der plantaardige cel zou zijn, wanneer deze buiten aanraking der zuurstof wordt gehouden. Op een dag, dat DUMAS, zijn vriend en vroegere leermeester, bij hem in het laboratorium was, voegde hij dezen toe: "Ik wed, dat, als ik een tros druiven in koolzuur dompel, er aanstonds alcohol en koolzuur zal ontstaan door een werking van de cellen binnen in de druiven van denzelfden aard als die der gistcellen. Ik zal die proef doen, en morgen, als gij hier komt, deel ik u den uitslag mede." Werkelijk kwam PASTEUR'S voorspelling uit. In vereeniging met DUMAS zocht hij naar gistcellen binnen in de druiven; maar die waren niet aanwezig, zoodat het wel degelijk de gistende werking der vruchtcellen zelve geweest was, waardoor alcohol en koolzuur waren gevormd. Proeven met meloenen, sinaasappelen, pruimen, rhabarberbladen gaven dezelfde uitkomst. Omtrent zijn proeven met pruimen deelt PASTEUR het volgende mede. Hij vergeleek pruimen aan de dampkringslucht bloot gesteld, met gelijke pruimen, die hij onder een met koolzuur gevulde klok had gebracht. Na acht dagen waren de eerste zeer zacht, saprijk en suikerhoudend geworden; reeds vroeger had men gevonden, dat ze daarbij zuurstof uit de lucht opnemen en koolzuur afgeven. De pruimen onder de klok met koolzuur, die geheel van de zuurstof der lucht afgesloten waren geweest, waren vast, hard, niet saprijk en

hadden veel suiker verloren. Er had een sterke warmte-ontwikkeling plaats gehad, en bij het destilleeren vond men meer dan 1% alcohol in de pruimen. Er had dus een zeer merkbare gisting plaats gehad.

De gisting is dus een zeer algemeen verschijnsel. Hier toonen de cellen der vrucht dezelfde levensverschijnselen als de cellen der gist. In de lucht gedompeld leven ze als aërobiën en zijn geen ferment; in koolzuur, dus van de lucht afgesloten, leven ze als anaërobiën en zijn ferment. De gisting is dus het leven zonder lucht, zonder vrije zuurstof.

Leeuwarden, Maart 1878.