



## UvA-DARE (Digital Academic Repository)

### Na het zuur, het zoet!!

Hugenholtz, J.

**Publication date**

2007

**Document Version**

Final published version

[Link to publication](#)

**Citation for published version (APA):**

Hugenholtz, J. (2007). *Na het zuur, het zoet!!* (Oratiereeks). Vossiuspers UvA.

**General rights**

It is not permitted to download or to forward/distribute the text or part of it without the consent of the author(s) and/or copyright holder(s), other than for strictly personal, individual use, unless the work is under an open content license (like Creative Commons).

**Disclaimer/Complaints regulations**

If you believe that digital publication of certain material infringes any of your rights or (privacy) interests, please let the Library know, stating your reasons. In case of a legitimate complaint, the Library will make the material inaccessible and/or remove it from the website. Please Ask the Library: <https://uba.uva.nl/en/contact>, or a letter to: Library of the University of Amsterdam, Secretariat, Singel 425, 1012 WP Amsterdam, The Netherlands. You will be contacted as soon as possible.

Na het zuur, het zoet!

Jeroen Hugenholtz



FACULTEIT DER NATUURWETENSCHAPPEN, WISKUNDE EN INFORMATICA

Na het zuur, het zoet!

Vossiuspers UvA is een imprint van Amsterdam University Press.  
Deze uitgave is totstandgekomen onder auspiciën van de Universiteit van Amsterdam.

Omslag: Nauta & Haagen, Oss  
Opmaak: JAPES, Amsterdam  
Foto omslag: Carmen Freudenthal, Amsterdam

ISBN 978 90 5629 468 7

© Vossiuspers UvA, Amsterdam, 2007

Alle rechten voorbehouden. Niets uit deze uitgave mag worden verveelvoudigd, opgeslagen in een geautomatiseerd gegevensbestand, of openbaar gemaakt, in enige vorm of op enige wijze, hetzij elektronisch, mechanisch, door fotokopieën, opnamen of enige andere manier, zonder voorafgaande schriftelijke toestemming van de uitgever.

Voorzover het maken van kopieën uit deze uitgave is toegestaan op grond van artikel 16B Auteurswet 1912 j° het Besluit van 20 juni 1974, St.b. 351, zoals gewijzigd bij het Besluit van 23 augustus 1985, St.b. 471 en artikel 17 Auteurswet 1912, dient men de daarvoor wettelijk verschuldigde vergoedingen te voldoen aan de Stichting Reprerecht (Postbus 882, 1180 AW Amstelveen). Voor het overnemen van gedeelte(n) uit deze uitgave in bloemlezingen, readers en andere compilatiewerken (artikel 16 Auteurswet 1912) dient men zich tot de uitgever te wenden.

# Na het zuur, het zoet!

*Rede*

uitgesproken bij de aanvaarding van het ambt van  
bijzonder hoogleraar Industriële Moleculaire Microbiologie  
aan de Universiteit van Amsterdam  
op woensdag 1 november 2006

door

Jeroen Hugenholtz

 VOSSIUSPERS UVA



*Mijnheer de Rector Magnificus  
Geachte leden van het College van Bestuur,  
Geachte leden van de Stichting Bèta Plus,  
Beste collega's, vrienden en familieleden,*

## Inleiding

Eindelijk is het dan zover: Jeroen is hoogleraar. Dat zal ongetwijfeld de reactie geweest zijn van enkele van mijn directe collega's, van mijn vrienden en binnen mijn eigen gezin. Ikzelf ben er zeer verheugd over en trots op deze benoeming.

Om eens een indruk te krijgen van hoe de wereld op deze benoeming heeft gereageerd, heb ik internet geraadpleegd en de twee termen 'professor' en 'Hugenholtz' ingetoetst. Dat leverde een ontvullend resultaat op: tussen de eerste 200 hits komt vijf keer, ik herhaal vijf keer, Jeroen Hugenholtz – dat ben ik – voor en louter en alleen ter aankondiging van deze gelegenheid. Wat ik dan wel tegenkom is een hele serie andere professoren zoals elf keer Paul, een ver familielid en hoogleraar Cardiologie in Rotterdam, vier keer Frits, mijn reeds overleden oom en voormalig hoogleraar Geschiedenis in Utrecht, acht keer Philip, een verre neef en associate professor Microbiologie in Berkeley, California, vier keer Nico, mijn vader en emeritus hoogleraar Natuurkunde uit Groningen, vier keer Charley Hugenholtz, een verzetsheld uit de Tweede Wereldoorlog, en verder alleen maar Bernt Hugenholtz, mijn broer en hoogleraar Informatierecht hier in Amsterdam. Van die vijf hits op mijn naam, is er maar één afkomstig van het NIZO food research, waar ik al zeventien jaar werk, en geen enkele van mijn andere affiliaties, het Wageningen Centre for Food Sciences en het Kluyver Centre. Dit zegt iets over de beperkte 'impact' die mijn onderzoek heeft op deze drie organisaties, of iets over de communicatieafdelingen van deze organisaties die deze gelegenheid blijkbaar niet aangrijpen om publiciteit te maken! Het intoetsen van 'Amsterdam' naast 'Professor' en 'Hugenholtz' levert alleen maar een verslechtering op. En

zelfs het toevoegen van het begrip LAB, wat toch bij iedereen staat voor *Lactic Acid Bacteria*, levert weer een hele serie hits van mijn broer op – aangezien LAB ook staat voor Legal Advisory Board – en verder tientallen keren Paul en Philip en de beschrijving van hun labs en maar slechts één keer mezelf, bij de eerste 50 hits! Daar sta je dan met je reputatie op het gebied van melkzuurbacteriën.

Er wacht mij dus nog een schone taak om dit onderzoeksgebied op de kaart te zetten, en daar zal de mij aangeboden positie van bijzonder hoogleraar in de Industriële Moleculaire Microbiologie aan de Universiteit Amsterdam een belangrijke rol bij moeten gaan spelen. Het biedt mij ook weer nieuwe mogelijkheden en uitdagingen in mijn wetenschappelijke carrière, en die zal ik proberen maximaal te benutten.

Ik wil het vanmiddag met u hebben over het onderzoek dat mij deze eervolle positie heeft opgeleverd en, vooral, de richting die we nu denken op te gaan binnen de nieuw gecreëerde leerstoel en de daaraan gelieerde activiteiten.

### Voedsel fermentatie

Voedsel fermentatie wordt al honderden, ja zelfs duizenden jaren toegepast om bederfgevoelige levensmiddelen langer houdbaar te maken. Dit proces heeft een aantal zeer traditionele voedselproducten opgeleverd, zoals de zuivelproducten kaas, boter, karnemelk en yoghurt, het gefermenteerde vleesproduct worst, gefermenteerde planten groente en fruit, zoals silage, zuurkool, olijven en wijn, en gefermenteerde graanproducten zoals zuurdesem en ook bier. Met uitzondering van bier en wijn, waarbij sprake is van alcoholische fermentaties door gisten, is er bij al deze producten sprake van bacteriële verzuring, wat leidt tot verlengde houdbaarheid. Het type bacterie dat bij al deze fermentaties wordt aangetroffen, is de melkzuurbacterie (Tabel 1), genoemd naar het zuur – melkzuur – dat door deze bacteriën als belangrijkste fermentatieproduct wordt gevormd. In de meeste gevallen, krijgt een bepaald type melkzuurbacterie vanzelf de overhand tijdens de fermentatie van suikerrijke voedingsmiddelen – dit omdat de melkzuurbacterie zeer snel en efficiënt suiker uit voedingsmiddelen kan opnemen en omzetten, en omdat de snelle vorming van melkzuur leidt tot onderdrukking van andere oorspronkelijk aanwezige of spontaan verschenen bacteriën. Naast de primaire productie van (melk)zuur, draagt de zuurselbacterie ook bij aan de smaak, textuur en



## NA HET ZUUR, HET ZOET!

voedingswaarde van het gefermenteerde product via productie van aromacomponenten, via productie en modificatie van polysacchariden en eiwit, en via de productie van nutritionele componenten. Na het zuur, het zoet!

### Toepassingen van LAB in de voeding

- Zuivelproducten
  - Kaas: *Lactococcus lactis*
  - Yoghurt: *Streptococcus thermophilus*, *Lb bulgaricus*
  - Probiotica: *Lb acidophilus/rhamnosus/casei*
- Gefermenteerd plantenmateriaal
  - Silage/Zuurkool: *Lactobacillus plantarum*
  - Olijven/augurken: *Lb plantarum*
  - Wijn: *Oenococcus oenos*
  - Brood: *Lb sanfranciscus*
- Vlees fermentaties
  - *Pediococcus carnosus/acidilactici*
  - *Lb sake*

Tabel 1

De soort, stam of variant van de melkzuurbacterie die dominant wordt in een specifiek fermentatieproces hangt af van de grondstof, de temperatuur tijdens de fermentatie en nog een aantal andere milieucondities. Zo wordt in Goudse kaas, waarin geen nawarming optreedt, traditioneel de melkzuurbacterie *Lactococcus lactis* aangetroffen, een zogenaamde mesofiele bacterie met een groei optimum rond de 30°C en een onvermogen om te groeien bij temperaturen boven de 35-38°C. Echter in yoghurt, die in sommige landen wordt geproduceerd bij temperaturen boven de 40°C, en in Parmezaanse kaas, waarbij een naverhitting van tegen de 50°C wordt toegepast, worden zogenaamde ‘thermofiele’ melkzuurbacteriën aangetroffen, zoals *Streptococcus thermophilus* en *Lactobacillus helveticus*. Dit thermofiele karakter houdt in dat deze bacteriën nog bij temperaturen tot zo’n 47°C kunnen groeien.

Bij de huidige grootschalige procesvoering in – voornamelijk – de zuivelindustrie wordt het onderliggende fermentatieproces voor producten als kaas en yoghurt niet meer aan het toeval overgelaten. Daarvoor worden heden ten dage actieve cultures, zuursels, toegevoegd aan melk om er zeker van te zijn dat de gewenste fermentatie zal gaan optreden. Voor de Nederlandse zuivelindustrie zijn

dit soort zuursels ontwikkeld bij NIZO food research, mijn huidige werkgever, onder aanvoering van mijn voorganger Jack Stadhouders. In de loop der jaren en als gevolg van de steeds verdere schaalvergroting van de (Nederlandse) zuivelindustrie is alleen al de bereiding en de handel van dit soort zuursels uitgegroeid tot een zelfstandige en levensvatbare bedrijvigheid met een wereldwijde omzet van zo'n 500 Meuro.

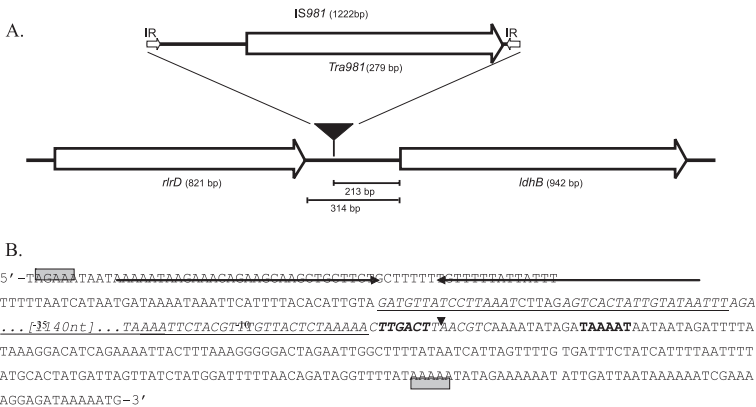
### Homofermentatieve melkzuurgisting

Hoe komt het nu dat die melkzuurbacterie elke keer zo sterk naar voren komt in al die verschillende voedselfermentaties? Dit heeft te maken met het type stofwisseling dat optimaal ontwikkeld is bij deze bacterie. Suikers, zoals het melksuiker lactose, worden met grote snelheid opgenomen en afgebroken door deze bacteriën. De afbraak van suiker door deze bacteriën is onvolledig – tot melkzuur – en de meeste aanwezige bacteriën zijn ook niet in staat om de suikers volledig af te breken tot koolzuur ( $\text{CO}_2$ ). Hiervoor is zuurstof nodig, die meestal niet voorradig is tijdens de voedselfermentatie, en heeft de bacterie een ademhalingsketen nodig, die meestal niet aanwezig is in de melkzuurbacterie. Op dit onderwerp zal ik verderop in mijn verhaal nog terugkomen.

Het blijkt nu dat de bacterie met deze melkzuurgisting en verder verschoond van een heleboel andere stofwisselingsopties, zoals ademhaling, ethanol-, azijnzuur-, mierzuur- en andere vetzuurproductie, van alle aanwezige bacteriën verreweg het snelst groeit, en de fermentatie snel domineert. Die snelle groei wordt nog in de hand gewerkt door het feit dat de gemiddelde melkzuurbacterie maar een zeer beperkt biosynthetisch potentieel heeft oftewel de meeste nutriënten voor de groei niet zelf kan aanmaken. Deze bacteriën zijn vaak volledig aangewezen op de aanwezigheid van de verschillende, voor de groei essentiële grondstoffen, zoals aminozuren, nucleotiden en vitamines. Deze grondstoffen zijn veelal rijkelijk aanwezig in melk, vlees, groente, fruit en granen. Op deze manier kan de melkzuurbacterie zich volledig 'richten' op maximale verzuring en groei op suikers zonder zich te hoeven bekommeren om de aanmaak van essentiële groeifactoren. Het blijkt dat deze zogenaamde 'homofermentatieve' melkzuurbacterie allerlei mechanismen heeft om dit stofwisselingsstype te behouden. Tijdens de afgelopen 10-15 jaar zijn er verscheidene pogingen ondernomen om de melkzuur-

## NA HET ZUUR, HET ZOET!

bacterie te veranderen via zogenaamde *metabolic engineering*, in organismen die in plaats van melkzuur andere organische verbindingen produceren. De strategie was dan meestal om het lactaatdehydrogenase, het enzym dat de omzetting van pyrodruvezuur in melkzuur katalyseert, te verwijderen. Bij sommige melkzuurbacteriën, zoals de mondbacterie *Streptococcus mutans*, bleek dat niet levensvatbaar, maar bij bijvoorbeeld *Lactococcus lactis* bleek dat wonderwel mogelijk. Echter, het geobserveerde fenotype, een ‘melkzuurbacterie’ die geen melkzuur produceert, bleek niet stabiel te zijn. Opvallend genoeg was hier niet sprake van reactivatie van het uitgeschakelde gen, maar leidde een spontane DNA-reorganisatie in deze LDH-negatieve mutant (Figuur 1) tot activatie van een alternatief lactaat dehydrogenase enzym. Uit het onderzoek van mijn NIZO-collega’s Roger Bongers en Michiel Kleerebezem bleek deze corrigerende mutatie consequent op te treden onder anaerobe condities, wat de ‘drang’ van deze bacterie om zijn melkzuurgisting te behouden, illustreert. Een andere illustratie is het niet-benutten van andere stofwisselingsmogelijkheden, zoals de vorming van azijnzuur of het gebruik van een ademhalingsketen. Deze alternatieven leveren de melkzuurbacterie veel meer energie, maar worden, onder ‘normale’ omstandigheden, niet benut.



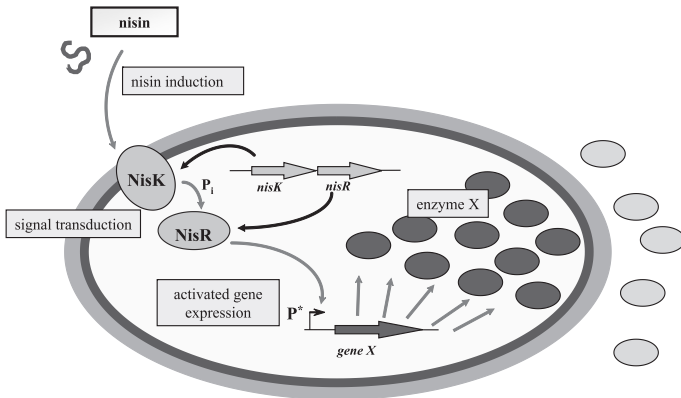
Figuur 1

Onderzoek met de bovengenoemde LDH-negatieve mutanten, onder omstandigheden waarin langzame suikeromzetting plaatsvindt of onder sterk aerobe condities, laten zien dat alternatieve afbraakroutes voor suiker wel degelijk aanwezig zijn. Zo blijkt de homofermentatieve melkzuurbacterie grote hoeveelheden azijnzuur en acetoïne te kunnen vormen en wordt er zelfs alleen azijnzuur (en CO<sub>2</sub>) gevormd bij groei in aanwezigheid van heme (wat leidt tot inductie van een electronentransportketen). Toch 'kiest' de melkzuurbacterie er niet voor om zelf heme te maken, terwijl er genoeg voorbeelden zijn waarbij bacteriën, en zeker ook melkzuurbacteriën, nieuwe bruikbare eigenschappen hebben verkregen via zogenaamde 'horizontale genoverdracht'.

### Metabolic engineering

Alles in deze bacterien lijkt erop gericht te zijn om één fermentatieproduct – melkzuur – te vormen. Deze stofwisseling vormt daarmee een uitstekende basis voor de productie van andere organische verbindingen. Onderzoek bij NIZO food research, maar ook op enkele andere locaties, heeft inderdaad laten zien dat er grote mogelijkheden zijn op het gebied van de *metabolic engineering*. Daarbij heeft de ontwikkeling van een zeer effectief gen-expressiesysteem, het NICE-systeem – wat staat voor Nisine Controlled Gene Expression – een grote rol gespeeld. Dit prachtige gecontroleerde expressiesysteem is zo'n tien jaar geleden ontwikkeld bij NIZO food research, onder leiding van mijn voormalig collega Oscar Kuipers. Het is gebaseerd op de productie van de antimicrobiele verbinding, nisine, door de melkzuurbacterie *Lactococcus lactis*. De productie van dit nisine bleek sterk gereguleerd te worden, en wel door nisine zelf. In afwezigheid van nisine kwamen de nisine-biosynthese genen in het geheel niet tot expressie, en de mate van genexpressie bleek af te hangen van de dosering van nisine. Van dit gegeven is gebruikgemaakt om willekeurige genen gecontroleerd tot expressie te laten komen, door ze onder controle te plaatsen van de nisinepromotor, ook wel 'Pnis' genoemd (Figuur 2).

# NICE



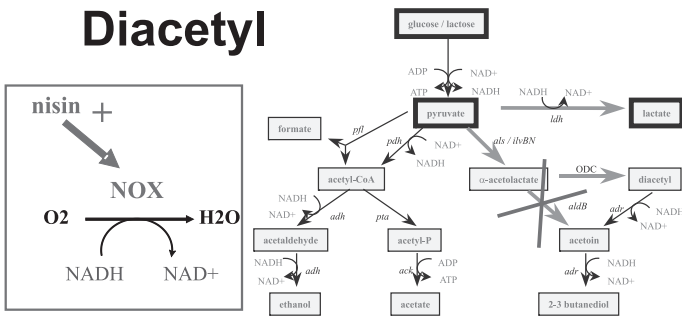
Figuur 2

Met behulp van dit NICE-systeem is het mogelijk gebleken om bepaalde eiwitten (enzymen) tot meer dan duizendvoudige overproductie op te voeren. Zo konden bijvoorbeeld *Lactococcus lactis* en andere melkzuurbacteriën veranderd worden in een efficiënte producent van het aminozuur alanine door introductie van het enzym alanine dehydrogenase.

Een ander aansprekend voorbeeld is de productie van het boteraroma, diacetyl, door dezelfde melkzuurbacterie, *Lactococcus lactis*. Hierbij werd de normale suikeromzetting richting melkzuur geheel geleid in de richting van  $\alpha$ -acetylmelkzuur, de precursor van diacetyl. Dit werd niet gedaan door het LDH te inactiveren, zoals hiervoor is beschreven, maar via een nog effectievere weg: de volledige oxidatie van de redox-cofactor NADH. Dit NADH, dat over het algemeen gevormd wordt tijdens de glycolyse (glucose richting pyruvodruivezuur) en gebruikt wordt voor de reductie van dit pyrodruivezuur tot melkzuur, werd nu volledig geoxideerd door overproductie (met behulp van het NICE-systeem) van NADH-oxidase, waarbij zuurstof direct als electronenacceptor fungeerde en water werd gevormd als eindproduct (Figuur 3). Door de volledige omzetting van NADH is het voor de melkzuurbacterie niet meer mogelijk om melkzuur te vormen. Pyrodruivezuur blijft over en kan worden omgezet in een aantal ander producten, bij voorkeur in

## JEROEN HUGENHOLTZ

$\alpha$ -acetylmelkzuur. Deze C5-verbinding ontstaat door reactie van twee pyrodrive-  
zuur-moleculen, met afsplitsing van een CO<sub>2</sub>-molecuul, gekatalyseerd door het  
enzym  $\alpha$ -acetylmelkzuurzyynthase. Dit enzym is vooral aanwezig in *Lactococcus lac-*  
*tis* met een vrij hoge activiteit. Dit  $\alpha$ -acetylmelkzuur is een vrij instabiel interme-  
diair dat vooral bij een lage pH chemisch gedecarboxyleerd wordt tot acetoïne.  
Om deze reactie te bespoedigen in de cel, waar meestal een pH van vlak onder de  
7,0 heerst, bezit de melkzuurbacterie veelal het enzym  $\alpha$ -acetolactaatdecarboxy-  
lase. Door nu ook dit enzym  $\alpha$ -acetolactaatdecarboxylase te inactiveren, is de ge-  
munteerde *Lactococcus lactis* niet meer in staat om  $\alpha$ -acetylmelkzuur om te zetten,  
waardoor het ophoopt in de cel en spontaan naar buiten diffundeert. In aanwezig-  
heid van zuurstof, die speciaal werd aangeboden voor het faciliteren van de  
NADH-oxidasereactie, werd het  $\alpha$ -acetylmelkzuur chemisch omgezet in diacetyl.  
Dit werd bij de fermentaties direct opgemerkt door de zeer dominante geur van  
boter. Zo was een melkzuurbacterie geschapen die suiker voor meer dan 50% kon  
omzetten in diacetyl, terwijl bij ‘normale’ zuivelfermentaties alleen een klein  
beetje citroenzuur wordt omgezet in diacetyl.



**Tot 75% conversie in diacetyl!!**

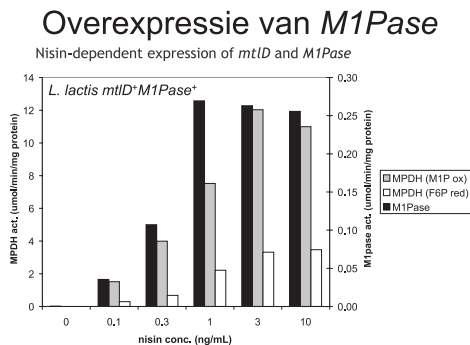
Figuur 3

## NA HET ZUUR, HET ZOET!

### Productie van laag-calorische zoetstoffen

Een meer recent voorbeeld van effectieve en succesvolle *metabolic engineering* is de omzetting van glucose of het melksuiker lactose in de suikeralcoholen mannitol en sorbitol. Mannitol blijkt gevormd te worden door melkzuurbacteriën waarin het LDH is geïnactiveerd, en met name onder anaerobe condities. Bij afwezigheid van pyrodruivezuur als electronenacceptor, gaan nu andere intermediären, zoals suikers en suikerfosfaten, als zodanig optreden. Daarbij kan dan mannitolfosfaat gevormd worden uit fructose-1 fosfaat.

Het promotiewerk van Wouter Wisselink had als doel om zoveel mogelijk mannitol te produceren. Dit lukte gedeeltelijk door het enzym mannitolfosfaatdehydrogenase tot overproductie te brengen met behulp van (weer) het NICE-systeem. Door vervolgens gebruik te maken van een mathematisch model van de glycolyse en een aantal zijreacties, was het mogelijk de meest effectieve omzetting richting mannitol te voorspellen. Uit de berekeningen van Marcel Hoefnagel en Wouter Wisselink kwam heel duidelijk naar voren dat de defosforylering van mannitolfosfaat een drempel betekende voor het verkrijgen van een nog hogere productie van mannitol (Figuur 4). Deze drempel kon worden overwonnen door het introduceren van een enzymactiviteit die de hydrolyse van mannitolfosfaat in vrij mannitol katalyseert. Het gen coderend voor het mannitolfosfatase was in dit geval geïsoleerd uit een alg.

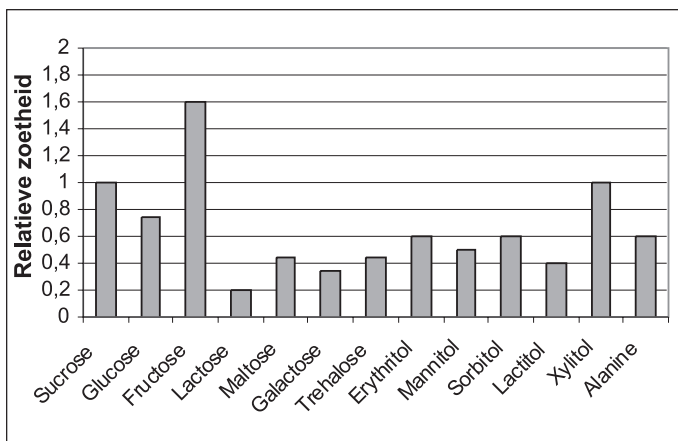


Figuur 4

## JEROEN HUGENHOLTZ

Hiermee zijn ook de voorspellende modellen in mijn verhaal geïntroduceerd, die in de rest van mijn verhaal een steeds grotere rol gaan spelen.

Wat is nu de rol van mannitolvorming in melkzuurbacteriën? Zoals net al is vermeld wordt deze route ingezet als alternatief voor de reductie van NADH. Daarnaast heeft mannitol ook een directe functionaliteit als zogenaamde ‘osmoliet’. Een osmoliet heeft als functie om de cel te beschermen bij hoge osmotische waarde of lage wateractiviteit van de omgeving. Verder vertegenwoordigt mannitol een zekere zoetwaarde die vergelijkbaar is met glucose (Figuur 5), maar dat is natuurlijk meer een op de consumentgerichte functionaliteit. Door de omzetting van lactose, met zijn zeer beperkte zoetwaarde, in mannitol treedt automatisch verzoeting op. Nog veel interessanter is dat als gevolg van deze omzetting ook de calorische waarde (sterk) omlaag gaat. Mannitol wordt in het menselijk lichaam namelijk slechts gedeeltelijk afgebroken en levert veel minder energie in de vorm van calorieën op.



Figuur 5

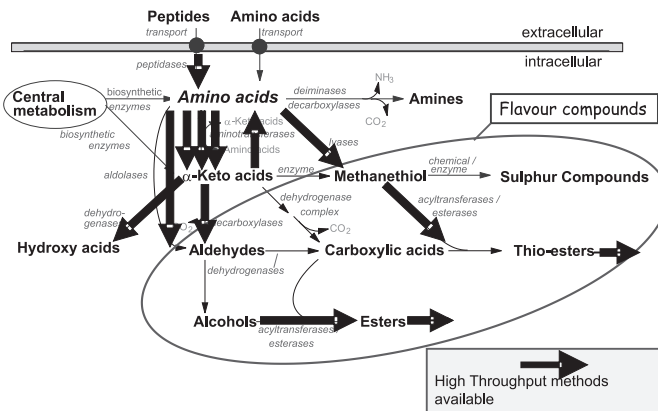
Een vergelijkbaar voorbeeld is de vorming van sorbitol door de melkzuurbacterie *Lactobacillus plantarum*. Sorbitol wordt nooit gevonden als fermentatieproduct, maar deze melkzuurbacterie bevat genen die het mogelijk maken om deze suiker af te breken. Binnen het EU-programma Nutra Cells dat van 2001 tot 2005 heeft gelopen, werkte de groep van professor Pascal Hols van de Universit  Catholique



## NA HET ZUUR, HET ZOET!

de Louvain-la-Neuve aan de constructie van sorbitol-producerende *Lb plantarum*-stammen. Via overproductie van één van twee genen coderend voor sorbitoldehydrogenase, kon een stam verkregen worden die bijna 50% van de aanwezige suiker in sorbitol omzet. Dit concept van fermentatieve productie van laag-calorische zoetstoffen, zoals mannitol, sorbitol en ook alanine – dit aminozuur heeft ook een zoete smaak – lijkt nu gesignaleerd te zijn in de levensmiddelensector, en in de komende jaren verwacht ik dan ook de eerste producten op de markt aan te treffen die gebaseerd zijn op dit concept. Met dit soort nieuwe producten wordt nadrukkelijk ingespeeld op de toename van vetzucht, obesitas, bij de westerse bevolking.

### Smaakvorming vanuit aminozuren door melkzuurbacterien



Figuur 6

Dit waren allemaal voorbeelden waarbij het primaire metabolisme van melkzuurbacteriën, normaal slechts gericht op de productie van melkzuur, gebruikt werd voor de productie van andere ingrediënten zoals diacetyl, alanine, mannitol en sorbitol. Na het zuur, het zoet!

Is het nu ook mogelijk om het secundaire metabolisme in deze melkzuurbacteriën, de biosynthese route, in elke gewenste richting te sturen? Hiermee is de laatste

jaren op twee gebieden ervaring op gedaan bij het NIZO, bij het Wageningen Centre for Food Sciences en bij nog een aantal concurrerende laboratoria verspreid over de hele wereld – dit is op het gebied van de smaakvorming uit aminozuurafbraak en op dat van de vitamineproductie.

## Smaakvorming door melkzuurbacteriën

Eerst zal ik een korte schets geven van het aminozuur- of stikstofmetabolisme in melkzuurbacteriën. Deze kennis berust vooral op onderzoek aan de zuivelmelkzuurbacterie, *Lactococcus lactis*, waarbij het melkeiwit caseïne, en in het bijzonder alfa S1-caseïne, de bron is voor de aminozuren en de smaakvorming in producten als kaas.

Deze melkzuurbacterie heeft, in tegenstelling tot veel andere microörganismen, een beperkte mogelijkheid om zelf aminozuren – de bouwstenen voor het eiwit – te produceren. Voor groei in melk is deze melkzuurbacterie volledig afhankelijk van zijn proteolytisch systeem, dat casein gedeeltelijk hydrolyseert en daarmee aminozuren en vooral peptiden vrijmaakt voor verdere afbraak. De peptiden worden vervolgens, in samenwerking, door een heel assortiment van peptidasen verder gehydrolyseerd tot aminozuren. Tijdens dit proces worden ook zogenaamde ‘bitterpeptiden’ gevormd en weer geheel of gedeeltelijk afgebroken, en daarmee wordt de smaak van het fermentatieproduct al direct beïnvloed. Via *metabolic engineering*, of beter gezegd *genetic engineering*, is het al mogelijk gebleken om het proces van bittervorming in een product als kaas te beïnvloeden, door overproductie van peptidasen, zoals aminopeptidase N (pepN) en x-prolyldipeptidylaminopeptidase XP (pepXP).

De omzetting van aminozuren in meer specifieke smaakcomponenten is een ander verhaal. Een groot assortiment aan smaakcomponenten kan gevormd worden uit de verschillende reacties die aminozuren als methionine, leucine en phenylalanine kunnen ondergaan (Figuur 6). Hierbij blijken er ook veel subtiele en minder subtiele verschillen te bestaan – onderling – tussen de duizenden stammen die wereldwijd gebruikt worden in de voedingsmiddelenindustrie. Die verschillen liggen vooral in de aan- of afwezigheid van specifieke omzettingsreacties van bepaalde aminozuren. *Genetic engineering* wordt in deze gevallen gebruikt om aan te tonen welk(e) gen(en) nu verantwoordelijk zijn voor een bepaalde smaakontwikkeling en

## NA HET ZUUR, HET ZOET!

om een smaakvormende reactie te introduceren in bacteriën die dat nog niet hebben.

Een mooi voorbeeld van dit type onderzoek draait om de vorming van 3-methylbutanal door unieke *Lactococcus lactis*-stammen, die in karnemelk of kaas een moutachtig aroma kunnen verzorgen. Echter, voorbeelden van smaakversterking via overproductie van de verantwoordelijke genen zijn niet voorhanden. Toch lijken hier unieke mogelijkheden te liggen op het gebied van specifieke smaakvorming, maar ook in algemene zin door bijvoorbeeld de *engineering*-strategie te richten op co-factoren die betrokken zijn bij een heel scala van smaakgenererende reacties. In dit kader doet het mij genoegen, dat het nieuwe Topinstituut Food & Nutrition, de opvolger van het Wageningen Centre for Food Sciences, een groot project gaat financieren op het gebied van aminozuurvorming (door eiwithydrolyse) en aminozuromzetting tijdens de voedselfermentatie. Met name het mathematisch beschrijven van de proteolyse, peptidolyse en aminozuromzetting in een voorspellend model is uitermate uitdagend en zal brede toepassing kunnen vinden. Met mij zullen veel van mijn vroegere en huidige collega's die hebben gewerkt aan het stikstofmetabolisme in melkzuurbacteriën (Wil Konings, Jan Kok, Roland Siezen, Eddy Smid, Bert Poolman, Arnold Driessen, Roel Otto, Paul Bruinenberg, Joey Marugg, Wilco Meijer, Richard van Kranenburg) geïnteresseerd kijken naar deze ontwikkelingen, want het levert weer een belangrijke nieuwe impuls op voor dit, nog lang niet uitgeholde, onderwerp.

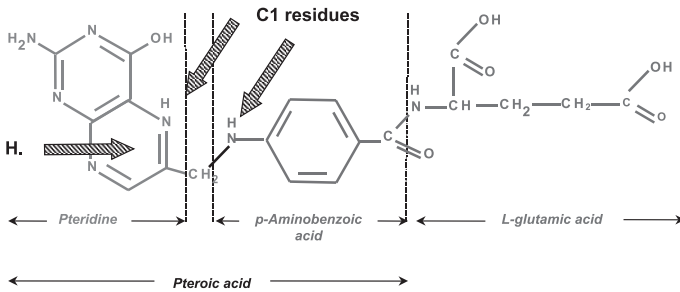
*Metabolic engineering* heeft op dit gebied betrekkelijk weinig opgeleverd, maar de *genomics*-revolutie des te meer. Het inzicht in de totale genomsequentie van een aantal melkzuurbacteriën en de daarvan afgeleide technieken om de expressie van alle genen of productie van alle metabolieten te kunnen analyseren, heeft duidelijk gemaakt dat er sprake is van een grote diversiteit binnen de melkzuurbacterie, die prachtig benut kan worden voor de ontwikkeling van allerlei productvarianten met interessante verschillen in smaak. De *genomics*-technieken en veel van de zogenaamde *high throughput*-analyses zijn ontwikkeld binnen het Kluyver Centre, een van de vier landelijke *genomics* zwaartepunten. Binnen dit consortium werken tien onderzoeksinstituten, waaronder NIZO food research en het WCFS, samen aan de ontwikkeling van *genomics*-technologieën ten behoeve van de Nederlandse Fermentatieindustrie. Dit onderzoek heeft voor de melkzuurbacterie-wereld tot nu toe een aantal prachtige nieuwe onderzoeksgebieden opgeleverd, zoals de diversiteitsanalyse van *Lactococcus lactis*, een methodiek die registreert welke genen van de

melkzuurbacterie nu precies tot expressie komen in ontoegankelijke omgevingen, zoals kaas of het menselijk lichaam, en een vergelijkende *metabolomics*-studie van een drietal zuivelbacteriën, die niet alleen wetenschappelijk vernieuwend zijn maar ook de interesse hebben gewekt van diverse potentiële, industriële gebruikers.

### Vitamineproductie

Het tweede gebied in het secundaire metabolisme, waarmee eveneens ervaring is opgedaan op het gebied van *metabolic engineering* bij melkzuurbacteriën, vooral onder mijn leiding bij NIZO food research en het WCFS, is de productie van vitamines. Hierbij gaat het met name om de productie van B-vitamines zoals foliumzuur, riboflavine en vitamine B<sub>12</sub>. Deze vitamines vormen essentiële groeifactoren voor de meeste levende cellen, en dus ook voor melkzuurbacteriën, als co-factor in enzymatische omzettingen. Zo is foliumzuur (Figuur 7) als co-factor betrokken bij de biosynthese van een aantal aminozuren en, nog belangrijker, bij de biosynthese van erfelijk materiaal (DNA en RNA) en dus bij celvermeerdering. Bij mensen kan foliumzuurdeficiëntie onder andere leiden tot bloedarmoede, openruggetjes (*spina bifida*) bij embryo's en een verhoogde kans op hart- en vaatziekten. Veel bacteriën, waaronder ook een groot aantal melkzuurbacteriën, zijn in staat om deze co-factoren zelf te produceren en zijn voor de aanvoer dan niet afhankelijk van het kweekmedium. Het blijkt dat de melkzuurbacterie soms zelfs zoveel vitamines produceert, dat de hele fermentatie ermee wordt verrijkt. Dit idee is uitgewerkt binnen het eerdergenoemde Europese Nutra Cells-project, in samenwerking met de University College Cork en met de Centre de Referencia de Lactobacillos, kortweg CERELA, in Argentinië en met Campina hier in Nederland, wat een interessant nieuw voedingsconcept heeft opgeleverd, namelijk de natuurlijk verrijkte (gefermenteerde) voedingsmiddelen met B-vitamines.

## Structuur van Foliumzuur



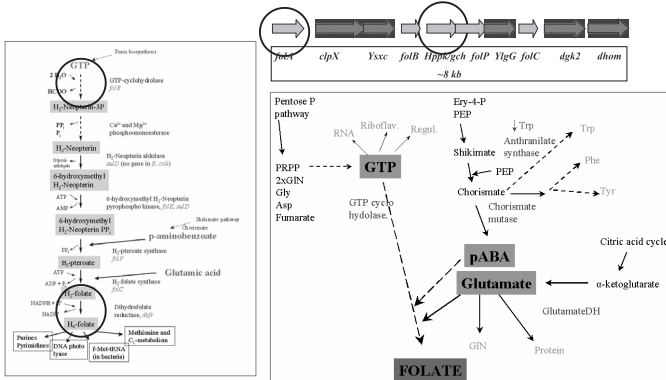
Figuur 7

Ook op de biosynthese van vitaminen is *metabolic engineering* toegepast, waarvan de resultaten tot nu toe spectaculair zijn. Binnen het promotieonderzoek van Wilbert Sybesma, uitgevoerd voor WCFS op de locatie van NIZO, was het doel om de foliumzuurproductie bij de melkzuurbacterie *Lactococcus lactis* te verhogen. De eerste pogingen waren gericht op de overexpressie van een paar geselecteerde genen, zoals het eerste gen (*gch*) en het laatste gen (*folA*) in de biosynthese (Figuur 8). Dit waren, binnen het gebied van de melkzuurbacteriën, de eerste ervaringen met het engineeren van complexe metabole routes. Opmerkelijk genoeg leverde deze exercitities al direct resultaat op, hoewel deze lang niet zo dramatisch waren als de promovendus zich had voorgesteld. Overexpressie van het *gch*-gen leverde een drie- tot viermaal zo grote foliumzuurproductie op terwijl overexpressie van het *folA*-gen juist een tweevoudige teruggang in de productie te zien gaf. Nadere analyse van de mutanten, samen met collega's van de universiteit van Florida, demonstreerde de aanwezigheid van een groot aantal, voorheen onbekende pteridines die gevormd werden in de GCH-overproducent en die legde duidelijk bloot dat er een blokkade moest zijn in de verdere omzetting van de pteridines in foliumzuur. De overexpressie van alle foliumzuurgenen, behalve *folA*, gaf vervolgens een spectaculaire overproductie te zien van deze vitamine, tot tientallen milli-

## JEROEN HUGENHOLTZ

grammen per liter in plaats van microgrammen, hoewel er nu wel de precursor para-aminobenzoëzuur (pABA) gedoseerd moest worden aan het kweekmedium. Om met melkzuurbacteriën, zonder hulp van buiten, een hoge foliumzuurproductie te bewerkstelligen, was dus nog een stap nodig; inductie van hoge pABA-productie. Deze stap is intussen gezet voor *Lactobacillus plantarum* door de opvolger van Wilbert Sybesma, Arno Wegkamp.

### Foliumzuur *Metabolic Engineering*



Figuur 8

Ook met een ander B-vitamine, riboflavine oftewel vitamine B<sub>2</sub>, is het mogelijk gebleken om, via *metabolic engineering*, (veel) meer te produceren. Ook hiervoor moesten alle (4) biosynthesegenen gezamenlijk tot overexpressie worden gebracht. Bij riboflavine bleek het ook mogelijk om via ‘natuurlijke’ weg een hogere productie te bewerkstelligen. Onder leiding van mijn voormalige student uit mijn promotietijd in Groningen, Douwe van Sinderen, heeft Kay Burgess in Cork melkzuurbacteriën behandeld met roseoflavine, een toxische verbinding die sterk lijkt op riboflavine, maar niet de co-factorwerking bezit. Door de sterke gelijkenis wordt deze verbinding opgenomen door cellen en verstoort deze alle reacties waarbij flavines normaliter een ondersteunende rol spelen. Het blijkt dat veel bacteriën, in aanwezigheid van roseoflavine, zelf extra riboflavine aanmaken om

## NA HET ZUUR, HET ZOET!

de versturende werking van het toxische roseoflavine te onderdrukken. Dit verschijnsel is ooit ontdekt en gepatenteerd bij een andere bacterie – *Bacillus subtilis* – maar blijkt ook prima te werken bij *Lactococcus lactis* en bij bijvoorbeeld *Propionibacterium*, bekend van de Zwitserse kaas. Het interessante en aantrekkelijke van deze benadering is dat er bij deze riboflavine-overproducenten sprake is van spontane mutanten en niet van genetische modificatie, waardoor de producten van deze strategie direct in voeding verwerkt mogen worden, zonder verplichte labeling. Met behulp van deze strategie is het ook mogelijk gebleken om tegelijkertijd twee B-vitamines, foliumzuur en riboflavine, in grote hoeveelheden te produceren tijdens de fermentatie. De uitdaging lijkt nu om eenzelfde soort benadering – het gebruik van toxische analogen – te ontwikkelen voor de andere B-vitamines zoals foliumzuur.

Kunnen we nu van alle vitamines veel meer maken door deze superbacterien in te zetten? Dit zal de toekomst moeten uitwijzen, maar er zijn legio vitamines die gewoon niet gemaakt worden door melkzuurbacteriën, zoals de vitamines C en D.

Wat betreft vitamine B<sub>12</sub>: het is nog te vroeg om daarover een uitspraak te doen. Dit vitamine is, evenals foliumzuur, betrokken bij een aantal essentiële biosynthese-reacties. Het komt echter niet in alle levende cellen voor. Planten blijken een vitamine B<sub>12</sub>-onafhankelijke stofwisseling te bezitten, evenals een aantal bacteriën, terwijl gewervelde dieren juist wel B<sub>12</sub>-behoefstig zijn. Ze kunnen het echter niet zelf aanmaken en zijn voor de toevoer van B<sub>12</sub> afhankelijk van voeding, net als bij de mens, of van de microbiologische productie in het lichaam, zoals bij de herkauwers. De enige cellen die zelf vitamine B<sub>12</sub> kunnen produceren zijn een beperkt aantal bacteriën. De vitamine B<sub>12</sub> die voorkomt in de menselijke voeding is dus niet van plantaardige oorsprong, maar meestal van dierlijke oorsprong. Vegetariërs kunnen bij een onzorgvuldig samengestelde voeding vrij snel gaan lijden onder een vitamine B<sub>12</sub>-deficiëntie.

Een interessante ontwikkeling en mogelijke doorbraak op dit gebied vond vier jaar geleden plaats in Argentinië. Bij het eerdergenoemde CERELA-instituut werd geconstateerd dat een zogenaamde ‘probiotische’ melkzuurbacterie, *Lactobacillus reuteri*, in staat was om een B<sub>12</sub>-achtige verbinding aan te maken. Dit zou dan de eerste melkzuurbacterie zijn die deze vitamine kan produceren. Nadere analyse van het vitamined molecuul en van het DNA dat codeert voor deze productie heeft duidelijk aangetoond dat er sprake is van productie van pseudovitamine B<sub>12</sub>, een variant met biologische activiteit, en dat alle 25 genen coderend voor de B<sub>12</sub>-bio-

synthese aanwezig zijn op het chromosoom van deze bacterie. De ontdekking van een B<sub>12</sub>-producerende melkzuurbacterie opent interessante mogelijkheden voor de natuurlijke verrijking met deze belangrijke vitamine via het proces van fermentatie, op dezelfde manier als eerder is vermeld voor foliumzuur en riboflavine (Figuur 9). Ik verwacht dan ook dat zeer binnenkort (gefermenteerde) producten op de markt zullen verschijnen, die natuurlijk verrijkt zijn met vitamine B<sub>12</sub>.

## Natuurlijk verrijkte yoghurt



Figuur 9

Maar kunnen we nu ook meer B<sub>12</sub> maken met behulp van *metabolic engineering*? Deze vraag kan nog niet beantwoord worden, maar het zal hoe dan ook moeilijk worden. Vitamine B<sub>12</sub> is zo'n beetje het meest ingewikkelde molecuul dat in de natuur voorkomt, en er zijn tientallen (bio)chemische stappen nodig om het te maken. Welke stappen/enzymen nu precies moeten worden versterkt om het doel te bereiken, is moeilijk te voorspellen; een hogere expressie van alle 25 genen zal niet makkelijk, zo niet onmogelijk zijn. Momenteel is Filipe Santos onder mijn leiding binnen het WCFS de mogelijkheden en onmogelijkheden hiervan aan het onderzoeken.

Nu weer even terug naar de simpele stofwisseling van de homofermentatieve melkzuurbacterie. Waarom voeren deze bacteriën deze simpele, maar weinig



## NA HET ZUUR, HET ZOET!

energieopleverende omzetting met zo'n halstarrigheid uit? En hoe is dit zo gekomen bij de melkzuurbacteriën?

### Systeembioologie

Wat betreft de eenvoud van de stofwisseling: het lijkt allemaal te draaien om snelheid. De melkzuurbacterie weet enorme hoge groeisnelheden te halen met deze ogenschijnlijk weinig efficiënte stofwisseling. Voor de yoghurtbacterie *Streptococcus thermophilus* zijn verdubbelingstijden gemeten die korter zijn dan 10 minuten, veel korter nog dan de klassieke 20 minuten verdubbelingstijd die in de meeste microbiologischhandboeken worden genoemd. Om er even een voorstelling van te maken: als je met een yoghurtbacterie begint die de gelegenheid krijgt om met deze snelheid te groeien, dan heb je in 22 uur tijd twee tot de macht 132 melkzuurbacteriën, wat een massa vertegenwoordigt die ongeveer gelijkstaat aan de massa van de hele aarde. Wat bepaalt nu dat zo'n melkzuurbacterie zo hard kan groeien, zich zo snel kan verdubbelen? Het zit kennelijk niet in de hoeveelheid energie die het organisme kan halen uit de afbraak van suikers, of de energie die het kan besparen door kant en klaar alle grondstoffen voor eiwit (aminozuren) en DNA (nucleotiden) op te nemen. Het lijkt meer te zitten in de snelheid waarmee het organisme de reacties kan uitvoeren. Wat is dan de bepalende factor bij die groeisnelheid?

Deze intrigerende vraag houdt veel microbiologen al jaren bezig. Door de revolutionaire ontwikkelingen op het gebied van de *genomics*, de *proteomics* en de *metabolomics* lijkt het nu mogelijk om deze vraag eens goed te beantwoorden, vooral voor een relatief eenvoudige cel als de melkzuurbacterie. Hiervoor is (heel) veel experimentele analyse nodig, en zeker evenzoveel rekenwerk, dataverwerking, database- en modelontwikkeling. Dit gebied wordt ook wel 'systeembioologie' genoemd. Daarbij is het de ambitie om volledig mechanistisch begrip te ontwikkelen voor een geheel systeem, in dit geval de volledige (groeïende) cel, en zich niet meer te limiteren tot kleine onderdelen van de cel, zoals een metabole route of een operon tot zelfs een enzym of een enkel gen. Met de huidige status van het melkzuurbacterie-onderzoek – diverse goed geannoteerde genomen, kinetische en genoom-gebaseerde metabole kaarten, uitstekend genetisch gereedschap en bovenal een gedegen kennis van de fysiologie van dit organisme – en de nieuwe mogelijkheden die de *genomics*-revolutie ons biedt op het gebied van de analyse,

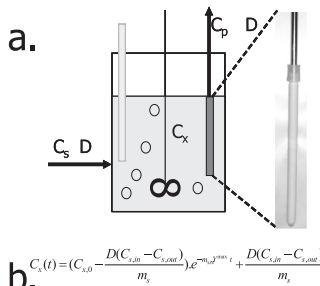
## JEROEN HUGENHOLTZ

moet het bij deze bacterie als één van de eerste levende cellen mogelijk worden om dit te bereiken. Hiervoor is veel mankracht en natuurlijk geld nodig, en met dat doel worden er allerlei nationale en internationale samenwerkingsverbanden opgericht. Zo is er in Nederland het zogenaamde LAB-Systeembio­logie consortium, waarin de Universiteit Groningen, het WCFS, NIZO food research, het Klu­yver Centre, de Radboud Universiteit Nijmegen, de Vrije Universiteit en de Universiteit van Amsterdam participeren. Vanuit dit consortium zijn al enkele onderzoeksvor­stellen richting de subsidiegever gegaan, maar tot op heden zijn die nog maar mondjesmaat gehonoreerd. Binnen het Nederlands Bioinformatics Centre (NBIC) loopt momenteel een project dat gericht is op database-ontwikkeling om alle (toekomstige) gegevens op een goede manier te ordenen, te verwerken en vervolgens op een logische manier aan elkaar te koppelen. Recentelijk is er ook een internationaal initiatief, genaamd SysMO, gehonoreerd voor een groot melkzuurbacterieproject, waarbij onderzoeksgroepen uit vier landen (Noorwegen, Duitsland, Engeland en Nederland) via een systeembio­logische aanpak erachter willen komen waarom de homofermentatieve levensstijl overheerst en dus zo succesvol is in een aantal ecologische niches, zoals de *Lactococcus lactis* in zuivelpro­ducten, de *Lactobacillus plantarum* in gefermenteerd plantenmateriaal, de *Enterococcus faecalis* in de darm en met name in het colon (de uitwerpselen) en een ziektever­wekker als *Streptococcus pyogenes* die met name goed gedijt in de mond-, neus- en keelomgeving. Ook heb ik goede hoop dat een STW-aanvraag – samen met de Universiteit Groningen (de professoren Kuipers, Kok en Poolman), de Universiteit Wageningen (professor de Vos), het WCFS (dr van Hylckama Vlieg en dr Teusink) en de Vrije Universiteit Amsterdam (professor Westerhoff en dr Bakker) – met de mooie titel ‘Optimizing growth rate, biomass and product formation in *Lactococcus lactis* by a Systems Biology approach’ – zal worden gehonoreerd. De eerste pogingen van mijn NIZO- en WCFS-collega’s Bas Teusink en Douwe Mole­naar om de groei van de melkzuurbacterie te modelleren via een modulaire aan­pak, waarbij de totale cel wordt verdeeld in een paar onderdelen die apart worden beschreven in een mathematisch model, lijken succesvol te worden. Binnen het Klu­yver Centre is momenteel een groot, experimenteel onderzoeksproject gaande dat fysiologisch inzicht moet verschaffen in het verschijnsel – groei – bij vier ver­schillende microörganismen. Hierbij wordt gebruikgemaakt van een ‘zogenaamde’ retentostat (Figuur 10), waarbij continu vers medium wordt gepompt door een groeiende cultuur, maar waarbij het celmateriaal wordt vastgehouden via een fil-

## NA HET ZUUR, HET ZOET!

ter. In een dergelijke cultuur neemt de actieve biomassa steeds verder toe, totdat de continu aangeboden energie en nutriëntenbron alleen nog maar voldoende is voor onderhoud – *maintenance* – en geen groei meer toestaat. In een dergelijke proefopzet is het mogelijk de omschakeling van groei naar geen groei goed gecontroleerd te bestuderen; dit Kluyver Centre-project wordt dan ook ‘Zero Growth’ genoemd. Met de modelleractiviteiten die door dit soort experimentele aanpak worden gesteund, zullen de eerste schreden worden gezet in de systeembioogie en zal aangetoond kunnen worden dat de melkzuurbacterie inderdaad een ideaal onderzoeksobject is voor deze nieuwe onderzoeksrichting. Na het zuur, het zoet!

## Het principe van de retentostat



**Figure 10:** **a.** Schematic representation of retentostat cultivation: substrate is fed at a constant rate while cells are retained in the fermenter by means of an internal filtration device. **b.** Theoretical equation for biomass accumulation in the retentostat.  $C_p$ , biomass concentration [g/l];  $C_{x,0}$ , initial biomass concentration [g/l];  $D$ , dilution rate [ $h^{-1}$ ];  $C_{s,0}$ , glucose concentration in fresh medium [g/l];  $C_{s,ret}$ , residual glucose concentration [g/l];  $m_s$ , maintenance coefficient [g glucose/g biomass.h];  $Y^{max}_{sx}$ , maximum yield [g biomass/g glucose.h]

Figuur 10

Mooie voorbeelden van de kracht van de systeembioogische benadering zijn dringend nodig om de verschillende subsidiegevers te overtuigen van het belang hiervan. Helaas is het onmogelijk om dit kleinschalig, met een enkele aio of postdoc, te benaderen en zijn alleen omvangrijke aanvragen realistisch in dit veld. Momenteel levert dit grote vertragingen op bij het opstarten van allerlei ambitieuze plannen. Daarom zou het goed zijn als de overkoepelende onderzoeksorganisaties, zoals NWO en hopelijk ook het NGI (Netherlands Genomics Initiative), de systeembioogie zouden omarmen als een nieuw onderzoeksveld. De activiteiten van

het BioCentrum Amsterdam en the Netherlands Institute for Systems Biology, het instituut in oprichting, ook in Amsterdam, die beiden *Sytems Biology* als centraal thema definiëren in de toekomstplannen, zijn dan ook toe te juichen, en ik hoop vanuit het veld van de voedsel fermentatie aan beide initiatieven een bijdrage te kunnen leveren.

## Fundamenteel en toegepast onderzoek

Hiermee ben ik vanzelf aangeland bij het aspect van financiering van wetenschappelijk onderzoek. Vandaag de dag besteedt de gemiddelde stafmedewerker aan de universiteit een belangrijk deel van zijn tijd aan het binnenhalen van subsidies. Was er vroeger nog de eerste geldstroom van de universiteiten, nu lijkt het wel of al het academisch onderzoek moet worden uitgevoerd in samenspraak met de industrie, en liefst nog in meerjarige consortia waarmee tientallen miljoenen euro's gemoeid zijn. Het meest recente voorbeeld van deze ontwikkeling is de Smart-Mix-regeling, waarbij de overheid, in zijn ultieme wijsheid, heeft besloten geld, dat oorspronkelijk bestemd was voor de universiteiten, in te houden en alleen uit te geven voor onderzoek dat wordt uitgevoerd in zogenaamde Publiek-Private Verbonden (Public Private Partnerships, oftewel PPP's). Het liefst ziet de overheid ook nog dat het onderzoeksprogramma wordt ingevuld door de industrie. Tegenover het enige voordeel daarvan, namelijk dat de universiteiten rechtstreeks te horen krijgen wat voor problemen er allemaal spelen, staan een heel aantal doorslaggevende nadelen: 1. De aanvraagprocedures zijn extreem tijdrovend, omdat er zeer ingewikkelde samenwerkingsovereenkomsten moeten worden opgesteld. De academicus is daardoor nog meer tijd kwijt met het opstellen van aanvraagprocedures dan met het ontwerpen, uitvoeren en onderwijzen van de wetenschap; 2. Veel onderzoek uit deze PPP's kan niet rechtstreeks terecht komen in het publieke domein vanwege zwaarwegende, commerciële belangen van de betrokken bedrijven; 3. De academische vrijheid wordt hiermee ernstig aangetast; en 4. Het wetenschappelijk onderzoek zal een minder hoog doorbraakgehalte bevatten en achteruitgaan in kwaliteit.

Hoewel de toenemende interactie tussen academia en industrie op het eerste gezicht wel aantrekkelijk lijkt te zijn voor het bedrijfsleven, zal deze in de niet te verre toekomst tegen alle partijen gaan werken, namelijk door de geleidelijke ver-

## NA HET ZUUR, HET ZOET!

dwijning van fundamenteel onderzoek en de daarmee gepaard gaande afname van de innovatiekracht in Nederland – één van de belangrijkste peilers in de Nederlandse kennisindustrie.

Dit wil niet zeggen dat ik tegen samenwerking tussen het bedrijfsleven en de universiteit ben – integendeel, zou ik willen zeggen, anders zou ik deze aanstelling aan de universiteit ook niet moeten accepteren. Maar laten we het echte toegepaste onderzoek vooral bij de bedrijven laten, ondersteund door de meer toepassingsgerichte kennisinstituten en de technologische topinstituten, en laten we er met z'n allen voor zorgen dat de academische instituten de fundamentele concepten blijven aanleveren, voor de innovatie in de toekomst.

### Dankwoorden

Tot slot wil ik nog een aantal mensen bedanken die mij op verschillende momenten in mijn opleiding en carrière begeleid en gesteund hebben.

In de eerste plaats wil ik natuurlijk bedanken het College van Bestuur van de Universiteit van Amsterdam, het bestuur van de faculteit der Natuurwetenschappen, Wiskunde en Bioinformatica en van het Swammerdam Institute for Life Sciences voor het in mij gestelde vertrouwen, en dan vooral professor Klaas Hellingwerf en dr Joost Teixeira de Mattos, die wel wat zagen in mij en mijn onderzoek aan melkzuurbacteriën bij de UvA.

Vervolgens wil ik bedanken de Hooggeleerde Konings; beste Wil, jij bent altijd mijn grote inspirator geweest, niet alleen in de studie- en promotiejaren aan de Universiteit Groningen, maar ook later terwijl we elkaar niet meer zo vaak troffen; je kon mij toen tot nog betere prestaties aanzetten met opmerkingen als 'ben je nog steeds geen directeur van het NIZO?' en 'zit je daar nu niet lang genoeg?'. Vaak heb ik naar je geluisterd, behalve die ene keer toen jij mij als overbuurman dringend adviseerde om medicijnen te gaan studeren. Ik ben erg blij dat jij en Ine hier vandaag bij kunnen zijn.

De volgende die ik wil bedanken, is de Hooggeleerde Wouters; beste Jan, jij hebt de wijsheid gehad om mij naar het NIZO te halen en daarna heb je mij alle ruimte gegeven die ik nodig had, inclusief het opnemen in het WCFS. In al die jaren dat jij Wetenschappelijk Directeur was van het NIZO en later van WCFS,

## JEROEN HUGENHOLTZ

heb je mij gesteund en afgeschermd van storende krachten die mij zouden kunnen belemmeren in mijn functioneren. Heel hartelijk dank hiervoor en fijn dat je er vandaag bij kan zijn.

Verder wil ik nog noemen dr Juriaanse, Directeur van NIZO food research; beste Ad, het is fenomenaal wat jij, samen met alle NIZO-medewerkers, voor elkaar heb gebracht in de succesvolle omschakeling van een 100% zuivel-gefinancierd (niet zuiver) onderzoeksinstituut naar een 100% commercieel bedrijf. Dat jij toch nog de rust en wijsheid kon opbrengen om mij voor een dag in de week 'uit te lenen' aan de Universiteit van Amsterdam, is prijzenswaardig.

Natuurlijk wil ik niet vergeten mijn directe collega's bij NIZO food research, bij WCFS en bij het Kluuyver Centre. De collega's van het eerste uur Willem de Vos, Roland Siezen, Michiel Kleerebezem en later aangevuld met Eddy Smid en Johan van Hylckama Vlieg wil ik in het bijzonder noemen voor de altijd prettige en constructieve samenwerking. Michiel en Tjakko, we moeten binnenkort maar weer samen uiteten, al zal de gespreksstof wel wat zijn opgedroogd nu wij alledrie ineens professorabel blijken te zijn. Ook wil ik zeker niet vergeten Marjo Starrenburg, die bijna net zolang als ik op NIZO rondloopt en mij heeft ondersteund in bijna al het werk dat ik vanmiddag de revue heb laten passeren. Alle niet genoemde collega's wil ik hartelijk bedanken voor de geweldige werksfeer die ervoor zorgt dat ik toch bijna elke dag met plezier naar mijn werk ga. Verder doet het mij een groot genoegen dat er vandaag grote delegaties zijn gekomen vanuit Delft en de andere locaties van het Kluuyver Centre. Dit illustreert de grote mate van saamhorigheid in dit grote en succesvolle *genomics*-consortium. Ik noem dan vooral mijn mede-MT-leden, professor Jack Pronk, professor Sef Heijnen, professor Kees vd Hondel, professor Hans van Dijken, professor Jan de Bont, professor Han de Winde en, sinds gisteren, dr Patricia Osseweijer. Ik kijk uit naar een volgende vijf jaar van samenwerking in Kluuyver Centre II!

Ten slotte wil ook nog stilstaan bij de mensen die mij in het leven op weg hebben geholpen en mij in het dagelijkse leven voortdurend ondersteunen.

Allereerst mijn ouders: ik ben blij dat jullie in behoorlijke gezondheid deze gelegenheid kunnen meemaken en ik wil jullie bedanken voor het vertrouwen dat jullie mij hebben gegeven bij mijn keuzes in het leven.

Vervolgens mijn kinderen: Sietske, Michiel en Floor. Veel van wat ik hier heb verteld is de afgelopen jaren langs jullie heengegaan, hoewel Floor er nu wel driftig gebruik van maakt in haar biologiestudie in Groningen. Ik vind het leuk dat

## NA HET ZUUR, HET ZOET!

jullie deze heuglijke bijeenkomst samen met mij kunnen meemaken en dat jullie nu zelf kunnen zien wat jullie papa allemaal heeft bereikt in zijn werk.

Als laatste wil ik noemen Marja. Jij bent het licht in mijn leven en maakt het leven tot een groot feest, onder soms best moeilijke omstandigheden. Jij bent veel belangrijker dan al die aardige wetenschappelijke doorbraken die ik in deze rede heb besproken. Het is een genot om thuis te komen bij jou na weer een overvolle en hectische dag. Jij bent mijn zoet, na het zuur!

Ik heb gezegd.