

# VRUCHTENWIJN I

*samengesteld door*

IR. E. OLT Hof

I.B.V.T.-publikatie no. 20

---

INSTITUUT VOOR BEWARING EN VERWERKING VAN TUINBOUWPRODUCTEN - WAGENINGEN 1961

# INHOUD

<b>I ALGEMEEN</b>	
1. Het begrip vruchtenwijn . . . . .	7
2. Geschiedenis en ontwikkeling . . . . .	8
3. Soorten vruchtenwijnen . . . . .	11
<b>II SAPWINNING</b>	
1. Wassen . . . . .	15
2. Malen . . . . .	15
3. Pulpgistig . . . . .	18
4. Persen . . . . .	21
<b>III DE GISTING</b>	
1. De systematische plaats van de gisten in het plantenrijk . . . . .	30
2. De chemische omzettingen bij de vergisting . . . . .	34
Inleiding . . . . .	34
Ethylalcohol . . . . .	36
Glycerine . . . . .	38
Methylalcohol . . . . .	40
Azijnzuur . . . . .	40
Hogere alcoholen . . . . .	41
Barnsteenzuur . . . . .	43
Bouquetstoffen . . . . .	44
3. De onregelmatige vergisting van appelsap . . . . .	44
Remstoffen . . . . .	45
Gebrek aan stikstof . . . . .	46
Gebrek aan aminozuren . . . . .	50
Gebrek aan groeifactoren . . . . .	56
Samenvatting . . . . .	60
4. Enkele andere factoren die bij de alcoholische vergisting van vruchte- sappen van invloed zijn . . . . .	61
Invloed van luchttoevoer . . . . .	61
Invloed van koolzuur . . . . .	63
Invloed van azijnzuur . . . . .	64
Invloed van zwaveldioxyde en elementaire zwavel . . . . .	65
Invloed van enkele metalen op de gisting (ijzer, koper, aluminium) . . . . .	70
Invloed van de suikerconcentratie . . . . .	71
Invloed van de temperatuur . . . . .	72
Invloed van het vergroten van de „inwendige oppervlakte” van het te ver- gisten medium . . . . .	73
Invloed van het gebruik van reine giscultures . . . . .	74
Geraadpleegde Literatuur . . . . .	80

## TEN GELEIDE

Ter gelegenheid van de herdenking van het 25-jarig bestaan van het Instituut voor Bewaring en Verwerking van Tuinbouwproducten (I.B.V.T.) zullen enige monografieën verschijnen over onderzoek dat in de achter ons liggende jaren aan het I.B.V.T. werd verricht en goeddeels afgesloten kon worden.

Als eerste publikatie wordt U hierbij „Vruchtenwijn I”, samengesteld door Ir. E. Olthof, wetenschappelijk onderzoeker bij het I.B.V.T., aangeboden.

Reeds in de dertiger jaren gaf Prof. Ir. A. M. Sprenger door zijn onderzoek de stoot tot het produceren van vruchtenwijnen, waarbij vooral de betekenis van het verkrijgen van een kwaliteitsprodukt op de voorgrond werd geplaatst. Door de bemoeiingen van Prof. Sprenger is er in de kwaliteit van de vruchtenwijnen veel verbetering gekomen. Wil de Nederlandse vruchtenwijnindustrie zich evenwel blijven handhaven dan is een voortdurend streven naar verbetering van het produkt een gebiedende eis.

Deze publikatie is geschreven met het doel de vruchtenwijnvakman een dieper inzicht te geven in de materie waarmede hij dagelijks omgaat. In dit eerste deel over vruchtenwijn is veel aandacht besteed aan de alcoholische gisting, aangezien de gisting een van de belangrijkste punten is waarop bij de lange weg van vrucht tot vruchtenwijn de zorgen van de vakman gericht moeten zijn. Wordt deze gisting niet in de juiste banen geleid dan zal nimmer een vruchtenwijn van prima kwaliteit kunnen ontstaan. Deze publikatie is genoemd „Vruchtenwijn I”, hetgeen dus inhoudt dat op een later tijdstip nog een tweede deel zal verschijnen, waarin de overige van belang zijnde onderwerpen zullen worden behandeld.

Moge deze uitgave bijdragen tot een verdere opvoering van de kwaliteit der vruchtenwijnen.

's-Gravenhage, 18 april 1961

C. BOUDEWIJN,  
voorzitter bestuur I.B.V.T.

## I ALGEMEEN

### 1. HET BEGRIIP VRUCHTENWIJN

Per definitie wordt volgens het Wijnbesluit van de Warenwet (54)<sup>1)</sup> onder vruchtenwijn verstaan: de gegiste drank, welke, al of niet met gebruikmaking van suiker (saccharose), is bereid uit het sap van ander fruit dan druiven (vruchten van *Vitis Vinifera* L.) of bestaat uit mengsels daarvan met wijn. Vruchtenwijn moet tenminste 9 vol. % alcohol (15°C) bevatten terwijl bij toepassing van de Vrijstellingsbeschikking het alcoholgehalte van vruchtenwijn niet hoger mag zijn dan 15 vol. % (15°C). Het Wijnbesluit kent ook enkele laag alcoholhoudende vruchtenwijnen nl. appel- en perencider. Dit Besluit zegt hierover: De aanduiding cider (mousserend), appelcider (mousserend) of perencider (mousserend) mag uitsluitend en moet worden gebezigd voor de gegiste mousserende drank, welke zonder toevoeging van enige suiker bij de gisting is bereid uit het sap van appels of peren. Het alcoholgehalte van cider moet tenminste 4 vol. % (15°C), doch mag niet meer dan 5 vol. % (15°C) bedragen. In de zin van de Warenwet is cider dus geen vruchtenwijn. Ter verdere bepaling van het begrip vruchtenwijn zijn o.m. de volgende eisen uit het Wijnbesluit nog het vermelden waard:

*a.* Vruchtenwijnen moeten vrij zijn van kleurstoffen, andere dan aan de gebruikte vruchtensoort eigen, of andere dan caramel, amaranth of ponceaurood. Op een bepaalde wijze kleuren van vruchtenwijnen is dus toegestaan.

*b.* Bij de bereiding van vruchtenwijn moet tenminste 30 vol. % aan deugdelijk vruchtesap worden gebruikt. Dit vruchtesap moet dan weer voldoen aan de eisen zoals deze vermeld staan in het Jam- en Limonadebesluit van de Warenwet.

*c.* Als conserveermiddelen zijn toegestaan maximaal 200 mg SO<sub>2</sub> per liter óf een mengsel van zwaveligzuur en benzoëzuur tot ten hoogste 50 mg SO<sub>2</sub> en 300 mg benzoëzuur per liter.

Een volledig beeld van het begrip vruchtenwijn verkrijgt men met de bovenstaande gegevens niet. Het is daarvoor ook nodig de reeds eerder genoemde Vrijstellingsbeschikking (53) te raadplegen. Het Koninklijk Besluit van 10 november 1951, Stbl. no. 479, legt nl. op Vruchtenwijn en Druivenwijn, welke hier te lande wordt gefabriceerd, een accijns, maar bepaalt tegelijkertijd, dat de Minister van Financiën daarvan vrijstelling kan verlenen onder door hem te stellen voorwaarden. Deze voorwaarden zijn vervat in de Vrijstellingsbeschikking Wijn en andere gegiste Vruchtendranken 1951 (Stct. 1952, no. 42), aangevuld bij beschikking van 15 september 1954. Ten aanzien van de samenstelling van vruchtenwijn zijn de volgende punten van belang:

*a.* Het geheel of gedeeltelijk ontkleuren van vruchtenwijn is niet toegestaan.

*b.* Bij het aanzoeten van vruchtenwijn mag hoogstens 20 gew. % suiker worden gebruikt. Het suikergehalte van het eindprodukt mag echter niet meer dan 20% bedragen. Indien dus na het gereedkomen van de vruchtenwijn nog suiker aanwezig is

<sup>1)</sup> De in de tekst vermelde cijfers tussen ( ) verwijzen naar de nummers van de literatuurlijst.

doordat deze bijv. niet volledig werd vergist, moet bij aanzoeting tot de maximaal toelaatbare hoeveelheid minder suiker worden gebruikt dan 20%.

c. Aan de gegiste dranken, die uit druiven bereid daaronder begrepen, mogen, voor zover dit niet bij andere wettelijke bepalingen is verboden, vruchtenessences en aroma's worden toegevoegd. Deze toevoeging mag slechts plaatshebben om een verbeterd produkt te verkrijgen, mits de dranken daardoor het karakter van wijn of vruchtenwijn niet verliezen en overigens slechts als zodanig in de handel worden gebracht. Onder dezelfde voorwaarden is het toegestaan alcohol toe te voegen mits het alcoholgehalte van het produkt daardoor niet stijgt boven 15 vol. % (15°C).

d. Bij de organoleptische keuringen van vruchtenwijnen op de Keuringsdienst van Waren te Zutphen wordt aangenomen, dat als gearomatiseerde vruchtenwijn moet worden aangeduid vruchtenwijn, welke zodanig is gearomatiseerd, dat het *natuurlijke* karakter van de vruchtenwijn verloren dreigt te gaan of het *natuurlijke* bouquet door het aroma wordt overstemd. Dit is echter niet van toepassing, indien uit de gebezigde benaming de aromatisering reeds blijkt, hetgeen bijv. het geval is bij „Vermouth van Vruchtenwijn” en „Vruchtenwijn Meiwijn”.

Het lijkt nu alsof de teksten van c en d niet geheel in overeenstemming met elkaar zijn (53). Dit is echter wel het geval want onder c wordt gezegd: indien men aromatiseert, moet het produkt herkenbaar blijven als wijn of vruchtenwijn. Is het dat niet langer, dan mag het niet in de handel worden gebracht. De tekst betreffende de organoleptische keuringen behandelt alleen de vraag, wanneer de aromatisering op het etiket moet worden vermeld en zegt, dat dit moet geschieden indien het *natuurlijke* karakter van de vruchtenwijn verloren dreigt te gaan. Wordt bijv. rode aalbessenwijn op een zodanige wijze met zwarte bessenessence gearomatiseerd, dat de natuurlijke smaak van rode aalbessenwijn niet meer is vast te stellen, dan zal het produkt als bessenwijn nog herkenbaar kunnen zijn. Het moet dan worden aangeduid als bijv. „bessenwijn”, indien een matig gebruik van de zwarte bessenessence is gemaakt en als „rode aalbessenwijn met zwarte bessen-aroma” of als „vruchtenwijn met zwarte bessen-aroma” indien een grotere hoeveelheid essence is toegevoegd.

Uit de bepalingen van het Wijnbesluit en de Vrijstellingsbeschikking blijkt dat het begrip vruchtenwijn niet op eenvoudige wijze is te omschrijven. Het spreekt verder ook vanzelf dat de aanduiding op het etiket van een fles vruchtenwijn altijd zodanig is gesteld dat de consument op duidelijke wijze weet welke soort en welk type vruchtenwijn hij koopt (afb. 1).

## 2. GESCHIEDENIS EN ONTWIKKELING

In Nederland begon men het eerst met de vruchtenwijnfabricage in het Noorden, in Groningen. Vermoedelijk waren onze oudste vruchtenwijnen bereid van aalbessen en frambozen. In enkele geschriftjes van omstreeks 1890 (5) vindt men mededelingen over appelwijn, tegenwoordig de belangrijkste vruchtenwijn voor de Nederlandse vruchtenwijnindustrie. Met de bereiding van alcoholhoudende dranken uit het sap van appelen en peren hebben zich vermoedelijk reeds de Romeinen ten tijde van Plinius (23–79 n.



AFB. 1. *Verschillende types vruchtenwijnen.*

Chr.) beziggehouden (26). In 1932 schreef Professor Sprenger (47) o.a. dat de bereiding van appels en peren tot wijn in ons land nog niet plaatsvond.

Van Groningen breidde de vruchtenwijnindustrie zich verder over ons land uit. Dit gebeurde vooral door de grote activiteiten van Professor Sprenger toen hij omstreeks 1932 op het Laboratorium voor Tuinbouwplantenteelt te Wageningen begon met de wetenschappelijke bestudering van de vraagstukken betreffende de vruchtenwijnbereiding. De achtergrond hiervan was de Nederlandse Fruitteelt rendabel te maken. Op het titelblad van een boekje van Reddingius (5) staat trouwens ook vermeld: „Vruchtenwijnen oefenen als volksdranken een grooten invloed uit ten voordeele der nationale welvaart”. Sprenger wist de industrie voor zijn onderzoekingen te interesseren met als gevolg dat de fabricage van vruchtenwijnen op een hoger plan kwam te staan dan tot nu toe het geval was geweest.

Er zijn momenteel in Nederland nog ongeveer 40 vruchtenwijnfabrieken. Dit aantal neemt steeds meer af, waarbij de kleinere bedrijven verdwijnen en de grote blijven. In de jaren 1936, 1937 waren er bijv. 106 vruchtenwijnfabrieken.

De totale produktie van vruchtenwijn bedraagt momenteel in Nederland 5 à 6 miljoen

liter per jaar. Er zijn fabrikanten die 1 miljoen liter per jaar produceren. De produktie van vruchtenwijnen is in de loop der jaren steeds groter geworden zoals blijkt uit de volgende cijfers:

× 1.000 liter	× 1.000 liter
1931: 747	1948: 5.178
1932: 911	1949: 1.690 (Korea)
1933: 1.538	1950: 3.274
1934: 1.285	1951: 3.100
1935: 1.330	1952: 4.396
1936: 1.429	1953: 4.490
1937: 1.612	1954: 4.940
1938: 1.378	1955: 4.015
	1956: 4.636
	1957: 5.034
	1958: 5.227
	1959: 6.325

De druivenwijnproduktie van eigen bodem bedraagt ± een half miljoen liter per jaar. Uit bovenstaande cijfers blijkt dat de produktie van de hoeveelheid vruchtenwijn in de laatste jaren in vergelijking met de dertiger jaren ongeveer 4 × zo groot is geworden. Naar schatting bestaan de geproduceerde hoeveelheden voor 75 % tot 80 % uit appelwijn. De rest is bessenswijn. Hierbij dient te worden opgemerkt dat de appelwijn bijna niet als zodanig in de handel komt maar wordt verwerkt tot vruchtenwijn en vermouthe van vruchtenwijn.

Om na te gaan welke hoeveelheden fruit de vruchtenwijnindustrie verbruikt, zullen de jaren 1958 en 1959 nader worden beschouwd, alleen betrekking hebbende op de produktie van appelwijn.

	1958	1959
Totale vruchtenwijnproduktie . . . . .	5.227.400 liter	6.325.047 liter
80% hiervan is appelwijn . . . . .	4.181.920 „	5.060.038 „
50% <sup>1)</sup> appelsap hiervoor gebruikt . . . . .	2.090.960 „	2.530.019 „
Hoeveelheid appels hiervoor nodig bij een persrendement van 80% <sup>1)</sup> . . . . .	2.613.700 kg	3.162.524 kg

<sup>1)</sup> Alhoewel appelwijn slechts bereid hoeft te zijn met 30 vol. % appelsap, gebruikt men in doorsnede meestal meer. Het gebruik van 50 % appelsap is geen uitzondering. Met pakpersen verkrijgt men in vele gevallen een persrendement van omstreeks 80 % d.w.z. 100 kg appels geven 80 liter sap.

Wordt de produktiestatistiek (43) beschouwd betreffende de industriële verwerking van verse appels naar de aard der verwerking, dan geeft deze de cijfers die in nevenstaande tabel zijn opgenomen.

Uit dit overzicht blijkt dat de helft en meer van de totale hoeveelheid verwerkte appels wordt gefabriceerd tot appelmoes. Het aandeel van de verwerkte appels bereid tot vruchtenwijn bedroeg in 1958 en 1959 resp. 4,7 % en 6,4 %.

	1958	1959
	× 1.000 kg	
Totale hoeveelheid verwerkt . . . . .	55.575 (bijna 21% van de totale aanvoer)	49.229 (13% van de totale aanvoer; voorlopig)
Hiervan verwerkt tot:		
Appelmoes . . . . .	25.338	31.091
Vruchtesap (inclusief de hoeveelheden verwerkt tot limonades en andere dranken) . . . . .	10.407	5.204
Appelstroop . . . . .	6.111	2.806
Bijna geheel „sliced apples” . . . . .	5.435	5.362
Vruchtepulp (incl. de hoeveelheden doorverwerkt tot jam en andere eindproducten) . . . . .	4.651	1.423
Appelwijn (zoals werd berekend) . . . . .	2.614	3.163
Gedroogde vruchten . . . . .	482	160
Ingevroren vruchten . . . . .	110	19
Vruchten op sap, water en siroop . . . . .	424	—
Rechtstreeks jam . . . . .	3	1

### 3. SOORTEN VRUCHTENWIJNEN

Uit de definitie van vruchtenwijn volgt dat er evenveel soorten „vruchten” wijnen gefabriceerd kunnen worden als er vruchten zijn, met uitzondering dan van druiven, waarvan wijn gemaakt kan worden. Andere plantesappen zoals b.v. ahorn- en berkesap kan men eveneens verwerken tot „wijn”. Tenslotte is het mogelijk allerlei vloeistoffen aan een alcoholische gisting te onderwerpen. De rabarber- en honingwijn, die Professor Sprenger indertijd wist te maken, waren kwaliteitsproducten. Bij verdere verwerking leende de rabarberwijn zich uitstekend tot het bereiden van een vermouthe. Ook versnijdingen met appelwijn gaven zeer acceptabele „wijnen”. Er is een tijd geweest dat de vruchtenwijnfabrikant toestemming kon verkrijgen voor de verwerking van rabarber tot „wijn”. Opgemerkt zij nog dat voor de bij de wijnbereiding toegepaste alcoholische gisting de aanwezigheid van suiker en gist noodzakelijk is. Daarnaast moeten de juiste en voldoende voedingsstoffen voor de gist voorhanden zijn om de gisting goed te laten verlopen.

Reeds eerder werd erop gewezen dat de vruchtenwijnproductie in Nederland voor 75% tot 80% uit appelwijn bestaat.

In 1932 schreef Professor Sprenger o.a. (47): „De bereiding van appels en peren tot wijn vindt in ons land nog niet plaats. Wel wordt hier en daar wat fruitwijn gemaakt, doch dit gebeurt dan meestal om het verkregen product te verwerken tot allerlei dranken, die onder fantasienamen in den handel worden gebracht. In elk geval kunnen wij zeggen, dat het Hollandsch publiek nog geen zuiveren onversneden fruitwijn drinkt. Dit is voor een deel hieraan toe te schrijven, dat deze dranken niet of weinig worden aangeboden, maar voor een ander deel aan het feit, dat de Hollanders de wijnen uit appels en peren niet smakelijk vinden of althans meenen, dat deze wijnsoorten niet smakelijk zijn. Wij zijn ervan verzekerd, dat als het publiek van het tegendeel overtuigd en de navraag daardoor groot was, de producten ook zouden worden gemaakt. Wil men de productie dus bevorderen, dan moet men het publiek van de waarde der



wijnen overtuigen. Gemakkelijk is dit niet, want men kan alleen hiertoe geraken als men de dranken laat proeven en hoe kan dit, als ze er niet zijn. Elke poging tot het maken van wijn moet daarom worden aangemoedigd,...". Uit deze regels blijkt het optimisme en idealisme van Professor Sprenger, want ook vandaag drinkt het Nederlandse publiek praktisch geen onversneden appel- of perenwijn, voor zoverre deze laatste tenminste verkrijgbaar is. Ook de fantasienamen zijn gebleven, naast natuurlijk de verplichte aanduiding dat het een bepaalde vruchtenwijn betreft.

De appelwijn dient in hoofdzaak als grondwijn en maakt dikwijls het hoofdbestanddeel uit van diverse soorten vruchtenwijnen. Van belang is het hierbij dat deze grondwijn een zo neutraal mogelijk karakter heeft opdat de typische appelsmaak niet gaat overheersen, iets dat het Nederlandse publiek niet waardeert. Men bereikt dit over het algemeen door de appelwijn niet te vroeg na het beëindigen van de gisting verder te verwerken. Ook de geoorloofde toevoeging van suiker en water helpen mede de appelsmaak te doen verminderen. De keuze van apperassen met weinig aroma is eveneens van belang. Echter is het zowel in verband met een vlotte vergisting van het appelsap als met de „body” van de appelwijn aan te bevelen het sap gedurende de gisting en de daarna gevormde wijn niet te sterk te verdunnen met water en/of suiker. De meeste vruchtenwijnfabrikanten hebben in hun appelwijn dan ook 50% sap of meer verwerkt. Appelsap is nl. een vrij „mager” sap en vergist soms moeilijk. Dit laatste is dikwijls door het toepassen van speciale behandelingen te voorkomen. Hierop wordt bij het onderwerp vergisting teruggekomen.

Het is jammer dat het publiek geen zuivere appelwijn drinkt omdat, zoals in het verleden op het Instituut is gebleken, uitstekende produkten kunnen worden verkregen.

De verwerking van peren tot wijn vindt weinig plaats. De vergisting van peresap geeft meestal weinig moeilijkheden mits men het in doorsnee lage zuurgehalte verhoogt. Dit geschiedt dikwijls door het toevoegen van een kleine hoeveelheid melkzuur. Is het zuurgehalte te laag dan worden de wijnen door microbiële werking tamelijk snel „melkzuurstekig”, waarbij ze een onaangename smaak krijgen.

Ook perenwijnen vindt men niet in de handel. Indertijd gaven deze wijnen bereid van Herfstpeer van Geulle, Zwijndrechtse Wijnpeer en Beurré Alexandre Lucas zeer gewaardeerde produkten.

Naast de appelwijn is de bessenwijn van veel betekenis voor Nederland. Van de bessen is de witte bes en ook de kruisbes van weinig belang. De rode bes, de zwarte bes en de framboos hebben ongeveer een gelijk aandeel bij de bereiding van bessenwijnen. In oudere publikaties leest men (5): „De aalbessenwijn is de parel van alle bessenwijnen. Wanneer hij goed bereid is, is hij even goed als de beste Fransche roode wijn, welks kleur hij ook heeft. Daarbij bezit hij een voortreffelijk bouquet en aroma en is van onberispelijke zuiverheid, zodat hij zeer geschikt is voor zieken en herstellenden en nooit hoofdpijnen veroorzaakt. Geen wonder dus, dat de bereiding van dezen edelen drank in de laatste jaren enorm is toegenomen”. Het produkt waarover het hier gaat is vermoedelijk zwarte bessenwijn.

Professor Sprenger schrijft in zijn brochure over aalbessenwijn (48) in verband met het optreden van hoofdpijn het volgende: „Zwarte bessenwijnen, die tot volle rijpheid zijn gekomen, hebben niet de nadeelige gevolgen, die men in den vorm van hoofdpijn kan ondervinden, als jonge onrijpe wijnen. Dit hangt evenwel toch nog van de bereiding af.

In de jonge wijnen zijn echter gewoonlijk allerlei door de gist gevormde bouquetstoffen, gemakkelijk vluchtige verbindingen van onbekende samenstelling aanwezig, die verschillende personen moeilijk kunnen verdragen en hun ook tegenstaan. Deze stoffen verdwijnen naderhand, hetgeen den wijn ten goede komt”.

Het sap van de bovengenoemde bessen vergist over het algemeen zeer gemakkelijk, zonder verdere moeilijkheden. Bij kruisbessen moet men oppassen voor melkzuursteek en „muis”, een ziekte welke later wordt besproken. Door velen wordt de kruisbessenwijn wel tot de beste gerekend, daar de smaak zeer fijn kan zijn (48). Ook witte bessenwijn kan een uitstekende vruchtenwijn zijn, evenals zwarte bessen- en frambozenwijn. Beide laatste lenen zich zeer goed, door hun hoog gehalte aan smaak- en aromastoffen, voor het bereiden van likeurwijnen, d.w.z. vruchtenwijnen met een hoog alcohol- en suikergehalte. Wijn van alleen rode bessen geeft meestal een onvoldoende karakteristiek produkt, zodat hij dikwijls versneden wordt met bijv. zwarte bessenwijn of frambozenwijn.

Van betrekkelijk weinig belang voor de vruchtenwijnindustrie zijn de wijnen bereid van aardbei, kers, braam, pruim en bosbes.

De aardbei kan een uitstekende likeurwijn opleveren, is echter moeilijk te verwerken. Hij geeft vrij spoedig melkzuursteek en zelfs bij een matige toediening van kaliumpyrosulfiet aan gistende aardbeisappen (ter onderdrukking van de ontwikkeling van melkzuurbacteriën) ontstaat een buitengewoon sterke zwavelwaterstofsmaak (48).



AFB. 2. *Etiket Cranberry-wijn.*

Deze gaat niet meer weg of gaat over in een smaak, die aan rubber doet denken, waardoor de aardbeiwijn minder genietbaar wordt. De kleur lijdt onder het zwavelig-zuur dat zich uit het kaliumpyrosulfiet ontwikkelt. Enkele jaren geleden werd op het I.B.V.T. een uitstekende aardbeienlikeurwijn verkregen van het ras Sengana. Een enkele fabrikant maakt een kleine hoeveelheid aardbeiwijn om te versnijden met andere vruchtenwijnen.

Een enkele keer treft men kersenwijnen aan. Kersesap vergist gemakkelijk en geeft weinig moeilijkheden. Alleen indien het zuurgehalte laag is moet men bij de bereiding weer de uiterste zorg in acht nemen. Ten behoeve van het aroma is het gewenst bij het vergistingsproces een klein percentage gebroken pitten te gebruiken (48). Men krijgt daardoor een veel aromatischer en krachtiger wijn dan zonder pitten. Uit verschillende rassen zijn goede wijnen te bereiden, maar vooral zij hier genoemd de Morel (= zure Morel). Herhaalde malen heeft deze kers op het Instituut bewezen een prachtige rode wijn te geven. Van Westerleese Kriek werd een portachtige vruchtenwijn verkregen.

Bosbessesap is moeilijk te vergisten, maar lukt deze vergisting dan krijgt men hieruit een zeer goede vruchtenwijn. Met de hoge gift van 70 gram  $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$  per hl verliep het vergistingsproces op het Instituut redelijk goed.

Een enkele fabrikant maakt iets bramenwijn om te versnijden met andere vruchtenwijnen. Bramenwijn heeft een tamelijk neutrale smaak en herinnert iets aan port.

Soms maakt men vruchtenwijn van pruimen hetgeen een redelijk produkt kan opleveren. Hij doet vaak ook iets portachtig aan. Moeilijkheden geeft deze wijn bij de klaring. Hij blijft zeer lang blind en is eigenlijk alleen met speciale klaringsmiddelen helder te krijgen.

Interessant is het te vermelden dat men in Nederland zelfs vruchtenwijn van Cranberries maakt (afb. 2). Door het hoge gehalte aan benzoëzuur (ruim 300 mg/kg) is het vrij moeilijk cranberries tot wijn te verwerken.

Ten aanzien van de kwaliteit van het te verwerken fruit is het niet nodig dat hiervoor de allerbeste vruchten worden genomen. Tweede en derde kwaliteit fruit en ook goede kwaliteit kroet kunnen uitstekende vruchtenwijnen leveren. Vanzelfsprekend moeten geen rotte vruchten worden gebruikt.

## II SAPWINNING

### I. WASSEN

Men hoort wel verkondigen dat bij de vruchtenwijnbereiding het fruit niet zo goed behoeft te worden gewassen als bij de sabbereiding (3). Gedurende de gisting zakt immers toch al het vuil. Men moet evenwel niet vergeten dat aanhangend vuil afwijkende smaken aan de wijnen kan geven. Ook worden door het wassen, eventuele restanten van ziektebestrijdingsmiddelen, op de buitenzijde van vruchten aanwezig, voor een groot deel verwijderd. Daar het te vergisten sap een zo laag mogelijk kiemgehalte moet hebben in verband met het verkrijgen van een zo zuiver mogelijke alcoholische gisting na het toevoegen van speciale gistcultures, is het van belang dat de vruchten worden gewassen. Ten behoeve van een bepaald onderzoek werden in 1954 op het I.B.V.T. wasproeven met aardbeien genomen. Het kiemgehalte van de aardbeien werd bepaald door uitzaaiingen op moutagarplaten die ter incubatie bij 25°C werden geplaatst. Uit het onderzoek van 9 partijen, bleek dat gemiddeld door het wassen van de aardbeien met gewoon leidingwater het kiemgehalte tot ongeveer de helft werd teruggebracht.

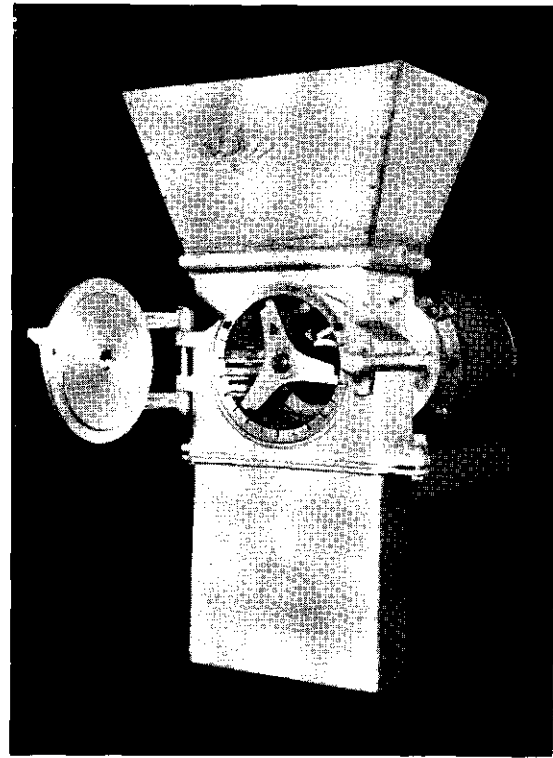
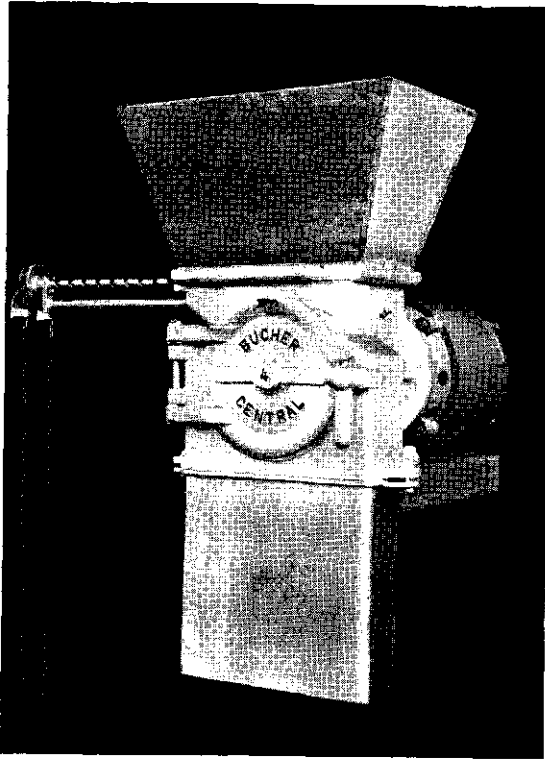
Bij onderzoekingen in Long Ashton (7) werden slechts azijnzuurbacteriën op die appels waargenomen welke van de boom werden geschud en daarbij met gras of grond in aanraking kwamen. De tot nu toe blijkbaar in Engeland gebruikelijke methode om appels, bestemd voor de wijnbereiding, van de boom te schudden, draagt er zodoende toe bij dat direct in het begin van de gisting reeds azijnzuurbacteriën in de appelwijn voorkomen. Men stelde verder vast dat de azijnzuurbacteriën niet alleen de alcoholische gisting konden overleven, maar zich ook gedurende het gistingsproces konden vermeerderen. In vergelijking met de gisten is hun aantal weliswaar gering, maar ze betekenen toch een gevaar voor de kwaliteit van de appelwijn, vooral in het latere stadium van de vruchtenwijnbereiding. Ter vermindering van dit gevaar wordt daarom geadviseerd de appels toch vooral grondig te wassen en het sap te zwavelen.

In het algemeen dus en indien dit tenminste mogelijk is, moeten de vruchten voor het malen of kneuzen worden gewassen. Met appels en peren kan dit gemakkelijk, waarbij men rekening moet houden met het feit dat appels in water drijven en peren hierin zinken. Bessen laten zich over het algemeen niet zo grondig wassen als appels en peren en dit dient daarom voorzichtig te geschieden. Frambozen kunnen meestal helemaal niet worden gewassen daar ze tijdens het transport naar de fabriek dikwijls reeds behoorlijk zijn beschadigd.

Als waswater kan goed drinkwater worden gebruikt. Het water moet in elk geval vrij zijn van schadelijke microorganismen. Soms wordt het drinkwater gechloreerd. Als waswater mag het niet meer dan 1 mg vrij chloor per liter bevatten (8). Ook water met een hoog ijzergehalte kan niet worden gebruikt daar dit later bij de wijn troebelingen kan veroorzaken.

### 2. MALEN

In de meeste gevallen is het noodzakelijk de vruchten voor het persen te malen of te kneuzen. Voor frambozen en zachte aardbeien bijvoorbeeld is dit niet nodig. Aan de



*Foto-archief Bucher-Guyer, Niederweningen | Zürich, Zwitserland*

molen gesloten

AFB. 3. Raspmolen.

molen geopend

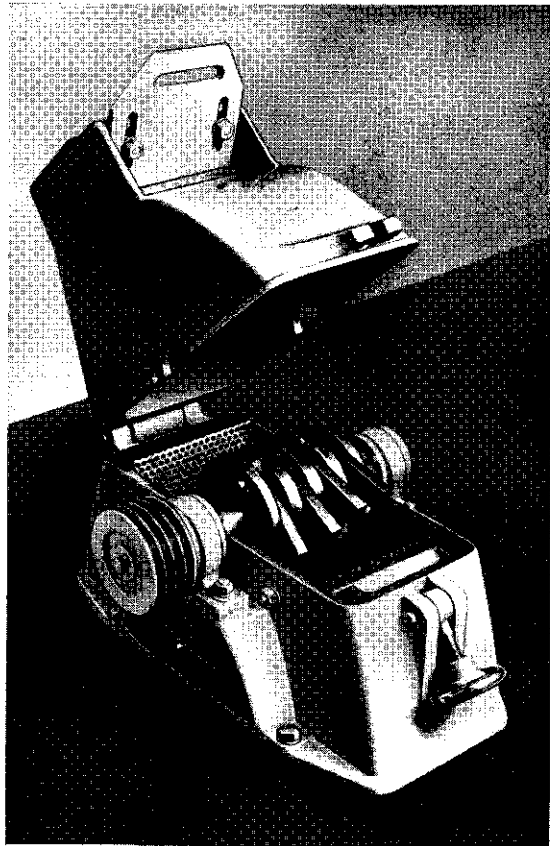
ene kant moet het malen zo fijn mogelijk geschieden om daarbij zoveel mogelijk vruchtweefsel te ontsluiten, maar aan de andere kant moet ook weer niet te fijn gemalen worden daar dan het persen niet goed verloopt. Er loopt dan teveel vaste substantie door de persdoeken. Ook moet de verkregen vruchtepulp een regelmatige structuur hebben. Grotere stukjes appel in de pulp bijv., worden zelfs met de beste persen niet voldoende van het sap bevrijd.

Het type molen dat het meest wordt gebruikt is de welbekende raspmolen (afb. 3a en 3b). Het fijnmaken van de vruchten geschiedt door een tweevoudig systeem. Nadat het fruit door een transportworm in het eigenlijke maalhuis is gekomen, wordt in eerste instantie grof gemalen door een ronddraaiende propeller. Tegelijkertijd echter worden de grove delen verder gemalen doordat getande messen zijn aangebracht. Zoals ons herhaaldelijk is gebleken is het met deze molen ook mogelijk zacht fruit zoals bessen en kersen op de juiste manier te malen door het weglaten van de messen. Deze zijn namelijk uitneembaar. Een nadeel van deze molen is dat hij bijv. bij te rijpe appels of appels die uit de bewaarruimte komen en reeds een enigszins gladde structuur hebben, te fijn maalt (9).

In Amerika maakt men veelvuldig gebruik van hamermolens (9). Ook in Europa is de

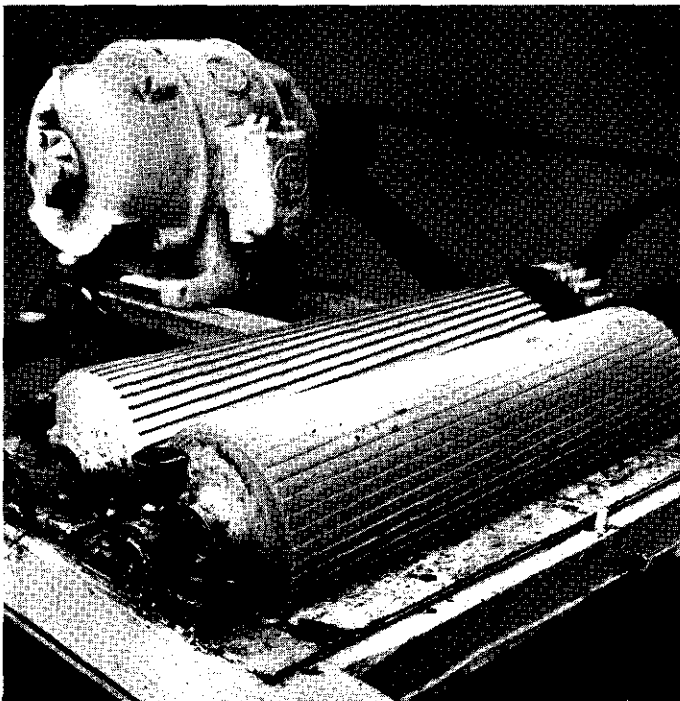
laatste jaren een speciaal type hamermolen voor de vruchtenverwerking op de markt gekomen (afb. 4). Doordat zeven met verschillende grootte van openingen gebruikt kunnen worden, kan men de graad van fijnheid van de pulp regelen. De molen is ongevoelig voor vreemde bestanddelen die toevallig nog tussen het fruit aanwezig mochten zijn, zoals stukjes steen, hout, ijzer e.d.

Soms worden walsmolens gebruikt, bijv. bij druiven. Nadat de druivenkorrels van de stelen zijn verwijderd door een ontsteelmachine worden ze door twee, van enkele diepe glooiende insnijdingen voorziene walsen, die als een tandwiel in elkaar grijpen, geleid. Het zijn de zg. profielwalsmolens die geleverd kunnen worden met 4, 6 of 8 vleugels (50). Bij deze molens worden de vruchten dus eigenlijk meer opengescheurd en zachtjes gekneusd. Bij malen van de druiven zou de pulp te dun worden en minder geschikt zijn om te persen. Over het algemeen is het wel noodzakelijk de druiven te ontstelen. Hierdoor wordt voorkomen dat plantesappen uit de stelen in het sap geraken. Deze geven nl. aan de wijn een ongewenste smaak doordat ze veel looistof bevatten en ook een kruidachtige smaak hebben. Wel is het zo dat met toenemende rijpheid het verhouten van de steel toeneemt en daardoor de nadelige invloed op de smaak van het te bereiden produkt afneemt, zodat ook het voordeel van het ontstelen minder



AFB. 4. Omniplex hamermolen.

Foto-archief Alpine, Augsburg, Duitsland



AFB. 5.  
*Walsmolen met schief  
geribbeld oppervlak.*  
Bak om te vullen is ver-  
wijderd.

*Toestemming N.V. Handelsmaat-  
schappij voorh. J. A. van Olfen,  
Haitten*

wordt (50). Met uitzondering dan van druiven, is het niet noodzakelijk vruchten als aalbessen en kersen te ontstelen. Ook het ontpitten van vruchten als kersen en pruimen is niet nodig. De enkele pitten die bij het persen breken zijn niet nadelig voor de te bereiden vruchtenwijn. Zoals we reeds eerder gezien hebben wordt met opzet bij de vergisting van kersesap wel een kleine hoeveelheid gebroken pitten gebruikt. De kersenwijn kan daardoor een beter aroma verkrijgen.

Ook worden voor het kneuzen walsmolens gebruikt met minder diepe insnijdingen, waarbij de twee walsen een recht of schief-geribbeld oppervlak hebben (afb. 5). Behalve druiven kan ook ander zacht fruit als bessen hiermede worden gekneusd. De steeltjes van de bessen worden hierbij minder beschadigd dan bij de raspmlen, zodat minder gevaar bestaat voor afwijkende smaken door plantesap uit de stelen.

### 3. PULPGISTING

Vóór het uitpersen van de vruchtepulp ondergaat deze bij sommige vruchten nog een voorbehandeling, de zg. pulpgisting. Deze gisting heeft tot doel een ontsluiting van de cellen, vooral ten aanzien van aanwezige kleurstoffen en/of een afbraak van pectine-stoffen, zodat de pulp beter persbaar wordt.

Bij de pectine-afbraak zijn in hoofdzaak twee enzymgroepen noodzakelijk nl.:

a. *Pectasen*. De pectase splitst de methylesters van de pectineketen, verzeept dus de

veresterde groepen. Een volledige verzeping geeft polygalacturonzuur. Alle  $\text{COOCH}_3$ -groepen worden dan omgezet in  $\text{COOH}$ -groepen onder vorming van methylalcohol.

*b. Pectinasen.* Deze bewerkstelligen de eigenlijke ketenafbraak.

Vruchtesap heeft van nature meestal een zg. „zelfklaring”, doordat pectasen aanwezig zijn welke in de meeste soorten vruchten worden gevonden. In verschillende appelrassen bijv. komt deze groep van enzymen in verschillende hoeveelheden voor. Het sterkst zijn de pectasen in de tomaat vertegenwoordigd. Niettegenstaande de optimale activiteit van de pectasen bij een hogere pH ligt dan die van vruchtesappen, kunnen ze toch dikwijls nog aanzienlijke activiteiten gaan ontplooiën. Pollard en Kieser (41) vonden in appelwijn geen pectine meer. In de onderzochte appelrassen Yarrington Mill en Stoke Red konden geen pectinasen worden aangetoond. Over het algemeen heeft men in appels nooit pectinasen kunnen vinden. Wel werden ze gevonden indien de appels waren bedorven. Met zekerheid werden pectinasen alleen aangetoond in tomaten, peren en avocado's. Bij de gisting van appelwijn had dus wel pectineafbraak plaats gehad en dit werd veroorzaakt door het samenspel van de pectinase uit de gist + de pectase uit de appel. De gist-pectinase brak daarbij de partiëel gedemethyleerde pectine af indien de pectase uit de appel aanwezig was. Wordt dit enzym bijv. door verhitting van het appelsap buiten werking gesteld dan vond geen afbraak plaats door de gist-pectinase. Om de ontsluiting van het sap en de weefsels zekerder te doen verlopen wordt in verband hiermede soms behalve gistcultuur ook een pectine-afbrekend enzympreparaat toegevoegd. Door de alcohol die bij de gisting wordt gevormd worden de plantencellen gedood, zodat ze de inhoudstoffen loslaten. Evenals bij de sabbereiding zou het ook mogelijk zijn door verhitting van de pulp de cellen te doden, waarbij dus ook de kleurstoffen vrij komen. Wel moet worden opgemerkt dat hierdoor aanwezige microorganismen die voor een eventuele zuurafbraak soms nodig zijn eveneens worden gedood en misschien noodzakelijke enzymen buiten werking worden gesteld.

Van veel belang is het dat bij de pulpgisting de koek die bovenop het gistende sap komt te drijven wordt ondergehouden en zo nu en dan eens stuk wordt gemaakt. Aanwezige vaste vruchtendelen drijven naar boven doordat zich hierop koolzuurbellen afzetten. De koek moet onder worden gehouden om twee redenen. In de eerste plaats is de ontwikkeling van ongewenste microorganismen als azijnzuurbacteriën niet onmogelijk. In de tweede plaats worden de stoffen bij onderdompeling in de gistende vloeistof beter geëxtraheerd. Daarvoor is ook het zo nu en dan stuk maken van de koek gewenst evenals het ompompen van de gistende vloeistof door de koek heen.

In Nederland past men veelal een open pulpgisting toe waarbij de pulp in open vaten of tanks gist terwijl de pulpkoek wordt ondergehouden door bijv. verzwaarde houten horren en zo nu en dan eens wordt gebroken om de extractie te bevorderen.

In andere landen past men wel gesloten pulpgisting toe in bijv. tanks (50). Hierbij werkt men al of niet onder druk. Het principe bij dit type pulpgisting is, dat men gebruik maakt van het gistingsskoolzuur, soms aangevuld met koolzuurgas uit een drukcilinder, om de pulpkoek onder de vloeistof te houden, terwijl het koolzuur ook dient om de koek te breken. Een goede uitloging wordt op deze wijze verkregen. Er zijn systemen die geheel automatisch werken.



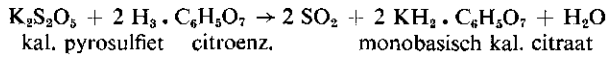


AFB. 6. Stalen drukcilinder met  $SO_2$ , met doseerapparaat.

*Toestemming N.V. Handelmaatschappij voorh. J. A. van Olfen, Hatten*

Behalve gistcultuur en soms een pectine-afbrekend enzympreparaat voegt men ook altijd een kleine hoeveelheid zwaveligzuur aan de pulpmassa toe. Het heeft tot doel de ontwikkeling van ongewenste microorganismen als melkzuur- en azijnzuurbacteriën enigszins tegen te gaan, de oxydaties van chemische en biochemische aard in het sap af te remmen en het milieu wat meer anaëroob te maken door het „wegvangen” van zuurstof. De hoeveelheid bedraagt in doorsnede 5 g  $SO_2$  per hl. Deze is afhankelijk van de kwaliteit van het te verwerken fruit, van de temperatuur en van de tijdsduur waarbij de pulpginging plaats heeft. Dit zwavelen kan op verschillende manieren geschieden (52):

a. Met kaliumpyrosulfiet, ook wel genoemd kaliummetabisulfiet. Deze verbinding komt als kristallen, poeder, tabletten van 10 g en als blokjes van 100 g in de handel. Theoretisch geeft deze stof 57%  $SO_2$ , maar praktisch gesproken moet men rekenen op 50%. Voegt men het pyrosulfiet toe aan vruchtesap of vruchtenwijn dan komt het  $SO_2$  vrij. Op de volgende wijze gebeurt dit bijv. in bessesap of bessenwijn, waarvan het zuur in hoofdzaak uit citroenzuur bestaat:



Kaliumpyrosulfiet moet in luchtdichte verpakkingen en droog worden bewaard daar het anders vrij spoedig het SO<sub>2</sub> vrij laat.

b. Met vloeibaar SO<sub>2</sub>. Dit wordt beschikbaar gesteld in stalen drukcilinders. Met doseerapparaten is de dosering zeer nauwkeurig te regelen (afb. 6).

c. Met SO<sub>2</sub> in waterige oplossing. Het SO<sub>2</sub> komt ook in de vorm van een 6%-ige waterige oplossing in de handel. De hoeveelheden water die daarbij in de pulp geraken zijn van geen betekenis. De oplossing houdt zich gedurende lange tijd goed indien de flessen geheel zijn gevuld en in het donker worden bewaard. In het licht en bij toetreding van lucht gaat het H<sub>2</sub>SO<sub>3</sub> (de vorm waarin het SO<sub>2</sub> gedeeltelijk in de oplossing aanwezig is) al spoedig over in het onwerkzame zwavelzuur.

De tijd dat men de pulp laat gisten varieert in het algemeen van 1 tot 3 à 4 dagen. Als bij de pulpgisting o.a. ook de extractie van kleurstoffen gewenst is, is het van belang de gisting niet te lang te doen plaatshebben. De kleurstoffen worden nl. vooral geadsorbeerd door de gist (50) zodat men dan een vermindering in kleurintensiteit krijgt. Ook wordt het sap van bijv. zwarte bessen en rode druiven bij langere pulpgisting zuurder en wranger door de aanwezige stoffen in de schillen en eventuele stelen.

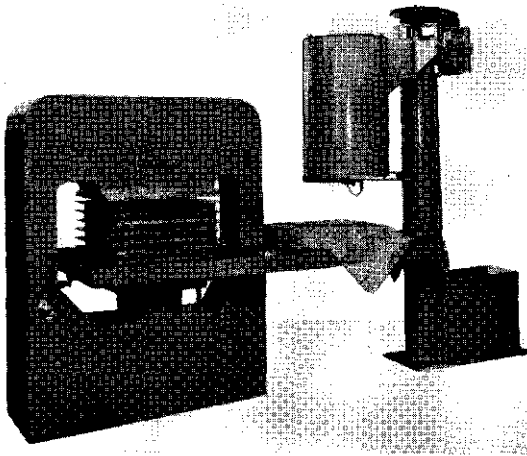
Bij de pulpgisting heeft een scheiding plaats tussen vloeistof en vaste fase van de pulp. Men maakt hiervan gebruik door reeds vruchtesap af te tappen gedurende de pulpgisting. De dikwijls vrij natte en slappe pulp van zacht fruit is door dit sapverlies wat steviger geworden en is gemakkelijker uit te persen. Het zou ook mogelijk zijn natte en slappe pulp uit te persen na toevoeging en vermenging met filteraids als infusoriënaarde (1 à 2%). Op het I.B.V.T. werd dit wel eens toegepast bij aardbeien en pruimen. De pruimen werden daarbij eerst 5 à 10 minuten gestoomd. Vervolgens werden ze tot pulp gekneusd en na afkoeling voorzien van een pectineafbrekend enzympreparaat. Ook had vanzelfsprekend een pulpgisting toegepast kunnen worden. Vervolgens werd de pulp van infusoriënaarde voorzien.

Bij het gebruik van filteraids houdt men na het persen een droge koek over die gemakkelijk uit de persdoeken is te verwijderen.

Nadat het fruit de in de voorgaande bladzijden besproken behandelingen heeft ondergaan wordt met het uitpersen begonnen.

#### 4. PERSEN

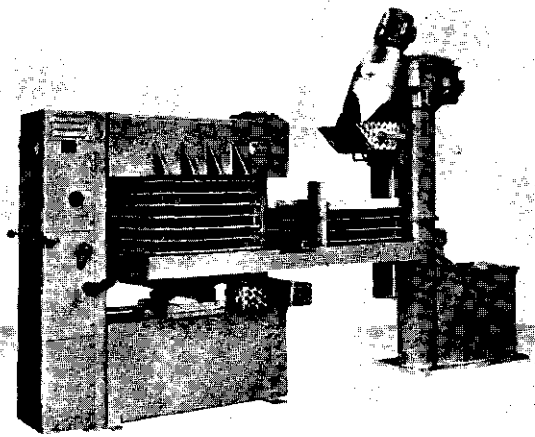
In Nederland geschiedt dit in hoofdzaak met hydraulische pakpersen (afb. 7, 8) die praktisch gesproken voor elke vruchtesoort geschikt zijn. Er zijn vele typen vruchtepersen (afb. 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15), die echter niet besproken zullen worden. Wel moet de algemene opmerking worden gemaakt, dat de meeste persen geen continue werkwijze veroorloven. Het persen is nog altijd het belangrijkste punt in het gehele arbeidsproces van vrucht-tot-wijn dat het minst continu verloopt. In verband hiermede zoekt men in vele landen nog steeds naar een goede oplossing van dit probleem. De algemene gedachtengang van de laatste jaren hierbij is wel dat men de pulp met



*Foto-archief Bucher-Guyer, Niederweningen/Zürich, Zwitserland*

AFB. 7a. *Moderne pakpers met korte slag.*

Te zien zijn o.a.: wasinrichting, cilinder waarin elevator, buitenzijde raspmlen, ontvanger voor de pulp met mechanische doseerinrichting, draairaam.



*Foto-archief Kleemann, Stuttgart-Obertürkheim, Duitsland*

AFB. 7b. *Moderne pakpers met korte slag.*

Zelfde type als afb. 7a.

behulp van een continue centrifuge vooreerst van het meeste sap bevrijdt. Men heeft dan in elk geval een continue sapstroom en kan de niet voldoende uitgecentrifugeerde massa verzamelen en deze op een gewone pers of bijv. met een schroefpers verder uitpersen. Ook het verwijderen van de vaste massa uit de centrifuge geschiedt dan in zekere mate continu zonder dat daarbij de sapstroom wordt onderbroken. De laatste jaren heeft het I.B.V.T. zich eveneens beziggehouden met de ontwikkeling van een continue vruchtepers (L. de Vos). Voorlopig kan hierover worden medegedeeld dat met het experimentele apparaat (afb. 16) zeer bevredigende resultaten werden verkregen en dat de constructie zover is ontwikkeld dat deze door een machinefabriek binnen niet al te lange tijd op praktische wijze kan worden uitgevoerd.

Over de hydraulische pakpersen behoeft weinig te worden gezegd, daar deze de vruchtenwijnfabrikant alom bekend zijn. Een enkel punt verdient nog een korte bespreking. T.a.v. de drukverhoudingen bij de hydraulische pakpersen bestaat dikwijls verschil van mening. Dit is begrijpelijk daar de enige afleesbare druk van de pers, de druk is die de manometer aangeeft. Deze druk zegt ons niets over de druk waarmede de pulp wordt uitgeperst, de druk dus waar het eigenlijk om gaat. Deze misverstanden worden mede veroorzaakt door de misleidende wijze waarop sommige brochures zijn samengesteld. Een pers met een totale drukkracht van 75.000 kg kan bijv. een even grote druk hebben waarmede het fruit wordt uitgeperst als een pers met een totale drukkracht van 150.000 kg. We onderscheiden hierbij de volgende begrippen (50):

a. De persdruk of de specifieke druk van de pers. Het is de druk in kg per cm<sup>2</sup> perskoekoppervlak (lattenrooster, persoppervlak, enz.). Deze druk bedraagt bij vele pak-

persen 12 tot 17 kg/cm<sup>2</sup>. Hij kan ook wel 25–30 kg/cm<sup>2</sup> bedragen. Het is dus de druk waarmee het fruit wordt uitgeperst.

*b.* De werkdruk. Het is de druk in kg/cm<sup>2</sup> die door de perspomp op het vlak van de perszuiger maximaal mag worden uitgeoefend. Hij wordt door de manometer op de pers aangegeven (rode streep!!).

*c.* De maximale drukkracht van de pers. Dit is de kracht waarmee de totale pulpoppervlakte wordt belast. Zoveel te groter het oppervlak van de perszuiger en de persdruk is, zoveel te groter de maximale drukkracht is. Hij is groot: werkdruk × oppervlakte van de perszuiger of persdruk × oppervlakte lattenrooster.

Daar de kracht op boven- en onderzijde van de perszuiger gelijk moet zijn volgens de hypothese van het beginsel van de gelijke actie en reactie en bij verwaarlozing van wrijvings- en andere geringe drukverliezen moet:

$$\text{Max. drukkracht} = P_p \times a = P_w \times b \text{ kg waarin:}$$

$P_p$  = persdruk in kg/cm<sup>2</sup>,

$a$  = oppervlakte lattenrooster in cm<sup>2</sup>,

$P_w$  = werkdruk in kg/cm<sup>2</sup> en

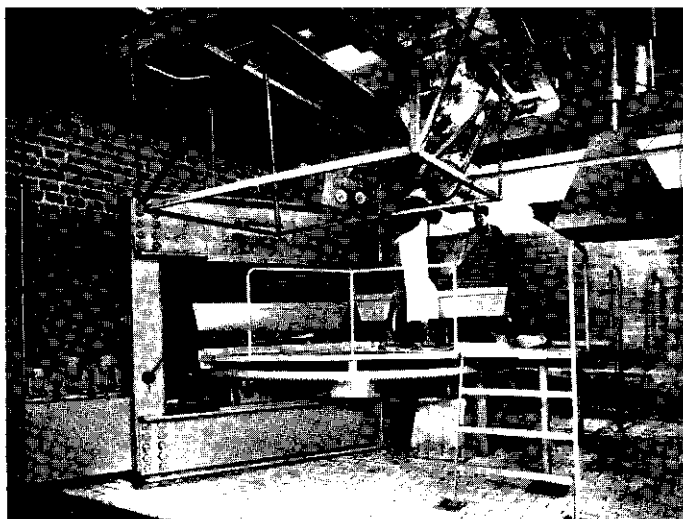
$b$  = oppervlakte vlak van de perszuiger in cm<sup>2</sup>.

In de praktijk hoort men dikwijls dat de werkdruk, die dus de manometer aangeeft, als maatstaf voor de prestatie van de pers wordt beschouwd. Men denkt dat een pers met een hoge werkdruk een pers is met een hoge prestatie, d.w.z. ook een grote druk heeft bij het uitpersen van de pulp. Dat dit niet het geval is blijkt uit de vorige beschouwingen. Een enkel voorbeeld zal dit nader illustreren:

	<i>a.</i> Hoge werkdruk	<i>b.</i> Lage werkdruk
Werkdruk van de perspomp in kg/cm <sup>2</sup> = atm. (af te lezen op de manometer) . . . . .	500 atm.	80 atm.
Maximale drukkracht (wordt meestal opgegeven) . . . . .	165.375 kg	96.000 kg
Oppervlakte lattenrooster . . . . .	105 × 105 = 11.025 cm <sup>2</sup>	80 × 80 = 6.400 cm <sup>2</sup>
Persdruk . . . . .	165.375:11.025 = 15 kg/cm <sup>2</sup>	96.000:6.400 = 15 kg/cm <sup>2</sup>
Oppervlakte drsn. perscilinder . . . . .	165.375:500 = 330,75 cm <sup>2</sup>	96.000:80 = 1200 cm <sup>2</sup>

Niettegenstaande de hoge werkdruk bij *a* is de persdruk helemaal niet groter dan de persdruk bij *b*. Het gaat hierbij alleen om de verhoudingen van de oppervlakte van de doorsnede van de perscilinder en die van de oppervlakte van het lattenrooster. Des te groter de doorsnede van de perscilinder is des te kleiner de werkdruk kan zijn, zoveel te groter het lattenrooster wordt, zoveel te groter moet de werkdruk zijn om de vereiste persdruk te kunnen handhaven.

De pakking welke door de pers moet worden uitgeperst bestaat in de regel uit afwisselende lagen houten lattenroosters en opgevouwen persdoeken met vrucht pulp. Men wisselt de houten horren beurtelings wel af met al of niet geperforeerde alumi-



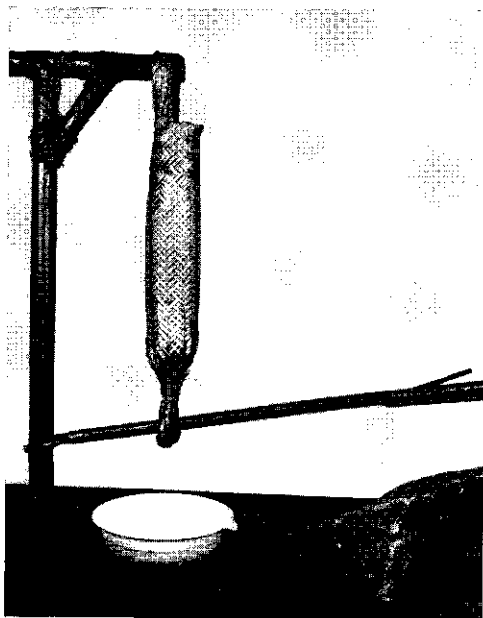
AFB. 8. Drie-delige pakpers.

Foto-archief Bucher-Guyer,  
Niederweningen/Zürich, Zwitserland

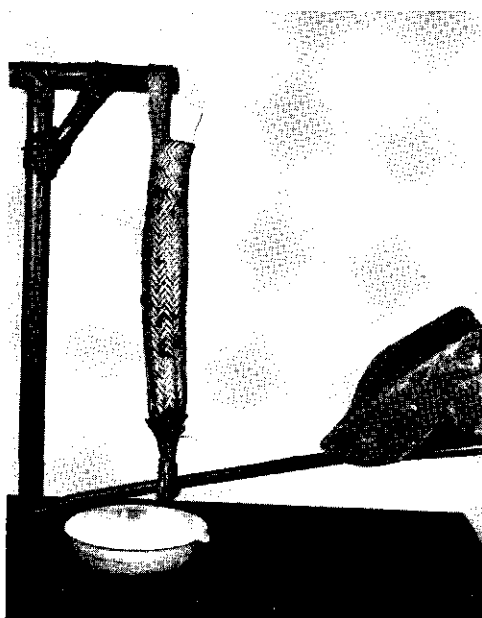
nium platen. Een nadeel is dat deze platen dikwijls gaan glijden zodat de opbouw van de pakking niet regelmatig is maar scheef komt te staan. Men gebruikt de aluminiumplaten omdat ze eenvoudiger zijn schoon te maken en misschien langer mee kunnen gaan. Een nadeel van deze platen is ook dat ze gemakkelijk vervormd worden. De belangstelling voor de platen is enigszins geluwd, vooral omdat er tegenwoordig zeer goede machines op de markt zijn die de lattenroosters machinaal kunnen schoonmaken (afb. 17).

De kunststoffen (11) hebben ook bij het uitpersen van vruchten hun intrede gedaan. De vroeger veel en misschien ook nu nog hier en daar gebruikte persdoeken van hennep zijn vervangen door doeken van synthetische filterweefsels. Ze zijn gemaakt van polyamidevezels en komen onder namen als Nylon-, Perlon- en Enkalondoeken in de handel. De eerste verspinbare polyamide (nylon) werd in Amerika vervaardigd door Du Pont de Nemours. Belangrijk voor alle weefsels zijn de treksterkte, de buigsterkte en de slijtweerstand. De perlon-vezel vertoont ondanks zijn grote treksterkte een grote rek, in tegenstelling tot andere vezeltypen. Grote treksterkte en grote rek betekent grote taaiheid en daaruit resulteert weer de grote buigsterkte. De vezels vertonen bovendien een grote slijtweerstand. De goede mechanische eigenschappen hebben de perlonweefsels algemene bekendheid gegeven en maken ze vooral voor technische doeleinden zeer belangrijk.

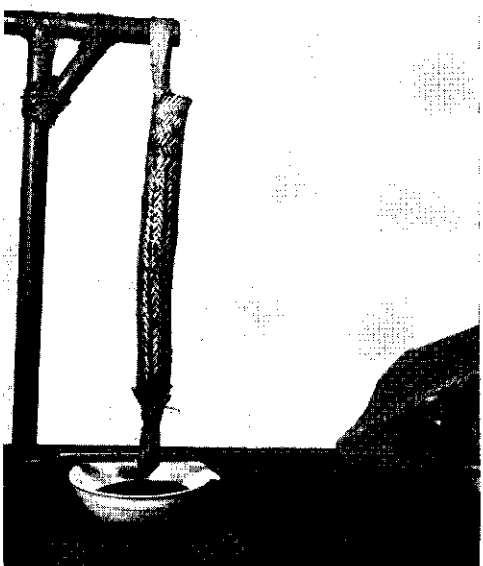
T.a.v. de chemische resistentie vertonen, in tegenstelling tot bijv. wol en natuurzijde, de polyamiden een grote resistentie ten opzichte van alkaliën, zoals soda, zeep en zelfs tegenover natronloog en kaliloog van hoge concentratie, ook bij hogere temperaturen. De bestandheid tegen minerale zuren is minder goed. De weefsels zijn weliswaar ongevoelig voor lage concentraties van minerale zuren bij kamertemperatuur, maar bij hogere temperaturen verminderen de sterkte-eigenschappen langzamerhand. Het blijkt bijv. gebruikelijk te zijn om de intensieve kleurstoffen van zwarte bes door middel van verdund zoutzuur of chloor uit de persdoeken te verwijderen. De



a



b



c

AFB. 9. *Primitieve vruchtapers van gevlochten plantaardig materiaal. Werd en wordt nog gebruikt door Zuid-Amerikaanse Indianenstammen. Verkleind model van de heer L. de Vos, Wageningen.*

*Stand a:* Korfje met vruchten gevuld.

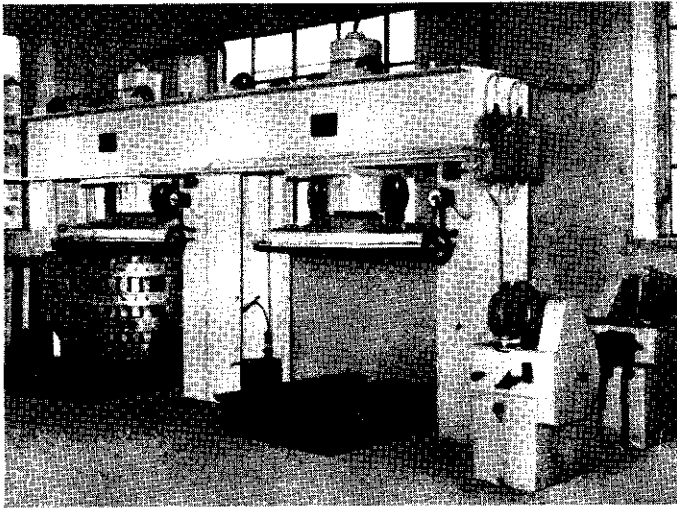
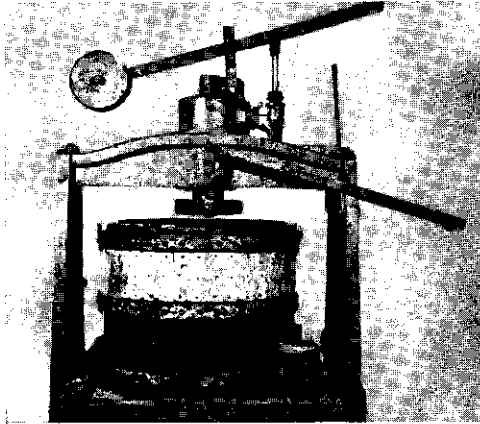
*Stand b:* Door druk uit te oefenen op de hefboom wordt het korfje langer en krijgt het een kleinere doorsnede zodat het fruit wordt uitgeperst. Het sap begint uit de pers te lopen. Het een en ander is mogelijk door het speciale zig-zag vlechtwerk.

*Stand c:* Eindstand van de pers.

AFB. 11. *Kleine korpers*. Handbediening. Hiermede werd in de dertiger jaren op het I.B.V.T. gewerkt.

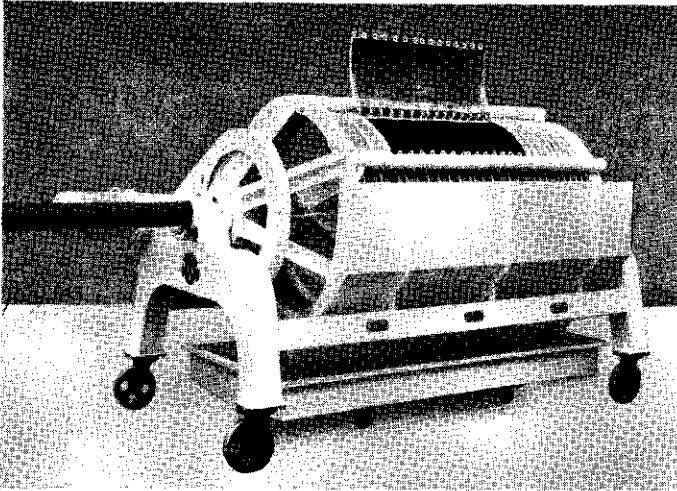
AFB. 10. *Oude korpers*. Handbediening.

*Toestemming N.V. Handelmaatsch. voorh. J. A. van Olfen, Hatten*



AFB. 12. *Twee-delige bovendruk korpers*.

*Foto-archief Usine de Wecker, Wecker, Lux.*



AFB. 13. Horizontale vruchteters.

Foto-archief Josef Willmes, Bensheim, Duitland

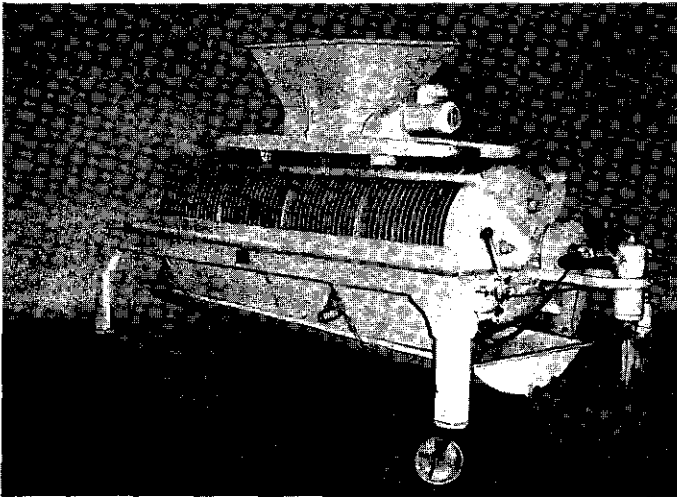
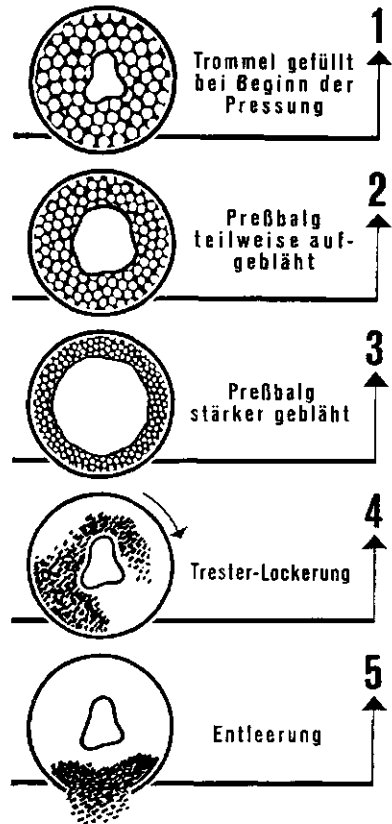
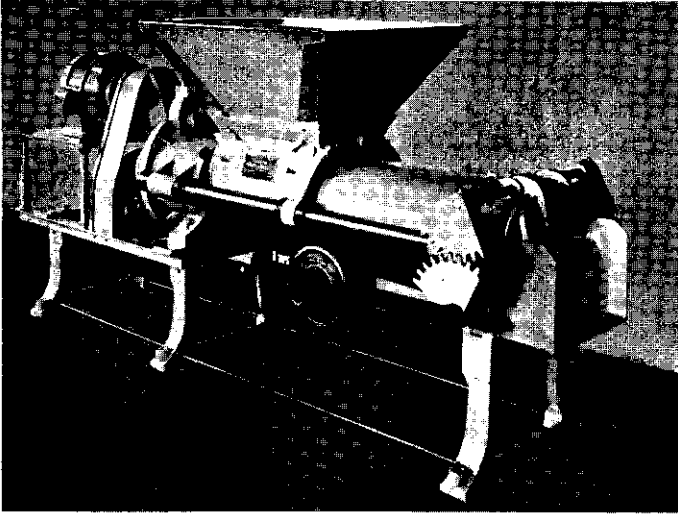


Foto-archief Josef Willmes, Bensheim, Duitland

AFB. 14. Pneumatische vruchteters.





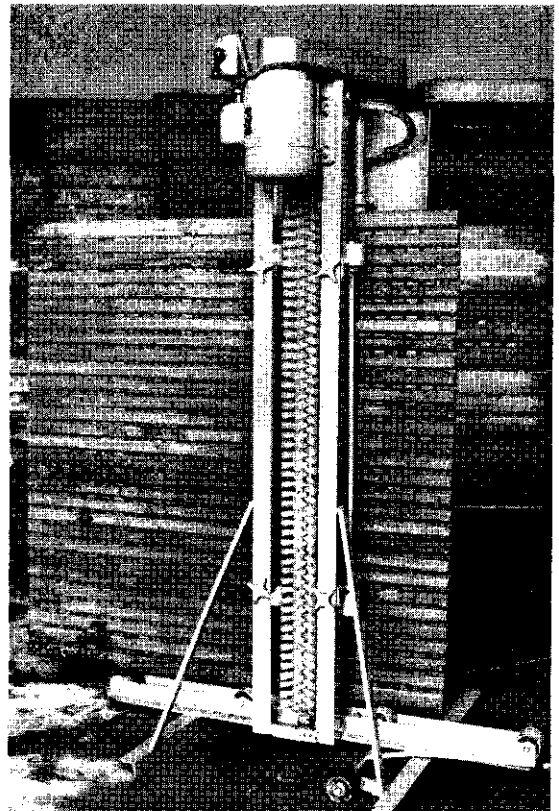


AFB. 15. *Continue vruchtepers.*

*Foto-archief Usine de Wecker, Wecker, Luxemburg*



AFB. 16. *Experimentele continue vruchtepers I.B.V.T.. Detailopname.*



AFB. 17. *Borstelmachine voor het schoonmaken van het lattenrooster van een pakpers.*

*Toestemming Fruitverwerking „Geld”. Breda-Loosdrecht*

fabrikanten van nylondoeken adviseren een dergelijke behandeling niet toe te passen. Worden ondanks deze waarschuwing toch minerale zuren gebruikt dan verdient het steeds aanbeveling de nog in de doeken aanwezige resten na het wassen met water te neutraliseren. Men doet dit door afspoelen met een verdunde oplossing van natriumacetaat, bicarbonaat of soda. Perlon, nylon enz. hebben de eigenschap de minerale zuren te binden, die dan vooral bij aanwezigheid van luchtzuurstof de weefsels spoedig beschadigen.

Over het algemeen kan gezegd worden, dat de polyamiden bestand zijn tegen alle organische zuren, uitgezonderd mierzuur en carbolzuur.

Bij katoenen of hennep doeken moet men vaak, uit vrees voor vervormingen van de persdoeken – waardoor teveel vaste deeltjes door de mazen geperst worden – met lage druk werken, om te voorkomen, dat het uitgeperste sap te sterk verontreinigd wordt. Door de grotere sterkte van de polyamide doeken kan men de persdruk hoger nemen en daardoor sneller werken. Alleen in de eerste paar minuten moet voorzichtig worden geperst en daarna kan men de druk opvoeren. Deformatie van de mazen treedt bij perlondoeken niet in zulk een mate op als bij katoenen en hennep doeken. Er mag verder ook worden aangenomen dat de polyamidedoeken de tot nu toe gebruikte dure filterplaten zullen gaan vervangen, daar deze gewassen en gereinigd kunnen worden.

Een bezwaar van Perlondoecken is dat het doek op de duur wat hard wordt. Door flink wassen in een verdunde soda-oplossing kan dit echter worden verholpen. Verder mogen de doeken niet in de zon worden gedroogd. Ze zijn nl. gevoelig voor ultraviolette stralen. De doeken moeten op een koele plaats en vanzelfsprekend schoon worden opgeborgen. Dus niet op een plaats waar in de buurt gestookt wordt daar de doeken dan schadelijk scherp uitdrogen.

Verder zijn tegenwoordig ook lattenroosters verkrijgbaar welke geheel uit kunststof zijn samengesteld.

T.a.v. de sapwinning zij nog vermeld dat met de pakpersen voor de meeste vruchten een saprendement kan worden verkregen van rond 80%, d.w.z. 100 kg fruit geeft 80 liter sap. Bijv. bij appels is dit 77–78%, soms 80%; bij druiven met voorgisting 80–85%; bij frambozen 82, 83, 84% met voorgisting; voorgegiste rode bessen 80%; zwarte bessen met voorgisting en een pectine-afbrekend enzympreparaat 78%; bij bramen haalt men gemakkelijk 80%.

### III DE GISTING

Er volgen nu enige onderwerpen welke van belang zijn bij het vergistingsproces van het vruchtesap. In hoofdzaak zijn die onderwerpen gekozen die vermoedelijk de vakman op het gebied van vruchtenwijn zullen interesseren en die rechtstreeks of zijdelings in verband staan met de gegeven antwoorden op aan het I.B.V.T. gestelde vragen. Het is waarschijnlijk overbodig te vermelden dat bij de wijnbereiding het suikerhoudende vruchtesap met behulp van gisten wordt vergist tot vruchtenwijn.

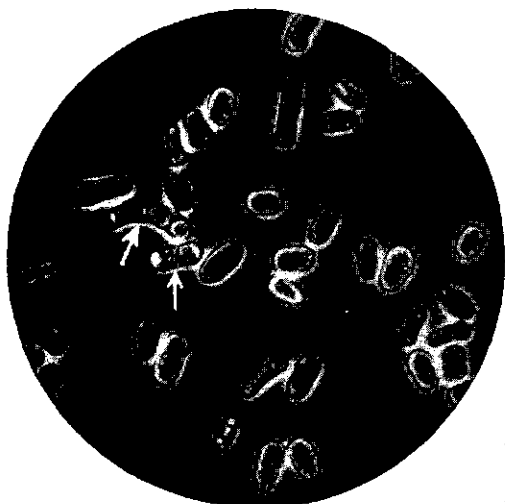
#### 1. DE SYSTEMATISCHE PLAATS VAN DE GISTEN IN HET PLANTENRIJK

Het Plantenrijk wordt verdeeld in 5 afdelingen (40) nl.: de Schizophyten, de Thallophyten, de Mossen, de Varens en de Zaadplanten.

De meest primitieve organismen zijn de Schizophyten of Spleijtplanten, die o.a. gekenmerkt zijn doordat ze geen echte celkernen bezitten. Tot de Schizophyten behoren de Bacteriën of Spleijzwammen en de Blauwgroene Algen of Spleijalgen. De zeer kleine ziekteverwekkende Viren en de bacteriënoplossende Bacteriophagen worden buiten beschouwing gelaten. Ze worden opgevat als sterk gereduceerde organismen.

Tot de Thallophyten worden de overige Algen, de Schimmels en de Korstmossen gerekend. Ze behoren allen tot de lagere planten. Van de Algen zijn de Kiezelalgen of Diatomeeën bij de wijnbereiding van belang daar de skeletten van deze planten de bekende infusoriën- of diatomeeën-aarde („Kieselgur”) leveren welke bij de filtratie wordt gebruikt.

De Schimmels of Fungi worden onderverdeeld in de Lagere en Hogere Zwammen. De gisten behoren tot de Hogere Zwammen. Daar de sporevormende gisten een ascus (zakje) vormen met sporen (ascosporen), een typisch kenmerk van de Ascomyceten of Zakjeszwammen, worden ze tot deze groep van de Hogere Zwammen gerekend. Het aantal sporen varieert nogal: 8 sporen (normaal voor de Ascomyceten)



AFB. 18. *Schizosaccharomyces Pombe*.  
Gistcellen met sporen, 4 per cel.

a. Zie pijlen. Fase-contrastopname, vergroting  $\pm 1100$ .

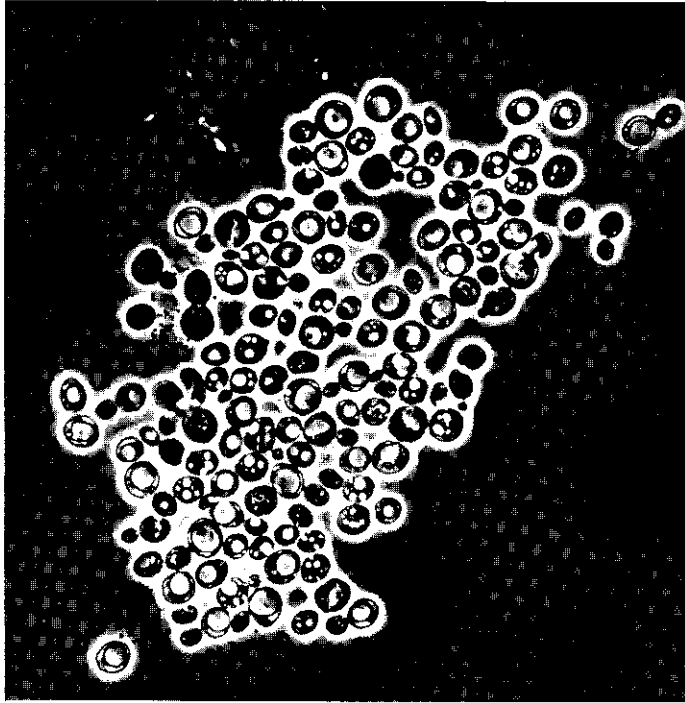
b. Donkerveld-opname, vergroting  $\pm 1400$ .

vindt men zelden, 1-4 (afb. 18) vaker. Dikwijls ontbreken de sporen geheel zodat men twee grote groepen van gisten heeft nl. de sporevormende en de niet-sporevormende gisten. De laatste brengt men dan onder bij de Fungi imperfecti, d.w.z. die gisten waarbij de geslachtelijke sporevorming niet is waargenomen. Verder heeft, evenals bij de echte Zwammen, soms een mycelium- (schimmeldraden) ontwikkeling plaats. Dit mycelium is echter vrij primitief gevormd.

Volgens het bovenstaande kan men dus zeggen dat de gisten een bepaalde groep van primitieve hogere schimmels vormen. Zowel bij hun vegetatieve ontwikkeling als bij hun geslachtelijke voortplanting zijn vele reductievormen waar te nemen. De gist bestaat eigenlijk maar uit 1 cel. Indien sporen worden gevormd dient de gistcel zelf als ascus. Dit in tegenstelling met de hogere Zakjeszwammen waarbij speciale zakjes voor de sporen worden aangelegd, zoals bijv. bij Appelschurft, het Meniezwammetje op dood, rottend hout en het welbekende Moederkoren.

Daar de gisten in systematisch opzicht op geen stukken na een uniforme plantengroep vertegenwoordigen is hun systematiek buitengewoon gecompliceerd. Ook nu is deze nog dikwijls verwarrend alhoewel dit lang zo sterk niet meer het geval is als voor 1930. Voor die tijd had men een en dezelfde gist wel eens 68 verschillende namen gegeven (44). Zeer veel en belangrijk wetenschappelijk onderzoek betreffende de systematiek van de gisten hebben de Nederlandse onderzoekers Stelling-Dekker, Lodder en Diddens verricht. Aan de hand van hun monografieën (49) over de sporogene en anascosporogene gisten was het nu mogelijk geworden een gist gemakkelijk te determineren. Naast morfologische kenmerken maakt men hierbij gebruik van vele fysiologische eigenschappen. De resultaten van later onderzoek maakten het noodzakelijk de systematiek van de gisten te herzien. Dit had tot gevolg dat een nieuw determinatiewerk verscheen van Lodder en Kreger-Van Rij (27, 1952), waarbij de genoemde monografieën (49) als basis dienden. Het is hier niet de plaats op de vele veranderingen nader in te gaan. Wel is het van belang te vermelden dat het in de vroegere werken zo veelvuldig gebruikte kenmerk van de parthenogenetische sporevorming niet juist bleek te zijn. Deze parthenogenese wordt dan ook bij de behandeling van de systematiek van de gisten niet meer genoemd.

De wijngisten behoren allen tot het Geslacht *Saccharomyces* (44). Het zijn die gisten die door hun eigenschappen speciaal geschikt blijken te zijn voor de wijnbereiding. Ze zijn uit de natuur gehaald en rein gekweekt. Men noemt ze ook wel wijngist-cultures. Ze worden de vruchtenwijnindustrie ter beschikking gesteld als reïncultuur, als cultuur dus van uitsluitend gist zonder verontreinigingen met andere microorganismen zoals schimmels en bacteriën. De meeste wijngistrassen dragen namen van bekende wijnen of wijngebieden zoals bijv. Tokay, Madeira, Bordeaux, Champagne Hautvilliers, enz. Indertijd hebben verschillende particuliere instellingen die gist-cultures voor de wijnbereiding leverden van deze naamsaanduidingen misbruik gemaakt. In hun brochures vond men bijv. vermeld dat om een vruchtenwijn met een Malaga-karakter te verkrijgen men bijv. van een bramesap kon uitgaan en dit moest enten met het gistras Malaga. Dit nu bleek onjuist te zijn. Zowel buitenlands onderzoek (15) als proeven op het I.B.V.T. met een 20-tal gistrassen hebben bewezen dat de invloed van het gistras op het karakter van de vruchtenwijn van ondergeschikte betekenis is. Dit wordt in hoofdzaak bepaald door het type uitgangssap en de be-



AFB. 19. *Knoppgist*. Wijngist „Douro Laureio”. Fase-contrast-opname, vergroting  $\pm 1100$ .

reidingswijze. Weliswaar vormt ieder gistras bij de gisting nog in meer of mindere mate gistingsbouquets, die echter tamelijk vluchtig zijn en slechts korte tijd kunnen bestaan. Wel vermeldt Lüthi (28) dat in zijn gist-verzameling een sterk estervormende giststam aanwezig is die de wijn een onaangename zoetachtige bij smaak kan geven. Aan de andere kant is een gistcultuur aanwezig, die de wijn blijvend en aangenaam in zijn karakter kan veranderen. Overwegend zijn de gisten echter neutraal.

Volgens Lodder en Kreger-Van Rij (27) luidt de karakteristiek van het Geslacht *Saccharomyces*, indien gekweekt onder de voorwaarden zoals in het determinatiewerk worden beschreven, als volgt:

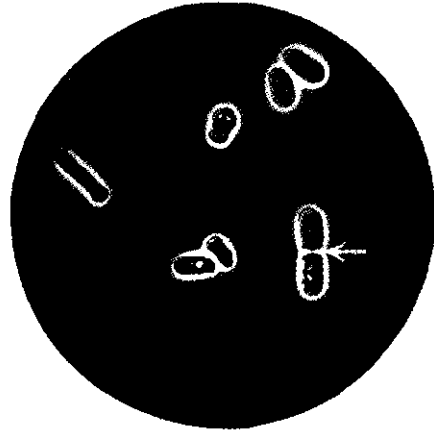
Pseudomycelium en (of) losse knopvormende cellen (afb. 19) variërende in vorm van rond tot lang; conjugatie kan of kan niet onmiddellijk aan een ascusvorming vooraf gaan; sporen gewoonlijk rond of ovaal, ook nier- of hoedvormig; 1-4 per ascus; sporen kunnen conjugeren; dissimilatie naast oxydatief altijd fermentatief; geen assimilatie van nitraat.

Niettegenstaande het Geslacht *Schizosaccharomyces* voor de wijntechnologie van weinig betekenis is, is het interessant te vermelden dat de gisten van dit geslacht zich vegetatief vermeerderen niet door knopvorming maar door vorming van een wandje in de dikwijls langgerekte cellen (afb. 20). Men spreekt dan ook van slijtgisten.

Om een indruk te geven op welke wijze een gist gedetermineerd wordt, wordt hierbij

AFB. 20. *Splijtgist.*

Schizosaccharomyces Pombe. Het dwarswandje (zie pijl) is reeds volledig gevormd; de beide cellen staan op het punt uit elkaar te gaan. Fase-contrast-opname, vergroting ± 1100.



de determinatie volgens (49) van een gist vermeld, welke indertijd (1947) geïsoleerd werd uit gistend druivesap van Black Alicant koelhuisdruiven, aldus:

Sporevorming, dus *Sporogene Gisten.*

- 1.b. Sporen niet spoelvormig . . . . . 4
- 4.b. Vegetatieve vermeerdering door veelzijdige knopvorming, niet door bipolaire knopvorming op meer of minder brede basis . . . . . 6
- 6.b. Pseudomycelium, geen oidiën . . . . . 7
- 7.b. Op moutextract geen huidvorming . . . . . 10
- 10.a. Cellen kort-ovaal tot langgestrekt, sporen rond, glad, 1-4 per ascus:

*Geslacht: Saccharomyces (Meyen) Reess.*

*Bepaling van de Soort:*

- 1.i. Vergisting van glucose, fructose, mannose, galactose, saccharose, maltose en raffinose volledig . . . . . 8
- 8.b. In jonge moutextractcultuur cellen alleen, of met tweeën en drieën . . . 9
- 9.a. In jonge moutextractcultuur cellen ovaal, (3-6) × (4-8) μ:

*Saccharomyces carlsbergensis Hansen.*

*Beschrijving van de Soort:*

<i>Vergisting van suikers:</i>		<i>Stikstofassimilatie:</i>	
glucose	+	kal. nitraat	-
fructose	+	amm.sulfaat	+
mannose	+	asparagine	+
galactose	+ (iets)	ureum	+
saccharose	+	pepton	+
maltose	+		
lactose	-		
raffinose	+ (volledig)		

Aesculine-splitsing positief (zeer weinig).

Vrij sterke groei in ethylalcohol, compact bodemneerslag, losse ringvorming.

*Groei in moutextract:*

Na 24 uur 25°C: Flink neerslag op de bodem, cellen ovaal, soms ogivaal toegespitst, cellen alleen of met tweeën of drieën. Grootte: (3–6) × (5–7,5) mu.

Na 3 dagen 25°C: Compact bodemneerslag, verder als na 24 uur. Grootte: (3–6) × (4–8) mu, ook een enkele cel 10 mu lang.

Na 9 dagen 15°C: Neerslag, geen ring, geen vliesvorming.

Na 30 dagen 15°C: Als na 9 dagen, vloeistof helder.

*Groei op moutagar:* Na 3 dagen 25°C: cellen ovaal of rond, (4–5) × (6–10) mu.

Strijkcultuur na ruim 2 maanden 15°C: grauw-crème, week, vochtig glanzend, omtrek niet erg regelmatig, hier en daar pseudomycelium-franje, aangename geur.

*Reuzenkolonie op moutgelatine:* Na 3 maanden 15°C: iets gelatineervloeiing, omtrek onregelmatig, in het midden verheven, iets gelige tint, mat, concentrische ringen, radiaire strepen met een haartjesachtige structuur. Na 7 maanden een zeer duidelijke gelatineervloeiing. (Voor enkele voorbeelden van andere gistkoloniën zie afb. 21).

*Sporevorming:* Direct reeds na uitzaaiing op moutagarplaten bij 25°C of bij kamertemperatuur. Op gipsblokje + water lang zoveel sporen niet en ook geen groot aantal per ascus, meestal 1 of 2. Sporen rond, 1–4 per ascus, 2,5 mu in drsn.

De gist komt niet geheel overeen met de beschrijvingen van de soort *Saccharomyces carlsbergensis* en ook niet met die van de variëteiten daarvan. We hadden hier dus te maken met een andere variëteit. De gist vertoont veel overeenkomst met *Saccharomyces Pastorianus* Hansen; deze vormt echter direct een huid en dit deed de gist niet. De geïsoleerde gist kwam nog het beste overeen met de variëteit *mandshuricus* I.

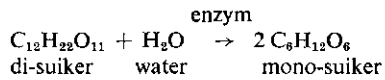
Uit het bovenstaande praktische voorbeeld blijkt dat men bij het determineren van gisten met vele factoren rekening moet houden. Vooral valt het op dat de gisten sterk polymorf zijn hetgeen dus betekent, dat het onmogelijk is een gistras te determineren door met behulp van de microscoop alleen de vorm van de gistcellen te bepalen.

## 2. DE CHEMISCHE OMZETTINGEN BIJ DE VERGISTING

### *Inleiding*

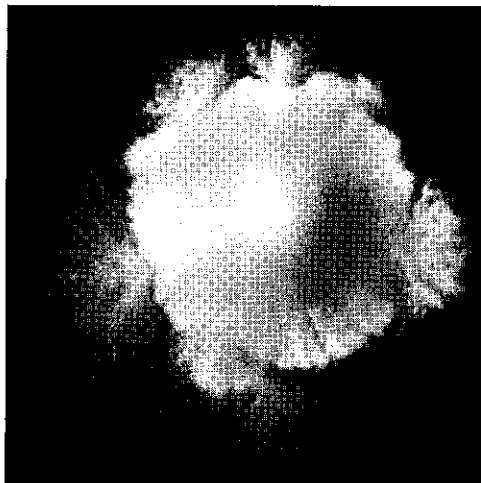
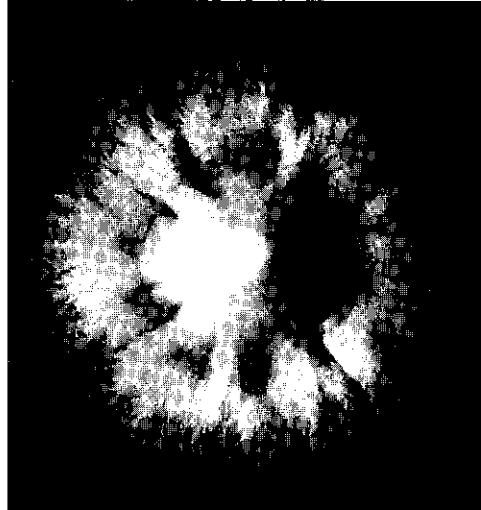
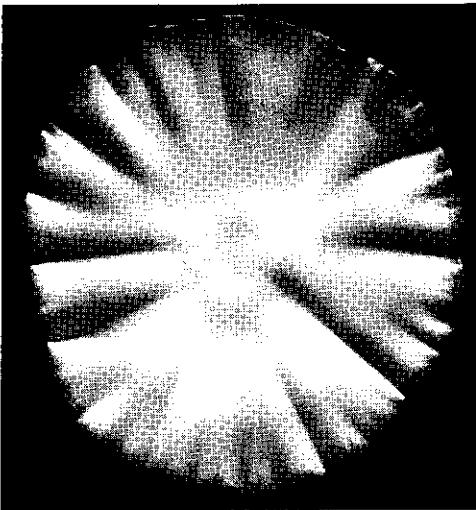
Voor instandhouding van het leven is het noodzakelijk dat een voortdurende voedseltoevoer plaats heeft (37). Het voedsel wordt door de cel uit haar omgeving opgenomen. Indien het voedsel een gecompliceerde structuur heeft, wordt het eerst met behulp van door de levende cel gevormde enzymen tot meer eenvoudige verbindingen afgebroken. Zo kan bijv. raffinose, een tri-suiker ( $C_{18}H_{32}O_{16}$ ), eerst worden omgezet in fructose (mono-suiker) en melibiose (di-suiker). Vervolgens wordt de melibiose verder gesplitst in de mono-suikers glucose en galactose. Het zijn deze monosuikers die door de levende cel weer met enzymen verder chemisch omgezet en verwerkt worden.

Bij deze eerste afbraakprocessen van samengestelde verbindingen spreekt men wel van inleidende hydrolytische splitsingen daar hierbij water wordt opgenomen, bijv.:



Het geheel van de voortdurende chemische omzettingen en veranderingen vat men samen onder de naam stofwisseling. Het gedeelte van de stofwisseling, dat plaats heeft na de inleidende hydrolyse, kan in twee delen worden onderscheiden nl.:

a. *Opbouw*. Bij de opbouw worden stoffen opgenomen die daarna zodanige veranderingen ondergaan dat ze uiteindelijk in samenstelling overeenkomen met stoffen die



AfB. 21. *Gistkoloniën*.  
Drie verschillende wijngistrassen gekweekt op een vaste voedingsbodem.



reeds in het organisme aanwezig waren. Dit proces, dat energie kost, wordt aangeduid met assimilatie.

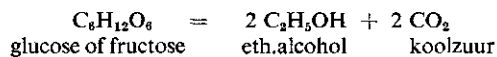
*b. Afbraak.* De afbraak is het tegengestelde van de opbouw. Men spreekt hier van dissimilatie of ook wel van ademhaling, een proces dat energie levert. De omzettingen bij de afbraak kunnen een oxydatief karakter dragen door het gebruik van luchtzuurstof. Men spreekt dan van aërobe ademhaling. Ook is het mogelijk zonder de vrije atmosferische zuurstof stoffen te verademen. Men spreekt dan van een anaërobe ademhaling. Deze laatste vorm van dissimilatie duidt men wel aan met gisting. Gisting heeft meer betrekking op de anaërobe dissimilatie van koolhydraten en de rotting op die van eiwitten.

De twee bovengenoemde processen moet men zich niet als gescheiden denken. Zowel de assimilatie als de dissimilatie zijn beide nodig voor instandhouding van het leven en dienen daarom in onderling verband met elkaar te worden gezien. Nieuw celmateriaal wordt niet gevormd bij uitschakeling van de dissimilatorische stofwisseling, terwijl omgekeerd de dissimilatie niet los van het celvermeerderingsproces gedacht kan worden.

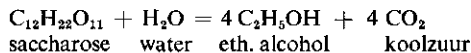
### *Ethylalcohol*

Bij de alcoholische vergisting van de suikers in vruchtesappen ontstaan als belangrijke gistingsproducten in hoofdzaak ethylalcohol en koolzuur.

In 1789 maakte Lavoisier kwantitatieve studies over de alcoholische gisting. In 1813 gaf Gay-Lussac voor het eerst de juiste bruto reactievergelijking voor dit proces, aldus (20):



Indien men van een di-suiker zoals saccharose uitgaat, wordt deze omzetting:



Uit bovenstaande vergelijkingen volgt dat uit 100 g glucose of fructose 51,1 g alcohol en 48,9 g koolzuur, uit 100 g saccharose 53,8 g alcohol en 51,4 g koolzuur zouden moeten ontstaan. Reeds in 1860 had Pasteur evenwel aangetoond dat bij de alcoholische gisting niet alleen alcohol en koolzuur ontstaan maar ook glycerine en barnsteenzuur. Pasteur vond dat in doorsnee uit 100 g fructose 48,6 g alcohol, 46,6 g koolzuur, 3,3 g glycerine, 0,6 g barnsteenzuur en 1,1 g andere stoffen werden gevormd (52).

Kulisch (1909) kreeg bij de vergisting van aangesuikerd druivesap uit 100 g saccharose 43–48 g alcohol, bij het omgisten van wijn 48–51 g. In het laatste geval wordt minder suiker verbruikt voor de vorming van nieuw celmateriaal (assimilatie), zodat de opbrengst groter is (52).

In de genoemde gevallen ontstaat er dus eigenlijk geen verlies aan alcohol daar de suiker in andere verbindingen wordt omgezet. Echte verliezen aan alcohol ontstaan bijv. bij hogere gistingstemperaturen en bij een stormachtige gisting.

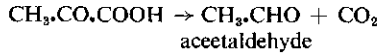
Doordat men tegenwoordig het vergistingsproces beter in de hand heeft (zwavelen van het sap, enten met gistcultures, temperatuurregeling, enz.) mag men toch wel rekenen op een alcoholopbrengst van ruim 47 g per 100 g suiker.

Enkele vergistingsproeven op het I.B.V.T. in 1952 uitgevoerd met een twintigtal gist-rassen en enkele vruchtesappen in flessen van 10 liter, die trapsgewijze werden bijge-suikerd, gaven de volgende resultaten:

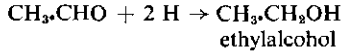
Nummer Gistras	Appelwijn		Perenwijn		Morellenwijn	
	Alcohol in vol. %	Uit 100 g <sup>1)</sup> suiker ontstond x g alcohol	Alcohol in vol. %	Uit 100 g <sup>1)</sup> suiker ontstond x g alcohol	Alcohol in vol. %	Uit 100 g <sup>1)</sup> suiker ontstond x g alcohol
1	14,55	50,3	17,50	48,0	18,40	49,8
2	14,82	48,3	17,60	48,1	17,60	49,1
3	13,42	48,5	13,47	43,8	15,50	47,4
4	14,55	47,0	17,80	48,7	18,40	49,5
5	14,64	48,0	17,40	48,1	17,90	49,0
6	14,37	46,2	16,30	49,6	14,46	49,5
7	14,55	49,1	16,60	49,4	15,20	49,7
8	14,91	48,7	17,30	48,2	18,00	49,4
9	15,20	49,3	17,70	48,8	17,80	49,3
10	14,55	46,3	18,10	46,1	17,30	49,6
11	14,64	48,7	15,30	47,5	14,91	47,4
12	13,74	47,8	13,92	45,7	15,20	48,0
13	12,57	45,9	16,00	47,8	14,55	48,1
14	13,02	47,1	15,40	47,3	14,19	48,8
15	13,38	46,9	15,30	47,9	14,37	49,1
16	13,56	46,5	16,50	47,1	15,90	49,5
17	12,75	44,5	16,30	48,6	15,60	49,8
18	12,84	43,9	16,70	48,2	17,30	49,1
19	14,01	46,4	14,91	49,2	16,50	49,0
47	13,20	45,1	13,74	48,8	15,40	48,4
Gemidd.:		47,2		47,8		49,0

<sup>1)</sup> Berekend uit alcoholgehalte in vol. %. Dit vermenigvuldigd met 7,89 geeft het alcoholgehalte in g per liter.

De eenvoudige reactie-vergelijkingen zoals die eerder werden gegeven zeggen niets omtrent de eigenlijke gang van zaken die zich bij de vergisting van de suikers afspeelt. De omzetting van suiker in alcohol en koolzuur geschiedt niet ineens maar heeft met behulp van vele enzymen via een groot aantal elementaire tussenreacties plaats. Al die omzettingen zijn in wezen terug te brengen tot aan elkaar gekoppelde reducties en oxydaties. Het mechanisme van alle omzettingen wordt niet besproken daar dit in het bestek van deze publikatie te uitvoerig zou worden. Toch is het gewenst te wijzen op het zeer belangrijke tussenprodukt pyrodruivezuur:  $\text{CH}_3\text{CO}\cdot\text{COOH}$ . Dit zuur is van zoveel betekenis omdat het bij vele biochemische omzettingen een grote rol speelt. Bij de alcoholische gisting wordt het als volgt verder enzymatisch omgezet:



Het acetaldehyde wordt nu, weer met behulp van een enzym, gehydrogeneerd (gereduceed) tot alcohol:



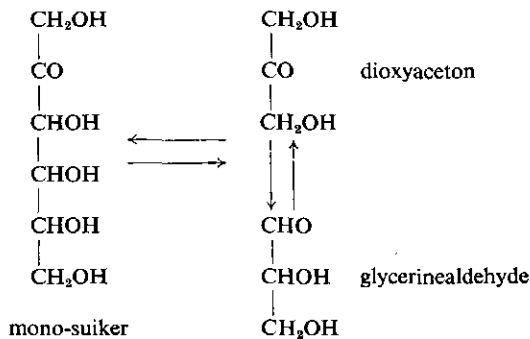
Bij deze laatste reactie ziet men dat het acetaldehyde als waterstof-acceptor (-ontvanger) fungeert.

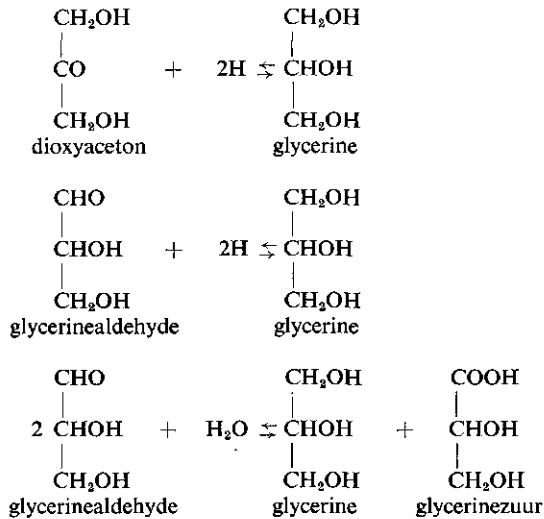
Reeds eerder werd erop gewezen dat naast de hoofdprodukten ethylalcohol en koolzuur ook nevenprodukten worden gevormd zoals bijv. glycerine en hogere alcoholen.

### Glycerine

Glycerine wordt bij de gisting in wisselende hoeveelheden gevormd. Lichte vruchtenwijnen bevatten ongeveer 3-5 g per liter en zwaardere vruchtenwijnen in doorsnee 5-7 g per liter (26). Glycerine is een belangrijke component van wijn daar ze de wijnen voller van smaak doet zijn en „body” geeft.

Bij de glycerinevorming in wijnen moet men zich voorstellen dat het bij de gisting gevormde acetaldehyde in het begin van het vergistingsproces nog niet is gevormd. Dit ontbreekt dus als waterstofacceptor zodat een ander tussenprodukt als zodanig moet gaan fungeren. Bij de splitsing van de hexose met 6 C-atomen ontstaan uit deze suiker 2 triosen met elk 3 C-atomen nl. dioxyceton ( $\text{CH}_2\text{OH}\cdot\text{CO}\cdot\text{CH}_2\text{OH}$ ) en glycerinealdehyde ( $\text{CH}_2\text{OH}\cdot\text{CHOH}\cdot\text{CHO}$ ). Uit deze twee verbindingen kan glycerine worden gevormd ( $\text{CH}_2\text{OH}\cdot\text{CHOH}\cdot\text{CH}_2\text{OH}$ ). Langs enzymatische weg wordt het dioxyceton wel het snelste gereduceerd (18) tot glycerine zodat deze triose het belangrijkste tussenprodukt is voor de glycerinevorming. Ook ontstaat echter glycerine uit het glycerinealdehyde nl. door directe enzymatische reductie en door dismutatie. In het laatste geval wordt 1 molecuul glycerinealdehyde gereduceerd tot glycerine en een tweede molecuul geoxydeerd tot glycerinezuur. Is er echter eenmaal acetaldehyde gevormd dan wordt dit veel sneller gehydrogeneerd tot alcohol, omdat de reacties hiermede veel sneller verlopen. Dit is in overeenstemming met de waarnemingen waarbij men heeft vastgesteld dat gedurende de eerste tijd van de alcoholische gisting de meeste glycerine wordt gevormd, terwijl daarna de glycerinevorming praktisch is te verwaarlozen. De verschillende reacties verlopen aldus:





Men kan de glycerinevorming bij de alcoholische gisting beïnvloeden door bijv. dinatriumsulfiet toe te voegen. Er vormt zich dan meer glycerine en gedurende de eerste wereldoorlog maakte men hiervan bij de glycerinefabricage gebruik. De verklaring van deze glycerinevorming is dat het acetaldehyde wordt gebonden door het ontstane zwaveligzuur en dus niet meer als waterstofacceptor kan werken. Men spreekt wel van het sulfietproces.

Deze sulfietgisting moet niet worden verward met de sulfietgisting bij de wijnbereiding (44). Met dit laatste bedoelt men de vergisting van min of meer sterk gezwavelde vruchtesappen. Hierbij worden dikwijls zg. sulfietgisten gebruikt, dat wil zeggen gisten die ook bij hogere  $\text{SO}_2$ -concentraties zonder al te grote vertraging het sap kunnen vergisten. Men zwavelt met zwaveligzuur of kaliumpyrosulfiet. De toegepaste sulfietgisting bij de bereiding van glycerine evenwel geschiedde in alkalisch milieu, terwijl de gebruikte hoeveelheden sulfiet wel tot 250 g per liter bedroegen. Dit waren dus zeer grote quanta in vergelijking met de hoeveelheden die bij het zwavelen van het vruchtesap worden gebruikt. Verder vindt in het zure vruchtesapmilieu de aldehydebinding aan sulfiet slechts met mate plaats.

De laatste tijd (18) vermoedt men dat de vermeerderde glycerinevorming door toevoeging van  $\text{SO}_2$  o.m. ook ontstaat door een inactivering van bepaalde enzymen.

Men vond ook dat bij lagere vergistingstemperaturen ( $12,8^\circ\text{C}$ ,  $6,6^\circ\text{C}$ ) een zekere neiging bestond om minder glycerine te vormen (51). Er werd meer alcohol gevonden maar dit was een gevolg van minder verlies door verdamping bij lagere temperaturen.

Verder ging een vlotte begin- en doorgisting gepaard met een grotere glycerineproductie (18).

In tegenstelling met Schanderl (44), die zegt dat het zwavelen van het vruchtesap geen invloed heeft op de glycerinevorming, vonden andere Duitse onderzoekers (18) dat dit wel het geval was. Zwavelen met slechts 50 mg  $\text{SO}_2$  per liter gaf een duidelijke tendens tot vorming van meer glycerine terwijl de glycerinevorming niet alleen in het begin van de gisting maar gedurende het gehele vergistingsproces plaatsvond. Zij

vonden verder dat indien vruchtesap in gisting werd gebracht, dat voor het grootste gedeelte van de vaste bestanddelen was bevrijd, zodat eigenlijk alleen een blind sap overbleef, er minder glycerine werd gevormd, ook indien daarbij gezwaveld werd. Hetzelfde effect kreeg men indien dit ont-troebelde sap gezwaveld werd. Ook bij verdunning van het sap met suikerwater, maar niet met „droge” suikering, verkrijgt men minder glycerine. Vermoedelijk is dit een gevolg van vermindering van bepaalde stoffen, zoals vitamines en sporenelementen, die bij het proces nodig zijn. Wij kunnen ons verder voorstellen dat door het ont-troebelen de „inwendige oppervlakte” van het sap wordt verkleind en het koolzuur niet zo gemakkelijk en vlot meer kan ontwijken. Dit heeft tot gevolg dat er veel koolzuur in het vruchtesap aanwezig is en het is bekend dat koolzuur stagnerend op de glycerinevorming werkt. Naar aanleiding van bovenstaande beschouwingen zal het duidelijk zijn dat er een zeker verband moet bestaan tussen de hoeveelheden gevormde alcohol en glycerine.

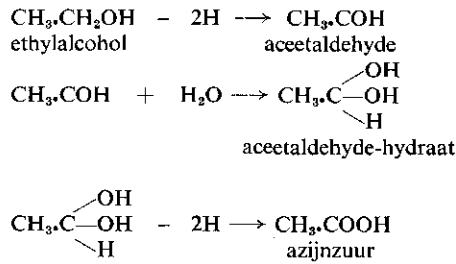
### *Methylalcohol*

De in vruchtenwijnen gevormde kleine hoeveelheden methylalcohol moeten afkomstig zijn van pectinstoffen. Deze zijn in meer of mindere mate veresterd met  $\text{CH}_3$ -groepen en door enzymatische verzeeping met pectasen ontstaat methylalcohol ( $\text{CH}_3\text{OH}$ ). In dit verband is het begrijpelijk dat bij het toepassen van een pulpgisting meer methylalcohol in de wijn wordt gevonden. Pectasen in het vruchtweefsel aanwezig, zijn dan voortdurend ter beschikking om pectinstoffen te demethyleren. Dit werd bevestigd door een onderzoek van Flanzy en Bouzigues (13). Ze vonden geen verandering in het methylalcoholgehalte gedurende het vergistingsproces van wit druivesap. Wel werd een verhoging bij de vergisting van rood druivesap vastgesteld. Dit wordt verklaard door een hoger pectasegehalte, een gevolg van de pulpgisting. Over het algemeen concludeerden zij dat de alcoholische gisting geen verandering teweegbracht in het methanolgehalte. Toevoeging van kaliummetabisulfit gaf meer methanol. Dit moet zeer waarschijnlijk niet aan het toevoegen van  $\text{SO}_2$  worden toegeschreven, maar aan het toevoegen van extra kationen (kalium) aan het medium. Volgens Kertesz (22) heeft dit nl. tot gevolg dat de vrije carboxylgroepen van de pectinstoffen die bij de verzeeping ontstaan, nu complexe verbindingen met de kationen vormen en daardoor niet meer remmend op de pectasenactiviteit kunnen werken.

### *Azijnzuur*

Soms wordt bericht dat bij de pectine-afbraak ook iets azijnzuur ( $\text{CH}_3\text{COOH}$ ) wordt gevormd. Dit zou dan ontstaan uit eventueel aanwezige acetyl-groepen ( $\text{CH}_3\text{CO}$ ) in de pectine. Deze kwestie is echter nog niet geheel opgehelderd. Sporen azijnzuur worden ook gedurende de alcoholische gisting door de gisten zelf geproduceerd (52). Dit schijnt vooral plaats te vinden bij de groei- en vermeerderingsperiode van de gist en indien vruchtesap vergist wordt met een hoog suikergehalte. Grotere hoeveelheden azijnzuur in vruchtenwijnen wijzen uit de aard der zaak op activiteiten van azijnzuurbacteriën, waarbij dus de alcohol onder aërobe omstandigheden in azijnzuur wordt omgezet. Hierbij fungeert de luchtzuurstof als waterstof-

acceptor, waarbij algemeen wordt aangenomen dat de volgende reacties plaats vinden:



In 1952 en 1953 werden op het Instituut vergistingsproeven genomen met verschillende gistrassen en verschillende vruchtessappen. Bij de bepaling van het vluchtigzuurgehalte (toegepaste analysemethodiek zie blz. 198 van (26)) werden de volgende analysecijfers verkregen, gehalten in g per liter:

No. Gistras	Appelwijn Schone van Boskoop Oogst 1952	Appelwijn Brabantse Bellefleur Oogst 1953	Perenwijn Herfsteper v. Geulle Oogst 1952	Perenwijn Herfsteper v. Geulle Oogst 1953	Morellenwijn Oogst 1952	Morellenwijn Oogst 1953	Rode Bessenwijn Oogst 1953	Bosbessenwijn Oogst 1953	Bramenwijn Oogst 1953	Kruisbessenwijn Oogst 1953	Prunewijn Eldense Blauwe Oogst 1953
1	0,23	0,97	0,21	0,45	0,27	0,30	0,58	0,69	0,83	0,31	0,23
2	0,18	0,69	0,29	0,35	0,27	0,22	0,37	0,59	0,47	0,44	0,21
3	0,17	1,68	0,24	0,52	0,38	0,36	0,41	0,56	1,—	0,29	0,43
4	0,22	0,97	0,43	0,40	0,26	0,36	0,56	0,59	0,75	0,50	0,28
5	0,20	1,43	0,44	0,44	0,42	0,29	0,57	0,59	0,60	0,71	0,31
6	0,23	1,71	0,41	1,38	0,19	0,25	0,37	0,61	0,60	0,54	0,35
7	0,29	1,46	0,53	0,43	0,21	0,39	0,64	0,50	0,62	0,57	0,28
8	0,21	0,82	0,43	0,32	0,24	0,24	0,43	0,60	0,55	0,49	0,17
9	0,21	1,34	0,44	0,40	0,12	0,36	0,46	0,56	0,75	0,55	0,43
10	0,18	1,84	0,42	0,26	0,38	0,33	0,32	0,57	0,60	0,32	0,28
11	0,20	0,85	0,39	0,51	0,36	0,36	0,35	0,60	0,73	—	0,46
12	0,15	1,39	0,32	0,30	0,18	0,35	0,32	0,54	0,63	0,46	0,39
13	0,16	—	0,34	0,39	0,11	0,33	0,35	0,62	0,81	0,44	0,41
14	0,15	—	0,33	0,26	0,16	0,36	0,33	0,65	0,68	0,33	0,40
15	0,18	—	0,24	0,34	0,10	0,34	0,24	0,51	0,63	0,40	0,38
16	0,21	—	0,49	0,51	0,36	0,34	0,35	0,47	0,75	0,36	0,28
17	0,16	—	0,36	—	0,14	0,36	0,39	0,58	0,67	0,39	0,39
18	0,16	—	0,46	0,32	0,32	0,48	0,39	0,61	0,78	0,45	0,47
19	0,18	—	0,31	0,30	0,27	0,36	0,37	0,52	0,83	0,37	0,50
47	0,19	—	0,27	0,38	0,29	0,32	0,33	0,49	0,72	0,57	0,45

Uit deze cijfers volgt dat men mag aannemen dat het vluchtig zuurgehalte van gezonde vruchtenwijnen in het algemeen minder bedraagt dan 1 g/liter.

### Hogere alcoholen

Men vindt verder in vruchtenwijnen hogere alcoholen, die meestal met het verzamelen



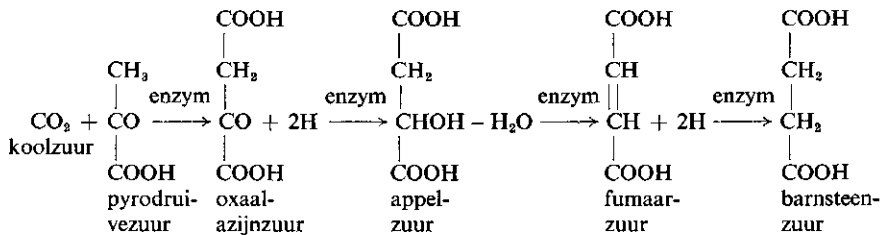
over de vorming van foezelolie bij de alcoholische gisting nog verder onderzoek moet plaatsvinden en dat de hogere alcoholen vermoedelijk zowel uit aminozuren als uit suikers gevormd kunnen worden.

Het nuttigen van vruchtenwijnen met een hoog gehalte aan foezelolie heeft dikwijls tot gevolg dat men zich onaangenaam gaat voelen. Men krijgt vaak hoofdpijn.

Het bij de alcoholische gisting van aminozuren, zoals Ehrlich de zojuist besproken omzettingen wel noemde, vrijkomende  $\text{NH}_3$ , wordt door de gist gebruikt voor de opbouw van celeiwit, wordt dus geassimileerd. De hogere alcoholen worden door de gist niet gebruikt (52).

### Barnsteenzuur

In vruchtenwijnen wordt ook barnsteenzuur gevonden, dat in hoofdzaak gedurende de periode van de stormachtige gisting wordt gevormd. Men toonde (14) aan dat de barnsteenzuurvorming afhing van de aanwezigheid van koolzuur gedurende de vergisting. Hieruit volgt dat zoveel te meer koolzuur aanwezig is, zoveel te meer barnsteenzuur wordt gevormd. Een rigoureuze verwijdering van het koolzuur daarentegen moet leiden tot een onderdrukking van de barnsteenproductie. Door nu proeven te nemen met gemerkt koolzuur, waarbij de C van het koolzuur bestond uit de isotoop  $\text{C}^{13}$ , kwam men tot de volgende reactievergelijkingen bij de vergisting van pyrodruivezuur:



Nadat het koolzuur langs enzymatische weg wordt vastgelegd aan het pyrodruivezuur ontstaat oxaalazijnzuur. Dit wordt vervolgens door verschillende enzymen via appelzuur en fumaarzuur omgezet in barnsteenzuur.

Naar aanleiding van het bovenstaande is het begrijpelijk dat het meeste barnsteenzuur gevormd kan worden bij de stormachtige gisting, als er dus veel koolzuur is. Ook mag worden verwacht dat bij een gesloten vergisting in een druktank meer barnsteenzuur ontstaat dan bij de normale wijze van vergisten in een vat dat slechts afgesloten is met een gistventiel en waarbij dus het koolzuur steeds kan ontwijken.

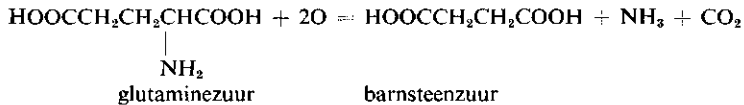
Geisz (16) evenwel, vermoedt dat er bij de vergisting in de druktank („gezügelte Gärung”) een geringere hoeveelheid barnsteenzuur zal ontstaan omdat hierbij minder gistcellen worden gevormd.

Het is ook mogelijk dat het koolzuur langs enzymatische weg aan het pyrodruivezuur wordt gebonden waarbij zich als eerste verbinding direct appelzuur vormt (14). De vorming van oxaalazijnzuur heeft dan niet plaats en wordt dus overgeslagen.

Evenals werd besproken bij de vorming van amylalcoholen is het ook mogelijk dat



barnsteenzuur uit het aminozuur glutamine-zuur (52) gevormd zou kunnen worden (bruto reactie):



Analoog als bij de amyralcoholvorming is men echter de laatste jaren van mening dat het barnsteenzuur ook uit het aceetaldehyde, dat dus bij de gisting wordt gevormd, ontstaat:



### *Bouquetstoffen*

Een enkel woord nog over de bouquetstoffen. Men bedoelt hiermede het gehele complex van de karakteristieke smaak- en reukstoffen van de desbetreffende vruchtenwijn. Deze stoffen zijn aanwezig in het vruchtesap maar ze ontstaan ook gedurende de gisting en verder bij het lageren van het produkt. Van de oorspronkelijke bouquets van de vruchtesappen vindt men bij de druivenwijnen meestal niet veel terug. Kortom, wijn smaakt helemaal niet meer naar druivesap, tenzij het druivesap afkomstig was van sterk aromatische rassen, zoals bijv. Muscaat. Met uitzondering van de appel- en perenwijnen verlangt men van een frambozenwijn dat deze ook inderdaad nog naar frambozen smaakt, dat een zwarte bessenwijn nog zwarte bessenaroma bezit, enz. Dit dus in tegenstelling met wijnen. Om de reeds eerder genoemde redenen moet een appelwijn een neutraal karakter bezitten, d.w.z. het liefst in het geheel niet meer doen denken aan appelaroma. In dit verband is appelwijn dus te vergelijken met druivenwijn.

De bouquetstoffen die bij de wijnbereiding worden gevormd zijn samengesteld uit verschillende aldehyden, ketonen en esters, welke laatste dan weer combinaties zijn van alcoholen en organische zuren. Vooral butyl- en amylesters van azijnzuur schijnen belangrijk te zijn (52).

De verschillende gistrassen die bij de wijnbereiding worden gebruikt produceren niet alle dezelfde hoeveelheden stoffen die bij het gistingsproces ontstaan. Zo zal gistras *a* meer glycerine vormen dan gistras *b* en zal gistras *c* beter doorgisten dan gistras *d*. In het voorgaande werden enkele stoffen besproken die naast alcohol en koolzuur bij de alcoholische gisting kunnen ontstaan. Behalve deze stoffen, zal het zonder meer te begrijpen zijn dat, gezien de talrijke variatie-mogelijkheden van biochemische omzettingen, nog vele andere verbindingen bij de alcoholische gisting als nevenprodukten kunnen ontstaan. Ze zullen niet verder worden behandeld daar de besproken onderwerpen voldoende licht hebben geworpen op de gecompliceerdheid van de alcoholische gisting en alles wat daarmee samenhangt.

### 3. DE ONREGELMATIGE VERGISTING VAN APPELSAP

Het komt soms voor dat appelsap, in tegenstelling met de bessesappen, aarzelend vergist of na een vlotte begingisting niet goed verder door wil gisten tot het gewenste eindpunt.

Indien verder omstandigheden als temperatuur, suikerconcentratie enz. (hierover later meer), optimaal voor de gisting zijn, kan alleen als mogelijke oorzaak voor deze gistingsstoringen worden aangewezen een niet of onvoldoende aanwezig zijn van bepaalde voedingsstoffen, welke nodig zijn voor de gist. Ook kunnen remstoffen aanwezig zijn.

### Remstoffen

Lüthi (30) vond dat een praktisch niet organoleptisch waarneembaar looistofgehalte van 1-2 g/liter in peresap de gisting behoorlijk remde. In Nederland hoeft men hiermede geen rekening te houden daar over het algemeen het looistofgehalte van de verwerkte appels niet hoog is en bovendien de iets looistofrijkere peren weinig tot vruchtenwijn worden verwerkt.

Alhoewel dit wettelijk nog niet is geregeld, is de mogelijkheid niet uitgesloten dat de vruchtenwijnfabrikant in de toekomst appelwijn ook gaat bereiden uit concentraat. Enkele voordelen hiervan zijn:

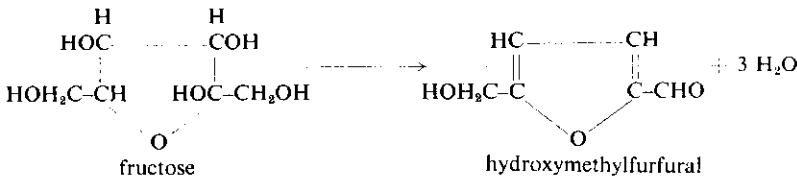
a. Bij het concentreren worden aromastoffen verwijderd, waarbij dus geconcentreerd appelsap met een minimum aan aromastoffen en apart daarnaast geconcentreerd aromaat kan worden gewonnen. Het aromavrije concentraat geeft een neutrale appelwijn, iets dat over het algemeen de vruchtenwijnfabrikant juist wenst.

b. Op elk gewenst moment kan vruchtenwijn worden gemaakt. Dit kan natuurlijk ook indien enkelvoudig sap wordt opgeslagen, maar dit neemt meer ruimte in en geeft meer zorg bij de conservering.

c. De appeloogst is snel te verwerken tot het voorlopige concentraat.

Soms wordt een moeilijke vergistbaarheid van appelsap vastgesteld indien dit sap uit concentraat is bereid. Bij enkele oriënterende vergistingsproeven uitgevoerd op het I.B.V.T. ten behoeve van derden (1953) werd dit verschijnsel niet waargenomen.

Volgens Lüthi (31) zijn de gistingsmoeilijkheden bij concentraten aan de ene kant afhankelijk van de soort van het geconcentreerde sap (peer of appel) en aan de andere kant nemen ze toe met een toenemende ouderdom van het concentraat. Experimenteel bewees Lüthi de aanwezigheid van remstoffen bij de vergisting van concentraten en toonde verder aan dat deze bij toenemende verouderingen toenemen. Als belangrijke remstof wordt genoemd hydroxymethylfurfural (HMF), een stof die ontstaat indien fructose wordt verhit in zuur milieu. Hierbij wordt fructose gedehydrateerd, aldus (1):



Andere namen voor deze verbinding zijn: hydroxymethylfural, oxymethylfurfurol (OMF), 5-oxymethyl-2-formyl-furan, 5-oxymethyl-furfurol.

Over het algemeen is het gehalte aan HMF in appelsapconcentraat niet hoog te noemen (34, 46). Gemiddeld moet gerekend worden op 15 mg/liter. Het ontstaat vooral indien bij het concentreren overmatige warmtebehandelingen plaatsvinden.

Bij onderzoeken van Braverman (4) betreffende het bruin kleuren van glucosestroop en citrusconcentraat bleek dat de bruinkleuring het geringste was bij pH 3. Deze nam duidelijk toe in de richting van het alkalische gebied en een matige toename werd geconstateerd naar de zure kant. Een zekere bruinkleuring vond steeds plaats bij pH 1, onder sterke vorming van HMF. Bij aanwezigheid van oplosbare proteïnen vormde HMF zich snel.

Semper (46) vond eveneens dat een hoog HMF-gehalte niet altijd samenging met een donkerder worden van de kleur van het appelsapconcentraat.

Behalve HMF kunnen ook andere gistingsremmende reactieproducten bij de wisselwerking tussen suikers, aminozuren en de gewone vruchtezuren ontstaan.

Ingram (21) bericht dat d.m.v. warmte bereide concentraten een lage redoxpotentiaal hebben. Dit wil zeggen dat ze een tamelijk anaëroob milieu hebben en daardoor enigszins ongunstig zijn voor de groei van gisten. Een bij bewaring sterk bruin gekleurd appelsapconcentraat bleek een hogere redoxpotentiaal te bezitten dan normaal, zodat dus blijkbaar de bruiningsreacties het concentraat minder reducerend maken. Het zou daardoor beter te vergisten zijn. Dit bleek echter niet het geval te zijn, waaruit de conclusie werd getrokken dat de veranderingen van de redoxpotentiaal welke het bruinkleuren van het concentraat vergezellen, geen verantwoordelijke factoren zijn voor het niet willen gisten van het concentraat. Volgens Ingram moet dit slecht willen gisten van bruin geworden appelsapconcentraat in verband worden gebracht met o.m. de vorming van remstoffen. Deze ontstaan dan door oxydatie van leucoanthocyanidinen en andere fenolen tot chinonverbindingen. Deze stoffen zijn gekleurd en bezitten verhoogde antimicrobiële eigenschappen.

In de meeste gevallen zijn de gistingsstoringen te wijten aan een tekort van voor de stofwisseling van de gist belangrijke voedingsstoffen.

### *Gebrek aan stikstof*

Het is bekend dat druivesap en de meeste bessesappen gemakkelijker vergisten dan appelsap. Ook peresap geeft soms moeilijkheden. Reeds vroeg (omstreeks 1900; (30, 10)) wist men dat dit verschil in vergistbaarheid verklaard moest worden door een gebrek van het appelsap aan stikstofverbindingen. Volgens Yang (58) hebben appels een gemiddeld stikstofgehalte van 0,01 %, terwijl dat van druiven ruim 0,1 %, van bramen, frambozen en aalbessen  $\pm$  0,09 %, van kersen 0,07 %, van pruimen 0,05 % en van peren 0,03 % bedraagt. Onze Nederlandse appels bevatten 0,03–0,05 % totaal stikstof. Hierbij dient opgemerkt te worden dat niet alle stikstof voor de gist beschikbaar is, terwijl er in het perssap waarschijnlijk ook minder stikstof wordt gevonden dan in de vrucht. In elk geval blijkt dat appels een laag stikstof gehalte hebben.

Vele gisten kunnen eenvoudige ammoniumzouten gebruiken voor de opbouw van aminozuren en eiwitten. Over het algemeen zijn nitraten voor de assimilatie minder geschikt. Vele geslachten van de gisten zijn dan ook o.m. gekarakteriseerd doordat ze niet in staat zijn nitraat te assimileren, bijv.: *Saccharomyces* (hiertoe behoren de wijngisten), *Pichia*, *Hanseniaspora*, *Debaryomyces*, enz.

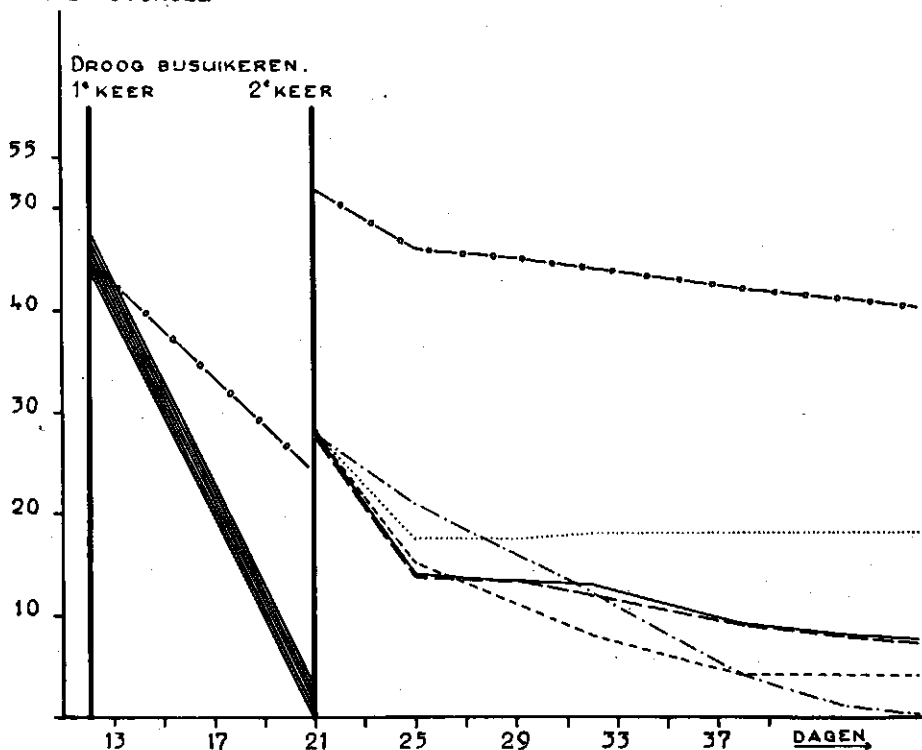
Uit praktijkervaring is het de vruchtenwijnfabrikant reeds lang bekend dat hij voor een goed verlopende gisting van het appelsap dit moet bemesten met stikstof. Meestal

wordt daarvoor gebruikt ammonium-sulfaat  $((\text{NH}_4)_2\text{SO}_4)$  en/of secundair ammoniumfosfaat  $((\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4)$  in een hoeveelheid van 30–40 g per hectoliter. Deze twee verbindingen zijn goed oplosbaar en bevatten beide dezelfde hoeveelheid stikstof. Het sulfaat heeft het voordeel dat tegelijkertijd met stikstof ook zwavel wordt toegevoegd. Dit element dat onmisbaar is bij het stofwisselingsproces is nodig voor bijv. de opbouw van SH-groepen bevattende enzymen, de synthese van zwavelhoudende vitamines (vitamine B<sub>1</sub>, biotine) en aminozuren (cysteïne, methionine) en de vorming van het belangrijke tripeptide glutathion. Tussen de SO<sub>2</sub>-resistentie van gistrassen en hun glutathiongehalte bestaat zelfs een nauwe betrekking (44). De tegen SO<sub>2</sub> meest resistente gistrassen bevatten drie keer zoveel glutathion als de stammen die tegen SO<sub>2</sub> het minst resistent zijn. Opgemerkt zij evenwel, dat bij de wijnbereiding meestal voldoende zwavel wordt gebruikt, zodat een extra zwavelbemesting nu niet zo zeer nodig is. Het tweede ammoniumzout bevat naast stikstof ook fosfor. Dit is van veel belang bij de alcoholische gisting daar het een onmisbare rol speelt bij de vele fosforileringsreacties. (Om de verschillende biochemische omzettingen van de alcoholische gisting niet nodeloos ingewikkeld te maken werd bij dit reeds behandelde onderwerp niets vermeld over de belangrijke rol van fosfor). Men zou ook het primaire of het tertiaire ammoniumfosfaat kunnen gebruiken. Het eerste bevat echter minder stikstof en is iets minder oplosbaar bij kamertemperatuur terwijl de tweede genoemde verbinding gemakkelijk aan de lucht ontleedt, moeilijk droog is te houden waarbij secundair ammoniumfosfaat ontstaat en veel minder oplosbaar is dan het secundaire ammoniumfosfaat. Ammoniumchloride zou ook in aanmerking kunnen komen, ware het niet dat men daarmee het chloorion als vreemd bestanddeel voor wijn toevoegt, terwijl uit fysiologisch gezichtspunt dit ion voor de gist verder van geen betekenis is (44). Eveneens is ammoniumcarbonaat minder geschikt daar dit bij kamertemperatuur langzaam ontleedt en het ontledingsproduct het zure zout NH<sub>4</sub>HCO<sub>3</sub>, een wit reukloos poeder, moeilijk in water oplosbaar is (19). Bovendien is het CO<sub>3</sub><sup>2-</sup>-ion van geen betekenis voor de gist. In verband met het bovenstaande wordt daarom voor een anorganische bemesting met stikstof aanbevolen, een mengsel van 1:1 secundair ammoniumfosfaat en ammoniumsulfaat.

In Amerika maakt men bij het bemesten van appelsap met stikstof dikwijls gebruik van de organische verbinding ureum (H<sub>2</sub>N.CO.NH<sub>2</sub>). Er wordt daarbij ongeveer 100 g per hectoliter gebruikt (58). Ureum lost gemakkelijk op en bevat veel stikstof.

De invloed van enkele voedings- of gistingzouten – namen waarmee men de meststoffen voor het vruchtesap wel aanduidt – op de vergisting moge blijken uit de grafieken nr. 1 en 2. Gemakshalve is het gistingsverloop in het begin van de gisting, vóór de eerste bijsuikering, weggelaten daar dit praktisch geen onderlinge verschillen opleverde. Dit is begrijpelijk daar toen nog geen voedingszouten waren toegevoegd. In grafiek 1 ziet men dat na het toedienen van de meststoffen de sappen de eerste week onafhankelijk van de aard van de meststof alle ongeveer gelijk en beter vergisten dan het onbehandelde appelsap. Na de tweede keer bijsuikeren komen er enige verschillen voor. Ureum geeft wel het minste effect terwijl ammoniumnitraat + primair kaliumfosfaat + magnesiumsulfaat het beste resultaat geeft. Secundair ammoniumfosfaat of ammoniumsulfaat hebben hetzelfde effect, terwijl deze twee zouten gecombineerd een betere gisting geven. Bij dit alles blijft het onbehandelde sap traag vergisten. In

GISTINGSVERLOOP  
GRADEN OECHSLE



GRAFIEK 1. Vergistingsproeven met appelsap 1953. Vergistingstemperatuur 20°C, uitgangs-Oechsle 65°, gistras nr. 1.

Gebuurkte voedingszouten/hl (toegevoegd bij de eerste keer bijsuikeren):

————— 30 g  $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$

----- 30 g  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$

- - - - - 15 g  $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$  + 15 g  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$

— · — · — 20 g  $\text{NH}_4\text{NO}_3$  + 130 g  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  + 130 g  $\text{MgSO}_4$

..... 100 g ureum

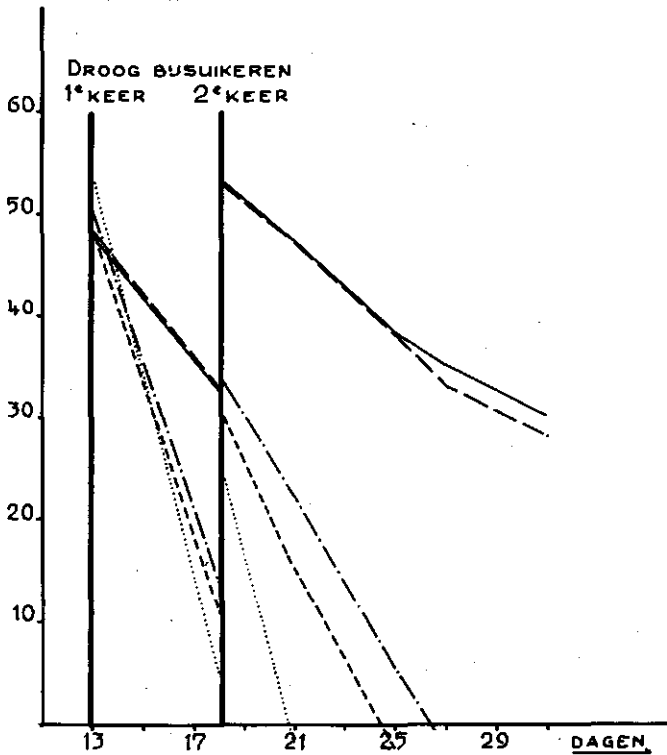
○—○—○—○ geen toevoeging van zouten

==== gistingverloop van alle monsters-met-voedingszouten ongeveer gelijk

grafiek 2 ziet men dat nu het ureum een sterk verbeterde vergisting heeft gegeven. Merkwaaardigerwijze heeft het toevoegen van secundair ammoniumfosfaat praktisch geen invloed gehad. Het gistingverloop hiervan is ongeveer gelijk aan dat van het onbehandelde sap. Ammoniumsulfaat geeft eveneens een verbeterde gisting. Worden beide ammoniumzouten samen toegevoegd dan is het gistingverloop iets minder. Het lijkt hierbij dus alsof secundair ammoniumfosfaat geen goede gistingsbevorderende werking heeft. Een verklaring hiervoor is niet te vinden.

Uit de beide grafieken blijkt in elk geval duidelijk dat het toevoegen van stikstofver-

GISTINGS VERLOOP  
GRADEN Oechsle



GRAFIEK 2. Vergistingsproeven met Appelsap 1954. Vergistingstemperatuur 20°C, uitgangs-Oechsle 72°, gistras nr. 1.

Gebruikte voedingszouten/hl (toegevoegd bij eerste keer bjuiskeren):

- ..... 30 g  $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$
- 30 g  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$
- 15 g  $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$  + 15 g  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$
- · — · — 100 g ureum
- geen toevoeging van zouten

bindingen sterk verbeterde vergistingsresultaten geeft. De samenstelling van het sap zal ieder jaar niet hetzelfde zijn en ook zal ongetwijfeld het gebruikte appelras van invloed zijn, omdat ieder ras niet dezelfde chemische samenstelling zal hebben.

Naar aanleiding van het bovenstaande rijst nu de vraag of men door het toevoegen van bovengenoemde stikstofverbindingen aan het appelsap, er steeds in slaagt moeilijk vergistbaar sap goed aan het gisten te brengen. Hierop kan geantwoord worden dat men in vele doch niet in alle gevallen succes heeft. Blijkbaar kunnen in het appelsap soms ook nog andere stoffen ontbreken die voor een vlot gistingverloop nodig zijn. Uit verschillende onderzoeken is komen vast te staan dat aminozuren en groei-factoren van veel belang zijn.

### Gebrek aan aminozuren

Voor de stikstofassimilatie kan de gist ook aminozuren gebruiken. In dit verband zou het gehalte aan aminozuren bij appelsap van belang kunnen zijn bij de gisting. Uit literatuurgegevens blijkt wel dat aminozuren een belangrijke rol bij de alcoholische gisting spelen. Appelsappen van enkele apperassen geven volgens Amerikaanse onderzoeken (10) de volgende analysecijfers.

TABEL. Vrije Aminozuren in Appelsappen, microgrammen per ml. Cijfers vóór de ( ) 1954, tussen de ( ) 1955.

Aminozuren <sup>1)</sup>	Baldwin	Delicious	Greening	Mc. Intosh	Red Spy
Asparaginezuur . . . .	38 (238)	138 (239)	190 ( 92)	17 ( 46)	15 (15)
Glutaminezuur . . . .	29 ( 68)	31 ( 44)	35 ( 69)	14 ( 19)	15 (12)
Serine . . . . .	13 ( 22)	23 ( 21)	30 ( 25)	9 ( 10)	10 ( 10)
Totaal gehalte aan vrije aminozuren in: microgram/ml . . . .	82 (353)	221 (322)	312 (199)	47 ( 83)	45 (37)
mg/100 ml . . . . .	8,2 (35,3)	22,1 (32,2)	31,2 (19,9)	4,7 ( 8,3)	4,5 (3,7)

<sup>1)</sup> Behalve de 3 genoemde aminozuren werden ook nog bepaald: alanine, histidine, isoleucine, lysine, methionine, fenylalanine, proline, threonine, tryptofaan en valine. Deze aminozuren worden niet in de tabel vermeld daar ze over het algemeen in mindere mate, slechts in sporen of helemaal niet aanwezig waren.

Uit het tabelletje blijkt dat er grote onderlinge verschillen bij de apperassen zijn ten aanzien van hun gehalte aan aminozuren. In het algemeen is dit bij de rassen Mc. Intosh en Red Spy het laagst. Op de vergistbaarheid van deze sappen wordt direct nader ingegaan. Eerst volgt nog een tabel betreffende het stikstofgehalte van de appelsappen (mg per 100 ml):

Sap van:	Totaal stikstofgehalte afkomstig van aminozuren	Totaal stikstofgehalte afkomstig van aminozuren en de amiden glutamine en asparagine (indien deze laatste aanwezig zijn)	Totaal stikstofgehalte
Baldwin . . . . .	0,9 (3,7)	1,6 (6,9)	7,3 (19,6)
Delicious . . . . .	2,4 (3,4)	4,2 (6,4)	13,2 (13,8)
Greening . . . . .	3,6 (2,1)	5,9 (3,7)	20,2 ( 7,0)
Mc. Intosh . . . . .	0,5 (0,9)	0,8 (1,6)	8,3 ( 8,7)
Red Spy . . . . .	0,5 (0,4)	0,8 (0,7)	3,9 ( 3,8)

Cijfers vóór de ( ) 1954, tussen de ( ) 1955.

Uit de tabel blijkt dat de sappen van Greening 1954 en Baldwin 1955 aanzienlijk meer totaal stikstof hebben dan de overige appelsappen. Bij het in gisting brengen van de diverse sappen vond men na 108 uren de volgende alcoholgehalten in procenten (gewicht per volume):

Baldwin 2,03 (4,25) Delicious 3,68 (4,17) Greening 4,66 (3,22) Mc Intosh 1,82 (2,69)  
Red Spy 1,36 (0,85) (Cijfers vóór de ( ) 1954, tussen de ( ) 1955).

Ook in de gevormde hoeveelheden alcohol zijn grote verschillen. De rassen met het laagste stikstofgehalte geven in het algemeen de geringste hoeveelheden alcohol. Om nu na te gaan of er een betrouwbaar verband bestaat tussen de gevormde hoeveelheden alcohol en de verschillende stikstofhoeveelheden van de sappen werd het volgende lijstje opgesteld met de Amerikaanse gegevens waarna onze wiskundige afdeling de verschillende correlatiecoëfficiënten bepaalde:

	1 % Alcohol in gew./volume na 108 uren	2 Totaal stikstof aminozuren mg/100 ml	3 Totaal stikstof aminozuren en amiden mg/100 ml	4 Totaal stikstof mg/100 ml	5 Asparaginezuur microgram per ml
Red Spy '55 . . . . .	0,85	0,4	0,7	3,8	15
Red Spy '54 . . . . .	1,36	0,5	0,8	3,9	15
Mc. Intosh '54 . . . . .	1,82	0,5	0,8	8,3	17
Baldwin '54 . . . . .	2,03	0,9	1,6	7,3	38
Mc. Intosh '55 . . . . .	2,69	0,9	1,6	8,7	46
Greening '55 . . . . .	3,22	2,1	3,7	7,0	92
Delicious '54 . . . . .	3,68	2,4	4,2	13,2	138
Delicious '55 . . . . .	4,17	3,4	6,4	13,8	239
Baldwin '55 . . . . .	4,25	3,7	6,9	19,6	238
Greening '54 . . . . .	4,66	3,6	5,9	20,2	190

Correlatie coëfficiënten:

1 met 2 : + 0,957

1 met 3 : + 0,945

1 met 5 : + 0,922

1 met 4 : + 0,909

Het blijkt dus dat alle vier berekende correlatiecoëfficiënten zeer betrouwbaar zijn, hetgeen betekent dat bij aanwezigheid van meer stikstof – op welke wijze ook vastgesteld – een betere vergisting van het sap verwacht mag worden. De beste correlatie geeft het totaal stikstofgehalte van de aminozuren en de minste het totaal stikstofgehalte. Heeft dus een appelsap een laag gehalte aan aminozuren dan is dit een indicatie voor de kans op een slechte vergistbaarheid.

Ook Lüthi (30) vond dat appelrassen met een gering gehalte aan aminozuren slechter vergistten dan rassen met een hoger gehalte aan aminozuren. Aminozuren zijn dus zeer belangrijk voor een goede vergisting van het sap.

Bij peren (30) neemt gedurende het melig worden van de vruchten het gehalte aan aminozuurstikstof duidelijk af, terwijl daarbij het gehalte aan albuminestikstof ongeveer in dezelfde mate toeneemt. (Albuminen zijn eiwitstoffen behorende tot de groep van de proteïnen (20); bij hydrolyse geven ze bijna uitsluitend aminozuren). Het totaal stikstofgehalte verandert daarbij praktisch niet. Door de toename van de albuminestikstof wordt het gistingsverloop bevorderd. Verder werd aangetoond dat bij het bevrijden van het peresap van het grootste gedeelte van de meer grovere troebelstoffen door uitzakken, 40–60% van de totale stikstof werd verwijderd. Daarbij verdwijnt voor het grootste deel de albuminestikstof met als gevolg een zeer sterk slechter worden van het peresap t.o.v. de vergistbaarheid.



Met de bedoeling druivenwijnen stabiel te maken voor eiwitnatroebelingen gingen Koch en Bretthauer (24) druivesap kort (2 min. 87°C) verhitten en vonden daarbij een verlies aan ruw eiwitstikstof van 37-57%. Een invloed van de verhitting van het druivesap op de vrije aminozuren kon niet worden waargenomen. De vrije aminozuren nemen niet deel aan de vorming van troebelstoffen gedurende de korte verhittingstijd, zodat de warmtebehandeling op hen geen invloed heeft. Gedurende de gisting hadden bij alle vrije aminozuren veranderingen plaats. In de eerste dagen trad een concentratievermindering op, terwijl vanaf de tiende dag weer een concentratietoename viel waar te nemen. De onderzoekers vonden ook dat in de gereede druivenwijn arginine, histidine, lysine, ornithine, fenylalanine, proline en tyrosine in grotere concentraties aanwezig waren dan in het onvergiste sap, zoals de volgende tabel duidelijk maakt.

Aminozuren	Druivesap	Druivenwijn
Alanine . . . . .	+++	+++
γ-Aminoboterzuur . . . . .	+++	+++
Arginine . . . . .	++	+++
Asparaginezuur . . . . .	+++	+++
Glutaminezuur . . . . .	++++	++++
Glycine . . . . .	++	++
Histidine . . . . .	+	+++
Isoleucine . . . . .	+++	+++
Leucine . . . . .	+++	+++
Lysine . . . . .	+	++
Methionine . . . . .	+	+
Ornithine . . . . .	+	++
Fenylalanine . . . . .	++	+++
Proline . . . . .	++	++++
Serine . . . . .	++	++
Threonine . . . . .	++	++
Tyrosine . . . . .	+	+++
Valine . . . . .	+++	+++

+ = zeer weinig; ++ = weinig; +++ = matig veel; ++++ = veel; +++++ = zeer veel.

Men moet zich bij deze veranderingen voorstellen dat in de beginperiode van de gisting de gist zich sterk vermeerderd waarbij aminozuren worden geassimileerd. Later worden echter aminozuren (24) als stofwisselingsproducten of ook door autolyse van de gist aan het sap afgegeven. De concentratieverschuivingen van de vrije aminozuren kwamen ook overeen met de veranderingen in het totale stikstofgehalte. Zoveel te sneller de druivesappen vergisten zo veel te sterker de stikstofafname was in de beginperiode van de gisting. Verder werd nog vastgesteld dat de korte verhitting van het druivesap geen invloed had op het gistingsverloop daarvan.

Uit de tabel van het druivesap valt verder op dat het glutaminezuur een belangrijke component is evenals het dit ook was bij het appelsap.

Bij de beschouwingen over het druivesap moet men er wel aan denken dat men hier met een sap te maken heeft dat zeer rijk is aan stikstofverbindingen, zoals reeds eerder werd opgemerkt. Er zal zeker wel een overschot aan aminozuren zijn, in tegenstelling

dus met het „magere” appelsap. Ook volgens de opgaven van Koch en Bretthauer bevatte het druivesap 900 tot 1000 mg totaal stikstof per liter, dus ongeveer 0,1 %.

Vermeldenswaard is dat de sedimentatiesnelheid van de gist door de stikstofvoeding wordt beïnvloed (44). Zo vond Nielsen (1937) dat de met aminozuren gevoede gist sneller bezonk dan de met  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  opgekweekte gistcultuur. Verder heeft de stikstofvoeding invloed op de verhouding ademhaling : gisting. Vagn Hartelius (1942) vond dat bij toevoeging van  $\beta$ -alanine de verhouding zich verschoof ten gunste van de ademhaling, zodat de gisting dus minder werd. De gist groeit bij toevoeging van  $\beta$ -alanine economischer, daar ze per gram suiker meer droge stof vormt. Dezelfde werking als  $\beta$ -alanine blijkt ook het pantotheenzuur, een vitamine behorende tot het B-complex, te hebben. Dit mag worden verwacht omdat  $\beta$ -alanine een bouwsteen van het pantotheenzuur is.

De laatste jaren worden gist-autolysaat-preparaten, al of niet vermengd met ammoniumzouten, op de markt gebracht die moeten dienen als voedingspreparaten voor de gist bij de vruchtenwijnbereiding. Volgens de bijgevoegde brochures worden zij aanbevolen bij gistingss storingen en het verkrijgen van hoge alcoholopbrengsten. De namen waaronder zij in de handel komen zijn o.a. Zymosan en Tronozym, waarbij dit laatste artikel dan als een verbeterd preparaat van Zymosan opgevat moet worden. Alvorens op het eventuele nut van dergelijke preparaten in te gaan worden eerst een tweetal vergistingsproeven met Zymosan besproken.

#### PROEF I

Van een vruchtenwijnfabrikant werd bericht ontvangen dat verschillende vaten met appelwijn in de gisting waren blijven steken. Monsters van de appelwijnen werden naar het I.B.V.T. opgezonden waarna de volgende vergistingsproeven werden aangezet. Zie pagina 54.

Het blijkt dat in vele gevallen met Zymosan goede resultaten werden verkregen. Behalve bij de monsters 1 en 2 die niet en de monsters 5 en 7 die matig gingen gisten, was bij de rest van de appelwijnen de gisting weer op gang te brengen. Daar de monsters klein waren konden geen chemische bepalingen worden uitgevoerd. Dit zou van belang geweest kunnen zijn, omdat het vermoeden bestond dat er monsters bij waren met een hoog vluchtig zuurgehalte. In vele gevallen gaf nl. het directe microscopische preparaat van de wijnen veel staafvormige bacteriën te zien, te veel voor een normale gezonde appelwijn. Dit microscopische beeld werd vooral waargenomen bij de monsters 1, 2, 5 en 7. Zoals bij een bezoek aan het bedrijf bleek waren vele appelwijnen ziek hetgeen zich organoleptisch uitte in „muis”, melkzuur- en azijnzuursteek. Het was het gevolg van een onjuist leiden van het vergistingsproces nl. door o.a.:

- a. Het niet gebruiken van goed gedesinfecteerde vaten.
- b. Niet te zorgen voor een gelijkmatige temperatuur in de vergistingsruimte.
- c. Het niet gebruiken van reine cultures van wijngisten.
- d. Het ontbreken van een regelmatige controle gedurende het vergistingsproces.

Bij de wijnen nr. 6 en 11 gaven behalve Zymosan ook secundair ammoniumfosfaat of ureum zeer goede resultaten.

Gebruikt gistras Rioja Tempranillo; vergistingstemperatuur 20°C. Proeven uitgevoerd in Einhorn-gistingsbuisjes.

Monsternummer	4% gistcultuur		4% gistcultuur + 40 g (NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> /hl		4% gistcultuur + 100 g ureum/hl		4% gistcultuur + 100g Zymosan/hl		4% gistcultuur + 1000 g Zy- mosan/hl	
	Gisting na x dagen		Gisting na x dagen		Gisting na x dagen		Gisting na x dagen		Gisting na x dagen	
	2	4	2	4	2	4	2	4	2	4
1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
3	-	+	-	-	-	-	+	+++	+++	+++
4	+	+	-	-	-	++	++	++	++	++
5	-	-	-	-	-	-	-	++	-	++
6	-	-	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
7	-	-	-	-	-	-	-	-	-	++
8	-	+	-	+	-	-	<+	++	+++	+++
9	-	+	-	+	-	-	<+	+++	+++	+++
10	+	++	++	++	+	++	<+	+	+++	+++
11	++	++	++	+++	++	+++	+	+++	+	+++

Verklaring tekens: - = geen gisting; <+ = zeer geringe gisting; + = geringe gisting; ++ = gisting; +++ = flinke gisting.

## PROEF II

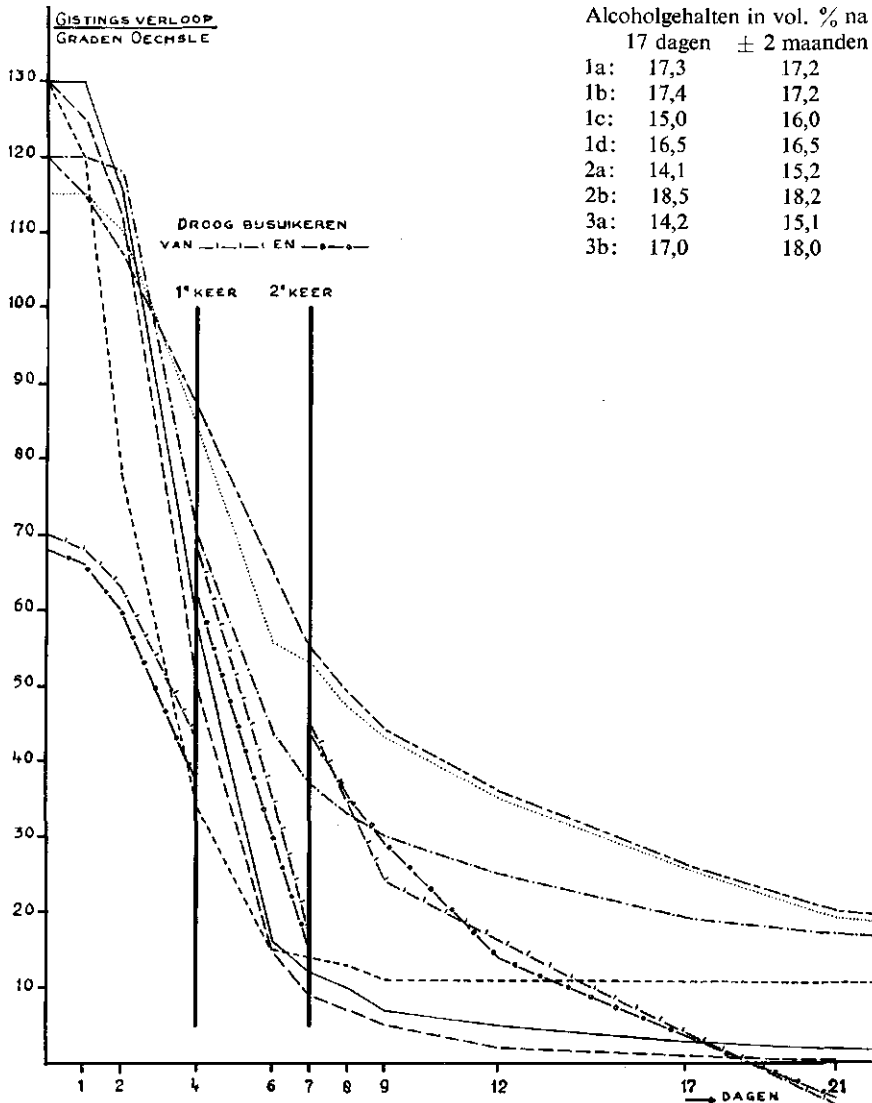
Appelsap bereid uit een mengsel van verschillende rassen werd vergist zoals aangegeven is op grafiek nr. 3. Het sap had een oorspronkelijk Oechslegehalte van 45° en een zuurgehalte van 6 g per liter berekend als wijnsteenzuur. De vergistingsproeven werden uitgevoerd in 10-liter flessen. Proef 1a is het zuivere Zymosanvoorschrift. Het gedroogde gistpreparaat werd aangeduid met Special Trockenhefe en was afkomstig van de leverancier van Zymosan.

Het blijkt dat inderdaad bij het tegelijk aan elkaar toevoegen van alle ingrediënten Zymosan goede resultaten geeft, alhoewel een alcoholpercentage van 18,5-19 vol. %, zoals de brochure garandeert, niet werd bereikt. Bij het gebruik van eigen gistcultures en ureum en door de suiker niet ineens maar in een paar trappen toe te voegen, verkrijgt men ook een zeer vlotte vergisting waarbij alcoholpercentages werden verkregen van 18 vol. % en hoger. Wageningen I was hierbij iets beter dan het gistras Rioja Tempranillo.

Uit proef II blijkt dat het niet nodig is een gistaautolysaatpreparaat als Zymosan te gebruiken bij het vergisten van appelsap. Ook zonder dit preparaat verkrijgt men goede resultaten, mits de suiker in gedeelten wordt toegevoegd en het sap wordt verrijkt met een stikstofverbinding.

Volgens Schanderl (44) heeft het om de volgende redenen geen zin gistaautolysaatpreparaten te gebruiken:

a. De cultuurgist kan zijn behoefte aan stikstof geheel dekken met ammoniumverbindingen.



GRAFIEK 3. Vergistingsproeven met appelsap met toevoeging van ZYMOSAN. Vergistingstemperatuur 20°C.

*Proef 1*, alle ingrediënten ineens bijelkaar gevoegd:

- 1a: 77 liter appelsap, 22 kg suiker, 1 kg Zymosan, 300 g gedroogd gistpreparaat.
- 1b: als 1a, echter i.p.v. gedroogde gist 5 liter gistcultuur ras Wageningen I.
- 1c: als 1a, echter i.p.v. gedroogde gist 5 liter gistcultuur ras Rioja Tempranillo en 680 g Zymosan (er was niet voldoende preparaat beschikbaar).
- 1d: als 1a, echter i.p.v. gedroogde gist 1 kg bakkersgist.

*Proef 2*:

- ..... 2a: 77 liter appelsap, 22 kg suiker, 100 g ureum. 5 liter gistcultuur ras Wageningen I. Alle ingrediënten ineens bijelkaar gevoegd.
- 2b: als 2a, echter de suiker in trappen toegevoegd.

*Proef 3*:

- 3a: als 2a, echter vergisting met ras Rioja Tempranillo.
- 3b: als 2b, echter vergisting met ras Rioja Tempranillo.

b. De preparaten hebben een bouillonsmaak, die later een storende bijmaak aan de wijn geeft. Helaas werden de „Zymosan-Appelwijnen” (proef II) niet organoleptisch beoordeeld. Wel ruikt Zymosan zeer onaangenaam en het is zeer wel mogelijk dat daardoor een onaangenaam afwijkende smaak wordt verkregen. Het is ons bekend dat de vruchtenwijnfabrikanten liever geen Zymosan meer gebruiken omdat zij van mening waren dat wansmaken optraden bij vruchtenwijnen die hiermede waren bereid. Ook had men bezwaar tegen de zeer stormachtige gisting in het begin van het vergistingsproces, met als gevolg dat de temperaturen in de gistende vloeistof zeer hoog werden. Ze liepen wel tot 30°C en hoger op met als gevolg een sterke vertraging van het vergistingsproces. Met het verbeterde Zymosanpreparaat Tronozym werden nog geen proeven genomen. Het is mogelijk dat dit minder smaakafwijkingen geeft. Ook bij gistingen zonder Zymosan lopen de temperaturen wel eens hoog op. Een koeling van de vloeistof is dan noodzakelijk.

c. De preparaten bevorderen de ontwikkeling van ongewenste en gevaarlijke, dikwijls zuurafbrekende bacteriën. Deze moeten hun eiwit in hoofdzaak opbouwen uit de aanwezige aminozuren. Lüthi (32) toonde aan dat gistextract een sterke groei-bevorderende werking uitoefende op *Lactobacillus*- en *Leuconostoc*-soorten, die voor de appelzuur-melkzuur-gisting in wijnen verantwoordelijk gesteld moeten worden. Deze zg. biologische zuurafbraak wordt later uitvoeriger behandeld. In verband met punt c zou daarom de bevordering van melkzuursteek en/of muis in met Zymosan bereide vruchtenwijnen niet ondenkbeeldig zijn.

Bij bruiningsreacties van vruchtesappen kunnen de vrije aminogroepen van de aminozuren worden verbruikt. Een bruin geworden vruchtensapconcentraat kan daardoor een gebrek hebben aan voor de gist nodige stikstofverbindingen. Naast het ontbreken van bepaalde aminozuren is het dus ook mogelijk dat de eerst wel aanwezige vrije aminozuren als zodanig op den duur uit het concentraat gaan verdwijnen. Bij de bereiding van appelwijn uit concentraat moet hiermede terdege rekening worden gehouden. Lüthi (31) toonde aan dat na enkele maanden opslag bij kamertemperatuur in het concentraat geen aminozuren meer aanwezig waren. Daarbij was het vooral voor de gist zo belangrijke glutaminezuur het snelst en het eerst verdwenen.

Bij onderzoekingen van Meyer en Benzman (35) over het gebruik van aminozuren als stikstof- en koolstof-bronnen voor de aërobe groei van gist, bleek dat een stam van *Saccharomyces cerevisiae* de aminozuren 1-glutaminezuur, 1-asparaginezuur, 1-alanine, 1-isoleucine, 1-valine en 1-fenylalanine voor de groei kon gebruiken, indien glucose aanwezig was. Bij afwezigheid van glucose trad alleen groei op bij de eerste drie aminozuren 1-glutaminezuur, 1-asparaginezuur en 1-alanine.

Evenals de gist bepaalde stikstofverbindingen voor zijn ontwikkeling nodig heeft, zo is dit ook het geval met bepaalde vitamines en andere groeifactoren.

#### *Gebrek aan groeifactoren*

Op grond van vroegere onderzoekingen was men over het algemeen van mening dat de „wilde” gisten auxo-autotroof zouden zijn, terwijl de cultuurgisten na verloop van tijd in meer of mindere mate auxo-heterotroof zouden worden. Alleen de eerste categorie zou dus in staat zijn zich te kunnen ontwikkelen in synthetische media welke

slechts suiker en anorganische zouten bevatten, terwijl de cultuurgisten dergelijke substraten alleen maar zouden kunnen assimileren nadat eerst een of meerdere groeifactoren waren toegevoegd. Het tegendeel bewezen Wikén en Richard (55) met hun onderzoekingen over de fysiologie van wijngisten van Zwitserse origine. In het kort samengevat verkregen zij de volgende resultaten.

*Wijngist „Fendant”*. Dit ras bleek autotroof te zijn voor de onderzochte groeifactoren: (+)-biotine (= vitamine H = „bios” II) en meso-inositol (= „bios” I = vitamine B factor). Zonder zijn groeikracht te verliezen werd deze gist gedurende een periode van 8 maanden 120 keer overgeënt in een synthetische, vitaminevrije voedingsoplossing welke glucose als koolstof- en energiebron, minerale zouten en ammoniumsulfaat als stikstofbron bevatte. I.p.v. ammoniumsulfaat kon ook vitaminevrij caseïne-hydrolysaat als stikstofbron worden gebruikt. Niettegenstaande het auxo-autotrofe karakter van de „Fendant”-gist gaf echter toevoeging van (+)-biotine in hoeveelheden groter dan 0,0025–0,025  $\gamma$ /liter of van meso-inositol in hoeveelheden groter dan 0,25–2,5 mg/liter onder bepaalde omstandigheden een zeer kleine, doch duidelijke verbetering van de gistgroei te zien. In sommige gevallen werd vastgesteld dat de gecombineerde invloed van (+)-biotine + meso-inositol dezelfde was als die van alleen meso-inositol. Meso-inositol had dus de meeste werking.

*Wijngistrassen „Salenegg” en „Herrliberg”*. Evenals bij de proeven met „Fendant” bleken onder dezelfde omstandigheden ook de rassen „Salenegg” en „Herrliberg” beide weer autotroof te zijn voor de onderzochte groeifactoren. De onderzochte groeifactoren: (+)-biotine, pyridoxol (= pyridoxal = pyridoxine = vitamine B<sub>6</sub> = adermine), thiamine (= vitamine B<sub>1</sub> = aneurine) en pantotheenzuur (een tot het B-complex behorend vitamine) alleen toegevoegd of in verschillende combinaties, hadden geen invloed op de groei van de gisten in de synthetische media genoemd bij „Fendant”. Wel was dit het geval met meso-inositol in hoeveelheden groter dan 0,25–2,5 mg/liter medium. Een maximum groei werd verkregen met 25 mg meso-inositol per liter substraat. Werd nog meer toegevoegd dan had dit niet tot gevolg dat een nóg sterkere groei optrad.

Na ongeveer 150 keer overenten, als bij het ras „Fendant”, bleven de rassen „Salenegg” en Herrliberg” auxo-autotroof.

*Wijngistras „Dézaley”*. Ook dit gistras werd op groei onderzocht in dezelfde synthetische media als vermeld werd bij de vorige gistrassen. Het onderzoek leidde tot de conclusie dat „Dézaley” heterotroof is voor de onderzochte groeifactoren. Dit gistras kon niet zelf in zijn vitaminebehoefte voorzien, zodat het nodig was ze aan de media toe te voegen. De onderzochte groeifactoren waren weer dezelfde als vermeld werd bij de gistrassen „Salenegg” en „Herrliberg”. Ze werden alleen toegevoegd of in verschillende combinaties. Een uitstekend groeieffect werd verkregen door de gecombineerde toevoeging van 25  $\gamma$  (+)-biotine + 25 mg meso-inositol + 2,5 mg calciumpantothenaat, alles per liter substraat. Uit de onderzoekingen bleek ook dat onder bepaalde omstandigheden bij een gecombineerde toevoeging van (+)-biotine + meso-inositol, (+)-biotine een antagonistisch effect had op de werking van meso-inositol. Beide groeifactoren samen toegevoegd gaven in de beginperiode geen groei,

met meso-inositol alleen wel. Na langere incubatietijd gaf echter de combinatie een sterkere groeistimulering te zien dan met meso-inositol alleen. Verder werd vastgesteld dat de beide gebruikte media (alleen verschillend in stikstofbron: ammoniumsulfaat of vitaminevrij caseïnehydrolysaat) in sommige gevallen verschillende resultaten gaven bij de bestudering van de gistgroei na toevoeging van de verschillende groeifactoren.

Uit de onderzoeken van Wikén en Richard is duidelijk komen vast te staan dat de wijngisten in hoge mate een autotroof karakter bezitten. Er moet echter terdege rekening mee worden gehouden dat er gistrassen zijn die de benodigde groeifactoren niet zelf kunnen synthetiseren, zodat ze dus moeten worden toegevoegd, vooral aan die media die van nature weinig van deze stoffen bevatten. Appelsap (het gereede produkt, betrokken van de fabrikant) bevat volgens gegevens van Scheunert en Haenel (45) de volgende hoeveelheden aan verschillende vitamines betreffende het vitamine-B-complex (per liter sap):

Thiamine . . . . .	12 $\gamma$
Riboflavine (vit. B <sub>2</sub> ) . . . . .	100 $\gamma$
Nicotinezuur . . . . .	1,1 mg
Pyridoxol . . . . .	300 $\gamma$
Foliumzuur . . . . .	15 $\gamma$
Pantotheenzuur . . . . .	200 $\gamma$
Biotine (vitamine H) . . . . .	3,6 $\gamma$
Meso-inositol . . . . .	240 $\gamma$

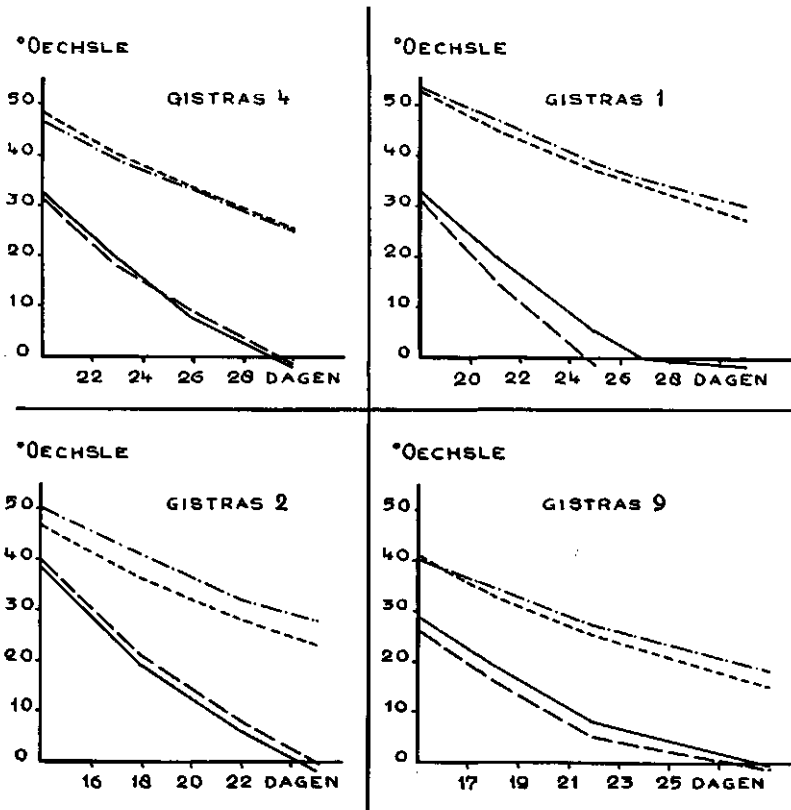
In vergelijking met de door Wikén en Richard gebruikte resultaat gevende hoeveelheden groeifactoren in hun synthetische media zijn deze in het appelsap laag te noemen.

De resultaten van Wikén en Richard kunnen vanzelfsprekend niet zomaar worden overgedragen op die welke met natuurlijke media als appelsap zouden kunnen worden verkregen. Dit werd door Lüthi (30) aangetoond bij vergistingsproeven met enkele jaren oud appelsap. Zijn resultaten waren in het kort de volgende:

- a. Ook zonder extra toevoegingen vergistte het sap tamelijk goed bij de gebruikte temperatuur van 22°C. Lüthi merkt hierbij op dat het in de praktijk steeds weer blijkt dat bij lagere vergistingstemperaturen een eventueel gebrek aan voor de gist belangrijke stoffen zich juist dan vooral openbaart in gistingstoringen.
- b. Toevoeging van stikstofverbindingen in de vorm van ammoniumsulfaat, aminozuren of pepton gaven geen verbetering in de vergisting.
- c. Toevoeging van 10  $\gamma$  biotine of 3,5 mg meso-inositol/liter gaf een duidelijk betere vergisting.
- d. Toevoeging van alleen 4 mg thiamine/l had de meeste invloed op een betere vergisting. Een combinatie van biotine + meso-inositol + thiamine gaf hetzelfde resultaat als alleen thiamine.
- e. Het beste resultaat werd verkregen met ammoniumsulfaat (200 mg per liter) + biotine + meso-inositol + thiamine.

De onderzoeken tonen nog weer eens de gecompliceerdheid van het probleem. Hij kreeg bij de vergisting van appelsap wel verbetering door het toevoegen van thiamine, terwijl Wikén en Richard geen verbetering in de groei kregen door dit vitamine toe te voegen. Enkele vergistingsproeven met appelsap, in 1954 op het I.B.V.T. uitgevoerd, gaven ook geen verbetering van de gisting (grafiek nr. 4) door toevoeging van 50 mg thiamine per hl. Het is mogelijk dat deze hoeveelheid te gering was. Wel werd een betere gisting verkregen door 30 g ammoniumsulfaat per hl te gebruiken.

Amerikaanse onderzoekers (10) vermelden eveneens dat verschillen in thiaminegehalte van enkele onderzochte appelrassen niet in verband schijnen te staan met verschillen in vergistbaarheid van de daaruit bereide sappen. Zij vonden trouwens veel hogere gehalten in het verse sap (alleen gesterst, zonder verdere behandeling opgeslagen bij



GRAFIEK 4. *Vergistingsproeven met Appelsap.* Invloed van de toevoeging van vitamine B<sub>1</sub> op het gistingverloop. Vergistingstemperatuur 20°C, uitgangsoechsle 72°. Gistingverloop getekend vanaf de tweede droge bijkering.

*Toevoeging stoffen/hl:*

- — — — — geen toevoeging
- - - - - 50 mg vitamine B<sub>1</sub>
- · - · - 30 g (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>
- - - - - 50 mg vit. B<sub>1</sub> + 30 g (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>



-18°C) dan Scheunert en Haenel (zie eerder) nl. 27-87  $\gamma$  per liter sap, afhankelijk van het appelras en oogstjaar.

Evenals bij concentraten gedurende de opslag met verlies aan aminozuren rekening moet worden gehouden, zo is dit ook het geval met vitamines (31). Gedurende een opslag van 9 maanden bij kamertemperatuur liep het gehalte aan Ca-pantothenaat en thiamine van appelsapconcentraat tot meer dan de helft terug. Het gehalte aan pyridoxol bedroeg nog ongeveer 10% van de oorspronkelijke hoeveelheid. Als één van de oorzaken van de slechte vergistbaarheid van appelsapconcentraat na verdunning met water tot normaal appelsap is dus een tekort aan vitamines niet uitgesloten.

Bij de in de vorige bladzijden besproken proeven werd gesproken over groei en vergisting. Zoals reeds eerder werd betoogd zijn dit twee verschillende stofwisselingsprocessen die niet gescheiden naast elkaar kunnen plaatsvinden. Voor een voldoende alcoholische gisting is een zekere hoeveelheid gistcellen nodig en deze hoeveelheid moet telkens worden aangevuld omdat de cellen na verloop van tijd afsterven. Enige groei van de gist is daarom noodzakelijk. Sterke gistgroei is bij het vergistingsproces ongewenst, daar de vruchtenwijnfabrikant er geen belang bij heeft gistmateriaal te oogsten. Hij streeft er steeds naar de suiker zo rationeel mogelijk in alcohol om te zetten. Schanderl schrijft in dit verband (44) dat het vroeger zo dikwijls toegepaste beluchten van het sap alleen slechts in bijzondere gevallen wordt aanbevolen (bijv. bij gistingstoringen). Door veel lucht toe te voeren wordt de ademhaling meer aëroob, waarbij de suiker onder het vrij komen van veel energie verademd wordt tot koolzuur en water. Dit dus in tegenstelling met de gisting waarbij weinig energie vrij komt en de eindprodukten koolzuur en alcohol zijn.

Naast vergistingsproeven met vruchtesappen blijven dus onderzoeken betreffende de groei van de gist voor de vruchtenwijnbereiding van veel belang.

Interessant is het nog te vermelden dat Lüthi (30) door verhitting van peresap de vergistbaarheid hiervan wist te beïnvloeden. Monsters van 500 ml peresap (in hoofdzaak afkomstig van looistofarme tafelperen) werden gedurende 30 minuten op 35, 50, 75 en 98°C verhit en na afkoeling op dezelfde wijze met gistcultuur geënt. Het bleek nu dat in vergelijking met het onverwarmde sap, het 50°C-sap de beste gisting vertoonde, terwijl achtereenvolgens de gisting daarna het beste verliep bij de 75°C, 98°C en 35°C. Hierbij dient opgemerkt te worden dat het gistingsverloop van het bij 35°C behandelde sap praktisch niet verbeterd was t.o.v. het onbehandelde sap. 50°C gaf dus een optimale gisting.

Deze waarnemingen werden door Lüthi ook bij appelsappen uitgevoerd. Er waren duidelijke verschillen te constateren tussen de wel en niet verhitte appelsappen.

### *Samenvatting*

Resumerend kan worden gezegd dat de oorzaak voor een onregelmatige vergisting van appelsap, onder overigens optimale gistingomstandigheden (temperatuur, suikerconcentratie, gistcultuur, enz.), het gevolg is van een onjuiste of onvoldoende samenstelling van het sap, door:

a. de aanwezigheid van remstoffen, bijv. hydroxymethylfurfural, chinonverbindingen;

*b.* de afwezigheid van voldoende stikstofverbindingen. Geschikte stikstofverbindingen waarmee het sap bemest kan worden zijn:  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ ,  $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$  en ureum;

*c.* de afwezigheid van voldoende aminozuren. Aan het sap kunnen toegevoegd worden: asparaginezuur, glutaminezuur, pepton (= mengsel van verschillende aminozuren);

*d.* het ontbreken van voldoende groeifactoren. Deze betreffen vooral het vitamine-B-complex. Geschikte groeifactoren welke aan het sap kunnen worden toegevoegd zijn: biotine, thiamine, meso-inositol. Pantotheenzuur zou ook gebruikt kunnen worden maar brengt het gevaar met zich mede dat de verhouding aërobe ademhaling: anaërobe ademhaling (gisting) meer naar de kant van de aërobe ademhaling verschoven kan worden. De gisting wordt dan dus minder.

Een combinatie van de stoffen genoemd onder *b*, *c* en *d* zou een ideaal „voedingszout” op kunnen leveren voor de vergisting van appelsap. Een dergelijk preparaat is door de „Eidgen. Versuchsanstalt für Obst-, Wein- und Gartenbau” te Wädenswil (Zwitserland) in de handel gebracht onder de naam „Roviform”. Dit preparaat is dus iets anders dan de eerdergenoemde gistautolysaatpreparaten. Het is samengesteld volgens de nieuwste wetenschappelijke gegevens welke werden verkregen bij het vergistingsonderzoek. In Nederland werd dit preparaat volgens mededelingen van vruchtenwijnfabrikanten met wisselend succes gebruikt.

#### 4. ENKELE ANDERE FACTOREN DIE BIJ DE ALCOHOLISCHE VERGISTING VAN VRUCHTESAPPEN VAN INVLOED ZIJN

##### *Invloed van luchttoevoer*

Sedert Pasteur waarnam (56, 1861) dat bepaalde gisten zich bij uitsluiting van de lucht een tijdlang kunnen vermeerderen is er veel onderzoek verricht over de samenwerking tussen groei (vermeerdering) en ademhaling (of gisting) van de gist onder invloed van de concentratie van de lucht.

Het is bekend dat bakkergist, voedergist en vetgist worden bereid door fijnverdeelde lucht door het medium te leiden, waarbij respectievelijk de vermeerdering (bakkergist), de eiwitsynthese (voedergist) en de vetsynthese (vetgist) worden verhoogd. De stofwisseling wordt dus veranderd door toevoer van lucht. Bovendien heeft een verhindering plaats van de ophoping van remmende stofwisselingsprodukten als alcohol en koolzuur, terwijl verder door het stromen van de fijnverdeelde lucht door het medium de gistcellen voortdurend met voedingsstoffen van het substraat in contact zijn.

Bij de wijnbereiding werd vastgesteld dat de toevoer van lucht in een vroeg stadium van de gisting een gunstige werking op de suikerafbraak had (dan ook toename van de vermeerdering van de gist). In latere stadia van de gisting werd geen bevorderende invloed van luchttoevoer waargenomen.

Het is soms gelukt gistingsszwakke gistrassen door kweken bij matige luchttoevoer om te zetten in krachtig vergistende cultures. Het komt echter ook voor dat rassen met een krachtig gistingvermogen dit vermogen verliezen indien ze worden gekweekt bij een

voortdurende rijkelijke luchttoevoer. De hierbij geconstateerde invloed van de luchttoevoer op de verhouding ademhaling : gisting wordt door andere onderzoekers bestreden. Ze konden weliswaar een duidelijke invloed van de beluchtingsomstandigheden op de gas-stofwisseling vaststellen, maar een verhoging van het gistingsvermogen liep parallel met een verhoging van de ademhalingsintensiteit. Was de gistingsnelheid kleiner dan was dit ook het geval met de ademhalingsnelheid. Dus de verhouding ademhaling : gisting had steeds een constante waarde.

In verband met het bovenstaande zij de aandacht nog gevestigd op het zg. „Pasteur-effect” ook wel genoemd het „Pasteur-Meyerhof-effect”. Hieronder verstaat men o.a. dat de gisting in meer of mindere mate onderdrukt wordt in tegenwoordigheid van zuurstof, waarbij dan in de energiebehoefte van de cellen wordt voorzien door de ademhaling. In de laatste jaren werd bewezen dat bij bepaalde microorganismen de gisting juist kan worden gestimuleerd door zuurstof. Dit hangt o.m. af van de voorgeschiedenis van het materiaal. Reeds Beyerinck (1887) vermoedde dat de Pasteurse theorie van de fysiologische equivalentie van de processen (gisting-ademhaling) niet helemaal juist was. Iets zuurstof was altijd nodig, zelfs voor vele obligaat anaërobe microorganismen.

De als facultatief-anaëroob gespecificeerde gisten zijn niet in staat zich op de duur zonder de aanwezigheid van de moleculaire zuurstof voort te planten. Zuurstof stimuleert het gistingsenzymstelsel van de zich in een bepaalde groeifase bevindende gistcellen.

Wikén en medewerkers (56) toonden bij enkele wijngistrassen onder speciale proefomstandigheden aan dat zuurstof bij zeer jonge ( $\pm$  15 uur–20 uur) gistcellen, welke zich dus in een bepaalde groeifase bevonden, het gistingsvermogen stimuleerde in vergelijking met gisting onder streng anaërobe omstandigheden. Deze jonge cellen waren dus t.o.v. de alcoholische gisting niet als anaëroob, maar meer als microaërofiel tot aërobe organismen te beschouwen. Slechts kleine hoeveelheden zuurstof waren nodig om dit verschijnsel waar te nemen. Oude ( $\pm$  63–192 uur) cellen reageerden anders: zowel onder aërobe als anaërobe omstandigheden werd ongeveer dezelfde gistingsnelheid verkregen. Hoogstens werd bij de oudste cultures een klein „Pasteur-Meyerhof-effect” aangetoond.

Op het „Pasteur-Meyerhof-effect” zal niet nader worden ingegaan daar dit verschijnsel nog niet voldoende is doorgrond en nog steeds een onderwerp is van uitgebreid wetenschappelijk onderzoek.

Over het algemeen kan men zeggen dat een matige luchttoevoeging bij de vruchtenwijnbereiding niet tot resultaat heeft dat de gisting slechter zal verlopen. Het is evenwel bij een normale wijnbereiding niet nodig extra lucht toe te voegen. Bij de sapwinning, dus voordat met de eigenlijke vergisting van het sap wordt begonnen, is voldoende lucht in het sap aanwezig om de in het begin van het vergistingsproces benodigde hoeveelheid gist tot ontwikkeling te laten komen. Reeds eerder is medegedeeld dat de vorming van veel gistcellen ten koste gaat van de vorming van alcohol. Ook is het zo dat hoe meer gistmateriaal wordt gevormd des te stormachtiger de gisting verloopt met alle nadelen daarvan.

Wel heeft het zijn voordelen gistcultures te gebruiken die onder beluchtingsomstandigheden zijn gekweekt (44). Deze cultures zijn nl. tot betere gistingsprestaties in staat

dan de cultures die bij het kweken niet belucht zijn. Hun nakomelingschap vermeerderd zich sneller, gist sneller en kan onder ongunstige omstandigheden (bijv. hoog SO<sub>2</sub>-gehalte, hoog suikergehalte, aanwezigheid van azijnzuur) beter vergisten. De beluchting dient met zeer fijn verdeelde lucht te geschieden daar een beluchting met grove luchtbellen geen of nauwelijks effect heeft. Het kan daarom zijn nut hebben de hoeveelheid benodigde aanzetgist, bereid uit de ontvangen wijngistcultuur, te beluchten.

Reeds eerder is vermeld dat het kweken van wijngistcultures onder voortdurende beluchtingsomstandigheden tot gevolg kan hebben dat de stofwisseling zich meer op het aërobie milieu instelt. Het zou dan voor kunnen komen dat de gisting minder goed verliep, vooral in een meer anaëroob milieu, verkregen door bijv. een vruchtesap sterk te zwavelen. Schanderl (44) houdt het dan ook voor een onmogelijkheid dat de zg. sulfietgisten jarenlang met beluchting kunnen worden verder gekweekt zonder dat ze daarbij de eigenschap van hun grote ongevoeligheid voor SO<sub>2</sub> verliezen.

#### *Invloed van koolzuur*

Koolzuur werkt vooral remmend op de vermeerdering van de gist (50). Volgens Müller-Thurgau en andere onderzoekers is reeds een hoeveelheid van 0,25 gew. % koolzuur in wijn voldoende om de groei van de gist te remmen (44). Van deze werking van het koolzuur maakte indertijd (1912) Böhi gebruik om vruchtesappen te conserveren door ze te impregneren met koolzuur (16). 1,5% koolzuur in het vruchtesap opgelost bleek voldoende te zijn voor een voldoende houdbaarheid. Daar deze hoeveelheid onder atmosferische omstandigheden niet in het sap oplost dient het vruchtesap in druktanks te worden opgeslagen. Zoals bekend is geeft 15 g koolzuur per liter sap bij 15°C een overdruk van ongeveer 8 atmosfeer.

Het toepassen van het opslagsysteem volgens Böhi had tot logisch gevolg dat meer onderzoek werd verricht over de invloed van het koolzuur op de activiteiten van de nog in het vruchtesap aanwezige microorganismen. Vooral Schmitthener (1945) leverde hierover waardevolle bijdragen. Zijn resultaten waren in het kort de volgende (44):

- a. Bij 15 g in de vruchtesappen opgelost koolzuur/l ( $\pm$  8 atm. overdruk bij 15°C) bleek inderdaad bij alle onderzochte gistrassen de groei stil te staan. Het was hierbij onverschillig of het sap veel of weinig, jonge of oude gistcellen bevatte.
- b. Eerst bij een overdruk van 30 atm. begonnen de gistcellen af te sterven.
- c. De alcoholvorming (gisting) stond bij 15 g CO<sub>2</sub>/l niet stil. De gevormde hoeveelheden namen toe bij aanwezigheid van meer gistcellen.
- d. De ontwikkeling van melkzuurbacteriën werd bij 15 g CO<sub>2</sub>/l niet geremd.

In verband met het opstellen van kwaliteitseisen voor appelsap heeft men in Duitsland vooral de laatste jaren veel onderzoek verricht over de melkzuurvorming in vruchtesappen welke waren opgeslagen volgens het Böhi-systeem. Zowel deze onderzoekingen als die van Schmitthener leidden tot de ontwikkeling van een gemodificeerde wijze van opslag van vruchtesappen in de druktank. Om de daarbij nog altijd optredende

vorming van alcohol en melkzuur te voorkomen bleek het noodzakelijk te zijn de sappen kiemarm te lageren (44). Dit kan worden bereikt door de sappen vóór het impregneren met koolzuur te filtreren door een EK-filter of door ze te pasteuriseren waarbij dus de microorganismen worden verwijderd, resp. worden gedood. Ook was het in verband met een algemene kwaliteitsachteruitgang van het sap gewenst dit bij lagere temperaturen op te slaan. De temperatuur moet in elk geval beneden 10°C liggen (44). Meestal bedraagt hij 5–6°C. Een opslagtemperatuur van 2°C is niet nodig. Van de ervaringen verkregen bij de tankopslag van vruchtesappen maakte Geisz (16) gebruik, door een zg. „gezügelte” vergisting van sappen in druktanks te ontwikkelen. Hierbij is het hoofddoel een langzame en gelijkmatige vergisting te verkrijgen door een regeling van de druk met koolzuur, dat tijdens de gisting ontstaat. Over het algemeen worden bij snelle en stormachtige gistingen wijnen gevormd die minder in kwaliteit zijn dan wijnen die zijn bereid onder een langzaam plaatsvindende vergisting. De bekende periode van een stormachtige gisting bij een „open” gisting wordt bij de methode van Geisz dus vermeden. Zodra de druk in de druktank te hoog oploopt, en daarbij de gisting te sterk wordt afgeremd, vermindert men de druk door koolzuur te laten ontsnappen, waarna de afsluiter weer wordt dichtgedraaid. Het sap gaat nu weer sterker gisten. Men heeft het op deze wijze zelf in de hand het sap met een bepaalde gistingssnelheid te vergisten. Daar tegen het einde van de gisting deze langzamer verloopt is het ongewenst dan de tank nog onder druk te houden.

Bij de „gezügelte” gisting volgens Geisz is over het algemeen de alcoholopbrengst hoger. Dit is een gevolg van de minder sterke vermeerdering van de gist. Er wordt nu immers minder suiker verbruikt voor de groei van de cellen.

Bij de wijnbereiding wordt de vergisting onder koolzuurdruk reeds hier en daar toegepast, zowel in Duitsland als in bijv. Australië (1). In warme landen schijnt deze vergistingsmethodiek tot teleurstellingen te hebben geleid, daar zonder de gelijktijdige toepassing van lagere vergistingstemperaturen te veel vluchtig zuur werd gevormd. (44). Voor zover bekend wordt Geisz' methodiek niet of nog niet toegepast bij de bereiding van vruchtenwijnen. Het is echter mogelijk dat hierbij goede resultaten verkregen kunnen worden.

#### *Invloed van azijnzuur*

Azijnzuur werkt ongunstig op de alcoholische gisting. Zelfs 1 g azijnzuur per liter geeft reeds een duidelijke vertraging van de gisting bij gelijktijdige aanwezigheid van alcohol (44). Bij het omgisten van een druivenwijn met een azijnzuurgehalte van 3,2 g/liter bleek de gisting 37 dagen vertraagd te worden. Bovendien bedroeg de vergisting slechts 1/4–1/3 in vergelijking met het omgisten van het wijnmonster dat nauwelijks azijnzuur bevatte (44).

Voor al Porchet (42) heeft uitgebreide onderzoeken verricht over de invloed van azijnzuur op de alcoholische gisting bij aanwezigheid van alcohol. Hij vond ook dat slechts kleine hoeveelheden azijnzuur de gisting remden en adviseert daarom er toch vooral op toe te zien dat zich bij de wijnbereiding geen azijnzuurvormende bacteriën kunnen ontwikkelen.

Eveneens vonden Wikén en Pfennig (57) bij onderzoeken over de invloed van spe-

ciale bufferoplossingen op de aërobe en anaërobe vergisting van glucose door jonge en oude cellen van het gistras „Fendant” dat de alcoholische gisting door azijnzuur werd geremd.

Uit het bovenstaande blijkt dat het weer op gang brengen van de gisting van vruchtenwijnen met zelfs een matige azijnzuursteek praktisch onmogelijk is. Pogingen om op het I.B.V.T. ontvangen licht azijnzuurstekige vruchtenwijnmonsters die in de gisting waren blijven steken, weer aan het gisten te brengen leidden dan ook in de meeste gevallen tot negatieve resultaten.

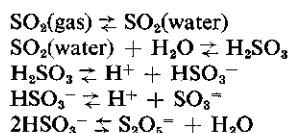
#### *Invloed van zwaveldioxyde (SO<sub>2</sub>) en elementaire zwavel*

Het zwaveldioxyde kwam reeds ter sprake bij de pulpginging en de glycerinevorming gedurende de alcoholische gisting.

Sedert de middeleeuwen maakt men bij de wijnbereiding al gebruik van zwaveldioxyde (44). Vroeger beschouwde men het SO<sub>2</sub> praktisch uitsluitend als antisepticum waarbij het dus functioneerde als middel om ongewenste microörganismen te vernietigen. In de loop der jaren heeft men het echter in de wijnbereiding leren kennen als een chemische stof met verschillende eigenschappen. Ondanks de reusachtige ontwikkeling van de chemie kan men gerust zeggen dat er nog geen middel is dat het zwaveldioxyde bij de wijnbereiding geheel kan vervangen (52).

De oudste vorm van het zwavelen bestaat uit het verbranden van vaste zwavel, die ten behoeve van de wijnindustrie als zwavellint, zwavelringen, enz. in de handel komt (50). In zuurstof of lucht verbrandt de zwavel met een blauwe vlam waarbij het SO<sub>2</sub> ontstaat. Voor zover bekend, wordt deze wijze van zwavelen weinig meer toegepast daar het verschillende nadelen heeft (dosering moeilijk; alleen lege of gedeeltelijk lege vaten kunnen worden gezwaveld; soms afdruipen van vloeibare zwavel (50)).

Zwaveldioxyde is een gas met de welbekende typische reuk en smaak. Het is in water gemakkelijk oplosbaar waarbij het zich gedraagt als een zuur. Men neemt hierbij aan dat zwaveligzuur wordt gevormd, alhoewel men het H<sub>2</sub>SO<sub>3</sub> nooit heeft kunnen afzonderen (19). Een groot gedeelte van het zwaveldioxyde blijft als zodanig in oplossing, ongeveer 20–50%. Hoe hoger de temperatuur is des te meer SO<sub>2</sub> ongebonden blijft. Door oxydatiemiddelen en door lucht wordt SO<sub>2</sub> in SO<sub>3</sub> omgezet. In waterige oplossing heeft deze oxydatie reeds bij gewone kamertemperatuur plaats. In de waterige oplossing bestaat een evenwicht tussen verschillende vormen van SO<sub>2</sub> (1):



Al deze vormen van SO<sub>2</sub> worden vrij SO<sub>2</sub> genoemd. Het bisulfiet-ion HSO<sub>3</sub><sup>-</sup> kan echter reageren met o.a. aldehyden, pectinestoffen, suikers, enz. waarbij het gebonden SO<sub>2</sub> ontstaat. Vooral is er een voorkeur voor de binding met aldehyden. Verder bindt SO<sub>2</sub> zich eerder met glucose dan met fructose, hetgeen veroorzaakt wordt doordat glucose een aldehyd- en fructose een keton-suiker is. De verhouding vrij: gebonden SO<sub>2</sub> is van verschillende factoren als temperatuur, hoeveelheid aldehyden, hoeveelheid suikers en pH afhankelijk. Vooral het vrije SO<sub>2</sub> werkt antiseptisch.

Als antisepticum wordt het  $\text{SO}_2$  in de vruchtenwijnbereiding gebruikt voor het desinfecteren van vaten, flessen, kurken enz. Bij de eigenlijke gisting functioneert het meer als een middel om de ontwikkeling van microorganismen af te remmen, omdat het daarbij slechts in kleine hoeveelheden wordt gebruikt in de orde van grootte van 100–200 d.p.m. (44).

Door toevoeging van deze geringe hoeveelheden  $\text{SO}_2$  wordt het te vergisten ruwe vruchtesap meer geschikt gemaakt voor de echte wijngisten. Het werkt in eerste instantie remmend op de ontwikkeling van alle in het vruchtesap aanwezige microorganismen. Deze remming geschiedt in hoofdzaak doordat het  $\text{H}_2\text{SO}_3$  en de  $\text{HSO}_3^-$ - en  $\text{SO}_3^-$ -ionen als zuurstofacceptoren functioneren, waarbij dan  $\text{SO}_4^{2-}$  ontstaat (44). Het  $\text{SO}_2$  stuwt de stofwisseling in een meer anaërobe richting. Vooral de zuurstofminnende microorganismen zoals azijnzuurbacteriën en vele schimmels worden onderdrukt. Ze zijn meestal helemaal niet meer tot ontplooiing van enige activiteit in staat. Ook de gisten welke meer tot het aërobe ademhalingsstype behoren (gistingsszwakke rassen) worden onderdrukt waardoor de gisten van het gistingstype minder concurrentie hebben te vrezen. De kleine hoeveelheden ademhalingszuurstof die ook de echte wijngisten vooral in het begin van de gisting nog wel nodig hebben worden verkregen door reductie van zuurstofrijke verbindingen als sulfaten en sulfieten (44). Hierbij kan de gist dus zelf kleine kwanta  $\text{SO}_2$  maken. De reductie gaat zelfs door tot elementaire zwavel en zwavelwaterstof ( $\text{H}_2\text{S}$ ). Volgens Macher (33) heeft zwavelwaterstof geen nadelige gevolgen voor de activiteit van de gist. Integendeel, wordt veel  $\text{H}_2\text{S}$  gevormd dan duidt dit op een gist met een grote gistingsskracht. De  $\text{H}_2\text{S}$ -vorming kan verschillend zijn voor de verschillende gistrassen. Ook kan bij hoge vergistingstemperaturen meer  $\text{H}_2\text{S}$  ontstaan dan bij lagere temperaturen. Verder verloopt de reductie van  $\text{SO}_4^{2-}$ -ionen over het algemeen moeilijker dan die van sulfiet-ionen.

Toevoeging van 200–300 mg  $\text{SO}_2$ /liter doodt de gisten niet, ze worden alleen geremd. Zelfs met 600 mg  $\text{SO}_2$ /liter blijft altijd nog ongeveer 1/3 deel van de gistcellen in leven. De zonder  $\text{SO}_2$ -toevoeging gekweekte gistrassen zijn gevoeliger voor  $\text{SO}_2$  dan de met  $\text{SO}_2$ -toevoeging in cultuur gehouden rassen. De  $\text{SO}_2$ -tolerante gisten kunnen tot 1000 mg  $\text{SO}_2$ /liter verdragen. Onder bepaalde omstandigheden kan zelfs *Saccharomyces ludwigii* Hansen sap met 2000 mg totaal  $\text{SO}_2$  (500 mg vrij  $\text{SO}_2$ ) nog aan het gisten brengen. Het betreft hier een grootcellige z.g. *Apiculatus*- (citroen-) gist, die weinig gistingsskrachtig is. Hij produceert hoogstens 8,8 vol. % alcohol. De grote resistentie tegen  $\text{SO}_2$  is mogelijk doordat deze gist in sterke mate in staat is sulfieten te reduceren, waarbij elementaire zwavel wordt gevormd die in de cellen wordt opgeslagen. Vooral tegen het einde van de gisting komt deze zwavel ten dele vrij als  $\text{H}_2\text{S}$ . Door deze gist kan men het sap dus langs biologische weg ontzwavelen. In Spanje schijnt deze gist te worden gebruikt om sterk gezwaveld vruchtesap in gisting te brengen, waarna men met een normale wijngist verder gaat gisten (44).

De aanwezigheid van alcohol versterkt de ontwikkelingsremmende werking van  $\text{SO}_2$ . Ook azijnzuur verhoogt deze werking.

Zoals eerder werd vermeld is het  $\text{H}_2\text{SO}_3$  in meer of mindere mate in ionen gedissocieerd. Deze dissociatie is onder meer van de pH afhankelijk. Bij hoge pH is meer  $\text{H}_2\text{SO}_3$  gedissocieerd dan bij lage pH. De remmende werking nu, heeft vooral het niet in ionen gedissocieerde  $\text{H}_2\text{SO}_3$ . Hieruit volgt dat bij een lage pH de werking van het

$\text{H}_2\text{SO}_3$  veel effectiever is dan bij een hoge pH. Over het algemeen kunnen de gewone wijngisten tot 4 mg ongedissocieerd  $\text{H}_2\text{SO}_3$ /liter verdragen, de sulfietgisten tot 7,15 mg/liter. De bij de dissociatie ontstane  $\text{HSO}_3^-$ - en  $\text{SO}_3^{=}$ -ionen komen dus t.a.v. de biologische werkzaamheid op de tweede plaats. Bij stijgende pH worden deze echter ook steeds meer in de vorm van zouten gebonden zodat ze geen werking meer hebben als ontwikkelingsremmende middelen (44).

Elke toevoeging van  $\text{SO}_2$  veroorzaakt een vertraging van het begin van de eigenlijke gisting, welke verschillend is t.a.v. het gebruikte gistras en de  $\text{SO}_2$ -gift. Daarna is evenwel het gistingsverloop hetzelfde. Bij hogere doses  $\text{SO}_2$  verloopt de gistingscurve zelfs steiler. In tegenstelling tot de remming schijnen zeer kleine hoeveelheden (bijv. 20 mg/liter)  $\text{SO}_2$  de gisting te stimuleren (44).

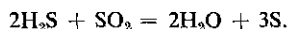
Wordt aanzienlijk sterker gezwaveld dan met 200 mg  $\text{SO}_2$ /liter dan duurt het lange tijd voordat het sap in gisting komt. Het is evenwel met elke gistcultuur normaal te vergisten. Na deze gisting kan men een sterke vermindering van het  $\text{SO}_2$  aantonen. Dit wordt weer veroorzaakt doordat het  $\text{H}_2\text{SO}_3$  en de zouten daarvan door de gist worden gereduceerd tot elementaire zwavel dat in het celplasma wordt opgelost (zwavelolie). Bij verder voortschrijdende reductie ontstaat  $\text{H}_2\text{S}$  en dit zwavelwaterstofgas wordt met de gistingsgassen uit de vloeistof verwijderd. Het later gevormde gistdepot kan er geelbruin uitzien door de intracellulair opgeslagen zwavel. Een bruinrode kleur kan ontstaan bij aanwezigheid van koper waarbij koper-sulfide wordt gevormd. Is het gistdepot zwartachtig dan duidt dit op de vorming van ijzer-sulfide. Bij lange opslag van de gist in gezwavelde ijzerhoudende wijnen kunnen zelfs vuil-violetten ijzerpolysulfiden ontstaan (44).

Zeer kleine hoeveelheden elementaire zwavel ( $\text{S}_8$ ) bevorderen de vermeerdering van de gist in de beginperiode van het gistingsproces als de gist zich vermeerderd (vermeerderingsfase). In deze periode vertraagt reeds 1 mg  $\text{S}_8$ /liter. Wordt  $\text{S}_8$  toegevoegd aan een reeds gistende (gistingsfase) gistcultuur, in welke periode de gist een grote reductieve kracht heeft, dan werken zelfs grotere hoeveelheden niet meer remmend. Er heeft dan weer reductie plaats tot  $\text{H}_2\text{S}$  dat met de gistingsgassen uit de vloeistof wordt verwijderd. De sterkste remming heeft fijnverdeelde elementaire zwavel bij de omgisting van wijnen (44).

Fijnverdeelde zwavel kan in de wijn aanwezig zijn (44):

a. Doordat bij het zwavelen in vaten bijv., vaste zwavel wordt verbrand. Een deel van de zwavel kan daarbij verdampen en op de koude vatwand sublimeren.

b. Doordat  $\text{H}_2\text{S}$ -houdende wijnen met  $\text{SO}_2$  worden behandeld met de bedoeling het  $\text{H}_2\text{S}$  te verwijderen. Hierbij ontstaat zwavel aldus:



c. Doordat bij wijnen met dode gistcellen waarin zich zwavelbolletjes bevinden, deze na het afsterven vrij komen.

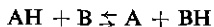
d. Doordat het fruit, waaruit het vruchtesap werd gewonnen, was behandeld met zwavelhoudende bestrijdingsmiddelen.

In bovenstaande uiteenzettingen is verscheidene keren gesproken over oxydatie en reductie. Dit geschiedde vooral i.v.m. bepaalde opvattingen van Schanderl (44), die

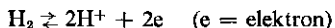


van mening is dat voor een verklaring van de werking van het  $\text{SO}_2$  bij de alcoholische gisting, reductie-oxydatie-systemen niet buiten beschouwing kunnen worden gelaten. Ook andere problemen zoals bijv. het muizelen van wijn, worden door hem verklaard vanuit de gezichtshoek van redoxsystemen. In verband hiermede is het gerechtvaardigd zeer in het kort enkele mededelingen te doen over het begrip redoxpotentiaal en het daarvan afgeleide symbool rH.<sup>1)</sup> Het is nog de vraag of een vaststelling van de rH voor de vruchtenwijnbereiding van praktische betekenis is. Op bescheiden wijze vindt dit blijkbaar toepassing bij de wijnbereiding.

Bij de verschillende enzymatische omzettingen van suiker gedurende de alcoholische gisting werd er op gewezen dat deze in wezen terug zijn te brengen tot aan elkaar gekoppelde reducties en oxydaties, welke reversibel kunnen verlopen. Men kan dit duidelijk maken met de volgende evenwichtsreactie (39):



Bij het verlopen van de reactie van links naar rechts reduceert de verbinding AH verbinding B tot BH waarbij tegelijkertijd AH wordt geoxydeerd tot A. Omgekeerd wordt bij de reactie van rechts naar links A gereduceerd tot AH onder gelijktijdige oxydatie van BH tot B. Nu betekent oxydatie afgifte en reductie opname van elektronen zodat de redoxverschijnselen zijn terug te voeren op een transport van elektronen. De redoxpotentiaal, waarbij de elektronen-verschuivingen plaatsvinden is bij de verschillende chemische reacties verschillend. De potentialen, die hier optreden, kan men elektro-metrisch bepalen en in voltages aangeven. De redoxpotentiaal nu is het potentiaalverschil tussen een edelmetaalelektrode en de oplossing waarin zich het redoxsysteem bevindt, gemeten t.o.v. de normaal-waterstofelektrode. De redoxpotentiaal blijkt af te hangen van de verhouding van de concentraties van de gereduceerde en de geoxydeerde component van een redoxsysteem. De redoxpotentiaal is verder soms afhankelijk van de pH van het reactiesysteem, nl. in die gevallen, dat de waterstof-ionen het evenwicht mede bepalen, hetgeen voor sappen meestal wel het geval zal zijn. Worden metingen verricht met een waterstofelektrode (= Pt-elektrode met geplatineerd oppervlak, waarlangs waterstofgas van meestal 1 atm. borrelt) bij verschillende waterstofdrukken, dan blijkt dat de potentiaal bij constante pH afhangt van de druk van het waterstofgas. Bij een waterstofelektrode bepaalt het volgende redoxsysteem de potentiaal:



De reductie-kracht van redoxsystemen kunnen nu gekarakteriseerd worden door ze te identificeren met waterstof-elektroden met verschillende waterstofgasdrukken. De potentiaal van de normaalwaterstofelektrode (0 mVolt bij pH = 0 en 1 atm.  $\text{H}_2$ -druk) wordt hierbij als maximale reductiekracht aangenomen en die van een zuurstofelektrode (+ 1,236 Volt bij pH = 0 en 1 atm.  $\text{O}_2$ -druk) als minimum reductiekracht. Theoretisch is te berekenen dat de zuurstofelektrode in evenwicht is met een waterstofspanning van  $10^{-41}$  atm. Hieruit volgt, dat een redoxsysteem kan worden gekarakteriseerd door de druk van een waterstofelektrode gelegen tussen  $10^{-41}$  en 1 atm.

<sup>1)</sup> Voor meer uitvoerige beschouwingen betreffende de redoxpotentiaal wordt verwezen naar de vakliteratuur zoals bijv. W. Bladergroen: *Physikalische Chemie in Medizin und Biologie*; 2de druk; 1949; hoofdstuk XII, blz. 523 e.v.

De waarden voor deze  $H_2$ -druk geven geen prettige bruikbare getallen en daarom heeft men, evenals bij de pH, de negatieve logaritmen hiervan genomen, waarvoor Clark (39) het symbool rH heeft ingevoerd. De rH loopt dus van 41 tot 0. Zowel de redoxpotentiaal als de rH is een maat voor de reductiekracht van een redoxsysteem. Een hoge rH-waarde duidt op een zwakke reductie- en een grote oxydatiekracht van een redoxsysteem. Om bepaalde, hier niet nader te noemen redenen, heeft Clark later het gebruik van het symbool rH weer ontraden.

De reductie-kracht van levende cellen kan men bepalen met zg. redoxindicatoren. Dit zijn kleurstoffen waarvan de kleur zich wijzigt bij verandering van de redoxpotentiaal. Zonder noemenswaardige beschadiging kunnen ze in verdunde vorm in een medium met levende cellen worden gebracht. Door redoxindicatoren met verschillende redoxpotentialen te gebruiken kan men bij benadering de reductiekracht van de levende cellen bepalen.

Keren we nu terug tot de toevoeging van  $SO_2$  aan het te vergisten sap. Daar  $SO_2$  een reductiemiddel is, heeft deze toevoeging tot gevolg dat de rH van het medium wordt verlaagd, meer anaëroob wordt, en dus de richting waarin de stofwisseling van de microorganismen zich zal voltrekken beïnvloedt. Vruchtesappen met een rH-waarde van 20,2 vergisten vlugger dan die met een rH-waarde van 18,2 (1).

Bij de sulfiet-gisten is niet het belangrijkste dat ze tamelijk resistent zijn tegen  $SO_2$ . Volgens Schanderl (44) is dit uitsluitend een kwestie van het bestand zijn tegen en wennen aan een lage rH-waarde. Dezelfde werking als met  $SO_2$  verkreeg hij namelijk ook met andere reductiemiddelen als bijv. ascorbinezuur.

Als laagste rH-waarde werd in de anaëroob gegroeide gistcel 4,8 gevonden (44). Hieruit blijkt dat de gist een grote reductiekracht heeft. Men maakte van deze eigenschap vroeger een veelvuldig gebruik door luchtgevoelige wijn met gist te behandelen waardoor de wijn een grotere reductiekracht kreeg en beter bestand werd tegen lucht-oxydatie. Het volgende tabelletje (44) maakt dit duidelijk, waarbij de wijn met oude en jonge gist werd geklaard:

	Uitgangs-rH wijn: 20,78 rH-wijn na behandeling	
	met oude gist	met jonge gist
na 24 uur . . . . .	19,54	18,47
na 48 uur . . . . .	19,30	18,20
na 72 uur . . . . .	18,82	17,07

Uit dit staatje blijkt vooral de grote reductie-kracht van de jonge gistcellen. Bovenstaande rH verlaging bereikt men ook door het toevoegen van  $SO_2$  en wel met 200 mg en 450 mg  $SO_2$ /liter voor resp. de oude en de jonge gistcellen.

Een praktische methode voor het vaststellen van de rH-waarde van een wijn, met de bedoeling na te gaan of deze voldoende reductief is, is de bepaling van de zg. ITT (indicator-time-test)-waarde. Voor de bepaling in wijn is deze methode vereenvoudigd door Koch (25). Onder de ITT-waarde van een wijn wordt verstaan de in seconden gemeten tijd, waarin de kleurstof 2,6-dichloorfenol-indofenol in een bepaalde concentratie toegevoegd, door de in de wijn aanwezige reducerende stoffen voor 80% ont-

kleurd wordt. De ITT-waarde geeft dus inlichtingen over de al of niet aanwezigheid in de wijn van voldoende reducerende stoffen (ook  $\text{SO}_2$ ) om tegen oxydatie beschermd te zijn. Een hoge ITT-waarde duidt op een grote gevoeligheid voor oxydatie, terwijl een lage waarde een geringe oxydatiegevoeligheid aangeeft. Een ITT-waarde van 120 is goed, de wijn bevat voldoende hoeveelheid reducerende stoffen. Daarboven is dit onvoldoende, terwijl de waarden daaronder kunnen aanduiden dat teveel vrij  $\text{SO}_2$  in de wijn aanwezig is.

T.a.v. de bepaling van de ITT-waarde bij vruchtenwijnen zij medegedeeld dat dit in Nederland een enkele keer in een bedrijf werd toegepast. Hierbij lag het in de bedoeling na te gaan of de wijn te sterk gezwaveld was of dat nog  $\text{SO}_2$  moest worden toegevoegd. De resultaten waren niet bevredigend. Afgewacht moet daarom nog worden of het voor de vruchtenwijnbereiding uit praktische overwegingen zin heeft zich bezig te houden met het vaststellen van de reductieintensiteiten van vruchtenwijnen.

#### *Invloed van enkele metalen op de gisting*

IJzer (44). Bij de normale vergisting van vruchtesappen wordt deze niet door ijzer beïnvloed, zelfs niet indien het ijzergehalte relatief hoog is. Wel kunnen moeilijkheden optreden bij omgistingen van wijnen. Dit is reeds mogelijk bij aanwezigheid van betrekkelijk geringe hoeveelheden ijzer.

Schanderl heeft aangetoond dat deze gistingsstoringen samenhangen met de zwavelhuishouding van de gist, waarbij ook de redoxpotentiaal een rol speelt. Hij stelde dit vast na jarenlange onderzoeken bij champagnewijnen. Het bleek hem dat ijzer bij de omgistingen alleen dan een gistingsstoring teweegbracht, indien de wijn ook nog óf elementaire zwavel, zwavelolie of zwavelwaterstof bevatte óf dat de gist door sulfiet- of sulfaatreductie gelijktijdig zwavelwaterstof vormde.

Koper (44). Koper speelt als storingsfactor bij de gisting amper een rol. Het lost in normale wijn nauwelijks op omdat koper dit slechts doet bij hoge rH-waarden en de wijn een meer reductief milieu heeft, hetgeen zeker het geval is als nog  $\text{SO}_2$  aanwezig is. Bij een gehalte tot 15 mg Cu/liter heeft het koper geen invloed op de gisting. Hieruit volgt dat slechts in extreme gevallen gistingsstoringen door koper kunnen worden verwacht. Volgens de onderzoeken van Ribéreau-Gayon (44) is het eventueel in de wijn opgeloste koper in de cupri-vorm aanwezig. Daar gedurende de gisting het milieu meer reductief wordt door een verlaging van de redoxpotentiaal gaat cupri over in cupro, waarbij het koper in deze vorm neerslaat. Bij de reductie van de cupri-ionen tot cupro-ionen en ook bij die van ferri- tot ferro-ionen kunnen de cupri- en ferri-ionen een rol gaan spelen als zuurstof-donatoren. Een langzame oxydatie van de in de wijn aanwezige zuurstofacceptoren is hiervan een gevolg. Bij zuurstofgebrek kunnen ook de gistcellen hiervan profiteren.

Aluminium. Wordt vruchtesap lange tijd in een onbekte aluminium tank opgeslagen dan lost aluminium op. Koch en Breker (23) vonden dat het aluminiumgehalte van appelsappen, opgeslagen in onbekte aluminiumtanks gedurende 6 maanden bij  $20^\circ\text{C}$ , afhing van de verhouding oppervlakte: inhoud van de tank. Bij een grotere

verhouding vond men begrijpelijker wijze meer aluminium in het vruchtesap. De gehalten varieerden van 92,5–172,5 mg Al/liter appelsap. Schanderl (44) stelde vast dat bij de vergisting van vruchtesap eerst door 500 mg Al/liter de gisting werd gestoord. Bij omgistingen van wijn echter, had reeds een gehalte van 25 mg Al/liter een nadelige invloed op de gisting waarbij deze traag ging verlopen.

Uit de bovenstaande beschouwingen blijkt dus dat bij de normale vergisting van vruchtesap tot vruchtenwijn de metalen slechts in uitzonderlijke gevallen invloed hebben op de alcoholische gisting. Is de vruchtenwijn echter in de gisting blijven steken of moeten vruchtenwijnen worden omgegist dan is ter dege rekening te houden met het ijzer-, koper- en aluminiumgehalte van de wijn. Het dan niet goed willen gisten kan worden geweten aan een te hoog metaalgehalte.

### *Invloed van de suikerconcentratie*

Daar het suikergehalte van vruchtesappen te laag is voor het verkrijgen van vruchtenwijnen met hoge percentages alcohol, is het nodig dat suiker wordt toegevoegd. De toe te voegen hoeveelheid hangt af van het alcoholgehalte dat men wenst te verkrijgen en het eigen suikergehalte van het vruchtesap. Voor het bereiden van een vruchtenwijn met een alcoholgehalte van 15 vol. % (=  $\pm 120$  g/liter) is 250–260 g totaal suiker per liter te vergisten vloeistof nodig. Eerder werd immers aangetoond dat 100 g suiker bij de vergisting van vruchtesappen een alcoholopbrengst geeft van 46–47 g. Dikwijls gist men tot een zo hoog mogelijk alcoholgehalte door, bijv. tot 18 vol. % (=  $\pm 143$  g alcohol/liter). Hiervoor is aan totaal suiker nodig ongeveer 300 g/liter. Geeft men dan bovendien ook nog wat extra suiker voor het bereiden van direct al een enigszins zoet produkt, dan is inmiddels reeds een suikerpercentage verkregen van meer dan 30%. Vloeistoffen met een suikergehalte van 15–20% vergisten nog uitstekend. Meer dan 25% suiker geeft reeds een aanzienlijke vertraging van de gisting te zien. Deze begint slepend te verlopen en komt na verloop van tijd tot stilstand. Ter voorkoming van gistingstoringen als gevolg van een te hoge suikerconcentratie is het daarom nodig de benodigde hoeveelheid suiker niet ineens in het te vergisten sap op te lossen. Men doet dit in trappen en begint het vergistingsproces met een suikergehalte van ten hoogste 20%. Yang (58) beveelt aan als maximale initiale suikerconcentratie 16%. Nadat het sap in flinke gisting verkeert wordt de rest van de suiker of een gedeelte daarvan, toegevoegd. Is deze overblijvende hoeveelheid suiker nl. te groot zoals het geval is bij de bereiding van zeer hoog-alcoholische vruchtenwijnen dan moet ook het restant suiker niet in een keer worden gegeven, zodat een tweede keer bijgesuikerd moet worden. Dit trapsgewijze toevoegen van de suiker heeft het grote voordeel dat het vergistingsproces ongestoord verloopt. Het spreekt vanzelf dat, indien de suiker in vaste vorm wordt gegeven en niet als suikeroplossing, de suiker eerst in een kleine hoeveelheid van de gistende vruchtenwijn moet worden opgelost, waarna deze als oplossing wordt toegevoegd. Gebeurt dit niet dan blijft vaste suiker lange tijd op de bodem van het vat of de tank liggen, waarbij plaatselijk toch nog hoge suikerconcentraties ontstaan, de gisting daardoor gaat slepen en het ontstaan van melkzuursteek niet ondenkbeeldig is. De laatste tijd worden het I.B.V.T. vragen gesteld betreffende de vergistbaarheid van

glucose t.o.v. die van saccharose. In verband met datgene wat besproken is bij de chemische omzettingen van het vergistingsproces, mag verwacht worden dat de mono-suikers glucose en fructose iets gemakkelijker en sneller vergisten dan de di-suiker saccharose. Zoals aangetoond werd, wordt saccharose immers eerst langs enzymatische weg hydrolytisch gesplitst in glucose en fructose. Hierbij moet worden opgemerkt dat door het zure milieu van het vruchtesap de saccharose ook direct al na het toevoegen in meer of mindere mate gaat inverteren, waarbij dus eveneens de mono-suikers glucose en fructose ontstaan. Daar bovendien de vruchtesappen van nature altijd wel mono-suikers bevatten zijn dus ook bij het gebruik van saccharose i.p.v. glucose steeds in het begin van het vergistingsproces al zeer geschikte vergistingssubstraten beschikbaar. Alhoewel ons geen gegevens daarover bekend zijn, zal het gebruik van glucose i.p.v. saccharose dus waarschijnlijk geen winst opleveren t.a.v. een verkorting van de vergistingsperiode.

Glucose bevat verder kristalwater en saccharose niet. Volgens opgave van een glucose-fabrikant hier te lande bedraagt het kristalwatergehalte 8%. Volgens bestaande chemische tabellen zou dit 10% moeten zijn. Hieruit volgt dat voor vergistingsdoeleinden iets meer glucose dan saccharose gebruikt zou moeten worden.

De vergistbaarheid van glucose en fructose schijnt verschillend te zijn (1). De meeste wijngisten vergisten glucose sneller dan fructose. Een zekere Sauterne giststam evenwel, vergist fructose sneller. Men vond ook dat glucose sneller werd vergist dan fructose indien de vruchtesappen 17–20% aan reducerende suikers bevatten. Tussen 20 en 25% werden beide suikers in dezelfde mate vergist, terwijl bij hogere suikerconcentraties fructose sneller werd omgezet.

Uit bovenstaande gegevens blijkt dat de eventuele verschillen in vergistbaarheid van de suikers saccharose, glucose en fructose een probleem is met een gecompliceerde structuur.

Tenslotte zij nog vermeld dat er ook gisten bestaan die in media met zeer hoge suikerconcentraties (60% en hoger) kunnen groeien en deze siropen zelfs kunnen vergisten. In de meeste gevallen geschiedt dit vergisten uiterst langzaam.

### *Invloed van de temperatuur*

In het algemeen ligt de temperatuur voor een optimale ontwikkeling van en gisting door wijngisten bij 22–27°C (44). Bij lagere temperaturen verlopen deze processen langzamer, soms wel eens te langzaam volgens de mening van de vruchtenwijnfabrikant. Vergistingstemperaturen van omstreeks 15°C geven eveneens uitstekende resultaten. Wel is het van belang dat vooral het dikwijls zo moeilijk vergistbare appelsap zo snel mogelijk in gisting komt. Het zou anders kunnen gebeuren dat ongewenste microorganismen zich gingen ontwikkelen. Zeer geschikt is dus een vergistingstemperatuur van rondom de 20°C of iets hoger bijv. tot hoogstens 22°C. Bij hogere vergistingstemperaturen verloopt de gisting inderdaad sneller, maar dit heeft het nadeel dat de activiteit van de gisten reeds snel vermindert door de vorming van alcohol. Dit stofwisselingsprodukt werkt nl. bij hogere temperaturen meer remmend op de gist dan bij lagere temperaturen.

Schanderl (44) toonde aan dat bij een temperatuur van 50°C voor een wijn met 10 vol.

% alcohol een inwerkingstijd van 5 minuten voldoende was om alle aanwezige gistcellen te doden.

Het is bekend dat bij de gisting energie vrijkomt in de vorm van warmte. Dit betekent dat gedurende het gistingproces de gistende vloeistof een hogere temperatuur heeft dan die van de omgeving. Müller-Thurgau (44) vond bij een keldertemperatuur van 13°C de volgende temperaturen in houten vaten met gistende wijn:

vat van 600 liter . . . . .	19–22°C
vat van 1200 liter . . . . .	21–25°C
vat van 4800 liter . . . . .	30°C
vat van 7200 liter . . . . .	33°C

Uit bovenstaande cijfers volgt dat gedurende de gisting de gistende vloeistof moet worden gekoeld, de gisting in elk geval moet worden afgeremd. Bij hoge vergistingstemperaturen ontstaan dikwijls aanzienlijke verliezen aan alcohol van wel 1,5% en meer (1).

Vergisting bij zeer lage temperaturen (4°C) is mogelijk door hierbij gebruik te maken van speciale gistrassen die ook bij deze temperatuur nog een redelijke vergisting van het vruchtesap tot stand brengen. Wel is de gisting langzamer, maar sneller dan bij de vergisting met normale wijngistcultures. Vergisting bij een dergelijke lage temperatuur geeft een betere kwaliteit wijn. Appelwijn op deze wijze bereid (oriënterende proef I.B.V.T., 6°C, met een gewone wijngist) gaf een uitstekend produkt. Verder wordt bij lage temperatuur meer alcohol geproduceerd terwijl de ontwikkeling van schadelijke microorganismen wordt onderdrukt (44). Het toepassen van een vergisting bij een lage temperatuur van 4°C voor de bereiding van bijv. appelwijn zal in Nederland weinig zin hebben. Reeds eerder werd immers opgemerkt dat zuivere onversneden vruchtenwijnen van appel weinig in Nederland worden gevraagd.

#### *Invloed van het vergroten van de „inwendige oppervlakte” van het te vergisten medium*

Men kan vaststellen dat over het algemeen troebel vruchtesap sneller doorgist dan hetzelfde heldere sap (44), vooropgesteld dat beide sappen t.a.v. de voor de gisting vereiste voedingsstoffen dezelfde samenstelling bezitten of tenminste deze in beide gevallen in voldoende mate bevatten. Men zou zich kunnen voorstellen dat bij een klaring van het sap het gehalte aan belangrijke en toch al in minimale hoeveelheden aanwezige voedingsstoffen (bijv. bij appelsap) nog geringer wordt. Het is immers mogelijk dat door de klaring deze stoffen in meer of mindere mate worden verwijderd.

Met het bovengenoemde verschijnsel is de vruchtenwijnfabrikant bekend, getuige het feit dat hij in voorkomende gevallen het té heldere te vergisten vruchtesap meer troebel maakt door het toevoegen van infusoriënaarde, asbest-cellulose vlokken e.d., met de bedoeling de vergistbaarheid van het sap op te voeren, de mate van alcoholische gisting te verhogen.

Een verklaring voor de betere vergisting van het troebele vruchtesap is de volgende. De troebele bestanddelen zijn kernen waaraan koolzuurbelletjes ontstaan die, nadat ze voldoende groot zijn geworden door het sap ontwijken (44, 59). Hierdoor wordt het koolzuur gedurende de gisting vlot afgevoerd, hoopt zich dus minder in het sap op en wordt een gistingssremming door teveel koolzuur voorkomen. (Vergelijk ook:

schoon en vuil glas met koolzuurhoudende drank; een schepje suiker toegevoegd aan een koolzuurhoudende drank doet meteen veel koolzuur ontwijken).

Door genoemde verklaring is het te begrijpen dat de vergisting in kleine vaten vlotter verloopt dan die in grote vaten. De eerste hebben immers een veel groter „inwendig oppervlak” in verhouding met de inhoud dan grotere vaten (44).

Verder is het waarschijnlijk dat de gisting in een geëmailleerde tank trager zal verlopen dan die in een gewoon houten vat omdat, door de vele oneffenheden van de ruwe vatwand de inwendige oppervlakte hiervan groter is dan die van de gladde emaillewand. In dit verband zal het ook verschil uitmaken of een vat al of niet inwendig is geparaffineerd.

Tenslotte zij nog opgemerkt dat gedurende het vergistingsproces het aantal gistcellen zich vergroot, waarbij dus ook de „inwendige oppervlakte” van de vloeistof groter wordt. Door deze vergroting moet het gisten dan beter gaan verlopen.

### *Invloed van het gebruik van reine gistcultures*

Het bereiden van vruchtenwijnen geschiedt in Nederland veelvuldig door gebruik te maken van zuivere gistcultures van echte wijngisten. Hierbij wordt een spontane vergisting van het vruchtesap vermeden. Dit zou een te groot risico geven bij de productie van de veelal hoog alcoholische vruchtenwijnen, daar echte gistingskrachtige wijngisten t.a.v. andere in het vruchtesap aanwezige microörganismen slechts in gering aantal aanwezig zijn.

Overal waar suikerhoudende vruchten groeien worden gisten en andere suikerafbrekende microörganismen als azijnzuurbacteriën, melkzuurbacteriën, talrijke schimmelsoorten e.d. gevonden. Bij de spontane vergisting van het ruwe perssap komen verschillende microörganismen tot ontwikkeling. De echte wijngisten die in het begin van het vergistingsproces in de minderheid zijn hebben daarom een concurrentiestrijd te voeren. Wel zijn echter, zoals reeds meerdere keren ter sprake kwam, een aantal gunstige ontwikkelingsfactoren voor echte wijngisten in het te vergisten vruchtesap aanwezig: het substraat is zuur, is meer of minder anaëroob ( $\text{CO}_2$ -ontwikkeling; toevoegen van  $\text{SO}_2$ ) enz. Een bepaald milieu wordt gevormd waarin zich na korte tijd alleen maar een beperkte microflora kan ontwikkelen. De vruchte- en vruchtenwijnzuren, de anaërobie, de alcohol, het koolzuur en het eventueel toegevoegde  $\text{SO}_2$  werken dus selecterend.

Om nu deze concurrentiestrijd sterk te verminderen en het vergistingsproces direct al in de juiste banen te leiden is het gebruik van gistcultures nodig. Dit wil niet zeggen dat bij de spontane vergisting van vruchtesappen geen hoge alcoholgehalten kunnen ontstaan. Een door spontane gisting gevormde Ruster-wijn verkreeg het hoge alcoholgehalte van 17,8 vol % (36). Het zal duidelijk zijn dat het de moeite loont de gist uit een dergelijke wijn te isoleren.

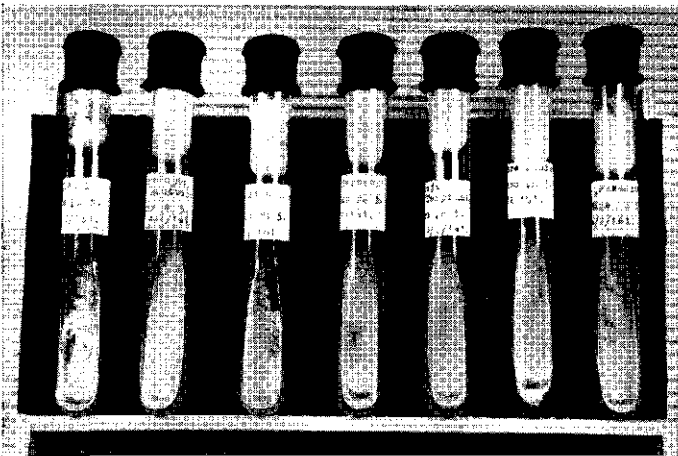
De vraag komt dikwijls naar voren of volstaan kan worden met het toevoegen van een monocultuur van 1 gistras. Heeft het dus zin het sap te voorzien van een gemengde gistcultuur. Cantarelli (6) verkreeg bij de vergisting van druivesap, door eerst een stam van de gist *Torulaspora rosei* toe te voegen en 6–13 dagen later een stam van de wijngist *Saccharomyces ellipsoideus*, een betere en meer volledige suikervergisting en

een wijn met een lager vluchtig zuurgehalte en betere smaak dan met de ellipsoideus gist alleen.

Indien het vruchtesap niet wordt gepasteuriseerd of door filtratie van microorganismen wordt ontdaan zullen in het sap steeds ontwikkeling van citroenvormige gistjes, de zg. Apiculatusgisten plaatsvinden. Deze meestal kleincellige gisten produceren weinig alcohol. Bij 5-6 vol. % alcohol houden ze op met gisten. Enkele typen vormen tot 10 vol. % alcohol.

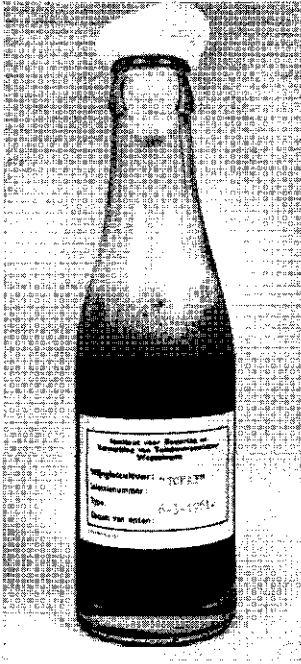
Wel kunnen de citroengisten tot 11-12 vol. % alcohol verdragen, waarbij ze dus nog kunnen groeien. Ze vormen in het algemeen meer vluchtig zuur dan de echte wijngisten en zijn vooral t.a.v. de groeifactoren biotine en pantotheenzuur auxo-heterotroof. Zowel bij het spontane vergisten van vruchtesappen als bij het gebruik van reine gist-cultures van het niet steriele sap worden in hoofdzaak in de beginperiode van de gisting levende Apiculatus-gisten aangetroffen. Schulle (44) bevestigde een onderzoek van Müller-Thurgau waaruit bleek dat de aanwezigheid van kleine hoeveelheden Apiculatus-gisten de gisting door echte wijngisten bevorderde. Hij stelde bovendien vast dat grote hoeveelheden Apiculatus-gisten de gisting door echte wijngisten remde. Hieruit blijkt dat een vergisting van een vruchtesap met uitsluitend reine gistcultures niet altijd beter behoeft te verlopen dan een spontane vergisting van het sap.

Uit het bovenstaande volgt dat bij vergisting van het vruchtesap bij gelijktijdige aanwezigheid van meerdere gisten hierdoor een betere of slechtere vergisting kan ontstaan. Vanzelfsprekend geeft het gebruik van de gistkrachtige gistcultures steeds zekere resultaten, mits ook andere factoren die de gisting beïnvloeden niet in het minimum zijn.



AFB. 22. Enkele rassen van wijngisten welke door het I.B.V.T. in cultuur worden gehouden. De gisten groeien in de cultuurbuizen op een schuin-gestolde agar-voedingsbodem. Om het uittrogen van de voedingsbodem tegen te gaan zijn de buizen afgesloten met rubber doppen. Om de cultures levenskrachtig te houden worden ze op gezette tijden overgeënt op een nieuwe voedingsbodem van dezelfde of een andere samenstelling.





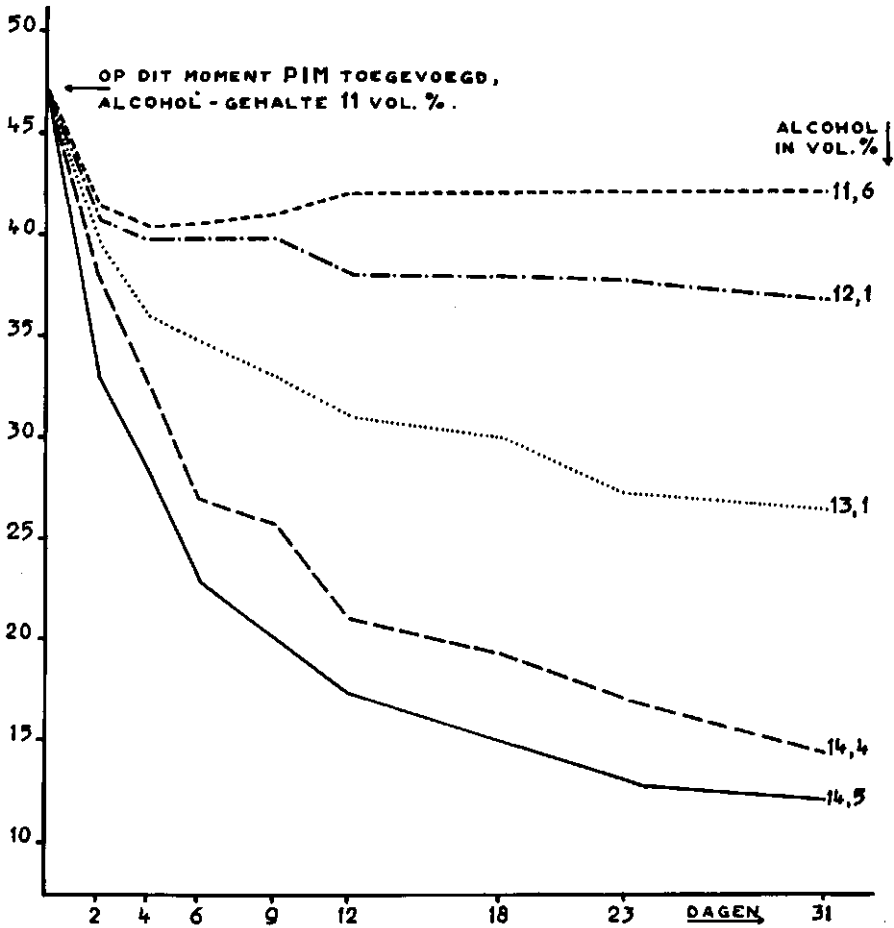
AFB. 23. Flesje met een wijngistcultuur.

Vanaf de buizen (afb. 22) worden de gisten overgeënt in flesjes met steriel vruchtesap. Nadat dit in gisting is gekomen wordt het de vruchtenwijnfabrikant toegezonden. Op deze wijze is hij ervan verzekerd steeds een cultuur te ontvangen met jonge levenskrachtige gistcellen.

Ten behoeve van de vruchtenwijnindustrie houdt het I.B.V.T. enkele wijngistrassen in cultuur (afb. 22). De cultures worden afgeleverd in flesjes met  $\pm 100$  ml gistend vruchtesap (afb. 23). Teneinde zekerheid te hebben dat de gewenste gistsoort de overhand zal krijgen in het te vergisten vruchtesap, moet deze in voldoende overmaat worden toegevoegd. Geënt moet worden met tenminste een hoeveelheid gistcultuur van 2% van de hoeveelheid in gisting te brengen vloeistof. In bijzondere gevallen verdient het aanbeveling meer selectiegist te gebruiken zoals bij het weer op gang brengen van de gisting bij vruchtenwijnen welke hierin zijn blijven steken. Daar 100 ml gistcultuur een te geringe hoeveelheid is voor het vergisten van grote hoeveelheden vruchtesap is het naar aanleiding van het bovenstaande duidelijk dat de gistcultuur moet worden vermeerderd. Met 1 flesje kan 5 liter sap worden geënt. Hiervoor wordt bij voorkeur het sap gebruikt waarvan de vruchtenwijn moet worden gemaakt. In 5 liter sap wordt 500 g suiker opgelost en deze hoeveelheid wordt verhit tot het bijna kookt, hetgeen dient om de vloeistof te pasteuriseren. Dit steriel maken kan ook geschieden door een filtratie door EK-filterplaten. Eventueel worden voedingszouten voor de gist toegevoegd. Na afkoeling wordt de vloeistof onder zo steriel mogelijke omstandigheden in bijv. een steriele fles gebracht. Vervolgens wordt de 100 ml gistcultuur toegevoegd en de fles afgesloten met een watteprop of gistventiel. In het flesje gistcultuur heerst een spanning tengevolge van het bij de gisting ontwikkelde koolzuurgas. Wordt het flesje plotseling geopend dan kan het gebeuren dat door het plotselinge vrij komen van het koolzuurgas de inhoud onder heftige schuimvorming naar buiten treedt en verloren gaat. Dit kan worden voorkomen door in de 2 capsules, waarmede het flesje is afgesloten, eerst een klein gaatje te prikken, waarbij de druk

langzaam vermindert. Nadat de overdruk is weggevallen kunnen de beide capsules worden verwijderd. Is deze 5 liter aan het gisten dan kan op de beschreven wijze worden doorgegaan met de vermeerdering van de gistcultuur. Met 5 liter kan dus 250 liter vloeistof worden geënt enz.

**SG. GISTENDE APPELWIJN  
IN °OECHSLE (GEMIDDELTE VAN DE TRIPLO'S)**



GRAFIEK 5. Invloed van Pimaricine op het verdere gistingsverloop van in stormachtige gisting verkerende appelwijn.

Hoeveelheden toegevoegde Pimaricine in mg/liter:

- = 0
- - - - - = 0,5
- ..... = 3
- · - · - = 5
- - - - - = 9

Behalve als vloeistofcultures worden de selectiegisten ook aangeboden als drooggevroren preparaten in kleine ampullen en als gedroogde gist („Troockenhefe”). De eerstgenoemde zijn zeer lang houdbaar en moeten eigenlijk eerst in een laboratorium worden opgekweekt voordat de praktijk ze kan gebruiken. De gedroogde selectiegisten zijn dikwijls wel geschikt voor directe praktische toepassing. In verband met de ouderdom van het preparaat is het evenwel mogelijk dat alle gistcellen niet meer levenskrachtig zijn, zodat het eigenlijk beter is de gist eveneens in een laboratorium weer op te kweken. Volgens de mening van sommige vruchtenwijnfabrikanten bestaat er een groot gevaar bij het gebruik van gedroogde gist voor het optreden van wijnziekten als bijv. „muis”. In enkele gevallen constateerde men onaangenaam afwijkende smaken bij vruchtenwijnen vergist met gedroogde gistpreparaten.

Vanaf 1956 brengt de „Eidgenössische Versuchsanstalt für Obst-, Wein- und Gartenbau”, Wädenswil, Zwitserland wijngistcultures als dik vloeibare pasta in tubes van kunststof in de handel. Volgens Fiechter (12) zijn de gisten uiterst gistingsterk en zijn de gistcellen zeer homogeen t.a.v. de fysiologische toestand waarin ze verkeren. Het is mogelijk de cultures bij +2 tot +5°C gedurende 1 tot 2 maanden te bewaren, zonder dat de gistingsterk achteruit gaat. De tubes zijn zo geconstrueerd dat eventueel gevormd koolzuurgas kan ontwijken. Zonder de gist te vermeerderen kan met 1 tube 5 hl sap in gisting worden gebracht.

De vruchtenwijnfabrikant schijnt soms behoefte te hebben aan een wijngist die bij  $\pm 12$  vol. % alcohol met de gisting stopt ondanks dat nog genoeg suiker aanwezig is om meer alcohol te kunnen vormen. Een gistras met een dergelijke eigenschap is ons niet bekend.

De gisting kan plotseling worden gestopt door de vruchtenwijn te pasteuriseren of doordat de gisten d.m.v. filtratie worden verwijderd. Ook kan zoveel SO<sub>2</sub> worden toegevoegd dat de gisten in hun activiteit worden afgeremd of gedood. Hiervoor is veel SO<sub>2</sub> nodig, waarbij de vruchtenwijn niet direct consumabel is.

In verband met het bovenstaande werd een oriënterend onderzoek verricht (38) met het antibioticum Pimaricine, dat ons ter beschikking werd gesteld door de Koninklijke Nederlandsche Gist- en Spiritusfabriek N.V. te Delft. Deze stof, in het vervolg Pim genoemd, werd toegevoegd aan in volle gisting verkerende appelwijn op een moment dat het alcoholgehalte 11 vol. % bedroeg.

Pim is een antibioticum dat selectief werkt op schimmels en gisten, waarbij deze in hun levensverrichtingen worden geremd met als gevolg een afsterfing. Pim is lichtgevoelig, is zeer weinig toxisch en heeft door dubbele bindingen een groot additief vermogen. Evenals elk antibioticum kan het vooral bij een actief metabolisme ingrijpen. Hierom werd de werkzaamheid van Pim eerst oriënterend onderzocht bij een actieve alcoholische gisting.

Het onderzoek werd in drievoud uitgevoerd en de vergisting vond plaats bij 20°C. De gebruikte concentraties van het antibioticum waren 0, 0,5, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8 en 9 mg Pim/liter gistende appelwijn. Het gistingverloop werd nagegaan door sg-metingen met de Oechslemeter. Na totaal 50 dagen (= 32 dagen op grafiek nr. 5) werd het alcoholgehalte met de ebullioscoop bepaald.

Uit grafiek nr. 5 (terwille van de duidelijkheid zijn niet alle lijnen, die het verloop van de gisting weergeven, getekend) blijkt dat de alcoholische gisting bij in gisting ver-

kerend appelsap door toevoeging van Pim plotseling kan worden geremd. Zelfs een kleine hoeveelheid van 0,5 mg/liter heeft reeds een duidelijke invloed. Wil men er zeker van zijn dat de gisting stopt dan zal 10 mg Pim/liter toegevoegd moeten worden. Volgens opgave van de fabrikant komt dit neer op een kostenverhoging van 1/2 tot 1 cent per liter vruchtenwijn.

Tenslotte zij nog opgemerkt dat het mogelijk is dat bij aanwezigheid van SO<sub>2</sub> de werking van Pim verandert. Dit is nog niet nagegaan evenmin als het optreden van mogelijke smaakafwijkingen door Pim veroorzaakt, alhoewel dit laatste niet waarschijnlijk is.

## LITERATUUR

1. Amerine, M. A., Cruess, W. V.: The technology of wine making. 1960.
2. Baldwin, E.: Dynamic aspects of biochemistry. 1957. Production of fusel oil: blz. 395-396.
3. Baumann, J.: Handbuch des Süszmusters. 1951.
4. Braverman, J. B. S.: Some observations on non-enzymatic browning of glucose syrups and citrus concentrates. Symposium fruit juice concentrates, Bristol, 1958. Blz. 145-159.
5. Camman, J. P. M.: Handleiding tot het bereiden van vruchtenwijnen voor huishoudelijk gebruik. 1890.  
Camman, J. P. M.: Appelwijn. Welke voordeelen zou de fabricatie er van voor ons land kunnen afwerpen? 1896.  
Reddingius Gzn., W. G.: Iets over vruchtenwijnen. ± 1900.
6. Cantarelli, C.: Über stufenweisen Zusatz von Reinzuchtheffen bei der Weinbereitung. Riv. Viticolt. Enol., vol. 6 (1953), blz. 82-88.
7. Carr, J. G.: Acetic acid bacteria in ciders. Annual report of the Agricultural and Horticultural Research Station, Long Ashton, Bristol, 1958, blz. 160-163.
8. Charley, V. L. S.: The principles and practice of cider-making. 1949.
9. Charley, V. L. S.: Recent advances in fruit juice production. 1950.
10. Elbert, E. M., Esselen, W. B.: Free amino acids and thiamine of apple juices and their relation to fermentation. Food Research, vol. 24 (1959), blz. 352-362.
11. Essed, W. L.: Synthetische filterweefsels. Overdruk uit Plastica, sept./oct./nov. 1954 en febr. 1955.
12. Fiechter, A.: Eine verbesserte Reinhefekultur für die Kellereipraxis. Schweizerische Zeitschrift für Obst- und Weinbau, vol. 65 (1956), blz. 109-113.
13. Flanzly, M., Bouzigues, L.: Pectines et méthanol dans les moûts de raisin et les vins. Annales de l'Institut National de la Recherche Agronomique, Série E, Annales de Technologie Agricole, Conservation et Transformation des produits agricoles. 1959, blz. 59-68.
14. Gale, E. F.: The chemical activities of bacteria. 1952, blz. 135.
15. Gallay, R., Benvegnin, L., Capt, E.: L'effet des levures sélectionnées sur les caractères du vin. Revue Romande d'agriculture, de viticulture et d'arboriculture, vol. 8 (1952), blz. 69-72.
16. Geisz, W.: Gezügelte Gärung. 1952.
17. Genevois, L.: La synthèse isoprénique des caroténoïdes. Bulletin de la Société Chimique de France, nr. 4, apr. 1954, blz. 453.
18. Grohmann, H., Mühlberger, F. H.: Zur Bildung des Glycerins bei der Weinbereitung. Die Wirkung der Zuckering, Schwefelung und Entschleimung von Traubenmost auf die Glycerinbildung. Deutsche Lebensmittel-Rundschau, vol. 53 (1957), blz. 51-60.
19. Holleman, A. F.: Leerboek der anorganische chemie. 16de druk bewerkt door Buchner, E. H. en Wiebenga, E. H., 1953.
20. Holleman, A. F.: Leerboek der organische chemie. 17de druk door Wibaut, J. P. en Wibaut-v. Gastel, A. J. P., 1955.
21. Ingram, M.: Browning of concentrated fruit juices. Microbiological considerations. Symposium fruit juice concentrates, Bristol, 1958. Blz. 187-202.
22. Kertesz, Z. I.: The pectic substances. 1951. Blz. 369.
23. Koch, J., Breker, E.: Über den Einfluss nicht ausgekleideter Aluminiumtanks auf die Beschaffenheit darin gelagerter Süszmoste. Die Fruchtsaft-Industrie, vol 3 (1958), blz. 3-11.
24. Koch, J., Bretthauer, G.: Zur Kenntnis der Eiweiszstoffe des Weines. Mitteilung II: Einfluss der Mosterhitzung auf die Eiweiszstabilität der Weiszweine. Zeitschrift für Lebensmitteluntersuchung und -Forschung, vol 106 (1957), blz. 361-367.
25. Koch, J., Eiden, F.: Über eine vereinfachte Bestimmung des ITT-Wertes im Wein. Weinberg und Keller, vol. 4 (1957), blz. 57-59.
26. Kroemer, K., Krumbholz, G.: Obst- und Beerenweine. 1932.
27. Lodder, J., Kreger-Van Rij, N. J. W.: The yeasts. 1952.
28. Lüthi, H.: Einige biologische Gesichtspunkte bei der Bereitung und Pflege der Ostschweizer Weine. Schweizerische Zeitschrift für Obst- und Weinbau, vol. 62 (1953), blz. 378-383 en 404-412.
29. Lüthi, H.: Neuere Ergebnisse auf dem Gebiete der Obstweinbereitung. Schweizerische Zeitschrift für Obst- und Weinbau, vol. 64 (1955), blz. 25-28 en 41-44.

30. Lüthi, H.: Über die Ursachen unvollständiger Vergärung von Obstweinen. Mitteilungen aus dem Gebiete der Lebensmitteluntersuchung und Hygiene, vol. 48 (1957), blz. 201–218.
31. Lüthi, H.: Über einige Ursachen unvollständiger Vergärung braun gewordener Obstsaftkonzentrate. Symposium fruit juice concentrates, Bristol, 1958, blz. 391–401.
32. Lüthi, H., Vetsch, U.: Beiträge zur Kenntnis des biologischen Säureabbaues in unvergorenen und vergorenen Obst- und Traubensäften. II: Über die wachstumsfördernde Wirkung von Hefeextrakt auf einige Milchsäurebakteriën, welche den biologischen Säureabbau in Weinen erzeugen. Mitteilungen aus dem Gebiete der Lebensmitteluntersuchung und Hygiene, vol. 50 (1959), blz. 264–275.
33. Macher, L.: Hefegärung und Schwefelwasserstoffbildung. Deutsche Lebensmittel Rundschau, vol. 48 (1952), blz. 183–190.
34. Mehltitz, A., Drews, H.: Untersuchungen über Vorkommen und Entstehung von Oxymethylfurfurol in Traubensäften, Apfelsäften und daraus hergestellten Konzentraten. Die Industrielle Obst- und Gemüseverwertung, vol. 44 (1959), blz. 141–145.
35. Meyer, H., Benzman, M.: Studies on the utilization of amino acids as nitrogen and carbon sources for the aerobic growth of yeast. I: The influence of glucose on yeast growth with amino acids as nitrogen donors. Bull. Res. Council, Israel, Sect. A. Chem. 8A (2), 1959, blz. 43–52. Naar referaat Nr. 60657 in Plant Sciences, vol. 35 (1960), nr. 21.
36. Österreichische Weinzeitung van 14/2/48. Korte mededeling op blz. 50.
37. Olthof, E.: Het verduurzamen met behulp van microorganismen. Overdruk Nr. 53, I.B.V.T., 1957.
38. Olthof, E., v. d. Lek, H. A. A.: Oriënterend onderzoek naar het gebruik van Pimaricine als gistingremmend middel bij in heftige alcoholische gisting verkerende appelwijn. I.B.V.T.-rapport Nr. 1005, 1959.
39. Plantkunde, Leerboek der algemene, onder redactie van Koningsberger, V. J. en Reinders, E. Deel II, 1947, blz. 203–209.
40. Plantkunde. Lehrbuch der Botanik, van Strasburger, E., Noll, F., Schenck, H., Schimper, A. F. W. Bewerkt door Fitting, H., Schumacher, W., Harder, R., Firbas, F. 26ste druk, 1954.
41. Pollard, A., Kieser, M. E.: Pectin changes in cider fermentation. Journal of Science and Food Agriculture, vol. 10 (1959), blz. 253–260.
42. Porchet, B.: Influence de l'acide acétique sur la fermentation du sucre par les levures, en présence d'alcool. Mitteilungen aus dem Gebiete der Lebensmitteluntersuchung und Hygiene, vol. 26 (1935), blz. 18–29.
43. Produktiestatistiek Groente- en Fruitverwerkende Industrie, 1958–1959. Centraal Bureau voor de Statistiek, 1960.
44. Schandler, H.: Die Mikrobiologie des Mostes und Weines. 1959.
45. Scheunert, A., Haenel, H.: Die Bedeutung von flüssigen Obst- und Gemüsekonserven als Träger des Vitamin-B-Komplexes. Die Industrielle Obst- und Gemüseverwertung, vol. 40 (1955), blz. 125–127.
46. Semper, G.: Untersuchungen über den Oxymethylfurfurol in Apfel- und Traubensäften. Flüssiges Obst, vol. 27 (1960), blz. 9–11.
47. Sprenger, A. M., Krumbholz, G.: Appel- en Perenwijn. 1932.
48. Sprenger, A. M., Krumbholz, G.: Verschillende brochures betreffende Aalbessen-, Kruisbessen-, Kersen-, Frambozen- en Aardbeienwijn. 1932, 1933.
49. Stelling-Dekker, N. M.: Die sporogene Hefen. 1931.  
Lodder, J.: Die anaskosporogene Hefen. I. 1934.  
Diddens, H. A., Lodder, J.: Die anaskosporogene Hefen. II. 1942.
50. Troost, G.: Die Technologie des Weines. 1953.
51. Uchimoto, D., Cruess, W.V.: Effect of temperature on certain products of vinous fermentation. Food Research, vol. 17 (1952), blz. 361–367.
52. Vogt, E.: Weinchemie und Weinanalyse. 1953.
53. Vrijstellingsbeschikking, De. Tekst en beknopte toelichting, bewerkt door Teebaal, P. J. 1955.
54. Warenwet, bewerkt door de Weever, P. L., 14de druk, 1959. Deel I, blz. 489 e.v.
55. Wikén, T., Richard, O.: Untersuchungen über die Physiologie der Weinhefen. Mitteilungen I, II, III. Antonie van Leeuwenhoek, Journal of Microbiology and Serology, resp.: vol. 17 (1951), blz. 209–227; vol. 18 (1952), blz. 31–45; vol. 18 (1952), blz. 293–316.

56. Wikén, T., Richard, O.: Untersuchungen über die Physiologie der Weinhefen. Mitteilungen V, VI. Antonie van Leeuwenhoek, *Journal of Microbiology and Serology*, resp.: vol. 20 (1954), blz. 385–406; vol. 21 (1955), blz. 337–362.
57. Wikén, T., Pfennig, N.: Untersuchungen über die Physiologie der Weinhefen. Mitteilung VII. Antonie van Leeuwenhoek, *Journal of Microbiology and Serology*, vol. 23 (1957), blz. 113–150.
58. Yang, H. Y.: Fruit wines, requisites for successful fermentation. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, vol. 1 (1953), blz. 331–333.
59. Zabrodskii, A. G., Movchan, A. A.: Action of adsorbents on alcoholic fermentation. *Fermentation Inst., Kiev, Biokhimiya*, vol. 17 (1952), blz. 513–520. Naar een referaat.