

Veertig jaar later

Een subjectieve evaluatie van het proefschrift
'Submerged cultures as sources of protein and flavour compounds',
verdedigd op 23 juni 1976
aan de Technische Hogeschool Delft

Frans Dijkstra
Ommen, 2 februari 2017

Inhoud

1. Hoe het begon	3
2. Promoveren op eigen gezag	4
3. Onderzoekplan	5
4. Voortgang van het onderzoek	6
5. Samenwerkingsverbanden	8
6. De biowetenschappen in Delft	8
7. Publicaties	10
8. Promotie	12
9. Doctor in de technische wetenschappen op de arbeidsmarkt	16
10. De wetenschappelijke impact	18
11. Kweken van paddestoelenmycelium in submerse cultuur	20
12. Lipiden-effect	21
13. Laccase-activiteit	22
14. Gebruik van submers gekweekt mycelium als broed in de champignonkweek	22
15. Paddestoelenaroma's	23
16. Voorkomen van 1-octen-3-ol in paddestoelen en andere organismen	24
17. Aroma van de inktzwam: 2-methyl-2-penten-4-olide?	26
18. Paddestoelenalcohol als afbraakproduct van linoleïnezuur	27
19. Niet-vluchtige smaakcomponenten	28
20. Productie van smaakstoffen in submerse kweek	29
21. Voedingsstoffen uit paddestoelenmycelium	29
22. Chemotaxonomisch belang van vluchtige stoffen	30
23. Vriendschappelijke citaten	30
24. Terugblik: heeft het allemaal nut gehad?	31
Referenties	33

1. Hoe het begon

Ere wie ere toekomt. Het idee om de submerse kweek van paddestoelenmycelium weer op de onderzoekagenda te zetten werd in 1962 geopperd op een internationaal microbiologisch congres in Montreal door mijn promotor prof. Torsten Wikén (1912-1995). In een keynote speech probeerde hij over de horizon te kijken van de industriële toepassing van micro-organismen. Dege-
nen die hem gekend hebben, weten dat het geven van een vlamme presentatie niet een van zijn sterke punten was. Het moet een slaapverwekkende lezing zijn geweest, waarvan gelukkig de tekst in druk is verschenen (Wikén, 1963). Om in het jaar 2200 een wereldbevolking van mogelijk 11 miljard¹ mensen te voeden zou het massaal kweken van micro-organismen een oplossing kunnen zijn. Gistsoorten en bacteriën kunnen groeien op aardolie en daarbij voor de mens verteerbare proteïne produceren, met veel minder milieubelasting dan massale landbouw. Eetbare paddestoelen werden al door de oude Grieken en Romeinen zeer gewaardeerd als delicatessen. De massale kweek van paddestoelen van het geslacht *Agaricus* op bedden van gecomposteerde paardenmest was in Europa in de 17^e eeuw in Frankrijk ontwikkeld en verspreid over andere Europese landen en de Verenigde Staten. De techniek van het voorbereiden van het substraat was tijdrovend en duur, maar omdat een groot deel van de paddestoelen vermalen werd voor soep, ragout en smaakconcentraat, was het idee gerezen om het mycelium massaal te kweken in plaats van de vruchtlichamen. Het in vloeistof gekweekte mycelium zou ook gebruikt kunnen worden om de compost te enten bij de productie van de vruchtlichamen. Dit was al eens geprobeerd (Humfeld en Sugihara, 1948), maar het massaal gekweekte mycelium van champignons had niet de typische smaak van verse paddestoelen. Met mycelium van *Morchella*-soorten was het wel gelukt om de karakteristieke smaak van de vruchtlichamen te ontwikkelen. Wikén vond, dat dit onderzoek moest worden uitgebreid tot meer hogere basidiomyceten en ascomyceten, en dat de chemische aard van het mycelium moest worden onderzocht en de stoffen die door dat mycelium werden uitgescheiden.

Kort na Wikéns lezing in Montreal ontdekte een Duitse onderzoeker dat het mycelium dat Humfeld en Sugihara hadden gekweekt niet van champignons was, maar een imperfecte schimmel die als *Beauveria tenella* werd geïdentificeerd (Molitoris, 1963). Dat verklaarde het ontbreken van de typische paddestoelensmaak in de submerse kweek van de vermeende *Agaricus*-stammen. De weg naar het opnieuw proberen van de productie van de paddestoelensmaak door paddestoelenmycelium lag weer open. Toch duurde het tot 1969 voor het onderwerp in het befaamde laboratorium voor microbiologie² in Delft ter hand werd genomen.

Toen ik in december 1968 bij prof. Adriaan Fuchs mijn laatste kandidaatstentamen met succes had afgelegd, moest ik een afstudeerhoogleraar kiezen. Ik overwoog Wikén en Kossen, en practicumbegeleider IJlstra adviseerde om ook prof. Berends te overwegen. Maar van een brede oriëntatie kwam het niet. Ik liet me al snel inpalmen door prof. Wikén en zijn adjudanten Peter Arntz en Lex Scheffers. Misschien was dit wel de eerste verkeerde afslag in mijn leven,³ maar aangezien alternatieve geschiedschrijving zelden tot geloofwaardige resultaten leidt, zie ik er vanaf om te speculeren over wat er van mij geworden was, als ik besloten had bij Kossen of Berends af te studeren. Wikén stelde mij voor om paddestoelenmycelium submers te gaan kweken en de productie van smaakstoffen en proteïne te bestuderen. In juni 1970 studeerde ik af. Het was mij gelukt om mycelium van champignons te kweken in schuddende kolfjes in een medium van verdund moutextract met caseïne en fosfaat. Hoewel dit nauwelijks een vernieuwende vondst kan worden genoemd, wordt dit medium tot op de huidige dag gebruikt door onderzoekers die om wat voor reden dan ook paddestoelenmycelium moeten laten groeien, al was het maar omdat ze elektronenmicroscopische foto's willen maken van details van de celwanden. Ze gebruiken dan

¹ Wikén schreef 'milliard', niet het in het Engels gebruikelijke 'billion'.

² Wikéns voorgangers Beijerinck (1851-1931) en Kluyver (1888-1956) waren beroemde pioniers in de microbiologie.

³ Deze uitdrukking ontleen ik aan de autobiografie van Cees Fasseur (2016), die het feit dat hij verzuimde om van zijn vader het klussen in huis te leren, omschreef als 'de eerste verkeerde afslag in mijn leven.'

het medium 'as described by Dijkstra et al, (1972)'. Het is mijn eerste wetenschappelijke 'foot print in the sands of time'⁴ geworden. Het was mij ook gelukt uit het mycelium, dat ik had geïsoleerd uit champignons van de groenteboer, na submerse kweek en uitzaaiing op compost weer paddestoelen te kweken. En het lukte om het mycelium te kweken in fermentors met een volume van 10 liter, waarin het medium continu geroerd werd en waar steriele lucht werd ingeblazen. Het aldus gekweekte mycelium had de geur van paddestoelen, maar verder onderzoek naar de ontwikkeling van die geur heb ik tijdens mijn afstudeerperiode niet gedaan.

Begin januari 1970 trok ik de stoute schoenen aan en klopte op de deur van professor Wikén. 'Professor, ik zou in juni willen afstuderen. Is er een mogelijkheid, dat ik dan hier blijf als promovendus?' De professor reageerde direct positief. Hij dacht, dat de heer Houwink het volgende jaar met pensioen zou gaan. Die plaats kon ik dan innemen en dan moest hij voor mij een mogelijkheid vinden om een half jaar te overbruggen. 'En die mogelijkheid heb ik!' zei hij, 'Ik zal het u snel laten weten.' Even later zag ik hem de trap af benen in de richting van de afdeling elektronenmicroscopie, waar Houwink in het souterrain, zat. Al spoedig kwam hij bij mij terug. 'Het is mogelijk!' meldde hij. Op deze uiterst eenvoudige manier werd ik wetenschappelijk medewerker. Geen sollicitatiegesprek, geen test, geen selectie, niets van dat alles. Werkloosheid onder academici bestond nog niet. Die zou een half jaar later pas losbarsten. En zo legde ik de basis onder

mijn wetenschappelijke carrière, die mij in feite in de schoot werd geworpen.

Achteraf weet ik, dat ik hier de tweede verkeerde afslag in mijn leven heb genomen. Promoveren door verder te gaan met je afstudeerwerk in dezelfde omgeving, dat kon onmogelijk leiden tot een wetenschappelijke ontwikkeling die breed genoeg was om stand te houden in de meedogenloze concurrentiestrijd die tegenwoordig het wetenschappelijke metier kenmerkt. Maar dat is gepraat achteraf. Dat inzicht had ik toen niet. Niemand had mij dat bijgebracht. In juli 1970 werd ik vorstelijk beloond met een maandsalaris van 1646 harde Nederlandse guldens en een aanstelling in tijdelijke dienst voor onbepaalde tijd voor verdere vorming en opleiding.

2. Promoveren op eigen gezag

Op 15 juli 1970 begon ik met mijn promotieonderzoek. In het eerste jaar ontwikkelde ik mijn plan, waarvan ik na dat jaar verantwoording aflegde in een rapport dat ik aan prof. Wikén aanbood. Hij heeft daar nooit op gereageerd, wat ik dus maar heb beschouwd als zijn goedkeuring. Vier jaar later bleek dat te kloppen, want in oktober 1975 overhandigde ik hem het concept van



Figuur 1 De auteur (rechts) met prof. Wikén, bij de Oude Kerk in Delft, maart 1976

⁴ 'Lives of great men all remind us, we can make our lives sublime, and departing, leave behind us, foot prints in the sands of time', John Longfellow, 'A psalm of life'.

mijn proefschrift, dat ik op 30 december 1975 met hem heb besproken. Op 2 januari 1976 ging hij telefoneren om een promotiecommissie samen te stellen. Geregeld kwam hij bij mij langs met meldingen als 'Schenk heeft ja gezegd'. Binnen enkele weken was de commissie samengesteld en begin februari kreeg ik van hem groen licht om het proefschrift te laten drukken. Opmerkelijk genoeg had ik nog slechts één andere toestemming nodig: van de titelpagina moest de drukproef worden goedgekeurd door de rector magnificus, alvorens ik aan de uitgever het sein kon geven, dat de drukpers kon draaien.

De vorige alinea kan de indruk wekken dat ik mijn promotor niet meer heb gesproken nadat hij mij in 1970 zo grootmoedig had aangesteld. Dat is niet helemaal waar. Hij was in 1972 en 1975 co-auteur van 4 van mijn 6 wetenschappelijke publicaties, en hij was afstudeerdocent van twee studenten die in 1974 bij mij zijn afgestudeerd. Maar dat was allemaal procedureel; inhoudelijk heeft hij zich niet met mijn onderzoek bemoeid. Dat wil niet zeggen, dat ik geheel op eigen gezag ben tewerk gegaan. We hadden in het laboratorium voor microbiologie de goede gewoonte om geregeld werkbesprekingen te houden, in de koffiekamer, van half een tot half twee, met een doosje boterhammen en een kop koffie bij de hand. Daar heb ik geregeld verslag gedaan van de vorderingen en de richting die ik met het onderzoek wilde inslaan. Bij zulke collegiale besprekingen was de kritiek vrij beperkt. De claim dat ik vrijwel op eigen gezag ben gepromoveerd kan daarom standhouden. Eigenlijk is dat ook de goede manier: met een proefschrift bewijs je, dat je in staat bent tot zelfstandige wetenschapsbeoefening. Dat vereist wel toetsing door bevoegde vakgenoten, maar het is niet nodig, dat een promovendus aan het handje wordt genomen, zoals door beleidsmakers tegenwoordig wordt verlangd.

3. Onderzoekplan

Het mycelium van de champignon groeit niet snel. Voor de meeste proeven liet ik het drie weken groeien. Dat betekende dat ik vrij lang moest wachten voor ik het effect kende van een variatie in de kweekomstandigheden. Dat bracht mij er toe om het onderzoekgebied uit te breiden tot een aantal andere paddestoelen, waarvan de geschubde inktzwam, *Coprinus comatus*, de meeste aandacht heeft gekregen. Die hoefde maar twee weken te groeien om resultaat op te leveren. Daarnaast onderzocht ik nog een aantal andere soorten, de oesterzwam, *Pleurotus ostreatus*, en de reuzenbovist, *Calvatia gigantea*. Voor al deze soorten wilde ik onderzoeken welke stoffen in het voedingsmedium aanwezig moeten zijn om veel biomassa met hoge voedingswaarde en goede smaak op te leveren. Van groot belang was dus de voedingswaarde van het voedingsmedium in vergelijking met de voedingswaarde van het mycelium. Als je stikstofbronnen die voor de mens niet verteerbaar zijn kunt omzetten in verteerbare proteïnen, dan voeg je iets wezenlijks toe aan de menselijke voedingscyclus. Dit alles was mijn eerste onderzoeklijn.

De tweede onderzoeklijn ging over de smaak van het gekweekte mycelium. Daarmee kon ik de tijd vullen die ik moest wachten voor de myceliumkweeken resultaat opleverden. Men kan vrij gemakkelijk met gist- of bacteriecellen een biomassa produceren die alle voor de mens noodzakelijke aminozuren, vitamines en mineralen bevat. Maar als het product een afschuwelijke smaak heeft, dan schiet dat niet op. De charme van paddestoelenmycelium zou kunnen liggen in de aantrekkelijke smaak. Om dat te onderzoeken was ruiken en proeven van het gekweekte mycelium, zoals ik in mijn afstudeerwerk had gedaan, niet genoeg. Er was behoefte aan kennis over de aard van de smaak en geur van paddestoelen en methoden om smaak en geur te meten. Er was in 1971 al het nodige bekend over paddenstoelengeuren en smaken (Cronin & Ward, 1971, Freytag & Ney, 1968). Vluchtige stoffen zoals 1-octen-3-ol en benzaldehyde spelen daarin een rol, naast aminozuren en nucleotiden, die niet zo'n typische eigen smaak hebben, maar wel als smaakversterker fungeren. Ik wilde daaraan mijn bijdrage leveren en vond een gat in de markt: er was in de literatuur nog niets gepubliceerd over de relatieve bijdragen die de diverse chemische componenten leveren aan de totale smaaksensatie. De 'mushroom alcohol' 1-octen-3-ol was al sinds 1938 bekend als een stof die in lage concentraties (1 op een miljoen) een uitgesproken padden-

stoelengeur geeft (Murahashi, 1938). Maar het synthetische product, dat gewoon bij de chemicaliënhandel besteld kon worden, overtuigde toch niet. Het was het net niet: de geur leek wel op die van paddestoelen, maar had iets kunstmatigs. Ik wilde proberen of de combinatie van deze alcohol met glutaminezuur en nucleotiden voor een panel van proevers een smaaksensatie zou geven die beter overeenkwam met die van de paddestoel. In een later stadium kwam ook het idee op om het verschil tussen natuurlijk en synthetisch 1-octen-3-ol te onderzoeken. Dit molecuul heeft namelijk op het derde koolstofatoom vier verschillende groepen, zodat er twee spiegelbeeldige varianten van zijn. In de natuur zal normaliter door enzymatische processen slechts één van deze optische isomeren gevormd worden, terwijl een synthetisch proces beide isomeren in gelijke hoeveelheden zal produceren, met een racemisch mengsel als resultaat.

De derde onderzoeklijn ging over de productie van de smaakstoffen bij de myceliumkweek. Als bekend is welke smaakstoffen van belang zijn, dan zou meting van die stoffen in het mycelium en in het vloeibare medium bij de submerse kweek het antwoord kunnen geven op de vraag of het submers gekweekte mycelium in potentie een goede smaak heeft.

4. Voortgang van het onderzoek

Het jaar 1972 besteedde ik voornamelijk aan het uitzoeken van de optimale groeicondities van het mycelium van de champignon en de inktzwam. Mijn vrouw Lineke was dat jaar zwanger van onze eerste dochter Afke. Bij de planning van de kweken in het najaar had ik steeds de bijgedachte: 'als ik dit resultaat heb, ben ik vader.' Ik stelde vast, dat de door mij onderzochte paddestoelenmycelia niet konden groeien met een eenvoudige stikstofbron. Ammoniumverbindingen of nitraten waren niet voldoende. Eiwitten of aminozuren waren noodzakelijk. Wel groeiden de mycelia op een scala van suikers, maar op de voor mens en dier niet verteerbare cellulose of houtsnippers deden mijn mycelia het ook niet. En niet met koolwaterstoffen. Dat was in feite al het (negatieve) antwoord op de vraag of paddestoelenmycelium een alternatief was voor het kweken van eetbare biomassa, althans het mycelium van de door mij onderzochte soorten. Wel bleek mycelium zeer goed te groeien als bepaalde plantaardige oliën werden toegevoegd. Dit lipideffect was al in 1969 door twee Amerikanen gerapporteerd (Wardle & Schisler, 1969) en in mijn afstudeeronderzoek al meegenomen. Een kleine hoeveelheid vetzuuresters (o.a. linoleaten, linolaten en oleaten) veroorzaakte een verhoogde myceliumopbrengst die het gewicht van de lipiden verre oversteeg. Ik formuleerde in 1972 de hypothese, dat deze lipiden de celwanden beter doorlaatbaar maakten voor voedingsstoffen, waardoor het mycelium zijn voedingsstoffen effectiever kon opnemen, een idee, dat later door Schisler letterlijk is overgenomen (Schisler, 1977).

Een zijpadje van het onderzoek was het gebruik van magere melk als voedingsmedium. Daarop bleek paddestoelenmycelium prima te groeien. Weliswaar kan dit niet als een verrijking van de voedselketen worden gezien, want de meeste mensen kunnen de melkproducten net zo goed zelf op eten, afgezien van een aanzienlijke minderheid van de wereldbevolking die genetisch behept is met lactose-intolerantie. Maar er waren toen al, lang voor de EU zich met de melkquota bemoeide, geregeld melkoverschotten. Zo zou myceliumproductie op basis van melk toch een verrijking van het voedselaanbod kunnen zijn. Mijn afstudeerders Jan van Vliet en Piet van den Berg hebben zich hier vooral mee bezig gehouden. Zelf heb ik nagegaan hoe mengsels van melksuiker (lactose) en druivensuiker (glucose) door de verschillende mycelia werden verteerd.

Een zijpad dat wel de aandacht heeft getrokken in de literatuur is de meting van de laccase-activiteit als indicator voor de groei van het mycelium en voor de zuiverheid van de kweek. Laccase is een enzym, dat paddestoelen gebruiken voor de afbraak van lignine, een bestanddeel van hout. Het mycelium van diverse paddestoelensoorten scheidt laccase af in de omgeving. De champignon doet dat ook, de inktzwam niet. Er is een simpele test voor de laccaseactiviteit en door die test toe te passen op een monster van de myceliumkweek kan eenvoudig worden nagegaan of het goede mycelium aanwezig is, en hoe hard het is gegroeid.



Figuur 2 Het proefpanel in de collegezaal van het laboratorium voor Microbiologie, 1974

In 1973 begon ik met het mijn eigen maken van analysemethoden voor aminozuren, nucleotiden en vluchtige stoffen, en ik organiseerde een proefpanel om vast te stellen welke stoffen domineren in de smaak van paddestoelen. De klassieke paddestoelenalcohol 1-octen-3-ol is de belangrijkste veroorzaker van de paddestoelengeur. Diverse aminozuren en nucleotiden versterken en verbreden de smaakgevaarwording. Dat was al bekend, maar nog niemand had statistisch evalueerbaar organoleptisch onderzoek gedaan naar

de relatieve betekenis van de diverse smaakcomponenten. Meestal volstond men met ruiken aan de uitgang van een gaschromatograaf op het moment dat bepaalde pieken werden geregistreerd. Met het proefpanel lukte het mij om de relatieve betekenis van de verschillende smaakstoffen te bepalen. Bijzondere aandacht kregen de optische isomeren van 1-octen-3-ol. Met een heel klassiek scheidingsproces slaagde ik er in om die isomeren voor 90-95% zuiver te krijgen en het proefpanel stelde inderdaad verschil in smaak vast. Ik berekende dat het natuurlijk voorkomende linksdraaiende 1-octen-3-ol een anderhalf maal zo sterke geur had dan het rechtsdraaiende isomeer. Of er ook verschil in aard van de geur was, durfde ik niet te zeggen. Een ander vluchtig bestanddeel van de champignon is 1-octen-3-on, wat ontstaat door oxidatie van 1-octen-3-ol. Ook dat stofje heb ik gesynthetiseerd. Het bleek 15 maal sterker te geuren dan 1-octen-3-ol, maar de geur leek in de verste verte niet op die van paddestoelen.

Aangezien er over de smaakstoffen van de inktzwam nog niets was gepubliceerd, onderzocht ik een smaakextract van verse inktzwammen en liet dat in 1974 bij het laboratorium van Unilever in Vlaardingen analyseren. Dat leverde als prominent bestanddeel 2-methyl-2-penten-4-olide op, een stofje, dat tot dat moment niet eerder in planten of dieren was aangetroffen. Deze baanbrekende vondst heeft in de literatuur weinig aandacht getrokken. Ook dit stofje heb ik gesynthetiseerd, maar een overtuigende paddestoelengeur konden we niet vast stellen. Ook in de inktzwam wordt de geur voornamelijk bepaald door de C8-alkoholen.

In 1974 en 1975 onderzocht ik de mogelijkheid om het paddestoelenmycelium op wat grotere schaal te kweken, in fermentors met een volume van 10 liter. Daarbij deden zich twee problemen voor: (1) de grote gevoeligheid voor infecties met sneller groeiende bacteriën en schimmels en (2) sterke schuimvorming, die ontstond door de lucht die van onder in de fermentor werd geblazen. Het eerste probleem losten we deels op door toevoeging van de antibiotica penicilline en streptomycine, overigens in de wetenschap, dat zulke toevoegingen bij een grootschalig industrieel proces niet mogelijk zouden zijn. Ondanks de antibiotica mislukten 1 op de 3 fermentorproeven. Toch kregen we genoeg resultaten om variatie in roersnelheid en beluchting te onderzoeken.

Dit had grote invloed op de vorm die het mycelium kreeg: bij intensiever roeren en beluchten ontstond een soep van kleine schimmeldraadjes, bij langzamer roeren ontstonden bolletjes van een paar millimeter. Pellets heten zulke bolletjes. Mijn collega Bert Metz (waarover in het volgende paragraaf meer) is op de vorming van pellets gepromoveerd. Ik onderzocht de vorming van de belangrijkste smaakstoffen en de productie van biomassa. Voor het tabelletje waarin die resultaten bij elkaar staan (tabel 34 in het proefschrift) heb ik een jaar of 8 later eens toestemming gegeven om het te reproduceren in een boek, maar aangezien destijds boeken nog niet werden gebruikt als bron voor de Science Citation Index heeft het niet bijgedragen aan mijn citatiescore.

5. Samenwerkingsverbanden

De club die zich met paddestoelenmycelium bezig hield is in Delft altijd klein gebleven. Een paar maanden nadat ik met mijn afstudeerwerk begon kwam George van Eybergen de club versterken. Hij koos *Boletus edulis*, eekhoortjesbrood, als studieobject. Dat was omdat er destijds een speciaal laboratorium was opgericht, als onderafdeling van het proefstation voor de champignoncultuur, waar de heer P.J. Bels onderzocht of andere paddestoelensoorten dan de champignon geschikt gemaakt konden worden voor kweek voor consumptiedoeleinden. *Boletus edulis* gold als een zeer smakelijke paddestoel, maar het was nog nooit gelukt om deze en andere boleten te kweken. Kennis van manieren om het mycelium te kweken zou dus goed van pas komen. Jammer genoeg groeide het mycelium van de boleet uiterst langzaam, zodat George veel geduld moest hebben. Hij is in 1971 afgestudeerd. Het onderzoek heeft, behalve zijn afstudeerverslag, één publicatie van drie pagina's opgeleverd. En ook: één citaat van mijn werk.

Drie studenten heb ik in die 6 jaar onder mijn hoede gehad: Jan van Vliet, Piet van de Berg, beiden scheikundestudent in Delft, die anderhalf jaar meewerkten in het kader van hun afstudeerproject en Ria van Driel, die als stagiaire van de analystenopleiding in Delft een jaar meewerkte. Daarnaast hebben nog een handvol vierdejaars studenten, zes weken aan het onderwerp gewerkt, wat bij de langzame groei van het paddestoelenmycelium altijd tamelijk onbevredigend is geweest: ze werkten zich in, deden een proef, evalueerden die na 2-3 weken, en deden eventueel nog een tweede proef, waarna ze er een rapportje over schreven. Van erg veel ontwikkeling is in zo'n tijdsbestek natuurlijk geen sprake. Maar misschien ligt dat ook wel aan mijn beperkte didactische vermogens. Ik heb het begeleiden van studenten nooit een van mijn sterke punten gevonden.

Jan van Vliet en Piet van den Berg brachten wel een heel nieuw element in het onderzoek: de samenwerking met de Sectie Biochemische Reactoren van professor Kossen. Anders dan ik in december 1968 deed, oriënteerden zij zich wel breed op hun afstudeerprogramma voor ze aan de slag gingen, en ze kwamen tot de conclusie dat ze wilden afstuderen bij Wikén en bij Kossen. Ze kozen dus voor twee afstudeerdocenten, niet erg gebruikelijk, en dan ook nog twee volstreckte tegenpolen. Om dat te verklaren is een aparte paragraaf nodig.

6. De biowetenschappen in Delft

Het bestaan van een biologische hoek in de afdeling Scheikundige Technologie in Delft was in de ogen van de echte technologen een beetje vreemd. Zij beschouwden het werk dat daar gebeurde als fundamenteel onderzoek, dat ver stond van technische toepassingen die op een Technische Hogeschool thuis hoorden. Een niet geheel terechte opvatting, want tenminste twee van de drie vakgroepen waren voortgekomen uit de industriële toepassing van biologische materialen en processen.

De vakgroep Algemene en Toegepaste Microbiologie, waar ik aan verbonden was, was ontstaan uit het pionierswerk van Beijerinck en Kluyver, en was nauw verbonden met de Delftse Gist- en Spiritusfabriek, waar microbiologische processen op industriële schaal werden toegepast. Na het overlijden van Kluyver was mijn promotor Torsten Wikén van de Technische Hogeschool in

Zürich naar Delft gehaald om het werk voort te zetten. Wikén heeft nooit goed kunnen aarden in het Delftse academische klimaat, waar zijn internationale academische statuus⁵ nauwelijks werd onderkend, en waar hij zijn vakgebied voortdurend moest verdedigen tegen aanvallen uit de hoek van de chemische en fysische technologie.

De vakgroep Algemene en Technische Biologie, was kort na de eerste wereldoorlog ontstaan rond de cultuurtuin voor technische tropische gewassen, die daar was gesticht voor het verwerken van producten uit Nederlands-Indië. Professor Van Iterson, een leerling van Beijerinck, had daar tot 1948 de leiding. Hij werd opgevolgd door prof. P.A. Roelofsen, die in mijn derde studiejaar in Delft overleed. In de jaren 1968-1969 woedde een heftige strijd over zijn opvolging, die er in resulteerde, dat er twee deeltijd hoogleraren werden aangesteld, Adriaan Fuchs, een Wageningse bioloog voor algemene biologie en genetica en Joop Roels, voor biokinetiek. Een klassiek compromis: als je het niet eens wordt over de wetenschappelijke koers, dan benoem je twee tegenpolen in de hoop, dat een van de twee na enige tijd komt bovendien.

De vakgroep Biochemie was de jongste van de drie. Die was pas in 1953 ontstaan met de benoeming van professor Wouter Berends. Als er ergens in de biohoek fundamenteel werd gedacht, dan was het hier, maar om een of andere reden, misschien wel vanwege de stormachtige ontwikkelingen die de biochemie in de jaren 60 doormaakte, was het bestaan van deze vakgroep in mijn Delftse jaren nooit omstreden.

In 1966 kwam er nog een speler op het bioterrein in Delft: Nico Kossen (1933-2016) werd hoogleraar in de fysische technologie, met als vakgebied iets wat we tegenwoordig biotechnologie zouden noemen. Hij was in 1963 bij de legendarische professor Heertjes gepromoveerd op het bevochtigen van poeders, vandaar dat ik in de jaren 70, maar ook nu nog, steeds aan hem denk als ik pannenkoekenbeslag maak⁶. Kossen ging werken aan het kweken van schimmels, waarmee hij op het terrein van Wikén en zijn mensen kwam. Daar stuitte hij op veel argwaan en weerstand. Hij en zijn mensen ontwikkelden computermodellen om de groeisnelheid en opbrengst van schimmels te voorspellen en ze wilden die modellen toetsen met bioreactoren, waarin tijdens het proces een heleboel dingen gemeten konden worden. Daarbij werden ze niet gehinderd door erg veel microbiologische kennis, wat hen in de gelederen van de vakgroep van Wikén op veel spot en hoon kwam te staan. In 1968 koos ik voor mijn afstudeerproject bij Wikén zonder mij goed te oriënteren op de mogelijkheden die Kossen bood. Jan van Vliet en Piet van den Berg gingen hier doelgericht in en besloten al snel, dat ze er een gecombineerd project van wilden maken: niet alleen maar rekenen en controleren of de berekeningen kloppen, maar ook empirisch verschillende varianten afwerken, om daarna te kijken of je de waarnemingen in een model kunt stoppen. Hun begeleider bij de sectie van Kossen was Bert Metz, die na zijn promotie 'From Pulp to Pellet, an engineering study of the morphology of molds' (1976) de wijde wereld is ingetrokken, en een bedrijf heeft opgericht dat hooischuren beschermde tegen hooibroei, door de hooimijten te injecteren met vloeibare stikstof. Hoelang dat heeft bestaan weet ik niet; later heeft Bert Metz naam gemaakt als Nederlands onderhandelaar bij grote klimaatconferenties. Ik heb hem in recente jaren eens in een televisieprogramma commentaar zien geven op klimaatkwesties. Hij vertoonde nog steeds een groot vertrouwen in computermodellen die een werkelijkheid voorspellen die we niet kunnen meten. Aangezien ik toen, en nu nog steeds, sceptisch ben over dergelijk rekenwerk (ik heb er zelfs een stelling bij mijn proefschrift aan gewijd), constateerde ik, dat hij en ik in 40 jaar over computermodellen weinig van mening zijn veranderd.

De samenwerking met Kossen en Metz verliep niet al te soepel. De maandelijkse werkbesprekingen duurden eindeloos en voor mijn gevoel droegen ze weinig bij aan het doel van mijn onderzoek. Maar er kwamen berekeningen en computergrafieken uit en de afstudeerverslagen van Jan

⁵ Hij kreeg 3 maal een eredoctoraat en bekleedde meerdere gasthoogleraarschappen in Zweden en Engeland.

⁶ Ik heb nooit nagegaan of mijn methode om beslag te maken in lijn is met zijn bevindingen. Ik neem de helft van de melk en meng die met een houten lepel met het meel. Als ik een gladde pasta heb, voeg ik beetje bij beetje de rest van de melk toe, en roer die telkens zo goed mogelijk door de pasta, tot een glad beslag ontstaat.

van Vliet en Piet van den Berg (1974) waren dubbel zo dik als het mijne in 1970. Professor Wikén zag er helemaal niets in: voor hem waren het nutteloze berekeningen, hem interesseerde slechts wat ze gemeten hadden. Het was niet zijn gewoonte om werkbesprekingen te houden met de studenten die bij hem afstudeerden; dat delegerde hij volledig aan zijn staf. Maar toen hem in de zomer van 1974 ter ore kwam dat er een bespreking van de concept-afstudeerverslagen van Jan en Piet zou zijn met professor Kossen, ontstak hij in hevige woede. Die verslagen dienden niet met Kossen besproken te worden, maar met Wikén! Hij dreigde af te treden als afstudeerdocent als die bespreking doorging. Dit incident werd mijn eerste praktijkervaring met crisismanagement, een onmisbare vaardigheid voor een hoger opgeleide, die men in geen enkele studie leert, althans in geen enkel destijds in Delft gedoceerd vak. Hoe ik het heb opgelost weet ik niet meer precies, maar ik heb op zeker ogenblik op de kamerdeur van professor Wikén geklopt en een aantal deëscalerende opmerkingen gemaakt, waar hij voor gezwicht is. Bert Metz bedankte mij later nog voor deze bemiddelende rol. En zo kon het afstuderen van Jan en Piet bij de beide hoogleraren die elkaars tegenpool waren toch doorgaan.

7. Publicaties

Tegenwoordig geldt in vrijwel alle wetenschappen ‘publish or perish’. In de jaren 1970 gold dat nog niet zo sterk. Men kon – ook in de bètawetenschappen – nog wel een proefschrift schrijven zonder in internationale tijdschriften te publiceren, maar ook toen al was publiceren in tijdschriften een veel effectievere methode om ideeën te verspreiden dan het maken van een proefschrift. Het uitsluitend promoveren op artikelen was nog niet mogelijk, maar men kon wel een inleiding en een samenvatting schrijven bij een bundel artikelen, daar een nietje door te slaan, en op dat proefschrift te promoveren. Ik ben enige tijd van plan geweest om het op die manier te doen, maar kwam in 1975 tot de conclusie, dat ik in een proefschrift meer zou kunnen uitweiden over bepaalde aspecten, dan in het kader van een artikel zou kunnen. Artikelen werden toen alleen maar gedrukt. Het publiceren van een beknopt gedrukt artikel, vergezeld van een reeks van bijlagen op internet, lag in 1975 nog minstens 20 jaar in de toekomst; we hadden toen zelfs geen flauw idee, dat dit ooit mogelijk zou worden.⁷

Mijn eerste publicatie dateert van september 1971 (Dijkstra, Scheffers en Wikén, 1971). Het is een samenvatting van 10 regels van een verhaal dat ik hield op het First International Mycological Congress in Exeter. Deze ‘maiden speech’, zoals hij later op het laboratorium in Delft werd genoemd, was een samenvatting van mijn afstudeerverslag. Het verhaal werd welwillend ontvangen, zonder verder enig opzien te baren. Maar mijn eerste wetenschappelijke ei was gelegd. Citaat heeft dit verhaal nooit opgeleverd.

In oktober 1972 volgde een meer uitgewerkt artikel van 12 pagina’s in het in Nederland geredigeerde internationale tijdschrift ‘Antonie van Leeuwenhoek- Journal of Microbiology and Serology’. Ik beschreef de methode waarop ik het mycelium van de gekweekte champignon, *Agaricus bisporus*, had gekweekt, de vloeibare media waarop het mycelium kan groeien, de groeisnelheid, de laccase-activiteit die als maat voor de groei kon worden gebruikt, en het opmerkelijke effect van diverse oliën op de groei van het mycelium, veel meer dan het gewicht van de toegevoegde olie. Dit artikel diende ik in bij de hoofdredacteur van ‘Antonie van Leeuwenhoek’. Dat was gemakkelijk, want die zat in hetzelfde gebouw: het was Dr. A. L. Houwink, de man die eind 1970 met pensioen was gegaan, waardoor ik zijn formatieplaats kon innemen. Een systeem van peer review bestond niet bij dit tijdschrift, althans voor zover ik het heb gemerkt. Als de redacteur het een goed artikel vond, dan werd het geplaatst. Daarbij hielp, dat mijn voormalige afstudeermentor Lex Scheffers en professor Wikén als co-auteurs optraden. Enig overleg daarover heeft nooit plaatsgevonden. Ze zorgden er gewoon voor, dat hun naam op het artikel kwam te staan, en ik

⁷ Volgens de tegenwoordige geschiedschrijving is het internet uitgevonden in 1969, zie <https://nl.wikipedia.org/wiki/Internet>. De brede verspreiding begon echter pas midden jaren '90.

was te bleu om daar zelfs maar een vraag over te stellen. Zo werkte de peer review in 1972. Redenen om mij daarvoor te schamen zie ik niet. Kruiwagens zijn van alle tijden. Het artikel is van 1972 tot 2015 in totaal 27 keer geciteerd in de bronnen die door de Science Citation Index, tegenwoordig Web of Science genoemd, zijn geraadpleegd. Dat laat zien dat de ‘peers’ tot 43 jaar na publicatie van het artikel reden zien om er naar te verwijzen.

In 1976 verschenen van mijn hand drie artikelen in het Zeitschrift für Lebensmitteluntersuchung und –Forschung. Ondanks de Duitse naam van het tijdschrift, was in 1976 het merendeel van de artikelen al engelstalig. Ik verdeelde de resultaten van mijn chemische onderzoeken van de smaak en geur van paddestoelen over drie artikelen, van resp. 8, 5 en 5 pagina’s. Ik deed dat omdat ik dacht dat één artikel van bijna 20 pagina’s misschien te lang zou zijn, en verdeelde wat ik te melden had over (1) organoleptisch belang van smaakstoffen van de champignon, (2) smaakstoffen van de inktzwam, (3) smaakstoffen in diverse verse en geconserveerde paddestoelen. Tegenwoordig zou zo’n manier van publiceren als halve fraude worden beschouwd: door drie artikelen te publiceren in plaats van één, word je ook driemaal vaker geciteerd dan wanneer je het in één artikel had samengevat. Onzin natuurlijk, want door zo de onderwerpen te splitsen gaf ik de wetenschappelijke gemeenschap de gelegenheid om alleen te citeren wat voor hen relevant was. Aldus gefilterd kreeg het eerste artikel van 1976 t/m 2016 57 citaten, het tweede 17 en het derde 23. Dit bewijst achteraf, dat mijn strategische wijze van publiceren wel degelijk tot relevante verschillen in citaties heeft geleid. Het artikel over de aromacomponenten van de inktzwam heeft de minste aandacht gekregen, ondanks het interessante penteenolidederivaat dat ik daarin met hulp van het Unileverlaboratorium heb gevonden, waarschijnlijk omdat de inktzwam nooit op commerciële schaal gekweekt is.

Op het eerste en tweede artikel in het Zeitschrift staat ook de naam van Torsten Wikén als auteur vermeld. Anders dan bij het Antonie van Leeuwenhoekartikel in 1972 heeft hij dat wel overlegd. Nadat ik mijn manuscripten voor de drie artikelen medio 1975 aan hem had voorgelegd, was zijn eerste reactie ‘ik weet niet of dit goed gaat, in zo’n Zwitsers tijdschrift maar als ik het zelf indien, dan lukt het misschien.’ Hij was tenslotte professor geweest in Zürich. Hij herschreef de Duitse samenvatting, want mijn Duits vond hij erg slecht. Hij veranderde niets aan de Engelse tekst en diende het artikel in bij de Zwitserse redactie. Een paar weken later belde hij mij op en vertelde dat de artikelen alle drie waren geaccepteerd. Ook bij dit tijdschrift stelde de ‘peer review’ in 1975 weinig voor. Ik heb er althans niets van gemerkt. Een internationaal bekende geleerde als co-auteur was voldoende. Dat hij al twintig jaar wetenschappelijk vrijwel was uitgeblust deed niet ter zake. Zo heeft hij bijgedragen aan mijn citatiescore en ik aan de zijne. Voor wat hoort wat.

In 1975 begon de Technische Hogeschool Delft met een eigen tijdschrift, Delft Progress Report, waarin medewerkers van de TH⁸ konden publiceren over hun eigen werk. Professor Wikén zag er niets in, zo’n lokaal blad, maar hij weerhield mij er niet van om er een paar manuscripten naar toe te sturen. Ik schreef twee artikelen, het eerst over op welke koolstofbronnen paddestoelenmycelium kan groeien, en het tweede over de stikstofbronnen die paddestoelenmycelium nodig heeft. Beide staan als referentie 27 en 28 vermeld in mijn proefschrift, maar het tweede is nooit in druk verschenen. Wat daarvan de reden is, weet ik niet. Ik heb nagelaten er na mijn promotie nog naar te informeren, omdat de inhoud van deze artikelen inmiddels ook in mijn proefschrift was weergegeven. In tegenstelling tot ‘Antonie van Leeuwenhoek’ en ‘Zeitschrift für Lebensmitteluntersuchung und –Forschung’ kende het Delft Progress Report wel een vorm van externe review. De redacteur voor de artikelen uit de afdeling scheikundige technologie was prof. Dr. Ir. P.M. Heertjes, een voor vele generaties studenten legendarisch figuur. Geen enkele student kon het kandidaatsexamen halen zonder een voldoende voor zijn vak, technisch-fysische scheidings-

⁸ 40 jaar na dato klinkt TH in plaats van TUD heel vreemd. Maar tot begin jaren tachtig heetten de wetenschappelijke technische hogescholen in Delft, Eindhoven en Twente nog niet universiteit.

methoden. Dat ging over destillatie, zeven en filtreren, waaraan zeer ingewikkelde berekeningen gewijd konden worden en waarover fraaie grafieken konden worden getekend. Het vak werd uitsluitend via mondelinge tentamens afgenomen, waarvoor de afspraak persoonlijk met de professor op zijn spreekuur moest worden gemaakt. Zijn eerste vraag was ‘hoe lang bent u al bezig met het vak?’ Als je antwoord was, dat je er nog aan wilde beginnen, dan stelde hij een tentamendatum over een half jaar voor. Je moest dus zeggen, dat je er al drie maanden mee bezig was, zodat je een tentamendatum kreeg over drie maanden.

Professor Heertjes had weinig inzicht in mijn onderwerp, en hij legde mijn eerste artikel voor aan prof. Mulder in Wageningen. Die leverde enig commentaar, waarna ik het artikel aanpaste en Heertjes akkoord ging met publicatie. Het eerste artikel voor het Delft Progress Report had ik zelf bij prof. Heertjes ingediend. Prof. Wikén hield zich liever buiten het interne publicatiebeleid van de TH. Bij het tweede artikel durfde hij het aan om het artikel zelf door te geven aan de eindredacteur, wat direct verkeerd werd opgevat: ‘Wikén in plaats van Heertjes, dat willen wij niet!’. Zo moest ik te biecht bij prof. Heertjes, om uit te leggen, dat Wikén geen interne machtsgreep in de redactie beoogde. Heertjes legde het artikel voor aan Mulder in Wageningen, en ik paste het aan zijn opmerkingen aan. Daarna is het bij Heertjes blijkbaar in een la blijven liggen. Veel verschil voor de verspreiding van mijn werk maakt het niet: het eerste artikel in DPR is één keer geciteerd, mijn proefschrift waarin de resultaten van beide DPR-artikelen zijn opgenomen is in totaal 8 keer geciteerd. Mijn andere vier artikelen zijn 124 keer geciteerd. Hieruit blijkt duidelijk, dat een proefschrift of een intern tijdschrift niet de beste vehikels zijn om wetenschappelijke resultaten te verspreiden. Door op alle paarden te wedden heb ik geprobeerd maximale impact te bereiken.

8. Promotie

In de hete zomer van 1975, waarin in augustus de eerste hittegolf sinds 1947 werd geregistreerd, werkte ik thuis in een korte broek met een Adler-typemachine aan het manuscript van mijn proefschrift. Ik maakte één doorslag en eind september of begin oktober klopte ik op de deur van de kamer van professor Wikén en bood hem het manuscript aan. Hij reageerde enigszins verbouwereerd, nam het zonder een woord te zeggen in ontvangst en zei dat hij er naar zou kijken. Een uur later belde hij mij op en zei, dat hij wat nors had gereageerd, maar dat hij natuurlijk heel blij was dat het klaar was. Hij beloofde het te bestuderen en er op terug te komen. Ongeveer drie maanden gingen voorbij, voor hij mij tussen Kerst en Nieuwjaar vroeg het proefschrift met hem te bespreken. Op 29 en 30 december van tien tot twaalf namen wij het manuscript door. Ik had inmiddels een lijstje met enige tientallen vraagpunten die ik met hem wilde bespreken, maar daar had hij weinig animo voor. Dat kon ik wel zelf oplossen. Zijn belangrijkste punt van kritiek was, dat ik naar de literatuur verwees met nummers uit de op auteur alfabetisch gerangschikte, genummerde literatuurlijst. In de biowetenschappen was destijds gebruikelijk om te citeren met ‘naam, jaartal’, wat moest corresponderen met de ongenummerde alfabetische literatuurlijst. Men moest dus verwijzen naar ‘volgens Dijkstra et al, 1972’ en niet ‘volgens Dijkstra (26)’. Ik wees hem er op, dat het in Amerikaanse en chemische tijdschriften heel gebruikelijk was, om met nummers te werken, en dat een verwijzing als ‘24, 46, 112, 153’ in een tabel minder plaats inneemt dan ‘Cronin&Ward (1971), Freytag&Ney (1968), Naves&Tullen (1969), Wasowicz (1974)’. Hij vond dat we ons niet door Amerikaanse gewoonten moesten laten leiden, maar ging uiteindelijk akkoord met mijn wens.

En verder vroeg hij zich af, of ik de naam van Buri, gepromoveerd in Zürich in 1971, wel goed had gespeld, want hij kende een Burri in Zürich. Met een kopie van het betreffende proefschrift overtuigde ik hem in de volgende sessie van de naam van Buri. Tot zover het inhoudelijke overleg met mijn promotor over het proefschrift. Had ik niet al geclaimd, dat ik promoveerde op eigen gezag?

Een opmerkelijk twistpunt bij een van de laatste promoties was nog geweest, dat professor Wikén in het voorwoord van een proefschrift bedankt wilde worden. Dit was in strijd met het promotiereglement van de Technische Hogeschool. Mijn collega Piet Bos, die op 26 juni 1975 promoveerde, had het dan ook nagelaten. Dit leverde hem grote woede van de professor op, met als gevolg, dat het traditionele thee drinken voorafgaande aan de promotie, bij de professor thuis, niet door ging. Piet Bos moest zonder de bemoedigende woorden van mevrouw Wikén de wetenschappelijke arena in. De volgende collega die promoveerde, Willemina de Boer⁹, loste deze kwestie in december 1975 op door in het geheel geen voorwoord in haar proefschrift op te nemen. Wel bedankte zij *'allen die op enigerlei wijze hebben bijgedragen aan de totstankoming van dit proefschrift.'* Zij mocht wel op de thee komen. Ik koos voor een subtielere aanpak: ik schreef in het voorwoord *'Het heeft mij verheugd, dat Prof. Dr. T.O. Wikén mij de kans bood in zijn laboratorium te werken. Zijn adviezen en zijn inbreng in de manuscripten, ook als co-auteur, heb ik op hoge prijs gesteld.'* Hiermee voldeed ik aan de regels van het promotiereglement, want ik bedankte mijn promotor niet, maar ik schreef toch een tekst die de professor als dankbetuiging kon opvatten. Misschien nam ik hiermee een voorschotje op mijn ambtelijke loopbaan waaraan ik drie jaar na de promotie zou beginnen.

Nadat de professor het proefschrift had goedgekeurd, kon ik aan de slag met de drukker. Ik heb overwogen zelf een elektrische typemachine aan te schaffen en het manuscript cameraklaar aan te leveren, maar besloot toch om deze fase uit handen te geven. Ik tikte eind januari 1976, tijdens een vorstperiode, soms met stijve vingers van de kou, het manuscript nog één keer over met alle wijzigingen die ik sinds september had bedacht, en ik tekende zelf alle figuren met Oost-Indische inkt met een speciaal voor dat doel aangeschafte tekenplaat en mallen voor de letters en de curven. Bij drukkerij Pasmans in Den Haag werd het proefschrift in het net gezet op een Olympus typemachine met verwisselbaar bolhoofd, zodat ook Griekse tekens konden worden gedrukt. Op 18 februari 1976 leverde ik alle materiaal bij hem af. Enkele weken later werkte hij met mij in zijn atelier een dag aan de finale opmaak. Op 19 mei 1976 werd het proefschrift in een oplage van 200 exemplaren opgeleverd. Een paar dagen later werd het verzonden naar leden van de promotiecommissie, die er toen voor het eerst van kennis namen.

Dat ging wel een beetje anders dan tegenwoordig. Alleen professor Wikén en ik waren op dat moment verantwoordelijk voor de inhoud, en gezien de weinig diepgaande besprekingen die ik met hem heb gehad, was het in feite volledig op mijn eigen gezag. In de academische cultuur van die dagen vereiste de beleefdheid, dat een promotiecommissie de goedkeuring van de promotor niet ter discussie stelde. Men kon het eventueel de promovendus moeilijk maken bij de openbare verdediging, maar een goedgekeurd proefschrift leidde altijd tot uitreiking van de doctorsbul. Ik heb daarbij op het nippertje geluk gehad. Ik was de voorlaatste promovendus van professor Wikén. Bij zijn laatste promotie, op 25 mei 1977, had de academische wereld blijkbaar nog een appeltje te schillen met Torsten Wikén. De promovendus G. Bakker werd op vele fronten aangevallen, zo zwaar dat professor Wikén het niet meer kon negeren. Bij het uitreiken van de bul wees hij de jonge doctor op de onvolkomenheden, die bij deze verdediging aan het licht waren gekomen, *'waar ik u ook meerdere malen op heb gewezen.'* Maar ook deze promovendus mocht zich doctor in de technische wetenschappen noemen, zij het met een zware kater.

Dit lot is mij dus bespaard gebleven. Mijn promotiecommissie was gewillig. Op 11 maart 1976 stelde prof. Wikén voor, dat de promotiecommissie zou bestaan uit de Rector Magnificus, de promotor, en prof. Beyerman (organische scheikunde, Delft), lector dr. Bulder (microbiologie, Wageningen), prof. Mulder (Microbiologie, Wageningen), prof. Schenck (Algemene Scheikunde, Delft), prof. Tempest (microbiologie, Amsterdam), en prof. Winkler (Microbiologie, Utrecht).

⁹ Wil de Boer was bij haar promotie op 10 december 1975 al ongeneeslijk ziek. Door een wonderbaarlijke geestkracht wist zij overeind te blijven. Een maand na haar promotie kwam de ziekte definitief terug. Op weg naar drukkerij Pasmans heb ik haar op 18 februari 1976 in het Bronovoziekenhuis in Den Haag nog bezocht. Zij overleed begin april 1976.

Met drie van deze commissieleden (Mulder, Schenck en Winkler) heb ik in juni 1976 een gesprek gehad over het proefschrift. Tempest vond een bespreking niet nodig en Beyerman en Bulder hadden geen tijd, maar Bulder wilde wel aangeven welke onderdelen van het proefschrift zijn speciale belangstelling hadden en wat hij daarvan dacht. Zo was ik op Beyerman na goed voorbereid op de vragen die mij te wachten stonden tijdens de promotie op 23 juni 1976. Professor Wikén was de enige die mij tevoren precies vertelde wat hij ging vragen: hoe denkt u, dat de biosynthese van 1-octen-3-ol in het paddestoelenmycelium plaatsvindt?

Ik heb natuurlijk enorm opgezien tegen de openbare zitting. Voor elk commissielid had ik een aantal mogelijke vragen genoteerd met een mogelijke beantwoording van mijn kant. Maar het was best mogelijk dat ze iets heel anders zouden vragen en dan zou ik moeten improviseren. Nu was ik als organist al wel goed gewend om te improviseren,¹⁰ maar in een wetenschappelijk debat moest ik maar afwachten hoe mij dat zou afgaan. Ik heb dan ook bewust geen geluidsopname laten maken van de verdediging van het proefschrift. Ik sloot bij voorbaat de mogelijkheid uit om mijn gehakkel en stamelende verdediging later nog eens terug te horen.¹¹ Bij de ontvangst in huize Wikén, de hoogleraarswoning die aan het laboratorium was aangebouwd, op de middag van 23 juni stelde mevrouw Brita Wikén mij gerust. *'Dit is een theaterspel. U speelt uw rol, de commissieleden spelen hun rol. En aan het eind krijgt u de bul.'* Ook de pedel, de heer J.W. Langerak, had mij gerustgesteld: *'U bent degene die het meest weet van het onderwerp.'* En zo ging het inderdaad. Er waren 7 commissieleden, waarvan de promotor als eerste aan de beurt kwam. De begintijd was officieel om 16 uur, maar gebruik was, dat de commissie een kwartier te laat binnen kwam. Dat heet het 'academisch kwartiertje'. Zodoende waren er dus per vraag 6 à 7 minuten in te vullen, de vraag 1 of 2 minuten, en het antwoord dus 4 à 5 minuten. De rector, professor Sikkema, had mij in vertrouwen meegedeeld, dat zijn regie er uit bestond, om de tijd in de gaten te houden. Als hij na mijn antwoord aan de opponent vroeg 'kunt u zich hiermee verenigen?' dan wilde hij verder gaan met de volgende opponent. Maar als hij vond dat er tijd over was, dan zou hij aan de opponent vragen 'wilt u hier nog nader op ingaan?' De opponent hoefde dus altijd slechts te antwoorden 'Ja, meneer de rector' en alleen in het tweede geval had hij de gelegenheid voor een volgende vraag. Zover kwam het bij mij niet. Ik hield de klok in de gaten, en leverde bij elke vraag een antwoord van 5 of 6 minuten. De enige die een pissige vraag stelde was professor Beyerman, die in de gaschromatogrammen van mijn aromamengsels had gezien,

dat er ook een flinke piek aanwezig was in de nulmeting, zonder paddestoelenextract. Ik antwoordde, dat dit de ingedampde resten waren van de verontreinigingen van het hexaan waarmee ik de aromacomponenten had geëxtraheerd uit de paddestoelen, maar dat deze verontrei-



Figuur 3 Het uur is verstreken! 23 juni 1976, 17.00 uur. Links de gehoopte jonge doctor, rechts pedel Jan Langerak. Links en rechts van de pedel zichtbaar: prof. Schenck en prof. Meyerman

¹⁰ Ik was in juli 1972 benoemd als organist in de Maranathakerk in Maassluis.

¹¹ Een beslissing die ik achteraf betreur.

nigingen goed gescheiden waren van de actieve aromacomponenten.



Figuur 4 Professor Wikén bevordert de promovendus tot doctor in de technische wetenschappen. Voorgrond: de jonge doctor, prof. Torsten Wikén, prof. Sikkema, prof. Tempest. 1^e rij publiek: Lineke Dijkstra, mw. Brita Wikén, Afke Dijkstra. Daarachter: Rits Dijkstra, Willemien Dijkstra-Van Leeuwen, Herma Knol, Klaas Dijkstra

Bij de receptie maakte prof. Tempest nog een opmerking die bij de zitting tamelijk hard zou zijn aangekomen: ‘do you know, that P2000 has a very bitter flavour?’ Ik had in het proefschrift verklaard, dat

het submers gekweekte mycelium wel de smaak van paddestoelen had, maar met een bittere bij-smaak. Als antischuimmiddel had ik P2000 gebruikt en ik had verzuimd om het medium voor de myceliumgroei te proeven.

Maar dit gaf dus allemaal niets. Om een minuut voor vijf verscheen de pedel achter in de zaal. Met statige passen liep hij naar voren. De rector had mij tevoren geïnstrueerd om me daar niet door te laten afleiden. Het hoorde bij het spel, dat de pedel mij midden in een zin zou onderbreken. Ik speelde het spel mee, de pedel stampte met zijn staf op de grond en riep ‘Het uur is verstreken’,¹² wat ik een prachtige Delftse variant vind van het academische ‘Hora est’.



Figuur 5 Kikkerbuillen in knoflooksaus, Likkebaartshoeve, Schipluiden, 23 juni 1976

Het was tamelijk gebruikelijk dat de jonge doctor op de avond na de promotie een diner gaf voor de promotor, zijn collega's en zijn studenten. Ik hield het op een diner in familiekring in boerderij-restaurant De Likkebaartshoeve bij Schipluiden. Mijn broer Tjitte hield een feestrede waarin hij een aantal van mijn wetenschappelijke bevindingen op de hak nam en Lineke's tante Lyda vertelde een droom na, die ze onlangs gehad zou

hebben, opmerkelijk genoeg dezelfde droom die ze navertelde bij de broodmaaltijd bij ons huwelijk in 1970. Het meest omstreden onderdeel van het menu was het voorgerecht van kikkerbilden, dat overigens destijds nog niet op een zwarte lijst van dierenbeschermers stond.

¹² Nu ik dit zo vanuit mijn geheugen beschrijf betreur ik des te meer, dat ik geen tape heb laten maken van deze promotie.

9. Doctor in de technische wetenschappen op de arbeidsmarkt

Ik was bij de TH aangesteld in tijdelijke dienst voor onbepaalde tijd ter verdere vorming en opleiding op grond van artikel 6 lid 2 sub f van het Algemeen ambtenarenreglement, met een maandsalaris van 1646 gulden¹³ en een salarisanciënniteit van 2 jaar. Op deze riantie conditie werden promovendi begin jaren 70 nog in dienst genomen, om het promoveren aantrekkelijk te houden, in verhouding tot een goed betaalde baan in het bedrijfsleven. Maar vanaf 1972 stortte de arbeidsmarkt voor chemici en andere bètawetenschappers in en werden promovendi alleen nog aangesteld met tijdelijke contracten voor 4 of 5 jaar. Vandaar was het overigens nog een lange weg te gaan naar de huidige situatie, waarin promovendi als beursstudent aan de slag mogen. Ik ben het met die ontwikkeling in het geheel niet eens, maar dat valt buiten het bestek van dit stuk.

Toen de aanstelling ‘in tijdelijke dienst voor onbepaalde tijd’ niet meer nodig was om promovendi aan de wetenschap te binden, ontstond discussie over wat er moest gebeuren met degenen die al voor onbepaalde tijd waren aangesteld. Die aanstelling was ‘ter verdere vorming en opleiding’. Als de opleiding voltooid was, dan zou de grond van de aanstelling vervallen, en kon men dus worden ontslagen. Vakbonden adviseerden daarom de sub-f-medewerkers om hun promotie uit te stellen tot ze in vaste dienst waren genomen. Het College van Bestuur van de TH zag deze bui hangen, en besloot op een goede dag in 1975 of 1976 dat alle sub-f-medewerkers in vaste dienst werden genomen. Dit was zeer tot ongenoegen van de vakgroepsbesturen en van de meeste hoogleraren, want die zagen een andere bui hangen: aan al die vaste medewerkers die hen in de schoot werden geworpen hadden ze geen behoefte en eenmaal vast aangesteld was de kans bij de toenmalige situatie op de arbeidsmarkt groot, dat iemand de rest van zijn leven aan de TH zou blijven hangen. Destijds gold de leeftijd van 30 als de limiet: als je ouder was, dan kwam je niet meer weg en moest de TH je bezig houden tot je 65^{ste}. Ook wat dit betreft zijn de tijden wat veranderd.

In mijn vakgroep stond men ook niet te juichen over het sub-f-beleid van het CVB, maar de meesten hadden boter op hun hoofd: van de 10 wetenschappelijke medewerkers waren er 8 al in vaste dienst. Ze waren in de jaren zestig meestal direct vast aangesteld. Zo werd ik begin 1976, nog net niet gepromoveerd, wetenschappelijk medewerker eerste klasse in vaste dienst. De personeelsbeheerder van de faculteit (afdeling heette dat toen nog bij de TH), professor W.A. de Jong, belde alle in vaste dienst genomen medewerkers persoonlijk op, om hen op het hart te binden, dat het niet in hun belang en dat van de TH was als ze niet snel gingen solliciteren.

‘Vast’ was voor ambtenaren destijds nog echt vast: als men zich niet crimineel gedroeg was de kans op ontslag minimaal, en mocht het toch gebeuren dan was er een leuke wachtgeldregeling, die interessanter werd naarmate men ouder werd: als leeftijd plus diensttijd samen 50 waren kreeg men 70% wachtgeld tot het pensioen.¹⁴

Ik was niet van plan om bij de TH te blijven. Afgestudeerd aan de TH, gepromoveerd aan dezelfde TH, bij dezelfde vakgroep, voelde ik er niets voor om ook de rest van mijn carrière daar te verblijven. Deze keer koos ik wel de goede afslag in mijn leven. Ik deed nog enkele pogingen om binnen de TH een andere baan te vinden, maar richtte mijn aandacht toch vooral op externe sollicitaties. Maar de arbeidsmarkt voor chemici was in 1976 moeilijk, zeker voor gepromoveerden. Ik heb ruim honderd sollicitaties de wereld ingestuurd. Een effectief netwerker was ik niet en voor solliciteren had ik geen enkele opleiding genoten. Of het daaraan ligt weet ik niet, maar het

¹³ In koopkracht van 2016 is dit ongeveer € 3450. Het is een leuke ironie van de geschiedenis, dat dit bedrag niet ver af ligt van mijn huidige pensioen (€ 3267) hetgeen een illustratie is van de stelling, die ik wel eens heb verdedigd, dat alle vooruitgang door carrière maken is ingehaald en uitgehold door de inflatie en bezuinigingen. Aan het eind van de rit blijkt men er geen cent op te zijn vooruit gegaan. Overigens komt boven op mijn pensioen ook nog € 816 AOW. Dat mag ik dan dus boeken als het resultaat van een leven lang werken en leren.

¹⁴ Als ik tot 1983 bij de TH was gebleven en mij dan overbodig had laten verklaren (een strategie die nog wel eens werd toegepast), dan had ik van 1983 tot 2011 recht gehad op wachtgeld.

succes van de sollicitaties was gering: zeven maal werd ik uitgenodigd voor een gesprek. Eenmaal leidde het tot een detachering naar een tijdelijke functie als secretaris van de verkenning-commissie chemisch onderzoek. Dat leverde mij de ervaring op waardoor ik uiteindelijk in 1979 in dienst kon treden van het ministerie van onderwijs en wetenschappen als beleidsmedewerker onderzoekbeleid. In de chemie of de microbiologie was voor iemand die was gepromoveerd op het kweken van paddestoelenmycelium geen plaats.¹⁵ Na mijn vertrek heeft het laboratorium voor microbiologie in Delft nog een aardige revival doorgemaakt. Na het vertrek van prof. Wikén in 1978 heeft het opheffen van de vakgroep nog geruime tijd boven de markt gehangen, maar uiteindelijk is met de komst van prof. Gijs Kuenen in 1980 een nieuwe richting ingeslagen. Hij heeft het ambt vervuld tot 2005.

Een van mijn aandachtspunten als beleidsmedewerker (en later als hoofd van de analyseafdeling) bij het ministerie, dat tegenwoordig OCW heet, was de arbeidsmarkt van hoger opgeleiden.

Daardoor heb ik twintig jaar later kunnen vaststellen dat de vraag naar chemici in 1976 het laagste is geweest van de hele periode na 1950. In latere jaren is dat tijdelijk wel verbeterd, maar uiteindelijk hebben de belangrijkste chemische bedrijven (Shell, Unilever, DSM) allemaal hun onderzoekactiviteiten in Nederland tot een minimum teruggebracht. Tijdens mijn secretariaat van de Verkenningcommissie Chemisch Onderzoek (mei 1978 – oktober 1979) waren de voor tekenen daarvan al te zien. Eén van de gesprekspartners uit de industrie gaf aan de verkenningcommissie een exposé over ‘R&D in een verzorgingsstaat’, waarvan de conclusie was, dat de loonkosten en de sociale lasten in Nederland tot gevolg hadden, dat hij voor een nieuw proces dat in Nederland was ontwikkeld in Ierland zou gaan investeren. En het zou niet lang meer duren, voor ook de research buiten Nederland zou plaatsvinden. Ik was destijds politiek nog tamelijk links¹⁶ georiënteerd. Kritiek op de verzorgingsstaat raakte bij mij een gevoelige snaar, maar achteraf blijkt deze man wel gelijk te hebben gehad: in het prestigieuze voormalige Shell-laboratorium aan het IJ in Amsterdam wordt geen onderzoek meer gedaan en ook de vermaarde Unilever-laboratoria in Duiven en Vlaardingen (waar het door mij in *Coprinus comatus* gevonden 2-methyl-2-penten-4-olide is geïdentificeerd) zijn er niet meer. In Nederland hebben de multinationals zich terug getrokken op de organisatie en het besturen van de geldstromen.

Is promoveren nuttig voor de verdere loopbaan? Ook die vraag heb ik met mijn analyseafdeling bij OCW onderzocht. Er is maar één ding zeker. Als je wilt toetreden tot de wetenschappelijke staf van een universiteit, als universitair docent of hoofddocent of als hoogleraar, dan moet je gepromoveerd zijn. Maar voor vrijwel alle andere functies is de promotie niet vereist en is het twijfelachtig of de promotie een aanbeveling is. Maar toch vinden de meeste gepromoveerden dat ze voor hun loopbaan veel hebben gehad aan het feit dat ze gepromoveerd zijn. Het vermogen tot analytisch denken, het kunnen organiseren van een langjarig project, het kunnen samenwerken in teams. Gepromoveerden denken dat ze dit allemaal beter kunnen dankzij hun promotie.

Het is allemaal erg subjectief, maar toch heb ik de start van mijn 28-jarige loopbaan bij het ministerie van OCW wel degelijk te danken aan mijn promotie: bij de toenmalige hoofddirectie onderzoekbeleid nam men bij voorkeur gepromoveerden aan, omdat men dan zeker wist dat men iemand kreeg die wist wat onderzoek bij een universiteit is. Dr. Hans Chang, mijn eerste directeur op het ministerie had zijn benoeming ook mede te danken aan zijn promotie, en zo kon ik op 15 oktober 1979 beginnen als beleidsmedewerker in zijn directie Algemene Beleidszaken Onderzoek.

¹⁵ Het dichtst ben ik er bij geweest op 17 juni 1977, toen ik op één dag twee sollicitatiegesprekken voerde, in IJmuiden en in Naarden, beide zonder resultaat.

¹⁶ PPR en de linkerflank van het CDA, nog net geen PSP of CPN. De PvdA heb ik opmerkelijk genoeg altijd overgeslagen in mijn politieke sympathieën. In 1982 ben ik van links naar rechts omgeslagen toen superminister Joop den Uyl er voor terugschrok het ziekteverzuim aan te pakken.

Twee keer heb ik, in 2001 en 2003, namens het ministerie een verhaal gehouden voor het LAIO, het landelijk overleg van AIO's, oftewel de vereniging van de promovendi.¹⁷ De tweede keer gebeurde dat in de zaal waar ik in 1976 was gepromoveerd.

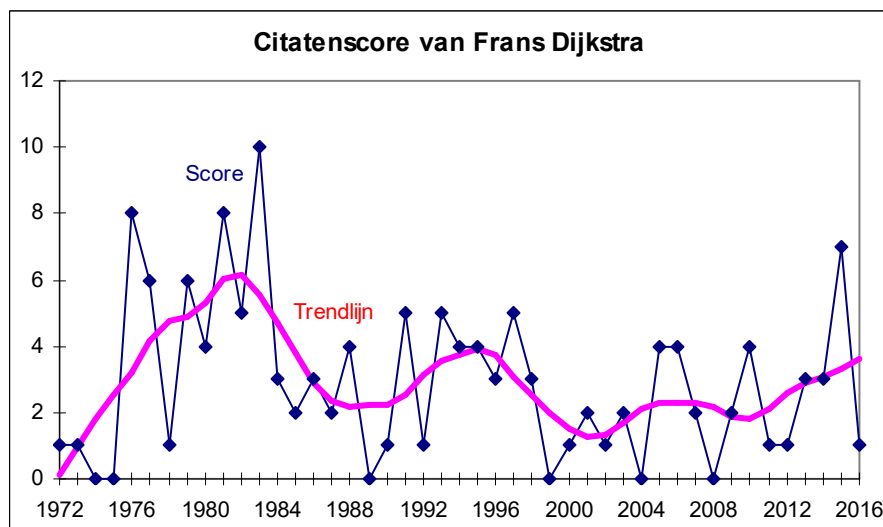
10. De wetenschappelijke impact

In de jaren zeventig speelde het nog niet zo, maar gaandeweg is de impact van universitair onderzoek steeds belangrijker geworden. Dat wordt afgemeten aan het aantal keren dat artikelen geciteerd worden. Daarvoor bestaat de Science Citation Index (SCI), die de referenties telt in de artikelen in een groep belangrijke tijdschriften. Het bepalen van citatiescores was overigens niet het oorspronkelijke doel van de SCI: als men één artikel heeft over een bepaald onderwerp, dan kan men in de literatuurlijst aan het eind van zo'n artikel suggesties opdoen voor verdere studie, maar die referenties gaan altijd terug in de tijd. Heeft men bijvoorbeeld in 1970 een artikel uit 1960 gevonden, en wil men weten wat er sindsdien op dat gebied is verschenen, dan wil men weten welke auteurs daar op hebben voortgebouwd. De SCI geeft daarvoor een ingang door de artikelen weer te geven waarin dat artikel uit 1960 is geciteerd. Daarmee kan men, uitgaande van een historisch artikel, vooruit kijken tot de dag van vandaag. Dat is een prima methode van literatuuronderzoek en een uitstekende aanvulling op grote seriewerken als de Chemical Abstracts en de Biological Abstracts, waarin men met trefwoorden zijn interessegebied kan afbakenen. Een leuk bijverschijnsel van de SCI is, dat iedereen die een wetenschappelijk artikel heeft geschreven zijn eigen naam kan opzoeken om te zien hoe vaak hij is geciteerd. Destijds bestond de SCI uit ongeveer een meter losse delen per jaar. Eens in de vijf jaar verscheen een cumulatieve index. Tegenwoordig gaat dat natuurlijk allemaal online en kan men met een enkele zoekopdracht alle citaties van een bepaalde auteur vinden.¹⁸ Eens in de 5 à 10 jaar heb ik de SCI nageslagen om mijn score bij te houden. Een interessante ervaring was daarbij, dat de omstandigheden in de bibliotheek van de TU-Delft telkens anders waren. Iedere keer was ik minstens een uur bezig om te ontdekken hoe ik mijn citaties kon vinden.

Figuur 6 geeft de tijdreeks van mijn citatiescore. Mijn werk is van 1972 tot en met april 2016 in totaal 133 maal geciteerd. De hoogste score was in 1983, met 10 citaten. Daarna daalde de score sterk. Aan het eind van de jaren tachtig dacht ik dat ik definitief in de vergetelheid was gezonken, met een score van 0 in 1989, maar de jaren negentig brachten een opleving, die zich in de nieuwe eeuw herhaalde.

¹⁷ De assistent in opleiding, afgekort AIO, is in 1987 bedacht door Roel in 't Veld, de directeur-generaal waaronder ik toen werkte. Het stelsel kwam er op neer, dat een AIO het eerste jaar van zijn aanstelling geacht werd 25% van de tijd onderwijs te volgen, welk percentage werd afgebouwd naar 0% aan het eind van de vierjarige aanstelling. Op grond daarvan werd het – toch al bescheiden - AIO-salaris gekort met 25% aflopend tot 0%. Evaluaties in het begin van de jaren 90 wezen uit, dat van dat onderwijs in de eerste jaren weinig terecht kwam, zodat de salariskorting in feite onterecht was. Met die bevindingen is nooit iets gedaan. In de laatste jaren is de betaling van promovendi nog verder versoberd, doordat veel universiteiten hun promovendi als beursstudent zijn gaan aanstellen.

¹⁸ Om heel precies te zijn: omdat ik internationaal wordt aangeduid als F.Y. Dijkstra maar ook als F.I.J. Dijkstra, zijn er voor mij twee zoekopdrachten nodig. De correcte spelling F.I.J. Dijkstra wordt buiten Nederland niet begrepen, omdat het Nederlands de enige taal is die een hoofdletter IJ kent.



Figuur 6. Citatenscore van 1972 t/m 2016. De rode lijn is de voortschrijdende trend op basis van 10 punten, volgens de LOESS-methode van Cleveland en Devlin (1988)

Per publicatie lopen de scores sterk uiteen, zoals tabel 1 laat zien.

Tabel 1. Citaties naar publicaties van Dijkstra c.s.		
Referentie	Tijdschrift	Citaties
Dijkstra, Scheffers en Wikén (1972)	Antonie van Leeuwenhoek	27
Dijkstra en Wikén (1976a)	Z. Lebensm. Unters.-Forsch.	57
Dijkstra en Wikén (1976b)	Z. Lebensm. Unters.-Forsch.	17
Dijkstra (1976a)	Z. Lebensm. Unters.-Forsch.	23
Dijkstra (1975)	Delft Progress Rep. Series A	1
Dijkstra (1976b)	Dissertatie TH Delft	8

De drie artikelen in het Zeitschrift für Lebensmitteluntersuchung und -Forschung spannen duidelijk de kroon, met 97 citaties. Het Delft Progress Report bungelt onderaan met 1 citatie en dat is bovendien een zelfcitatie in Dijkstra en Wikén (1976b). Ook het proefschrift is weinig geciteerd.

Daarom heb ik er spijt van dat ik niet alle onderwerpen uit het proefschrift in internationale tijdschriften heb gepubliceerd. Van de vijf hoofdstukken van het proefschrift was hoofdstuk 1 niet publiceerbaar buiten het kader van een proefschrift: wel nodig als inleiding op het proefschrift, maar niet geschikt als zelfstandige publicatie. Uit hoofdstuk 2, dat ging over de suikers en eiwitbronnen waar paddestoelenmycelium op groeit, heb ik een aantal onderdelen gepubliceerd in *Antonie van Leeuwenhoek* en in het *Delft Progress Report*. Het was beter geweest als ik nog één of twee artikelen in *Antonie van Leeuwenhoek* had geschreven, en het *Delft Progress Report* links had laten liggen. Hoofdstuk 3, over de samenstelling van het proteïne van paddestoelenmycelium, vond ik zelf niet erg baanbrekend. Toch zijn de resultaten uit dit hoofdstuk wel genoemd in het beperkte aantal citaties dat het proefschrift heeft gekregen. Hoofdstuk 4 is vrijwel in zijn geheel gepubliceerd in het Zwitserse *Zeitschrift für Lebensmitteluntersuchung und Forschung*. Hoofdstuk 5, het meer technologische deel van het onderzoek met de resultaten van de fermentorproeven en de productie van de smaakstoffen op grotere schaal, zou prima gepast hebben in een artikel in een biotechnologisch tijdschrift. Helaas heb ik dat niet meer geschreven, hoewel ik daar in 1977 en 1978 wel tijd voor zou hebben gehad. Maar in die jaren was ik al zo druk bezig

met het vinden van een baan buiten Delft, dat voortbouwen op het proefschrift er niet meer van is gekomen.

Kale aantallen citaties zeggen op zich nog niet zoveel: de hele wereld kan over een auteur heen vallen om aan te tonen wat er allemaal fout is in zijn publicaties. Dan krijgt die auteur wel veel citaties, maar dat zegt niets over de waarde van zijn werk. Het ligt niet voor de hand, dat die auteur daarna nog 40 jaar geregeld geciteerd wordt. Na een afwijzende golf van tegenpublicaties zal de wetenschap over gaan tot de orde van de dag en de afgeserveerde auteur niet meer noemen. Wat dat betreft duidt mijn citatiepatroon in figuur 6 er op, dat er geen sprake is geweest van massale afwijzing van mijn bevindingen. In de volgende hoofdstukken zal ik dit uitwerken aan de hand van de belangrijkste onderwerpen uit het proefschrift.

11. Kweken van paddestoelenmycelium in submerse cultuur

Diverse auteurs, die mycelium van *Agaricus bisporus* of *Pleurotus ostratus* nodig hadden maakten gebruik van het voedingsmedium van moutagar met caseïne dat ik ontwikkeld heb. Daarbij ging het niet altijd om het kweken van paddestoelenmycelium als voedingsmiddel. In alfabetische volgorde:

- Baars c.s. (1995, 1996) onderzochten stikstof metaboliserende enzymen in paddestoelen.
- Maftoun c.s. (2013) gebruikten het medium van Dijkstra om *Pleurotus ostratus* in submers cultuur het polysaccharide pleuran te laten produceren.
- Manu-Tawiah en Martin (1988) deden met stikstofbronnen voor *Pleurotus ostratus* hetzelfde als ik voor *Agaricus bisporus* en *Coprinus comatus*.
- Mol en Wessels (1990) gebruikten het door mij ontwikkelde synthetische medium om de snelle verlenging van de celwanden van de hyphen van *Agaricus bisporus* te bestuderen.
- Morten en Hicks (1992) kweekten mycelium van *Agaricus bisporus* om dubbelgedraaide RNA-profielen te bestuderen.
- Passmore en Frost (1980) onderzochten virusachtige deeltjes in paddestoelenbroed, en gebruikten mijn medium voor de kweek.
- Sonnenberg c.s. (1988) kweekten *Agaricus bisporus* en *Agaricus bitorquis* op media zoals in mijn proefschrift beschreven om protoplastregeneratiesystemen te onderzoeken.
- Straatsma c.s. (1986) onderzochten de groei van *Cantharellus cibarius* in aanwezigheid van levende tomatenwortels. Uit beleefdheid citeerden ze Dijkstra, Scheffers en Wikén (1972).
- Zetelaki-Horvath (1981) ontwikkelde een kweekmethode voor *Pleurotus ostreatus*, en wijdde enige vriendelijke woorden aan de moderne myceliumkweek, zoals o.a. door Dijkstra, Scheffers en Wikén (1972) is ontwikkeld.

Enkele interessante zijpadjes (zie pagina 5/6) uit mijn onderzoek hebben niet de aandacht getrokken. Dat is verklaarbaar uit het feit, dat ik daarover niet in een artikel heb gepubliceerd, maar alleen in mijn proefschrift.

- In de tabellen 3 en 5 van het proefschrift vermeld ik, dat *Coprinus comatus* met lactose als koolstofbron amper groeit. Na toevoeging van een relatief kleine hoeveelheid glucose (1:4) wordt 60% van de lactose wel verteerd. Een overeenkomstig effect was met *Coprinus lagopus* gevonden door Moore (1969). Met *Agaricus bisporus* vond ik zo'n wisselwerking tussen de suikerafbraak niet. Ik probeerde lactose als koolstofbron voor paddestoelenmycelium vanwege het idee om tapmelkpoeder te gebruiken als goedkope voedingsbron. Er is vaak een melkoverschot en niet alle mensen in ontwikkelingslanden kunnen melk drinken wegens lactose-intolerantie. Dan kun je melkpoeder misschien ook wel gebruiken voor het kweken van paddestoelenmycelium. Piet van den Berg en Jan van Vliet hebben daar in hun afstudeerwerk aardige resultaten mee bereikt.
- Maillardverbindingen stimuleren de groei van mycelium van *Agaricus bisporus* met ongeveer 10%. Dat ligt niet voor de hand, omdat de Maillardreactie (Maillard, 1912) optreedt als kool-

hydraten en eiwitten samen worden verhit, wat resulteert in een bruine kleur, die we uit de keuken heel goed kennen. Die bruine kleur lijkt een afbraakproduct. Voor de smaak van een gerecht is het goed, maar waarom zou een schimmel daar beter op groeien? Daarom steriliseerde ik zoveel mogelijk de suikers apart, zodat de Maillardreactie niet kon optreden. Maar toen ik eens onderzocht of dat enig verschil maakte, bleek het niet uit te maken of het medium bruin was gekleurd door de sterilisatie. In bruine media leek het mycelium zelfs beter te groeien. Het effect was niet groot in verhouding tot de standaarddeviatie (20%) in de metingen, en het was statistisch niet significant. En dus besloot ik om het nog eens te herhalen met grote aantallen geschudde kolfjes. Men kan het toeval immers overwinnen door veel waarnemingen. En zo vond ik met 80 proeven in separaat gesteriliseerd medium tegenover 80 proeven in gezamenlijk gesteriliseerd medium een significant verschil van 10%. Met *Coprinus comatus* vond ik ondanks een proef met 200 kolfjes geen significant effect. Deze stimulering van de groei van paddestoelenmycelium door Maillardverbindingen is in de literatuur tot dusver onopgemerkt gebleven. Wel heeft prof. Mulder als lid van de promotiecommissie er een opmerking over gemaakt in zijn bijdrage aan de discussie op 23 juni 1976.

12. Lipiden-effect

Diverse auteurs zijn verder ingegaan op het effect van lipiden op de groei van paddestoelenmycelium en citeren daarbij Dijkstra, Scheffers en Wikén (1972):

- Bechara c.s. (2006) kweekten vruchtlichamen van *Agaricus bisporus* zonder compost in vloeistofcultuur. Daarbij gebruikten ze olijfolie om de groei te stimuleren. Dat lukte wel, maar de kans op mislukking was groot, omdat het langzaam groeiende mycelium gemakkelijk overwoekerd wordt door schimmels en bacteriën. Een selectief medium, waarop paddestoelen in het voordeel zijn, zoals compost, is beter.
- Fries, Bardet en Serck-Hanssen (1985) vonden, dat ook *Laccaria*-soorten en *Leccinum*-soorten door lipiden worden gestimuleerd. De lipiden dienen niet als koolstofbron, maar ageren op een andere specifieke manier.
- Kurzmann (1976) observeerde een lipideneffect bij *Pleurotus sapidus*. Zijn figuur lijkt als twee druppels water op figuur 2 in Dijkstra, Scheffers en Wikén (1972).

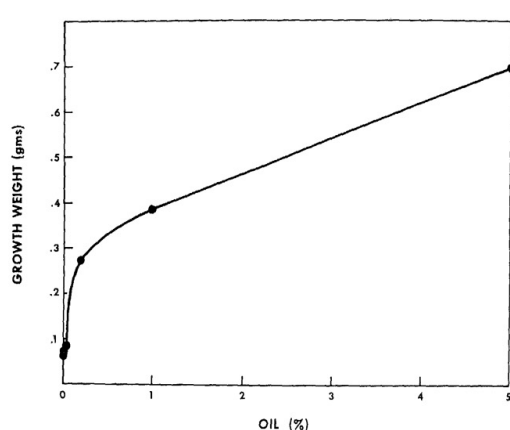


FIG. 2. Growth of *Pleurotus sapidus* on alfalfa brown juice medium as a function of added corn oil. Growth is shown as dry weight in 50 ml of medium in shake cultures after 14 da.

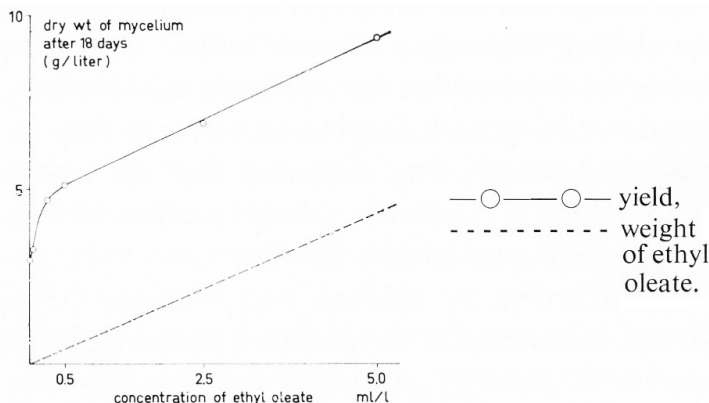


Fig. 2. Effect of ethyl oleate on yield of *Agaricus bisporus* in shaken flasks.

Figuur 7. Effect van lipiden op de groei van *Pleurotus ostratus* resp. *Agaricus bisporus* volgens Kurzmann (1976), links, en Dijkstra, Scheffers en Wikén (1972), rechts.

- Lehrian c.s. (1976) onderzochten de lipidenamenstelling van het mycelium van *Agaricus bisporus* en vonden, dat natriumacetaat als micronutriënt werkt, die de enzymatische vorming van linoleaat stimuleert.
- Schissler (1977), die met Wardle in 1969 voor het eerst publiceerde over het effect van lipiden op mycelium van *Agaricus bisporus*, is blijkbaar geïnspireerd door het werk van George

van Eybergen aan *Boletus edulis*. Schissler heeft het effect van lipiden op diverse boleten onderzocht. Vrijwel alle boleten groeien beter met olie en de lag fase wordt verkort. Als mogelijke verklaring van het lipideffect heeft Schissler een zin overgeschreven uit Dijkstra, Scheffers en Wikén (1976): 'Perhaps the lipids are partially incorporated in the cell membrane thereby facilitating the uptake of nutrients from the culture medium'.

13. Laccase-activiteit

Laccase is een enzym dat specifiek door hogere fungi wordt gebruikt om het houtbestanddeel lignine af te breken. Ik bedacht al tijdens mijn afstudeerwerk dat het meten van laccase in het vloeibare medium een handige manier is om (1) vast te stellen, dat je nog steeds werkt met het goede mycelium en (2) te gebruiken als indirecte maat voor de groei van het mycelium. Het werkt uiteraard alleen voor mycelium van paddestoelensoorten die laccase produceren. *Coprinus comatus* doet het bijvoorbeeld niet.¹⁹

- Baars c.s. (1996) hebben de laccase-activiteit ook gebruikt als groei-indicator bij hun onderzoek naar de ammoniumassimilatie door *Agaricus bisporus*.
- Kaufman c.s. (1984) hebben de groei van *Agaricus brunescens* in compost gemeten met behulp van de laccase-activiteit. Ze merken wel op, dat na de reproductieve fase de laccase-activiteit dramatisch daalt, zodat het dan geen goede indicator meer is voor de groei. Dat heb ik ook vastgesteld.

14. Gebruik van submers gekweekt mycelium als broed in de champignonkweek

De productie van broed in de champignonkweek kan heel goed in submerse kweek gedaan worden. Ik heb het gedaan om te bewijzen dat het mycelium waar ik mee werkte werkelijk van de champignon was, en geen contaminatie van een witte schimmel, zoals Humfeld en Sugihara (1948) is overkomen. Ik goot een kolf van 500 ml met 250 ml myceliumkweek uit over een kistje met compost, en dat gaf mooie paddestoelen. Toch heeft deze productie van broed geen navolging gevonden. Een mogelijke verklaring is dat het vrij lastig is om paddestoelenmycelium op wat grotere schaal te kweken zonder infecties op te lopen van sneller groeiende bacteriën, gisten en schimmels. Ongeveer een derde van de fermentorproeven die wij deden mislukte door infecties. Ik heb er nooit een statistiek op losgelaten en er ook niet over gepubliceerd. Daarvoor waren de aantallen proeven te klein, en ik ging er van uit, dat men, als dit onderwerp op industriële schaal zou worden opgepakt, daar wel een oplossing voor zou vinden. Dat blijkt tegen te vallen.

- Gibbons c.s. (1992) kweekten *Pleurotus sajor caju* submers met natriummetabisulfit als antibacterieel middel en een lage pH om contaminatie te voorkomen. Ze noemen het risico van contaminatie de meest serieuze beperking van het industrieel gebruik van submers gekweekt paddestoelenmycelium. Contaminatie is vervelend in het laboratorium, maar leidt tot significante verliezen op industriële schaal.
- Bechara c.s. (2006) probeerden champignons te kweken zonder compost in hydropone systemen. Ook bij hen vormde contaminatie een groot probleem, dat ze bestreden door de pH hoog (7,0) te houden en antibacteriële stoffen te gebruiken zoals tetracycline en thiophanaat-methyl.
- Kurzmann (1978) kweekte vruchtlichamen van *Pleurotus sapidus* op het wateroppervlak van submerse cultures. Hij liet kolven met vloeistofcultuur eerst 35 dagen schudden, en liet ze daarna stilstaan, waarna na 45 dagen atypisch gevormde vruchtlichamen ontstonden. Daarom dacht hij, dat vloeibaar broed niet erg effectief zou zijn, mogelijk doordat de overgang van vloeistofcultuur naar de compostomgeving te abrupt zou zijn. Ginterova (1973) constateerde in vloeistofcultuur dedikaryotisering (verlies van een van de twee kernen in een cel), wat de

¹⁹ Dit betekent, dat ik nooit heb kunnen aantonen, dat het door mij geïsoleerde mycelium inderdaad *Coprinus comatus* is, aangezien vruchtlichaamkweek bij mij ook nooit is gelukt. De sterkste aanwijzing, dat mijn mycelium wel goed was, zit in de geur en de productie van 1-octen-3-ol en 2-methyl-2-penten-4-olide.

vorming van vruchtlichamen zou kunnen verhinderen. Volgens Kurzmann is daar bij *Pleurotus sapidus* geen sprake van; hij vond ook vele ‘clamp connections’, het microscopische bewijs, dat men met een hogere schimmel te maken heeft.

15. Paddestoelenaroma's

De belangrijkste veroorzaker van de paddestoelengeur is 1-octen-3-ol. Dat was al sinds 1936 bekend (Murahashi, 1936), maar de eerste kwantitatieve proeven met een proefpanel zijn door mij gedaan. Enige tientallen auteurs citeren Dijkstra en Wikén (1976a) zonder veel experimentele waarnemingen toe te voegen over de intensiteit en kwaliteit van de geur van paddestoelen: Belitz en Grosch (1976), Bellesia c.s. (2001), Buchbauer c.s. (1993), Bano en Jararathnam (1988), Card en Avisse (1977), Fons c.s. (2003), Hanssen en Klingenberg (1983), Bozok c.s. (2015), Coetzee en Van Wijk (2009), Kerr c.s. (1985), Kompany en René (1994), Le Loch-Bonazzi en Wolff (1991), Maga (1980, 1981), Misharina c.s. (2009b), Usami c.s. (2014a, 2014b, 2014c), Vidal c.s. (1986).

Voor zover auteurs uitspraken doen over de geur van de gevonden aromastoffen berust dat op gaschromatografie/massaspectroscopie met een dubbele detector waarbij een deel van de gasstroom naar een snuffelpoort wordt geleid, waaraan een waarnemer de geur kan waarnemen. Met deze techniek zijn in paddestoelen andere stoffen gevonden met een aroma, dat volgens de auteurs afwijkt van dat van 1-octen-3-ol, maar dat iets toevoegt aan de totale smaak- en geurbeleving:

- Buchbauer c.s. (1993) vonden 70 andere stoffen die bijdragen aan de paddestoelengeur
- Cho c.s. (2006) vonden 1-octen-3-on als aromacomponent met de laagste smaakdrempel in *Tricholoma matsutake*
- Fons c.s. (2003) noemden benzaldehyde en benzylalcohol als aanvullende aromacomponenten van *Cantharellus cibarius*, naast 1-octen-3-ol als hoofdcomponent. Dat laatste had Dijkstra (1976a) ook al beweerd.
- Hanssen en Klingenberg (1983) melden dat er consensus is dat vluchtige C8-verbindingen de bepalende stoffen zijn voor het paddestoelenaroma. Toch vinden ze, dat het fenomeen ‘paddestoelensmaak’ hierdoor niet bevredigend wordt verklaard.
- MacLeod en Panchasara (1983) vonden na koken van paddestoelen ook cyclo-octanol, wat gevormd kan zijn uit 1-octen-3-ol door cyclisatie. En verder vonden ze afbraakproducten van benzylaldehyde en benzylalcohol.
- Misharina c.s. (2008, 2009b) vonden in *Lactarius hatsudake* 1-octen-3-on, maar geen 1-octen-3-ol. In *Hericiium erinaceus* hebben ze diverse vluchtige aroma's gevonden, maar slechts een spoortje 1-octen-3-ol.
- Usami c.s. (2014a, 2014b, 2014c) vonden in *Pleurotus eryngii*, *Pleurotus salmoneostramineus*, *Pleurotus sajor-caju* en *Pleurotus cystidiosus* methional, 1-octen-3-ol, 3-octanon, phenylacetaldehyde en nonanal.

De twee optische isomeren van 1-octen-3-ol hebben vrijwel dezelfde chemische en fysische eigenschappen, maar ze kunnen biologisch of biochemisch van elkaar verschillen, aangezien vrijwel alle enzymen specifiek zijn toegesneden op een bepaalde vorm van een molecuul. Het spiegelbeeld van een asymmetrisch molecuul past meestal niet op hetzelfde enzym. Daardoor wordt in de natuur vrijwel altijd van asymmetrische moleculen slechts één vorm gemaakt. Bij een chemische synthese zonder enzymen ontstaat meestal van beide isomeren evenveel, wat een zogenaamd ‘racemisch mengsel’ oplevert. In één fysisch opzicht verschillen de optische isomeren wel

van elkaar: ze veroorzaken een draaiing van het polarisatievlak van gepolariseerd licht²⁰. Het ene isomeer draait het polarisatievlak naar links, het andere isomeer draait het naar rechts. Maar dat is helaas een eigenschap op grond waarvan de isomeren niet met chemische processen van elkaar te scheiden zijn. Het 1-octen-3-ol dat men bij fabrikanten van chemicaliën kan kopen is zo'n racemisch mengsel. Ik weet niet meer of ik de eerste was, die op het idee kwam dat het optische isomeer van 1-octen-3-ol wel eens verschil zou kunnen maken voor het aroma. De geurreceptoren in onze neus kunnen best specifiek zijn voor een bepaalde vorm van een molecuul. Ik heb de moeite genomen de optische isomeren van elkaar te scheiden met een moeilijke procedure uit 1931 (volgens Levene en Walti), waarbij 1-octen-3-ol eerst met ftaalzuur werd verbonden, waarna daarvan een strychninezout werd gemaakt. Van dat zout kunnen door selectieve kristallisatie de optische isomeren van elkaar worden gescheiden. Uit die uit elkaar gehaalde strychnineftalaten van 1-octen-3-ol is het 1-octen-3-ol weer terug te winnen als twee optische isomeren. Vraag me niet meer hoe dit allemaal in zijn werk is gegaan! Na een week of twee had ik de optische isomeren in handen. Ze draaiden het gepolariseerde licht in tegengestelde richtingen, ze hadden beide nog steeds een paddestoelengeur, maar voor mijn gevoel was die geur bij het linksdraaiende isomeer sterker dan bij het andere isomeer. Met het proefpaneel stelde ik vast, dat het rechtsdraaiende 1-octen-3-ol ongeveer 70% van de geur intensiteit had van het linksdraaiende isomeer, wat nog juist een significant verschil was.

Mosandl c.s. (1986) hebben dit beter gedaan. Ze zeggen op beleefde wijze, dat ze vermoeden, dat bij mijn experimenten de beide isomeren niet volledig van elkaar zijn gescheiden. Met reductieve splitsing van verschillende optisch zuivere diastereometrische esters slaagden zij er in de twee optische isomeren van 1-octen-3-ol te scheiden met 99,9% zuiverheid.²¹ Zij constateren dat het linksdraaiende 1-octen-3-ol een intense paddestoelenachtige, fruitig zachte geur heeft, een zuiver paddestoelenaroma, terwijl het rechtsdraaiende 1-octen-3-ol een kruidige geur heeft, een beetje paddestoelenachtig, maar minder intensief en niet zo karakteristiek, een onplezierige, kunstmatige en zwakke paddestoelen geur. Helaas hebben zij nagelaten om de smaak- en geurdrempel van de beide isomeren te meten, zodat niet is na te gaan in hoeverre hun observaties in lijn zijn met mijn waarnemingen. Zij hebben de geur laten evalueren van 10 ppm 1-octen-3-ol in een 1% alcoholverdunding, en de smaak van 10 ppm 1-octen-3-ol in een sucroseoplossing.

Hoewel er dus geen kwantitatieve vergelijking mogelijk is, voegen Mosandl c.s. (1986) wel een zeer relevant kwalitatief aspect toe: het rechtsdraaiende isomeer van 1-octen-3-ol heeft een zwakkere, maar onnatuurlijke en onaangename geur, hetgeen verklaart, dat het racemische mengsel wel heel erg paddestoelenachtig geurt, maar het net niet is, zoals Lex Scheffers eens vaststelde bij een werkbepreking in de koffiekamer van het laboratorium in Delft.

Chiron en Michelot (2005) evalueren in een uitgebreid overzichtsartikel alle geurstoffen die in paddestoelen zijn gevonden. Ze missen de bijdrage van Dijkstra en Wikén (1976) aan de kennis van 1-octen-3-ol in paddestoelen, maar hebben wel opgepikt, dat wij benzaldehyde, benzylalcohol en isovaleriaanzuur hebben gevonden. Volgens hen zou het 1-octen-3-ol in *Agaricus bisporus* voor 98% bestaan uit het linksdraaiende isomeer, dat een smaakdrempel zou hebben van 1,4-10 ppb. Dit is belangrijk lager dan wat mijn proefpaneel vond: 230-820 ppb voor de linksdraaiende isomeer en 340-1110 ppb voor de rechtsdraaiende isomeer (tabel 23 uit mijn proefschrift).

16. Voorkomen van 1-octen-3-ol in paddestoelen en andere organismen

Men spreekt bij chemisch onderzoek wel eens van 'onderzoek volgens het periodiek systeem'. Daar wordt mee bedoeld, dat iets wat de ene auteur gevonden heeft voor een bepaald chemisch

²⁰ Voor uitleg over dit begrip wordt naar de bevoegde middelbare schoolliteratuur verwezen. Ik kan in het kader van deze evaluatie van mijn proefschrift niet alles uitleggen.

²¹ Daar kon mijn methode niet aan tippen. Ik heb de optische activiteit van de gescheiden isomeren gecontroleerd met een polarisatiemeter, maar die metingen zijn helaas niet bewaard gebleven. In mijn herinnering was de zuiverheid ongeveer 90 à 95%.

element, door een ander herhaald wordt voor de elementen die in het periodiek systeem van de elementen in de buurt van dat element staan. Dat vereist geen baanbrekende creativiteit, maar het kan tot interessante verbreding van de kennis leiden. Zo kan men ook onderzoek doen volgens de paddestoelencatalogus. Stofjes die Dijkstra en Wikén (1976a, 1976b) hebben gevonden in een paar paddestoelen kan men proberen te vinden in tientallen andere paddestoelen. En natuurlijk ook in andere schimmels, planten en insecten. Zo is het met 1-octen-3-ol ook gegaan. Zie tabel 2.

Tabel 2. Voorkomen van 1-octen-3-ol in fungi, planten, insecten		
Soort	Referentie	Bijzonderheid
<i>Agaricus bisporus</i>	Dijkstra & Wikén (1976a)	
<i>Agaricus bitorquis</i>	Dijkstra (1976a)	
<i>Ahasverus advena</i>	Pierce c.s. (1991)	graankever trekt soortgenoten aan met 1-octen-3-ol; bij hoge populatiedichtheid stopt productie
<i>Boletus edulis</i>	Bozok c.s. (2015)	
<i>Boletus edulis</i>	Dijkstra (1976a)	
<i>Boletus pinophilus</i>	Bozok c.s. (2015)	
<i>Calvatia gigantea</i>	Dijkstra (1976a)	0,19 promille, 50 maal zoveel als in <i>Agaricus bisporus</i>
<i>Calvatia sp.</i>	Coetzee & Van Wijk (2009)	voedingsstoffen en medicijnen uit verschillende bovisten
<i>Coprinus comatus</i>	Dijkstra & Wikén (1976b)	
<i>Lactarius sanguifluus</i>	Dijkstra (1976a)	
<i>Lentinus edodes</i>	Dijkstra (1976a)	
<i>Lepista nuda</i>	Noëll-Suberville c.s. (1996)	vooral in de lamellen, waar vetzuren worden omgezet in aromastoffen
<i>Marasmius oreades</i>	Vidal c.s. (1986)	
<i>Mellitis melissophyllum</i>	Maggi c.s. (2012)	bijenblad, een relatief zeldzame meerjarige plant in de lipbloemenfamilie die voornamelijk voorkomt in bergachtige gebieden met open loofbos in Centraal- en Zuid-Europa
<i>Pholiota squarrosa</i>	Dijkstra (1976a)	
<i>Pleurotus cystidiosus</i>	Usami c.s. (2014a)	
<i>Pleurotus eryngii</i>	Usami c.s. (2014a)	
<i>Pleurotus ostratus</i>	Dijkstra (1976a)	
<i>Pleurotus ostreatus</i>	Bano en Rajoranthnam (1988)	
<i>Pleurotus sajor-caju</i>	Usami c.s. (2014c)	
<i>Pleurotus salmoneo-stramineus</i>	Usami c.s. (2014c)	
<i>Sideritis italica</i>	Giuliani c.s. (2011)	culinair kruid, bergthee uit Balkan
<i>Tricholoma matsutake</i>	Cho c.s. (2006)	1-octen-3-on belangrijkste; verschilt tijdens ontwikkeling van vruchtlichamen
<i>Tricholoma matsutake</i>	Li c.s. (2016)	
<i>Tricholoma nudum</i>	Dijkstra (1976a)	
<i>Tricholoma porentosum</i>	Dijkstra (1976a)	
<i>Tuber borchii</i>	Bellesia c.s. (2001)	

Niet alle paddestoelen bevatten 1-octen-3-ol. Tabel 3 geeft daarvan een overzicht. Een opmerkelijk geval is gemeld door Coetzee & Van Wijk (2009). Zij onderzochten traditionele toepassingen van stuifzwammen van het geslacht *Calvatia*. De meeste daarvan heten ‘bovist’ in het Nederlands. De meest spectaculaire is *Calvatia gigantea*, de reuzenbovist, waarvan ik in de jaren ’70 tussen Maassluis en Delft wel exemplaren van bijna een halve meter heb gevonden. Ik vond daar ook de grootste hoeveelheden 1-octen-3-ol (Dijkstra, 1976a). Dat is tegengesproken door een zekere Overton (1994), die in deze bovist geen 1-octen-3-ol vond. Coetzee & Van Wijk houden het op mijn waarnemingen en betwijfelen de beweringen van Overton, mede omdat Overton ook in *Agaricus bisporus* geen 1-octen-3-ol heeft gevonden, en daarover bestaat in de literatuur toch wel een ‘overweldigende consensus’.²² Overigens citeert Overton (1994) mijn werk niet.

Tabel 3. Paddestoelensoorten waarin geen 1-octen-3-ol werd gevonden

Soort	Referentie	Bijzonderheid
<i>Calvatia gigantea</i>	Overton (1994)	door Coetzee & Van Wijk (2009) in twijfel getrokken
<i>Hericium erinaceus</i>	Miyazawa c.s. (2008)	slechts een spoortje 1-octen-3-ol naast andere aromastoffen
<i>Lactarius hatsudake</i>	Miyazawa c.s. (2009)	wel 1-octen-3-on
<i>Marasmius alliaceus</i>	Rapier c.s. (1997)	wel benzaldehyde

17. Aroma van de inktzwam: 2-methyl-2-penten-4-olide?

Dankzij het Unileverlab in Vlaardingen heb ik de eerste vondst van 2-methyl-2-penten-4-olide in een paddestoel op mijn naam kunnen schrijven. Veertig jaar na dato heeft dat nog weinig bevestiging gekregen. De vondst heeft 5 citaten opgeleverd. In chronologische volgorde:

- Horman (1978) noemt 3-octanol, 1-octen-3-ol, 1-octanol en 2-methyl-2-penten-4-olide als de vluchtige stoffen met de sterkste geur in *Coprinus comatus*, volgens Dijkstra & Wikén (1976a).
- Gilbertson & Koenig (1979) noemen 2-methyl-2-penten-4-olide een belangrijke aromastof van paddestoelen, volgens Dijkstra & Wikén (1976b).
- Hanssen (1982) noemt C8-verbindingen en 2-methyl-2-penten-4-olide als wezenlijke aroma-componenten, volgens Dijkstra & Wikén (1976b). Hij maakt ook gewag van de optische activiteit van de natuurlijk voorkomende aromastoffen, in tegenstelling tot de meeste synthetische producten. Hij concludeert desondanks, dat het chemisch bereiden van deze aromastoffen zonder twijfel economischer zal zijn, dan het produceren van deze stoffen door submerse kweek van paddestoelenmycelium. Hij sluit echter niet uit, dat dit in de toekomst verandert, met betere kennis van de genetische basis van de geurstofvorming en selectie van interessante stammen van paddestoelenmycelium.
- Muñoz c.s. (1993) ontwikkelden methoden om butenolides, alkylideenlactonen en furanen te maken uit hydroxylactonen. Ze vermelden, dat Dijkstra & Wikén (1976b) hebben gevonden, dat één van deze olides een paddestoelenaroma heeft.
- Chiacchio c.s. (1998) synthetiseerden een reeks verwante stoffen en ontwierpen daar een algemene methode voor. Het molecuul bestaat uit een vijfring van vier koolstofatomen en een zuurstofatoom. Aan het eerste koolstofatoom zit een dubbele zuurstofbinding, aan het tweede een methylgroep en een dubbele binding met het derde koolstofatoom (vandaar 2-methyl-2-

²² ‘Consensus’ is natuurlijk geen wetenschappelijk argument. Einstein zei, naar aanleiding van het artikel ‘100 auteurs tegen Einstein’, dat één argument voldoende is om een theorie te weerleggen. ‘Overweldigende consensus’ is een argument dat alleen bij klimaatpropaganda wordt gebruikt. Maar het feit, dat tientallen onderzoekers 1-octen-3-ol hebben gevonden in paddestoelen, maakt het wel erg onwaarschijnlijk, dat Overton gelijk heeft, dat in *Agaricus bisporus* en *Calvatia gigantea* geen 1-octen-3-ol zou voorkomen.

penten-), aan het vierde koolstofatoom zit een binding met het zuurstofatoom dat onderdeel is van de ring (vandaar: 4-olide). Aan dat vierde koolstofatoom zit ook een restgroep, in dit geval een methylgroep. Chiacchio c.s. meldden, dat de eigenschap van het molecuul afhangt van die restgroep: (1) methylgroep: paddestoelenaroma, (2) ethylgroep: fungicide, (3) butylgroep: een metaboliet van *Streptomyces griseus*. Ze beschrijven wel de synthese van de ‘mushroom flavour’ 2-methyl-2-penten-4-olide²³, maar geven zelf geen bewijs dat het stofje een paddestoelengeur of –smaak heeft. Waarschijnlijk doen ze dat op gezag van Dijkstra & Wikén (1976b).

Ik concludeer, dat nog steeds niet onafhankelijk bevestigd is, dat 2-methyl-2-penten-4-olide een aroma van de inktzwam is, en of dit aroma in andere paddestoelen voorkomt. Alle auteurs baseren zich op Dijkstra & Wikén. Chiacchio c.s. (1998) plaatsen het stofje in een groep verwante stoffen, die voorkomen in micro-organismen, maar ook zij baseren zich op Dijkstra & Wikén, voor wat betreft het aromakarakter.

Hanssen (1982) slaat de spijker op zijn kop met zijn verwachting, dat aromastoffen waarschijnlijk goedkoper chemisch kunnen worden gemaakt, en dat we de moeilijke manier van productie door submers gekweekt mycelium voorlopig wel kunnen vergeten. Daarin is sinds 1982 nog niet veel verandering gekomen.

18. Paddestoelenalcohol als afbraakproduct van linoleïnezuur

Waarom maken veel paddestoelen 1-octen-3-ol en hoe doen ze dat?

Op de eerste vraag lijkt het antwoord voor de hand te liggen: daarmee trekken ze insecten en andere dieren aan, die voor de verspreiding van sporen kunnen zorgen. Zelfs mensen worden door de aangename geur aangelokt om paddestoelen te plukken en te eten.

Er zijn ook diersoorten die soortgenoten lokken met 1-octen-3-ol, zoals we hiervoor zagen bij de graankever (Pierce c.s. (1991)). Ook heeft 1-octen-3-ol grote effecten op de fruitvlieg (*Drosophila*), op de spoorvorming door *Aspergillus* en *Penicillium*-soorten en het verhindert de vorming van primordia bij *Agaricus bisporus* (Yin c.s. (2015)). Dit laatste lijkt een populatieregulerend effect, net als bij de graankever.

Volgens Wood c.s. (2000) zou 1-octen-3-ol een antibacterieel agens zijn, en daarom maken vruchtlichamen het wel en mycelium niet, althans bij *Pleurotus ostreatus*. Dat kan ik zoverre met hen eens zijn, dat ik ook in myceliumkweken van *Pleurotus ostreatus* weinig 1-octen-3-ol heb gevonden. Maar in myceliumkweken van *Agaricus bisporus* en *Calvatia gigantea* vond ik wel grote hoeveelheden: 180 en 90 maal zo veel als bij *Pleurotus ostreatus* (Dijkstra, 1976b, tabel 32).

Omdat diverse schimmels 1-octen-3-ol produceren, kan de detectie van 1-octen-3-ol ook dienen als test voor schimmelcontaminatie van levensmiddelen (Pietrantonio c.s. (2015)).

De biosynthese van 1-octen-3-ol is door Wurzenberger en Grosch (1982, 1983, 1984, 1986) onderzocht. Zij stelden vast dat linoleïnezuur (met een 18 atomen lange koolstofketen) in *Agaricus bisporus* enzymatisch wordt gesplitst in een keten van 8 en een keten van 10 koolstofatomen: 1-5-octadiëen-3-ol en 10-oxo-trans-decenoïnezuur. Daarna vindt nog een enzymatische reductie plaats om 1-octen-3-ol te vormen. Ze hebben verder vastgesteld dat het zuurstofatoom uit de lucht afkomstig is. Leuk om te weten, maar veel voegt dat mijns inziens niet toe.

Cruz c.s. gebruiken de verhouding tussen 1-octen-3-ol en linoleïnezuur als ‘flavor quality’. Omdat het eerste stofje uit het andere ontstaat, geeft de verhouding van beide een indicatie voor de rijpheid van een paddestoel.

²³ Zij spreken van 3,5-dimethyl-2,5-dihydro-2-furanon, wat dezelfde stof is. De nomenclatuur van chemische stoffen verandert bijna net zo vaak als die van paddestoelen.

Linoleïnezuur speelt dus een belangrijke rol in het metabolisme van veel paddestoelen terwijl linoleïnezuur ook de groei van het mycelium sterk bevordert. Ik weet niet, of er verband is tussen die groeistimulatie en het feit, dat linoleïnezuur in het mycelium en de vruchtlichamen wordt omgezet in de lokstof 1-octen-3-ol. Zelf heb ik dat verband bij mijn onderzoek niet gelegd; Mau c.s. (1991) vonden bij de kweek van champignons dat de paddestoelen meer 1-octen-3-ol bevatten als ze plantaardige olie toevoegden aan de compost. Het gehalte aan 1-octen-3-ol was maximaal bij de derde oogstgolf. Mau c.s. (1993) hebben de enzymatische afbraak van linoleïnezuur tot 1-octen-3-ol en 10-oxo-trans-8-decenoïnezuur opgehelderd. Ze constateerden, dat de afbraak-enzymen bij paddestoelen anders zijn dan bij hogere planten.

Hussan c.s. (2001) gebruikten lipoxygenase en hydroperoxidelyase uit mycelium van *Agaricus bisporus* om (-)-1-octen-3-ol te maken. Dit zou industrieel toepasbaar zijn. Dat lijkt mij niet onwaarschijnlijk, omdat het synthetisch maken van het optische isomeer een complex procedé is, dat met natuurlijke enzymen efficiënter zou kunnen verlopen.

Opmerkelijk was dat ook prof. Wikén zich in 1976 interesseerde voor de manier waarop 1-octen-3-ol wordt gevormd. Hij kondigde mij voor de promotie aan, dat hij daar een vraag over ging stellen, waarbij zich met mij wilde afvragen of 1-octen-3-ol misschien via terpenoïden werd gevormd. Ik had geen flauw idee, maar om op die vraag een zinvol antwoord te geven heb ik een middag in de bibliotheek doorgebracht, en ik vond, dat 1-octen-3-ol en 1-octen-3-on in geoxideerd botervet kunnen voorkomen als gevolg van splitsing van vetzuren in ketens van 8 en 10 atomen. Dat kan de ranzige, paddestoelachtige geur geven aan bedorven boter. De route via terpenen leidt niet tot brokstukken van 8 koolstofatomen, maar tot eenheden van 5, 10, 15 en 20 atomen. Er is nog een derde route denkbaar, via polyketides. Bij de verdediging van het proefschrift speculeerde ik wat over deze varianten, en noemde de afbraak van vetzuren de meest waarschijnlijke. Het onderzoek van Wurzenberger en Grosch heeft dat dus bevestigd.

19. Niet-vluchtige smaakcomponenten

Als paddestoelen gekookt of gedroogd worden, verdwijnt een groot deel van C8-alcoholen in de lucht. In gekookte, ingeblikte en gedroogde paddestoelen wordt van de karakteristieke paddestoelenalcohol maar weinig meer aangetroffen. De smaak van gedroogde en gekookte paddestoelen wordt voornamelijk bepaald door een aantal niet-vluchtige stoffen, waarvan natriumglutamaat en guanosinemonofosfaat de belangrijkste zijn, in de literatuur vooral bekend onder hun afkortingen MSG en GMP. Samen gelden deze twee stoffen ook wel als de veroorzakers van de vleesbouillonachtige umamismaak. MSG zit als smaakversterker in veel keukenaroma's. Te veel MSG kan maagstoornissen veroorzaken, ook wel bekend als het 'Chinese Restaurant Syndroom'.

Andere aminozuren en nucleotiden, peptiden en suikers voegen daar bepaalde noties aan toe, maar er is niet één enkele stof gevonden, die in hoofdzaak verantwoordelijk zou zijn de smaak van gekookte paddestoelen. Tot deze conclusie was ik al gekomen (Dijkstra en Wikén, (1976a, 1976b), Dijkstra (1976b)) en dat is in feite bevestigd door de meeste auteurs die dit werk citeerden (Lee c.s. (2009), Liu c.s. (2005), Maga (1983), Mau en Tseng (1998), Ninomiya (1998), Seidemann (1993), Stijve c.s. (2002), Zhang c.s. (2013)).

Twee groepen auteurs zijn verder gekomen:

- (1) Misharina c.s. (2009, 2010) houden diverse afbraakproducten en hun reacties tijdens het droogproces verantwoordelijk voor het aroma van gedroogde champignons. Door substitutie van zwavel-, zuurstof- en stikstofatomen in heterocyclische verbindingen ontstaan stoffen als 2-methyl-furanthiol-3, dat de smaak van gekookt vlees zou hebben. Ook diverse pyrazines en methional zouden een rol spelen in de smaak van paddestoelen. Zij noemen phenyl-ethylalcohol (misschien niet geheel toevallig ook een – gecycliseerde – C8-alcohol) als het belangrijkste aroma van gekookte paddestoelen, en 2-acetylpyrrol als aroma van gebakken padde-

stoelen.

Statistisch verantwoord organoleptisch bewijs van hun claims geven ze niet. Al hun resultaten zijn gebaseerd op snuffelanalyses door een of twee waarnemers.

- (2) Rotzoll c.s. (2005, 2006) hebben een ingewikkeld mengsel samengesteld van γ -aminoboterzuur, aminozuren, barnsteenzuur, appelzuur, 1-O- β -D-glucopyranoside, waarmee ze zeggen de umamismaak van morieltjes te hebben gereconstrueerd. Dit mengsel zou in smaak niet significant afwijken van een origineel extract van morieltjes. Het stofje 1-O- β -D-glucopyranoside hebben ze voor het eerst gevonden in morieltjes; ze hebben het stofje door chemische synthese gemaakt en vastgesteld, dat dit de smaak van morieltjes veroorzaakt. Ze hebben dit daarom (S)-morelid genoemd.

20. Productie van smaakstoffen in submerse kweek

Hoofdstuk 5 van mijn proefschrift gaat over de productie van aromastoffen door paddestoelenmycelium in submerse kweek. Helaas heb ik dat hoofdstuk niet omgewerkt tot een artikel, waardoor het proefschrift voor de buitenwacht de enige bron is gebleven. Er is dan ook weinig door andere auteurs op voortgebouwd.

- Whitaker & Long (1973) bestudeerden de pelletvorming van paddestoelenmycelium en citeerden Dijkstra, Scheffers & Wikén (1972) dat pellets meer smaak zouden hebben dan losse hyphen.
- Belinky c.s. (1994) hebben 1-octen-3-ol laten vormen in submerse cultures van *Pleurotus pulmonarius*.
- Yoshida c.s. (1996) hebben diverse suikers en aminozuren gevonden in stilstaande myceliumcultures van *Auricularia polytricha*.

21. Voedingsstoffen uit paddestoelenmycelium

De mogelijke voedingswaarde van paddestoelenmycelium was een van de drijfveren om het mycelium te kweken. Het woord 'protein' in de titel van mijn proefschrift drukt dat ten volle uit. Essentieel is daarbij, dat het mycelium een rijker proteïne maakt dan in het medium zit waarin het mycelium gekweekt wordt. Humfeld en Sugihara (1949, 1952) kwamen met hun vermeende *Agaricus campestris* stammen heel ver: het mycelium groeide met anorganische stikstofbronnen (nitraat, ammoniumzouten) en produceerde een schimmelproteïne met voedingswaarde voor mens en dier. Helaas bleek later (Molitoris, 1963), dat hun mycelium geen *Agaricus*-soort was, maar een imperfecte schimmel, *Beauveria tenella*.²⁴ De combinatie van proteïneverrijking en een aantrekkelijke smaak en geur werd door hen niet bereikt.

Veel verrijking van het proteïne heb ik met mijn kweken van paddestoelenmycelium niet bereikt. Wel was ik zeker (bij *Agaricus bisporus*) of vrijwel zeker (bij *Coprinus comatus*), dat ik werkte met mycelium van eetbare paddestoelen en niet met een contaminant, die toevallig ook wit mycelium produceert. En ook was ik zeker, dat daarbij de meest karakteristieke aromastoffen werden geproduceerd.

Agaricus bisporus groeide bij mijn proeven niet op ammoniumzouten en nitraten, ook niet op ureum of simpele aminoverbindingen. Op een mengsel van 17 aminozuren deed hij het beter, maar het beste in een mout-caseïne-medium waarvan de proteïnequaliteit ook zonder verrijking al voldoende zouden zijn om een mens in leven te houden.

Coprinus comatus groeide beter dan *Agaricus bisporus* op ureum en asparagine plus phenylalanine. Op een mengsel van 17 aminozuren deed *Coprinus comatus* het nog beter, maar ook hier was caseïne veruit de beste stikstofbron. Een groot succes voor de proteïneverrijking waren mijn kweken van paddestoelenmycelium niet (zie tabel 10 in mijn proefschrift). Paddestoelen zijn

²⁴ Een imperfecte schimmel is een schimmel waarvan niet bekend is, of hij zich door middel van sporen voortplant. Van een imperfecte schimmel is alleen vegetatieve voortplanting door celdeling bekend. Paddestoelenmycelium dat geen vruchtlichamen vormt, moet dus ook als imperfecte schimmel worden beschouwd.

onmiskenbaar een nuttige bron van proteïne voor consumptie, maar voornamelijk als ze als vruchtlichamen zijn gegroeid op organisch afval. Dat zijn omstandigheden waarin reincultures van mycelium niet goed groeien.

In grote lijnen is dit ook de conclusie van de meeste andere auteurs:

- Bisaria en Madan (1983) noemen paddestoelen een goede bron voor proteïne voor menselijke consumptie.
- Eisenhut c.s. (1995) constateren dat vruchtlichamen van *Hericum erinaceus* (pruikzwam) de meeste van alle bekende aromacomponenten bevatten, en veel mineralen net als andere paddestoelen, en ook alle essentiële aminozuren, behalve methionine en tryptophaan.
- Kurkula c.s. (1980) zijn van mening, dat de gebruikelijke factor 6,25 om een stikstofgehalte om te reken naar een proteïne voor paddestoelen niet goed opgaat. Een factor 4,2 zou beter overeenstemmen met de voedingswaarde van paddestoelenproteïne.
- Kurzmann (1979) rekent paddestoelen (in de vorm van vruchtlichamen) tot de oudste Single Cell Protein, die al voor menselijke consumptie werd gebruikt toen de mens nog niets wist van andere micro-organismen.
- Lizarraga-Guerra en Lopez (1996) vergeleken het aminozuurgehalte van *Ustilago maydis* (een eetbare brandschimmel die op mais groeit) met *Agaricus bisporus*. Ze constateerden, dat deze fungi qua voedingswaarde overeenstemmen. Deze aminozuren kunnen een majeure rol spelen bij de smaak van deze paddestoelen.
- Zhou c.s. (2015) analyseerden de aminozuren in een drietal Chinese eetbare paddestoelen. Ook zij constateren, dat deze aminozuren een belangrijke rol spelen in de smaak.
- Léon-Gurzmann c.s. (1997) analyseerden de aminozuur- en vetzuursamenstelling van diverse paddestoelen. De gegevens over *Agaricus bisporus* namen ze over van Dijkstra en Wikén (1996a). Ze constateerden, dat paddestoelen veel lysine bevatten en daardoor een waardevol voedingsupplement zijn.

22. Chemotaxonomisch belang van vluchtige stoffen.

Ik heb in een van de stellingen bij mijn proefschrift geponeerd, dat vergissingen als bij Humfeld en Sugihara (1948) voorkomen kunnen worden door vergelijking van de chemische samenstelling van geïsoleerd mycelium en in de natuur voorkomende vruchtlichamen. Veel navolging heeft deze stelling niet gekregen (een Nederlandstalige stelling bij een proefschrift is dan ook geen erg effectieve manier van communicatie van ideeën). Door de inmiddels beschikbaar gekomen DNA-vergelijking is dit idee tamelijk achterhaald geworden.

Boustie c.s. (2005) hebben in *Lepista nuda* 1-octen-3-ol gebruikt voor taxonomische doeleinden, alsmede glutaminezuur, dat zo algemeen is, dat het geen onderscheidend criterium is bij de identificatie van soorten.

23. Vriendschappelijke citaten

Het citeren van vrienden en collega's of het citeren van je eigen werk staat tegenwoordig in een kwade reuk, omdat aantallen citaten een grote rol zijn gaan spelen in de beoordeling van wetenschappelijk werk en in de verdeling van de schaarse gelden. Tegen zelfcitaten is naar mijn mening nog steeds niets in te brengen: als men verder heeft gewerkt aan een onderwerp is het logisch, dat men de voorafgaande eigen artikelen noemt. Tegenwoordig is zelfs zelfplagiat verboden: iets wat men al eenmaal in een artikel heeft geschreven zou men niet opnieuw mogen schrijven, omdat men dat inspanningsloos pagina's toevoegt aan zijn wetenschappelijke oeuvre. Dit laatste kan niet van toepassing zijn op het omwerken van een bundel artikelen tot een proefschrift, zoals ik heb gedaan. En dan is het logisch, dat men ook de oorspronkelijke artikelen citeert in dat proefschrift. Op deze manier heb ik in al mijn artikelen behalve het eerste, alsmede in mijn proefschrift alle eerder verschenen artikelen geciteerd.

Vriendschappelijke citaten heb ik ook gepleegd: Van Eybergen & Scheffers (1972) en Wikén (1946), Wikén & Öblom (1947) en Wikén c.s. (1951), Wikén & Somm (1952) staan in mijn referentielijsten zonder dat er een inhoudelijke relatie is met mijn onderwerp. De citaten van het werk van Wikén zette ik er in op zijn uitdrukkelijke wens. Op zijn beurt heeft George van Eybergen mij wederzijds geciteerd (Van Eybergen & Scheffers, 1972). Metz en Kossen (1977), onze grote biotechnologische tegenpolen waren ook zo vriendelijk mijn werk te citeren en op hoge leeftijd heeft Lex Scheffers dat nogmaals gedaan bij zijn persoonlijke terugblik op zijn wetenschappelijke leven (Scheffers, 2015).

24. Terugblik: heeft het allemaal nut gehad?

Volgens wetenschappelijk onderzoek dat ik later in mijn ambtelijke leven heb laten doen (Van der Neut en De Jonge, 1993, Hulshof c.s., 1997), verhoogt een promotie de carrièrekansen nauwelijks, behalve als men een wetenschappelijke carrière ambieert. Maar het grootste deel van de gepromoveerden komt buiten de wetenschap terecht. Volgens dat zelfde wetenschappelijk onderzoek vinden de gepromoveerden zelf, dat de promotie toch van groot belang is geweest voor hun ontwikkeling, en dat ze zonder dat promotieproject niet geworden zouden zijn wat ze zijn. Gezien de 133 citaten is mijn werk niet onopgemerkt gebleven, en is ook niet als mogelijke dwaling terzijde gelegd. Het chemische aspect van mijn werk heeft de meeste aandacht gekregen van de citerende auteurs. De precieze aard van de smaak en geur van paddestoelen zijn ook 40 jaar na mijn promotie niet volledig opgehelderd, maar het is mogelijk geworden de smaak en geur synthetisch na te maken. Mijn werk heeft daar een bijdrage aan geleverd. Ik beweer niet dat die bijdrage onmisbaar is geweest, maar hij was niet onbelangrijk. Latere auteurs hebben de biosynthese van (-)-1-octen-3-ol opgehelderd, en de relatie gelegd met het lipidemetabolisme waarvan ik in mijn eerste publicatie de effecten heb gedemonstreerd. Die relatie tussen en aroma's en lipiden heb ik zelf nooit gelegd, maar die puzzelstukjes zijn later mooi bij elkaar gekomen. Het is zelfs mogelijk dit aroma te produceren met de enzymen die in paddestoelen voor het lipidemetabolisme zorgen.

Het kweken van paddestoelenmycelium op industriële schaal is thans, 40 jaar na mijn promotie en 70 jaar na Humfeld en Sugihara, nog steeds niet gerealiseerd. Ik betwijfel of dat ooit zal gebeuren. De kans dat een batchkweek geïnfecteerd raakt met veel sneller groeiende bacteriën en schimmels is te groot. De verliezen in een industrieel proces zouden te groot worden. Ik had destijds de onuitgesproken hoop ('onuitgesproken' want ik heb dit probleem niet in mijn publicaties besproken), dat in de toekomst een geavanceerd industrieel proces wel raad zou weten met de kans op infecties. Dat is – denk ik – ijdele hoop gebleken. Ook in operatiekamers lukt het vaak niet om infecties te vermijden, en dat zijn veel kleinschaliger processen. Bechara c.s. (2006) kweekten paddestoelenmycelium in hydroponie systemen, met continue doorstroming van het voedingsmedium. Ze gebruikten een lage pH om infecties te beheersen. Gibbons c.s. voegden metabisulfiet toe, waar hogere fungi een grotere tolerantie voor hebben van andere schimmels.

Een geslaagd promotieonderzoek is een bewijs, dat men zelfstandig een onderzoek kan opzetten, dat zich uitstrekt over meerdere jaren en daar ook over kan rapporteren en met andere wetenschappers kan communiceren. Gezien de vrijwel afwezige begeleiding van mijn promotor en van de directe collega's, kan gezegd worden, dat ik met de promotie bewezen heb een onderzoek te kunnen opzetten en uitvoeren. Ik heb echter niet bewezen, ook in een wetenschappelijk team te kunnen samenwerken. Tegenwoordig geldt dat als een minstens even belangrijke competentie als het kunnen opzetten en uitvoeren. Waarschijnlijk heeft dit manco ook mijn latere ambtelijke loopbaan beïnvloed. Als hoofd van de afdeling Analyse Hoger Onderwijs op het ministerie van OCW ben ik in zekere mate ook altijd een eenling gebleven. Hoog geschat om de aanwezige kennis op een aantal kwantitatieve terreinen, ben ik toch altijd een beetje in de zijlijn van de beleidsontwikkeling blijven staan. Reden om daar ontevreden over te zijn heb ik overigens niet: de

rol die ik gedurende bijna 28 jaar in het ministerie heb gespeeld paste mij goed. De zweverigheid van de beleidsontwikkeling, waarbij gladde praters oplossingen bedenken voor problemen waarvan ik na analyse zeg dat ze niet bestaan, heeft mij nooit erg gelegen. Al ben ik dan niet tot grote beleidsmatige en politieke hoogten gestegen, ik heb er een goed salaris mee verdiend, waarschijnlijk meer dan ik zou hebben gekregen als ik in 1979 op de TUD was blijven hangen, ik heb van 1988 tot 2008 leiding mogen geven aan een afdeling van 4 tot 10 mensen, waarin wij elk beleidsidee graag op de pijnbank van de empirische bevestiging legden. Dat daar niet altijd naar is geluisterd, is voor de beleidsanalyse een ‘fact of life’.

En last but not least: ik heb er een behoorlijk pensioen mee opgebouwd, al jeuken mijn handen geregeld om de zuinige rekenmodellen waar de wetgeving de pensioenfondsen toe dwingt ook op de pijnbank van de empirische bevestiging te leggen. Enig voorwerk heb ik al gedaan (Dijkstra, 2013).

Tenslotte de vraag die Sien de Nooyer in *‘Het bureau’* herhaaldelijk stelt (Voskuil, 1996-2000): ‘was het wel wetenschap?’ Maarten Koning voert vaak discussies over de wetenschappelijke probleemstelling van zijn artikelen. Rechtljnige wetenschappers, waarvan Sien een exponent is, proberen hem aan te praten, dat hij moet beginnen met een hypothese die hij wil toetsen aan feiten. Het toetsen van die hypothese zou dan de probleemstelling van zijn onderzoek moeten zijn. Maarten zegt wel eens: ‘ik maak nooit een probleemstelling. Ik begin met iets dat me interesseert, en waar ik meer van wil weten. En als ik dan meer weet, dan schrijf ik dat op, en dat is mijn artikel. Daar heb ik geen probleemstelling voor nodig.’ In feite ben ik zo te werk gegaan. Ik vroeg me af of paddestoelenmycelium te kweken was op laboratoriumschaal en op grotere schaal, en ik vroeg me af, of je op die manier de smaakstoffen en de voedingswaarde van paddestoelen kunt krijgen, zonder de vruchtlichamen te kweken. Als men dat een hypothese wil noemen vind ik dat prima, en die hypothese (‘dat het mogelijk is’) heb ik getoetst. Het was dus wetenschap.

Maar een andere vraag is of ‘de’ wetenschap hier veel mee is opgeschoten. Weten we nu meer van de functie van hogere schimmels in de natuur? Vooropgesteld, dat dit niet de probleemstelling van het onderzoek was, zou ik zeggen: ‘ja, we weten iets meer, maar of je teleurgesteld bent ligt er aan, hoeveel je had willen weten’. We hebben meer inzicht gekregen in de rol van het geurstofje 1-octen-3-ol in de geur en smaak van paddestoelen. Latere onderzoekers hebben daarop voortgebouwd en 1-octen-3-ol aangewezen als een lokstof voor insecten, zowel in positieve als in negatieve zin, waarbij het misschien puur toeval is, dat deze lokstof voor de mens ook de plezierige geur van paddestoelen veroorzaakt. Wetenschap bouwt voort op wat anderen hebben gevonden. Als onderzoek resultaat oplevert, waar anderen op kunnen voortbouwen, dan heeft een wetenschapper een doel bereikt. Ik ben over de bijdrage van mijn promotieonderzoek aan de wetenschap na veertig jaar best tevreden.

Op het moment dat ik dit schrijf ben ik 70 jaar oud. Misschien krijg ik nog 10 of 20 jaar te leven. Mocht dat gebeuren, dan ben ik van plan om in 2026 en 2036 nog eens naar de bibliotheek in Delft te gaan, om deze evaluatie te actualiseren. Misschien zal men nog meer van mij horen.

Ommen, 2 februari 2017.

Referenties²⁵

- Assaf, S., Hadar, Y. Dororetz, C.G., 1997. 1-Octen-3-ol en 13-hydroperoxylinoleate are products of distinct pathways in the oxidative breakdown of linoleic acid by *Pleurotus pulmonarius*. Enzyme and Microbial Technology 21, 484-490.
- Baars, J.J., Camp, H.J.M. op den, Drift, C. van der, Griensven van, L.J.L.D., Vogels, G.D., 1995a. Regulation of Nitrogen-Metabolizing Enzymes in the Commercial Mushroom *Agaricus bisporus*. Current Microbiology 31, 345-350.
- Baars, J.J., Camp, H.J.M. op den, Paalman, J.W.G., Mikes, V., Drift, C. van der, Griensven van, L.J.L.D., Vogels, G.D., 1995b. Purification and Characterization of Glutamine Synthetase from the Commercial Mushroom *Agaricus bisporus*. Current Microbiology 31, 108-113.
- Bano, Z., Rajarathnam, S., 1988. *Pleurotus* mushrooms, part II. Chemical composition, nutritional value, post-harvest physiology, preservation and role as human food. Critical Reviews in Food Science, 37, 87-158.
- Bechara, M.A., Heinemann, P. Walker, P.N. Romaine, C.P. (2006). *Agaricus bisporus* Mushroom Cultivation in Hydroponic systems. Transactions of the American Society of Agricultural and Biological Engineers, 49, 825-832.
- Belitz, H.-D., Grosch, W., 1976. Analyse von Aromastoffen, Naturwissenschaften 63, 529.
- Bellesia, F., Pinetti, A., Ririllini, B., Bianchi, A., 2001. Temperature-dependant evolution of volatile organic compounds in *Tuber borchii* from Italy. Flavour and Fragrance Journal, 16, 1-6.
- Belinky, P.A., Masaphy, S. Levanon, D., Hadar, H. Dosoretz, C.G., 1994. Effect of medium composition on 1-octen-3-ol formation in submerged cultures of *Pleurotus pulmonarius*. Applied Microbial Biotechnology, 40, 629-633.
- Berg, P.M. van den, 1974. Groei en vorming van aromastoffen bij *Coprinus comatus* in submerse kultures, onder meer met betrekking tot bepaalde fysisch-technologische aspecten. Afstudeerverslag, TU-Delft, juni 1974.
- Binnemann, P. Jahr, D., 1979, Einsatzmöglichkeiten der Massenspektrometrie bei der Überwachung von Lebensmitteln und Bedarfsgegenständen. I. Fresenius Zeitschrift für Analytische Chemie, 297, 341-356.
- Bisaria, R., Mira, M., 1983. Mushrooms: potential protein source from cellulose residues. Enzyme and Microbial Technology, 5, 251-259.
- Boudreau, J.C., Oravec, J., NGA Kieu Hoang, White, T.D., 1979. Taste and the Taste of Foods, American Chemical Society, 15 pages.
- Boustie, J., Rapior, S., Fortin, H., Tomasi, S., Bessière, J.-M., 2005. Chemotaxonomic interest of volatile components in *Lepiste inversa* and *Lepista flaccida* distinction, Chryptogramie, Mycologie, 26, 1-9.
- Bozok, F. Zarifikhosroshahi, M., Kafkas, E., Taskin, H., Buyukalaca, S., 2015. Comparison of Volatile Compounds of Fresh *Boletus edulis* and *B. pinophilus* in Mamara Region of Turkey, Not. Bot. Agrobi, 43, 192-195.
- Buchbauer, G., Jirovetz, L., Wasicky, M., Nikiforov, A., 1993. Zum Aroma von Speisepilzen. Zeitschrift für Lebensmittel Untersuchung und –Forschung, 197, 429-433.
- Bukhalo, A.S., 1982. Selection of mushrooms to obtain food biomass. Mikologia i fitopatologica, 16, 63-70.

²⁵ Conventies in deze literatuurlijst: [auteur, voorletters, eventuele voorvoegsels], [volgende auteurs volgens zelfde systematiek], jaartal,[eventueel gevolgd door a, b.c...]. [Titel]. [tijdschrift of boek], [bandnummer], [eerste pagina – laatste pagina]. Hoofdletters in de titel zijn aangehouden zoals in het artikel, titels die volledig in hoofdletters zijn gesteld zijn met een hoofdletter aan het begin geschreven en bij soortnamen en plaats- en landnamen, maar verder in kleine letters. Soortnamen zijn naar microbiologisch gebruik cursief gedrukt, met een hoofdletter bij de genusnaam en geen hoofdletter bij de soortnaam, ook als dit in het originele artikel anders is gedaan.

- Card, A., Avisse, C., 1977. Étude comparative des arômes de champignons crus en cuits (*Agaricus bisporus* L.). Annales de Technologie Agricole, 27, 287-293.
- Chiacchio, U., Piperno, A., Rescifina, A., Giovanni, R. Uccella, N., 1998. A General Synthetic Approach to 5-Alkyl-2(5H)furanones Via 1,3-Dipolar Cycloaddition. Tetrahedron 54, 5696-5708.
- Cho, I.H., Young-Suk, K., Ki Won, L., Hyung-Kyoon, Choi, 2007. Determination of Differences in the Nonvolatile Metabolites of Pine-Mushrooms (*Tricholoma matsutake* Sing.) According to different Parts and Heating Times Using ¹H NMR and Principal Component Analysis. Journal for Microbial Biotechnology, 17, 1682-1687.
- Cho, I.H., Young Kim, S., Hyung-Kyoon Choi, Young-Suk, K., 2006a. Characterization of Aroma-Active Compounds in Raw and Cooked Mushrooms (*Tricholoma matsutake* Sing.). Journal for Agricultural and Food Chemistry, 54, 6332-6335.
- Cho, I.H., Young Kim, S., Hyung-Kyoon Choi, Young-Suk, K., 2006b. Difference in The Volatile Composition of Pine-Mushrooms (*Tricholoma matsutake* Sing.) According to Their Grades. Journal for Agricultural and Food Chemistry, 54, 4820-4825.
- Cruz, C., Noël-Suberville, C., Montury, M., 1997. Fatty Acid Content and Some Flavor Compound Release in Two Strains of *Agaricus bisporus*, According to Three stages of Development. Journal for Agricultural and Food Chemistry 45, 64-97.
- Chiron, N., Michelot, D., 2005. Odeurs des champignons: chimie et role dans les interaction biotiques, - une revue. Cryptogamie et Mycologie, 26, 299-364.
- Cleveland, W.S., Devlin, S.J., 1988. Locally Weighted Regression: An Approach to Regression Analysis by Local Fitting. Journal of the American Statistical Association 83, 595-610.
- Cronin, D.A., Ward, M.K., 1971. The characterisation of some mushroom volatiles. Journal of the Science of Food and Agriculture 22, 477-479.
- Dijkstra, F.I.J., Scheffers, W.A., Wikén, T.O., 1971. Submerged culture of mycelium of the cultivated mushroom, *Agaricus bisporus*. Abstracts First International Mycological Congress, Exeter, page 25
- Dijkstra, F.I.J., Scheffers, W.A., Wikén, T.O., 1972. Submerged growth of the cultivated mushroom, *Agaricus bisporus*. Antonie van Leeuwenhoek, Journal of Microbiology and Serology 38, 329-340.
- Dijkstra, F.I.J., 1975. Influence of carbon sources on the growth of mushroom mycelium in submerged culture. Delft Progress Report, Chemistry and Physics, Chemical and Physical Engineering, 1, 120-124.
- Dijkstra, F.Y., Wikén, T.O., 1976a. Studies on Mushroom Flavours, 1. Organoleptic Significance of Constituents of the Cultivated Mushroom, *Agaricus bisporus*. Zeitschrift für Lebensmittel Untersuchung und –Forschung, 160, 255-262.
- Dijkstra, F.Y., Wikén, T.O., 1976b. Studies on Mushroom Flavours, 2. Flavour Compounds in *Coprinus comatus*. Zeitschrift für Lebensmittel Untersuchung und –Forschung, 160, 263-269.
- Dijkstra, F.Y., 1976a. Studies on Mushroom Flavours, 3. Some Flavour Compounds in Fresh, Canned and Dried Edible Mushrooms. Zeitschrift für Lebensmittel Untersuchung und –Forschung, 160, 401-405.
- Dijkstra, F.I.J., 1976b. Submerged cultures of mushroom mycelium as sources of protein and flavour compounds. Thesis Delft, 106 pages.
- Dijkstra, Frans, 2013. Pensioenfondsen kunnen dividend uitkeren. Economisch Statistische Berichten, 98, 46-47.
- Eisenhut, R., Fritz, D., Tiefel, P., 1995. Untersuchungen über ernährungsphysiologisch wertvolle Inhaltstoffe (Mineralstoffe, Aminosäuren, Aromastoffe) von *Hericium erinaceus*. Gartenbauwissenschaft 60, 212-218.

- Eybergen, G.C. van, Scheffers, W.A., 1972. Growth of mycelium of *Boletus edulis* on agar media and in submerged liquid cultures. *Antonie van Leeuwenhoek, Journal of Microbiology and Serology* 38, 448-450.
- Fons, F., Rapior, S., Eyssartier, Bessière, J.-M., 2003. Les substances volatiles dans les genres *Cantharellus*, *Craterellus* et *Hydnum*. *Croptogamie et Mycologie*, 24, 367-376.
- Freytag, W., Ney, K.H., 1968. Beitrag zum Vorkommen von 1-Octen-3-ol. *European Journal of Biochemistry* 4, 315-318.
- Fries, N., Bardet, M., Serck-Hanssen, K., 1985. Growth of ectomycorrhizal fungi stimulated by lipids from a pine root exudate. *Plant and Soil*, 86, 287-290.
- Gibbons, W.R., Pulscher, N.S., Ringquist, E.J., 1992. Sodium Meta Bisulfite and pH Tolerance of *Pleurotus sajor caju* under Submerged Cultivation. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 37, 177-189.
- Gilbertson, G., Koenig, R.T., 1979. Essential Oils and Related Products. *Analytical Chemistry*, 51, 183R-196R.
- Ginterova, A., 1973. Dedikaryotization of higher fungi in submerged culture. *Folia Microbiologica* 18, 277-280.
- Giuliani, C., Malecci Bini, L., Papa, F., Cristalli, G., Sagratini, G., Vittori, S., Lucarini, D., Maggi, F., 2011. Glandular Trichomes and Essential Oil Composition of Endemic *Sideritis italianica* (Mill.), Greuter et Burdet from Central Italy. *Chemistry and Biodiversity*, 8, 2179-2194.
- Grove, J.F., 1981. Volatile compounds from the mycelium of the mushroom *Agaricus bisporus*. *Phytochemistry* 20, 2021-2022.
- Hanssen, H.P., Klingenberg, A., 1983. Determination of Some Important Flavour Compounds in Commercial Mushroom Concentrates. *Zeitschrift für Lebensmittel Untersuchung und – Forschung*, 177, 333-335.
- Hanssen, H.P., 1982. Pilzaromen – Aromen aus Pilzen? *Deutsche Lebensmittel-Rundschau*, 78, 435-440.
- Horman, I., 1978. Mass Spectrometry in Food Science. In: *Mass Spectrometry Volume 5*, The Chemical Society, London, 211-233.
- Hulshof, M.J.F., Verrijt, A.H.M., Kruijthoff, A., 1997. Promoveren en de arbeidsmarkt: ervaringen van de ‘lost generation’. *Beleidsgerichte studies Hoger onderwijs en Wetenschappelijk onderzoek*, nummer 43, januari 1997.
- Humfeld, H., Sugihara, T.F., 1948. Mushroom mycelium production by submerged propagation. *Food Technology (Chicago)* 3, 355-356.
- Hussun, F., Bompas, D., Kermasha, S., Belin, J.M., 2001. Biogeneration of 1-octen-3-ol by lipoxenase and hydroperoxide lyase activities of *Agaricus bisporus*. *Process Biochemistry*, 37, 177-182.
- Kaufmann, T.D., Lukezic, F.L., Bloom, J.R., 1984. The effect of free-living nematodes and compost moisture on growth and yield in *Agaricus brunnescens*. *Canadian Journal of Microbiology*, 30, 503-506.
- Kerr, L.H., Wiley, R.C., Ming-Jen, S., 1985. Solid-liquid Extraction of Mushroom Solids and Concentration by Reverse Osmosis. *Journal of Food Science*, 50, 1300-1305.
- Kline, D.L., 1994. Olfactory attractants for mosquito surveillance and control: 1-octen-3-ol. *Journal of the American Mosquito Control Association*, 10, 280-287.
- Kline, D.L., Allan, S.A., Bernier, U.R., Welch, C.H., 2007. Evaluation of the enantiomers of 1-octen-3-ol and 1-octyn-3-ol as attractants for mosquitoes associated with a freshwater swamp in Florida, U.S.A., *Medical and Veterinary Entomology*, 21, 323-331.
- Kompany, E., René, F., 1995. A Note on the Freeze-drying Conditions for Improved Aroma Retention in Cultivated Mushrooms (*Agaricus bisporus*). *Lebensmittelwissenschaft und – Technologie* 28, 238-240.

- Kurkela, R., Koivurinta, J., Kuusinen, R., 1980. Non-protein nitrogen compounds in the higher fungi – a review. *Food Chemistry* 5, 109-130.
- Kurzmann, R.H., 1976. Nutrition of *Pleurotus sapidus*: effects of lipids. *Mycologia* 68, 286-295.
- Kurzmann, R.H., 1978. Production of mushroom fruiting bodies on the surface of submerged cultures. *Mycologia* 70, 179-184.
- Kurzmann, R.H., 1979. Mushrooms: single cell protein from cellulose. *Annual Reports on Fermentation Processes*, 3, 305-339.
- Lee, Y-L. Jian, S-Y., Mau, J-L., 2009. Composition and non-volatile taste components of *Hypsizygus marmoreus*. *Food Science and Technology* 42, 594-598.
- Lehrian, D.W., Schisler, L.C., Patton, S., 1976. The effects of linoleate and acetate on the growth and lipid composition of mycelium of *Agaricus bisporus*. *Mycologia* 68, 453-462.
- Le Loch-Bonazzi, C., Wolff, E., 1991. Characterization of the Flavour Properties of the Cultivated Mushroom (*Agaricus bisporus*) and the influence of drying processes. *Lebensmittelwissenschaft und – Technologie* 24, 386-390.
- Léon-Guzmán, M.F., Silva, I., López, M.G., 1997. Proximate Chemical Composition, Free Amino Acid Contents, and Free Fatty Acid Contents of Some Wile Edible Mushrooms from Querétaro, México. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 45, 4329-4332.
- Levene, P.A., Walti, A., 1931. Configurational relationship of α -hydroxyheptanoic acid to other α -hydroxy acids. *Journal of Biological Chemistry* 94, 593-598.
- Li, Q., Zhang, L., Li, W., Li, X., Huang, W., Zheng, L., 2016. Chemical Compositions and Volatile Compounds of *Tricholoma matsutake* from Different Geographical Areas at Different Stages of Maturity. *Food Science and Biotechnology* 25, 71-77.
- Lizárraga-Guerra, R., López, M.G., 1996. Content of Free Amino Acids in Huitlacoche (*Ustilago maydis*), *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 44, 2556-2559.
- Liu, J., Vijayakumar, C., Hall, C.A., Hadley, M., Wolf-Hall, C.E., 2005. Sensory and Chemical Analyses of Oyster Mushrooms (*Pleurotus sajor-caju*) harvested from Different Substrates, *Journal of Food Science* 70, S586-S592.
- MacLeod, A.J., Panchasara, S.D., 1983. Volatile aroma components, particularly glucosinolate products, of cooked edible mushroom (*Agaricus bisporus*) and cooked dried mushroom. *Phytochemistry* 22, 22, 705-709.
- Maftoun, P., Malek, R., Abdel-Sadek, M., Aziz, R., El Enshasy, H., 2013, Bioprocess for semi-industrial production of immuno odulator polysaccharide Pleuran by *Pleurotus ostreatus* in submerged culture. *Journal of Scientific and Industrial Research*, 72, 655-662.
- Maga, J.A., 1981. Mushroom Flavor. Review. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 29, 1-4.
- Maga, J.A., 1981. Influence of maturity, storage and heating on the flavour of mushroom (*Agaricus bisporus*) caps and stems. *Journal of Food Processing and Preservation* 5, 95-101.
- Maga, J.A., 1983. Flavor potentiators. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 18, 231-312.
- Maggi, F., Papa, F., Vittori, S., 2012. Gas chromatography for the characterization of the mushroom-like flavour in *Melittis melissophyllum* L. (Lamiaceae). *The Journal of Essential Oil Research*, 4, 321-337.
- Maillard, L.C., 1912. Action des acides aminés sur les sucres: formation des mélanoidines par voie méthodique. *C.R. Académie des Sciences* 154, 66-68.
- Manu-Tawiah, W., Martin, A.M., 1987. Study of Operational Variables in the Submerged Growth of *Pleurotus ostreatus* Mushroom Mycelium. *Applied Biochemistry and Biotechnology*. 14, 221-229.
- Manu-Tawiah, W., Martin, A.M., 1988. Nitrogen Sources and the Growth Response of *Pleurotus ostreatus* Mushroom Mycelium. *Canadian Institute of Food Science and Technology*, 21, 194-199.

- Mau, J-L., Beelman, R.B., Ziegler, G.R., Royse, D.J., 1991. Effect of nutrient supplement on flavour quality, and shelf life of the cultivated mushroom, *Agaricus bisporus*. *Mycologia* 83, 142-149.
- Mau, J-L., Beelman, R.B., Ziegler, G.R., 1993. Preparation, purification and identification of 10-oxo-trans-8-decenoic acid from the cultivated mushroom, *Agaricus bisporus*. *Journal Food Biochemistry* 16, 371-388.
- Mau, J-L., Tseng, Y-H., 1998. Nonvolatile Taste Components of Three Strains of *Agrocybe cylindracea*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 46, 2071-2074.
- Metz, B., 1976. From Pulp to Pellet, an engineering study of the morphology of molds. Thesis Delft, 23 maart 1976.
- Metz, B., Kossen, N.W.F., 1977. The growth of Molds in the Form of Pellets – A Literature Review. *Biotechnology and Bioengineering*, 19, 781-799.
- Mischarina, T.A., Mukhutdinova, S.M., Zharikova, G.G., Terenina, M.B., Krikunova, N.I., Medvedeva, I.B., 2009. The Composition of Volatile Components of Dry Cepe and Oyster Mushroom. *Applied Biochemistry and Microbiology*, 45, 544-549.
- Mischarina, T.A., Mukhutdinova, S.M., Zharikova, G.G., Terenina, M.B., Krikunova, N.I., Medvedeva, I.B., 2010. Formation of Flavor of Dry Champignons (*Agaricus bisporus* L.). *Applied Biochemistry and Microbiology* 46, 108-113.
- Mischarina, T.A., Mukhutdinova, S.M., Zharikova, G.G., Terenina, M.B., Krikunova, N.I., 2009. The Composition of Volatile Components of Cepe (*Boletus edulis*) and Oyster Mushrooms (*Pleurotus ostreatus*). *Applied Biochemistry and Microbiology* 45, 187-193.
- Miyazawa, M., Kawauchi, Y., Matsuda, N., 2010. Character impact odorants from wild mushroom (*Lactarius hatsudake*) used in Japanese traditional food. *Flavour and Fragrance Journal* 25, 197-201.
- Miyazawa, M., Matsuda, N., Tamura, N., 2008. Characteristic Flavor of Volatile Oil from Dried Fruiting Bodies of *Hericium erinaceus* (Bull.: Fr) Pers. *Journal of Essential Oil Research* 20, 420-423.
- Mol, P.C., Wessels, J.G.H., 1990. Differences in wall structure between substrate hyphae and hyphae of fruit-body stipes in *Agaricus bisporus*. *Mycological Research* 94, 472-479.
- Molitorus, H.P., 1963. Untersuchungen und *Beauveria tenella* (NRRL 2334, 2335, 2336; bisher *Agaricus campestris*. 1. Systematik. *Archiv für Mikrobiologie* 47, 57-71.
- Moore, D., 1969. Sources of carbon and energy used by *Coprinus lagopus*. *Journal of General Microbiology* 58, 49-56.
- Morton, K.J., Hicks, R.G.T., 1992. Changes in double-stranded RNA profiles in *Agaricus bisporus* during subculture. *FEMS Microbiology Letters* 91, 159-164.
- Mosandl, A., Heusinger, G., Gessner, M., 1986. Analytical and Sensory Differentiation of 1-Octen-3-ol Enantiomers. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 34, 119-122.
- Muñoz, H.A., Tamariz, J., Jimenez, R., Garcia de la Mora, G., 1993. Preparation of α -Hydroxy- γ -lactones and their Application in the Synthesis of α,β -Butenolides, α -Alkylidene- γ -lactones and Furans. *Journal of Chemical Research (S)*, 0501-0522.
- Murahashi, S., 1938. Ueber die Riechstoffe des Matsutake. *Scientific Papers Institute Physical Chemical Research Tokyo*, 34, 155-172.
- Neut, A.C. van der, Jonge, J.F.M. de, 1993. De meerwaarde van een promotie – Een vergelijkende studie van de loopbanen van gepromoveerde en niet gepromoveerde academici. *Achtergrondstudies Hoger onderwijs en Wetenschappelijk onderzoek*, nummer 18, oktober 1993
- Noël-Suberville, C., Cruz, C., Guinberteau, J., Montury, M., 1996. Correlation between Fatty Acid Content and Aromatic Compound Release in Fresh Blewit (*Lepista nuda*). *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 44, 1180-1183.
- Ninomiya, K., 1998. Natural occurrence. *Food Reviews International* 14, 177-211.

- Overton, S.V., 1994. Determination of volatile organic compounds in mushrooms. *Mass Spectrometry Source* 18, 4-7.
- Passmore, E.L. Frost, R.R., 1980. Virus-like Particles in Mushroom Spawns. *Phytopathologisches Zeitschrift* 97, 68-81.
- Rapior, S., Breheret, S., Talou, T., Bessière, J.M., 1997. Volatile Flavor Constituents of Fresh *Marasmius alliaceus* (Garlic Marasmius). *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 45, 820-825.
- Rotzoll, N., Dunkel, A., Hofmann, T., 2005. Activity-Guided Identification of (S)-Malic Acid 1-O-d-Glucopyranoside (Morelid) and γ -Aminobutyric Acid as Contributors to Umami taste and Mouth-Drying Oral Sensation of Morel Mushrooms (*Morchella deliciosa* Fr.). *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 53, 4149-4156.
- Rotzoll, N., Dunkel, A., Hofmann, T., 2005. Quantitative Studies, Taste Reconstitution, and Omission Experiments on the Key Taste Compounds in Morel Mushrooms (*Morchella deliciosa* Fr.) *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 54, 2705-2711.
- Scheffers, W.A., 2015. In Delft: a personal account. *FEMS Yeast Research* 15, 1-9.
- Schisler, L.C., Volkoff, O., 1977. The effect of safflower oil on mycelial growth of boletaceae in submerged liquid cultures. *Mycologia* 69, 118-125.
- Seidemann, J., 1993. Zur Kenntnis von Shii-take. *Deutsche Lebensmittel-Rundschau*, 89, 17-20.
- Stijve, T., De Amazonas, M.A., Giller, V., 2002. Flavour and Taste Components of *Agaricus blazei* ss. Heinem. – A New Gourmet and Medical Mushroom. *Deutsche Lebensmittel-Rundschau* 98, 448-453.
- Stojkovic, D., Reis, F.S., Barros, L., Glamoclija, J., Ciric, A., Van Griensven, L.J.I.D., Sokovic, M., Ferreira, I.C.F.R., 2013. Nutrients and non-nutrients composition and bioactivity of wild and cultivated *Coprinus comatus*. *Food and Chemical Toxicology* 59, 289-296.
- Straatsma, G., Van Griensven, L.J.L.D., Bruinsma, J., 1986. Root influence on in vitro growth of hyphae of the mycorrhizal mushroom *Cantharellus cibarius* replaced by carbon dioxide. *Physiology of Plants*, 67, 521-528.
- Sonnenberg, A.S., Wessels, J.G., Van Griensven, L.J., 1988. An Efficient Protoplasting/Regeneration System for *Agaricus bisporus* and *Agaricus bitorquis*. *Current Microbiology*, 17, 285-291.
- Usami, A., Motooka, R., Nakahashi, H., Okuno, Y., Miyazawa, M., 2014. Characteristic Odorants from Bailigu Oyster Mushroom (*Pleurotus eryngii* var. *tueliensis*) and Summer Oyster Mushroom (*Pleurotus cystidiosus*). *Journal of Oleo Science*, 63, 731-739.
- Usami, A., Ono, T., Kashima, Y., Nakahashi, H., Marumoto, S., Nosaka, S., Watanabe, S., Miyazawa, M., 2014. Comparison of Agaricus (*Pleurotus eryngii* var. *ferulae*) Volatile Components with Characteristic Odors Extracted by Hydrodistillation and Solvent-assisted Flavor Evaporation. *Journal of Oleo Science*, 63, 83-92.
- Usami, A., Nakaya, S., Nakahashi, H., Miyazawa, M., 2014. Chemical Composition and Aroma Evaluation of Volatile oils from Edible Mushrooms (*Pleurotus salmoneostramineus* and *Pleurotus sajor-caju*). *Journal of Oleo Science*, 63, 1323-1332.
- Vaquero, M.E., Barriuso, J., Medrano, F.J., Prieto, A., Martinez, M.J., 2015. Heterologous expression of a fungal sterol esterase/lipase in different hosts: Effect on solubility, glycosylation and production. *Journal of Bioscience and Bioengineering* 120, 637-643.
- Vidal, J.P., Toulemonde, B., Richard, H., 1986. Constituents Volatils de l'Arôme d'un Champignon Comestible: le Mousseron (*Marasmius oreades*). *Lebensmittelwissenschaft und – Technologie*, 19, 353-359.
- Voskuil, J.J., 1996. Het Bureau 1. Meneer Beerta. Uitgever G.A. van Oorschot, Amsterdam, 766 pagina's.
- Voskuil, J.J., 1996. Het Bureau 2. Vuile handen. Uitgever G.A. van Oorschot, Amsterdam, 576 pagina's.

- Voskuil, J.J., 1997. Het Bureau 3. Plankton. Uitgever G.A. van Oorschot, Amsterdam, 820 pagina's.
- Voskuil, J.J., 1998. Het Bureau 4. Het A.P. Beerta-instituut. Uitgever G.A. van Oorschot, Amsterdam, 977 pagina's.
- Voskuil, J.J., 1999. Het Bureau 5. En ook weemoedigheid. Uitgever G.A. van Oorschot, Amsterdam, 916 pagina's.
- Voskuil, J.J., 2000. Het Bureau 6. Afgang. Uitgever G.A. van Oorschot, Amsterdam, 700 pagina's.
- Voskuil, J.J., 2000. Het Bureau 7. De dood van Maarten Koning. Uitgever G.A. van Oorschot, Amsterdam, 220 pagina's.
- Vliet, J.F.M. van, 1974. Produktie van mycelium (eiwit) en aromastoffen in submerse cultures van *Agaricus bisporus* en *Coprinus comatus*. Enkele fysisch-technologische aspecten. Afstudeerverslag TH-Delft, september 1974.
- Wardle, K.S., Schisler, L.C., 1969. The effects of various lipids on growth of mycelium of *Agaricus bisporus*. *Mycologia*, 61, 305-314.
- Wikén, T.O., 1946. Studies on the effect of a glass factor upon the formation of an antibiotic substance by a member of the *Penicillium chrysogenum* Thom series. *Arkiv Botanisk* (Stockholm), 33A, 3, 1-44.
- Wikén, T.O., Öblom, K., 1947. Some observations on effects produces by different kinds of resistance glass upon growth of mycelium and formation of antibacterial substance in cultures of a strain of *Penicillium chrysogenum* Thom. *Arkiv Botanisk* (Stockholm), 33A, 14, 1-16.
- Wikén, T.O., Keller, H.G., Schelling, C.L., Stöckli, A., 1951. Über die Verwendung von Myzelsuspensionen als Impfmateriel in Wachstumsversuchen mit Pilzen. *Experientia* 7, 237-239.
- Wikén, T.O., Somm, H., 1952. Atmungsversuche mit submersem Schüttelmyzel des Wurzelpilzes *Mycelium Radicus atrovirens* in der Apparatur nach von Euler, Myrbäck und Nilsson. *Experientia* 8, 140-142.
- Wikén, T.O., Somm, H., 1952. Wachstumsversuche mit Myzelsuspensionen von *Mycelium Radicus atrovirens* in Ruhe und Schüttelkulturen. *Experientia* 8, 140-142.
- Wikén, T.O., 1963. Horizons in industrial microbiology as viewed by the microbiologist. *Recent Progress in Microbiology* 8, 371-384.
- Whitaker, A., Long, P.A., 1973. Fungal Pelliting. *Process Biochemistry*, November 1973, 27-31.
- Wood, D.A., 1979. A method for estimating biomass of *Agaricus bisporus* in a solid substrate, composed wheat straw. *Biotechnology Letters* 1, 255-260.
- Wood, W.F., Farquar, G.R., Largent, D.L., 2000. Different volatile compounds from mycelium and sporocarp of *Pleurotus ostreatus*. *Biochemical Systematics and Ecology* 28, 89-90.
- Wurzenberger, M., Grosch, W., 1982. The Enzymic Oxidative Breakdown of Linoleic Acid in Mushrooms (*Psalliota bispora*). *Zeitschrift für Lebensmitteluntersuchung und -Forschung* 175, 186-190.
- Wurzenberger, M., Grosch, W., 1983. Bestimmung van 1-Octen-3-ol in Pilzen. *Zeitschrift für Lebensmitteluntersuchung und -Forschung*, 176, 16-19.
- Wurzenberger, M., Grosch, W., 1984a. The formation of 1-octen-3-ol from 10-hydroperoxide isomer of linoleic acid by a hydroperoxide lyase in mushrooms (*Psalliota bispora*). *Biochimica et Biophysica Acta* 794, 25-30.
- Wurzenberger, M., Grosch, W., 1984b. Origin of the oxygen in the products of the enzymatic cleavage reaction of linoleic acid to 1-octen-3-ol and 10-oxo-trans-8-decenoic acid in mushrooms (*Psalliota bispora*). *Biochimica et Biophysica Acta* 794, 18-24.
- Wurzenberger, M., Grosch, W., 1986. Enzymic Oxidation of Linolenic Acid to 1,Z-5-Octadien-3-ol, Z-2,Z-5-Octadien-1-ol and 10-Oxo-E-8-decenoic Acid by a Protein Fraction from Mushrooms (*Psalliota bispora*). *Lipids* 21, 261-266.

- Yin, G., Padhi, S., Lee, S., Hung, R. Zhao, G. Bennett, J.W., 2015. Effects of three Volatile Oxylipins on Colony Development in Two Species of Fungi and on *Drosophila* Larval Metamorphosis. *Current Microbiology* 71, 347-356.
- Yoshida, H., Sasaki, H., Fujimoto, S., T. Sugahara, 1996. The Chemical Components of the Vegetative Mycelia of Basidiomycetes. *Journal of the Japanese Society for Food Science* 42, 748-755.
- Zelalaki-Horváth, K., 1981. Effect of Oxygen Transfer Rate on Protein Formation and Biological Value of *Pleurotus ostreatus*. *Process Biochemistry*, Feb./March 1981, 20-24.
- Zhou, S., Tang, Q-J., Zhang, Z., Li, C., Cao, H., Yang, Y., Zhang, J-S., 2015. Nutritional Composition of Three Domesticated Culinary-Medical Mushrooms: *Oudemansiella submucida*, *Lentinus squarrosulus*, and *Tremella aurantialba*. *International Journal of Medicinal Mushrooms* 17, 43-49.