## Vegan - na "klar"!

# Klarer Apfel- und roter Traubensaft dank pflanzlicher Schönungsmittel für ungetrübten Trinkgenuss

| Apfelsaft | Proteinzusammensetzung | Schönungsmittel | Traubensaft | vegan |

Säfte sind gesund, sie schmecken gut und aufgrund der Obst- und Gemüsevielfalt gibt es sie in vielen Sorten. Und die Deutschen lieben Saft! In puncto Verzehr halten sie mit mehr als 33 Litern Fruchtsaft pro Kopf pro Jahr<sup>[1]</sup> sogar den Weltrekord im Safttrinken. Davon entfallen 13 Liter auf Apfelsaft, damit ist er der Spitzenreiter <sup>[2]</sup>. Aber auch roter Traubensaft gehört zu den Lieblingssäften und wird häufig konsumiert. Ihm werden sogar gesunde Inhaltsstoffe zugesagt, die das Risiko für Herz- und Krebserkrankungen reduzieren und das Immunsystem unterstützen sollen <sup>[3]</sup>.

Die einen bevorzugen naturtrübe Säfte, andere lieben es, wenn der Fruchtsaft schön klar ist. Naturtrübe Säfte entstehen direkt nach dem Pressen der Früchte und sie können zudem Fruchtfleisch enthalten. Wird der naturtrübe Saft geschönt und anschließend filtriert, entsteht der klare Saft. Eher unbeliebt sind klare Säfte, die dennoch mit Trübungen im Glas landen. Sind die Schönungsergebnisse in klaren Säften instabil, setzen sich Trubstoffe am Boden ab. Hier werden oftmals auf eine mindere Qualität geschlossen oder ein verdorbenes Produkt vermutet und es kommt zur Reklamation. Um das zu verhindern ist es wichtig zu verstehen, woher die Trübungen kommen und welche Verfahren gezielt dagegenwirken.

Trübungen in den Säften werden durch unterschiedliche Stoffe verursacht. Die häufigsten Auslöser sind Mikroorganismen (Hefen, Schimmelpilze, Bakterien), Polysaccharide, Proteine, Gerbstoffe, Anthocyane, Kristalle und andere Fremdstoffe, wie Filterfasern, Filterhilfsmittel oder Sand [4]. In Apfelsaft sind mit 40 Prozent die Proteine die häufigste Ursache für Trübungen. Um aus einem naturtrüben Saft einen klaren Saft zu erhalten, werden ihm verschiedene Schönungsmittel zugesetzt, welche als Adsorptionsmittel unerwünschte Saftinhaltsstoffe binden, die anschließend durch die Filtration entfernt werden [5].

Der Schönungsklassiker ist die Kombination von Bentonit, Gelatine und Kieselsol. Bei der Gelatine handelt es sich um tierisches Eiweiß, das aus Knochenmark gewonnen wird [4]. Doch da die vegane Ernährung, bei der die Menschen auf tierische Lebensmittel verzichten, immer beliebter wird, steigt auch die Nachfrage nach veganen Fruchtsäften. Als vegane Schönungsalternative zu Gelatine werden dazu Pflanzenproteine, speziell Erbsen- und Kartoffelproteine, eingesetzt. Mit ihnen können klare und stabile Fruchtsäfte für die vegane Ernährung produziert werden. Im Rahmen der Bachelorarbeit von Sabine Schütz (University of Applied Sciences, Frankfurt) wurden naturtrüber Apfelsaft und roter Traubensaft mit Gelatine und

Tabelle 1: Schönungsmittelreihenfolgen und Dosagen im naturtrüben Apfeldirektsaft einschließlich Trübungswerte und Stabilitätskontrolle (R-Probe: Kontrolle ungeschönter Saft: NTU 553)

, , , , , , , , , , , , , , , , , , , ,										
	1. Schönungsschritt		2. Schönungsschritt		3. Schönungsschritt		Trübung			
	Schönungs mittel	Dosage [g/hl]	Schönungs- mittel	Dosage [g/hl]	Schönungs- mittel	Protein: Kieselsol- Verhältnis	Nach Schönung [NTU]	Nach Hitze-Kälte- Test [NTU]		
Probe G	Bentonit	200	Gelatine	30	Kieselsol	1:3	1,15	2,13		
Probe E1	Bentonit	150	Erbsenprotein	30	Kieselsol	1:3	1,55	1,74		
Probe E2	Erbsenprotein	10	Bentonit	200	Kieselsol	1:3	2,53	2,95		
Probe K1	Bentonit	150	Kartoffelprotein	10	Kieselsol	1:3	2,34	3 <b>,</b> 60		
Probe K2	Kartoffelprotein	15	Bentonit	100	Kieselsol	1:3	1,99	2,65		

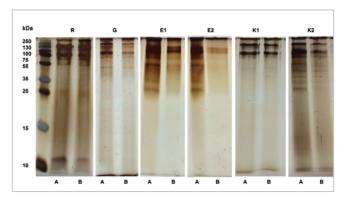


Abb. 1: 15%ige SDS-Gele: Proteinzusammensetzung des Apfelsaftes

 $\frac{\text{Anmerkung:}}{\text{Es}} \text{ wurde eine Stammlösung von 20 mg Lyophilisat in 1 ml } \\ \text{H}_2\text{O}_{\text{dest}} \text{ gelöst und die Verdünnungen entsprechend der Taschen aufgetragen.} \text{Die Visualisierung erfolgte mittels Silberfärbung.}$ 

R: Referenz (unbehandelter Saft); G: Schönung mit Bentonit-Gelatine-Kieselsol;

E1: Schönung mit Bentonit-Erbsenprotein-Kieselsol;

E2: Schönung mit Bentonit-Erbsenprotein-Kieselsol; E2: Schönung mit Erbsenprotein-Bentonit-Kieselsol;

K1: Schönung mit Bentonit-Kartoffelprotein-Kieselsol;

K2: Schönung mit Kartoffelprotein-Bentonit-Kieselsol;

A-Verdünnung 1:1 und B-Verdünnung 1:2

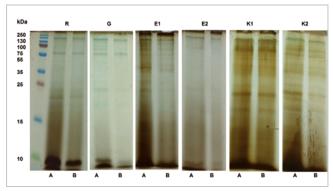


Abb 2: 15%ige SDS-Gele: Proteinzusammensetzung des roten Traubensaftes

 $\frac{Anmerkung:}{Q_{dest}} Es \ wurde \ eine \ Stammlösung \ von \ 20 \ mg \ Lyophilisat \ in \ 1 \ ml \ H_2Q_{dest} \ gelöst \ und \ die \ Verdünnungen \ entsprechend \ der \ Taschen \ aufgetragen. Die \ Visualisierung \ erfolgte \ mittels \ Silberfärbung.$ 

R: Referenz (unbehandelter Saft);

G: Schönung mit Bentonit-Gelatine-Kieselsol;

E1: Schönung mit Bentonit-Erbsenprotein-Kieselsol;

E2: Schönung mit Erbsenprotein-Bentonit-Kieselsol;

K1: Schönung mit Bentonit-Kartoffelprotein-Kieselsol;

K2: Schönung mit Kartoffelprotein-Bentonit-Kieselsol;

A-Verdünnung 1:1 und B-Verdünnung 1:2

Pflanzenproteinen unter praxisüblichen Bedingungen geschönt und anschließend die Zusammensetzung der Proteine im geschönten Saft untersucht. Ziel der Arbeit war es herauszufinden, welche Schönungsmittel am besten für die Abtrennung der trübungsverursachenden Proteine aus dem Saft geeignet sind und ob die Pflanzenproteine eine ähnlich gute Wirkung in der Saftklärung und -stabilisierung erzielen wie Gelatine.

#### Versuchsaufbau

Für die Versuchsreihen wurden naturtrüber Apfeldirektsaft und roter Dornfelder Traubensaft verwendet. Die optimalen Dosagen für die Schönung wurden im Labor im 100-ml-Maßstab ermittelt. Es wurde immer eine Kombinationsschönung Bentonit, Gelatine und Kieselsol als Kontrolle im Vergleich zu den Kombinationen von Bentonit, Pflanzenproteine und Kieselsol getestet. Dabei wurden

die Dosagen der jeweiligen Schönungsmittel und die Reihenfolge der Zugaben der Pflanzenproteine variiert (siehe Tabellen 1 und 2). Beispielsweise wurde einmal Bentonit vor dem Pflanzenprotein hinzugegeben, bei der nächsten Versuchsreihe umgekehrt. Kieselsol wurde immer als letztes Schönungsmittel zugesetzt. Anschließend wurden mit den optimalen Dosagen die Versuche im größeren Maßstab mit je 5 Litern wiederholt und Proben gezogen. Zur Überprüfung der Ergebnisse wurden die Trübungswerte mittels Streulichtmessung (NTU = Nephelometric Turbidity Units) nach der Schönung und dem Hitze-Kälte-Test ermittelt. Die Proteinanalyse der Proben erfolgte an der University of Applied Sciences in Frankfurt. Zur Vorbereitung wurde eine Dialyse mit destilliertem Wasser durchgeführt, um störende Substanzen wie Salze und Zucker zu entfernen. Anschließend wurden die Proben mittels Gefriertrocknung (Lyophilisation) aufkonzentriert und das gewonnene Lyophilisat für das SDS-PAGE-Verfahren

Tabelle 2: Schönungsmittelreihenfolge und Dosagen im roten 1	raubensaft einschließlich Trübungswerte und Stabilitätskontrolle
(R-Probe: Kontrolle ungeschönter Saft: NTU 47,1)	

	1. Schönungsschritt		2. Schönungsschritt		3. Schönungsschritt		Trübung	
	Schönungs mittel	Dosage [g/hl]	Schönungs- mittel	Dosage [g/hl]	Schönungs- mittel	Protein: Kieselsol- Verhältnis	Nach Schönung [NTU]	Nach Hitze-Kälte- Test [NTU]
Probe G	Bentonit	150	Gelatine	30	Kieselsol	1:3	0,87	1,32
Probe E1	Bentonit	200	Erbsenprotein	10	Kieselsol	1:3	1,24	2,02
Probe E2	Erbsenprotein	20	Bentonit	200	Kieselsol	1:3	1,65	1,49
Probe K1	Bentonit	200	Kartoffelprotein	20	Kieselsol	1:3	2,34	2,18
Probe K2	Kartoffelprotein	20	Bentonit	150	Kieselsol	1:3	2,24	3,03

(Natriumdodecylsulfat-Polyacrylamidgelelektrophorese) genutzt. SDS-PAGE ist eine analytische Methode, die die Proteine nach ihrer molekularen Größe auftrennt. Durch die Silberfärbung werden die unterschiedlichen Proteinbanden sichtbar.

### **Ergebnisse**

Tabelle 1 und 2 zeigen die optimalen Dosagen und die Trübungswerte nach der Schönung der 5-Liter-Proben beider Säfte. Die Trübung wird in NTU angegeben. Nach der Schönung wurden die Proben dem Hitze-Kälte-Test unterzogen, um ihre Stabilität und damit den Erfolg der Schönung zu überprüfen. Ein Saft gilt als stabil, wenn die Differenz der Trübungswerte vor und nach dem Hitze-Kälte-Test maximal 1 NTU beträgt. Für einen klaren Saft sollte der Gesamttrübungswert nach der Schönung und anschließender Filtration 2 NTU nicht überschreiten.

Der unbehandelte Apfelsaft wies eine Ausgangstrübung von 553 NTU auf, der unbehandelte rote Traubensaft eine Ausgangstrübung von 47,1 NTU. Die Kombinationsschönung Bentonit-Gelatine-Kieselsol erreichte mit 1,15 NTU im Apfelsaft und 0,87 NTU im Traubensaft die höchste Trübungsreduzierung. Die Schönungen mit den

Pflanzenproteinen reduzierten die Trübungen beider Säfte ebenfalls erfolgreich. Besonders hervorzuheben ist die Schönungsreihenfolge Bentonit Erbsenprotein-Kieselsol. Sie erreichte im Apfelsaft 1,55 NTU und im Traubensaft 1,24 NTU. Die Kombination Kartoffelprotein-Bentonit-Kieselsol erzielte mit 1,99 NTU im Apfelsaft ein gutes Ergebnis. Im Vergleich zum Apfelsaft war die Trübungsreduzierung im Traubensaft etwas geringer, was unter anderem auf unterschiedliche Phenol- und Proteinstrukturen sowie pH-Werte zurückgeführt werden kann.

Die Ergebnisse aus dem anschließenden Hitze-Kälte-Test bestätigten die Stabilität aller geschönten Proben. Im Apfelsaft erzielte die Schönungskombination Bentonit-Erbsenprotein-Kieselsol mit einer Differenz von 0,19 NTU (1,74 minus 1,55 NTU) und einem Endtrübungswert von 1,74 NTU das beste Ergebnis. Im Traubensaft erreicht die Kombination Bentonit-Gelatine-Kieselsol mit einer Differenz von 0,45 NTU und einem Endtrübungswert von 1,32 NTU die höchste Reduktion, dicht gefolgt von Erbsenprotein-Bentonit-Kieselsol mit einer Differenz von -0,16 NTU und einem Endtrübungswert von 1,49 NTU.

#### **Proteinzusammensetzung**

Um die Proteinzusammensetzung zu untersuchen, wurden die Proben auf ein SDS-Gel aufgetragen. Die dazugehörige Skalierung von 10 bis 250 kDa (Kilodalton) ermöglicht eine Zuordnung der einzelnen Proteinbanden nach ihrer Größe. Abbildung 1 und 2 zeigen die Proteinbanden beider Säfte, die mit der Silberfärbung sichtbar gemacht wurden.

Als trübungsrelevant werden Proteine mit einem Molekulargewicht zwischen 15 und 31 kDa diskutiert, sogenannte Haze Active Proteins (HAPs) [6, 7]. Durch die SDS-PAGE-Untersuchungen konnten im unbehandelten Apfelsaft (Probe R) nur wenige Proteine in diesem Bereich nachgewiesen werden. Die Kombinationsschönungen Bentonit-Gelatine-Kieselsol (Probe G) und Bentonit-Kartoffelprotein-Kieselsol (Probe K1) reduzierten die trübungsrelevanten Proteine am stärksten. Der Vergleich der Proteinbanden liefert den Beweis, dass Gelatine durch Kartoffelprotein ersetzt werden kann. Kartoffelprotein lässt sich sehr gut suspendieren und bildet dabei große Flocken. In Kombination mit Bentonit und Kieselsol bindet es trübungsrelevante Proteine an sich und zieht sie während der Sedimentation nach unten, so dass ein kompaktes Trubdepot am Boden und ein klarer Überstand gebildet werden. Der Bodensatz wird im

> Im roten Traubensaft wurden wesentlich mehr trübungsrelevante Proteine im Bereich von 15 bis 31 kDa mittels SDS-Gel nachgewiesen. Die besten Ergebnisse

nächsten Prozessschritt abgetrennt.

erreichten die Kombinationsschönungen Bentonit-Gelatine-Kieselsol (Probe G) und Erbsenprotein-Bentonit-Kieselsol (Probe E2). Auch bei dieser Schönungsreihe lies sich Gelatine durch ein Pflanzenprotein ersetzen. Im roten Traubensaft beeinflusste der niedrigere pH-Wert und hohe Gesamtphenolgehalt (roter Traubensaft: 1957 mg/l, Apfelsaft: 1181 mg/l) die Reaktivität des Erbsenproteins positiv. Damit erzielte das Erbsenprotein bessere Ergebnisse als das Kartoffelprotein. Die Ergebnisse aus dem SDS-PAGE-Verfahren wurden zusätzlich durch die NTU-Messergebnisse (siehe Tabelle 2) gestützt.

#### **Fazit**

Schönungsmittel helfen unerwünschte Trübungen aus Fruchtsäften zu entfernen, um sie für den Konsumenten optisch und sensorisch ansprechend und stabil zu produzieren. Mit der steigenden Nachfrage nach veganen Fruchtsäften musste eine Alternative für das klassische Schönungsmittel Gelatine in Kombination mit Bentonit und Kieselsol gefunden werden. Die vorgestellten Ergebnisse beweisen, dass Pflanzenproteine trübungsverursachende Proteine effektiv abtrennen und eine ähnlich gute Saftklärung und -stabilisierung erzielen wie Gelatine. Damit qualifizieren sie sich als vegane Alternative zu Gelatine.

Die verwendete Rohware beeinflusst die individuelle Zusammensetzung (Trübungsgrad, pH-Wert, Gesamtphenolund Proteingehalt) eines jeden Safts. Die veganen Schönungsmittel Erbsen- und Kartoffelprotein unterscheiden sich in Suspensionsfähigkeit, Flockenbildung und -größe sowie Reaktions- und Sedimentationszeit. Zusätzlich hat die Safttemperatur Einfluss auf die Reaktivität der Schönungsmittel. Im Hinblick auf die nachgeschaltete Filtration müssen der Trübungsgrad des Safts sowie die Flockengröße und Sedimentationsgeschwindigkeit der Pflanzenproteine in die Gesamtbetrachtung mit einbezogen werden. Bei der Vielzahl an Variablen helfen Schönungsvorversuche im kleinen Maßstab die Dosage und Reihenfolge der pflanzlichen Schönungsmittel für das effektivste Ergebnis zu bestimmen.

Mit der Verwendung dieser pflanzlichen Schönungsmittel steht dem Genuss von Säften auch im Rahmen der veganen Ernährung nichts mehr im Wege. Die Liebe zum Saft bleibt somit für alle "ungetrübt".

#### Literaturverzeichnis:

[1] Konstanter Fruchtsaftkonsum und Wachstum in einzelnen Segmenten, Fruchtsafthersteller zufrieden mit dem Jahr 2016, Presseinformation Verband der deutschen Fruchtsaft-Industrie e. V. (VdF) (März 2017), http://www.fruchtsaft.de/presse/meldungen/fruchtsafthersteller-zufrieden-mit-dem-jahr-2016/ (Zugriff 2017-03-14)

- [2] Apfelsaft, Apfelschorle und Co., gesundheit.de (2016), http://www.gesundheit.de/ernaehrung/richtig-trinken/gesunde-getraenke/apfelsaft-apfelschorle-und-co (Zugriff 2016-07-24)
- [3] Roter Traubensaft bietet Vielzahl von Inhaltsstoffen mit positiver gesundheitlicher Wirkung, food-monitor Informationsdienst für Ernährung (2016), http://www.food-monitor.de/2010/11/roter-traubensaft-bietet-vielzahl-von-inhaltsstoffen-mit-positiver-gesundheitlicher-wirkung/ (Zugriff 2016-07-27)
- [4] Junker, Rainer (2014/2015): Fruchtsaft: Ein Kompendium, Eaton Technologies GmbH, Langenlonsheim
- [5] Schobinger, Ulrich (2001): Frucht- und Gemüsesäfte,3. Auflage, Stuttgart (Hohenheim), Ulmer, 2001
- [6] Hsu, J. C., Heatherbell, D. A., & Yorgey, B. M. (1989). Effects of Fruit Storage and Processing on Clarity, Proteins, and Stability of Granny Smith Apple Juice. J. Food Sci., 54 (3), S. 660 - 662.
- [7] Wu, L.-C., & Siebert, K. J. (2002). Characterization of Haze-Active Proteins in Apple Juice. J. Agric. Food Chem. (50), S. 3828 3834

#### Pflanzenproteine

Die Pflanzenproteine von Eaton, SIHA®-Erbsenprotein und SIHA-Kartoffelprotein, erfüllen die Anforderungen, die an die vegane und koschere Ernährung gestellt werden. Zusätzlich sind sie frei von gentechnisch veränderten Organismen und Allergenen.

Zur Verbesserung der Klärung von Fruchtsäften vor der Schönung können Fruchtsafthersteller beispielsweise die Panzym® YieldMASH XXL-Enzyme von Eaton einsetzen. Die Enzymierung beeinflusst die Filtrierbarkeit positiv und erleichtert den Schönungsprozess, indem sie die hochmolekularen Strukturen der Pektine und Glucane bereits zu Beginn der Fruchtsaftbereitung aufspalten.

Das vegane Sortiment an Schönungsprodukten wird mit SIHA-Aktivkohle, das zur Korrektur von Farb-, Geruchsund Geschmacksfehlern vor der Abfüllung eingesetzt wird, abgerundet.

www.eaton.de/filtration



Autorinnen:
Dr. Ilona Schneider, Dipl.-Oenologin,
Team Leader Product Management
Beverage Treatment and R&D.
Eaton Technologies GmbH

**Sabine Schütz, B. Eng., \***Bachelor-Thesis bei
Eaton Technologies GmbH

\* Zusatzinformation zu Sabine Schütz Studentin an der University of Applied Sciences, Fachbereich 2 Informatik & Ingenieurswissenschaften, Studiengang Bioverfahrenstechnik, Frankfurt am Main