



IVV



Hochschule für Angewandte Wissenschaften Hamburg
Fakultät Life Sciences

„Welchen Einfluss hat die Entölung auf die chemische Zusammensetzung, ernährungsphysiologische Qualität und mikroskopische Struktur von Mehlen sowie daraus gewonnenen Protein- und Stärkefraktionen der geschälten Carioca Bohne (*Phaseolus vulgaris* L.)“

Bachelorarbeit
im Studiengang Ökotrophologie

vorgelegt von

Nathalie Otter, [REDACTED]

Hamburg
am 21. April 2023

Gutachter: Prof. Dr. Andrea Bauer (HAW Hamburg)

Gutachter: Dr. Isabel Muranyi (Fraunhofer IVV)

Inhaltsverzeichnis

Abbildungsverzeichnis	IV
Tabellenverzeichnis	V
Abkürzungsverzeichnis	VII
Zusammenfassung	1
Abstract	2
1. Einleitung und Problemstellung	3
2. Stand der Technik und Wissenschaft	5
2.1. Die Carioca Bohne	5
2.1.1. Ernährungsphysiologische Wertigkeit	5
2.1.2. Chemische Zusammensetzung	7
2.2. Verdauung von Stärke und Protein	8
2.2.1. Stärkeverdauung	8
2.2.2. Proteinverdauung	9
2.3. Entölung von Rohstoffen und der Einfluss auf die Funktionalität der Inhaltsstoffe	10
2.4. Einfluss von Stärke und Protein auf die mikroskopischen Strukturen und Textur von daraus hergestellten Lebensmitteln	11
3. Material und Methoden	13
3.1. Geräte, Material, Chemikalien und Testkits	13
3.2. Methoden	23
3.2.1. Mahlen des Carioca Bohnenmehls	23
3.2.2. Ölextraktion	23
3.2.3. Proteinextraktion	23
3.2.4. Stärkeextraktion	25
3.2.5. Proteinlöslichkeit	26
3.2.6. Proteinverdaulichkeit	26
3.2.7. Stärkeverdaulichkeit	29
3.2.9. Mikroskopie	31
3.2.10. Chemische Analysen	32

3.2.11. Statistische Auswertung.....	32
4. Ergebnisse und Diskussion	32
4.1. Einfluss der Entölung auf die Proteinlöslichkeit des Mehls.....	32
4.1.1. Auswertung des rechtseitigem ANOVA.....	34
4.2. Einfluss der Entölung auf die chemische Zusammensetzung der Zutaten.....	36
4.2.1. Auswertung der ANOVA mittels Microsoft Excel.....	37
4.3. Einfluss der Entölung auf die Proteinverdaulichkeit der Zutaten	39
4.3.1. Auswertung der ANOVA mittels Microsoft Excel.....	41
4.4. Einfluss der Entölung auf die Stärkeverdaulichkeit der Zutaten.....	41
4.4.1. Auswertung der ANOVA mittels RStudio und Microsoft Excel.....	45
4.4.2. Auswertung des rechtseitigen t-Tests mittels RStudio	48
4.5. Protein- und Stärkeausbeute	50
4.6. Einfluss der Entölung auf das mikroskopische Erscheinungsbild.....	52
4.6.1. Mikroskopisches Erscheinungsbild des entölte und vollfett Carioca Bohnenmehls	52
4.6.2. Mikroskopisches Erscheinungsbild der unerhitzten isolierten Stärke des entölte und vollfett Carioca Bohnenmehls	54
4.6.3. Mikroskopisches Erscheinungsbild der isolierten Stärke des entölte und vollfett Carioca Bohnenmehls nach der Erhitzung auf 95 °C und auf 135 °C ohne Gefriertrocknung	56
5. Schlussfolgerung.....	59
Literaturverzeichnis	60
Anhang.....	64
Eidesstattliche Erklärung	84

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Zweistufige Proteinextraktion mit saurer Vorextraktion und alkalischer Extraktion.	24
Abbildung 2: Darstellung der Mittelwert der Proteinlöslichkeit [%] des entölte Carioca Bohnenmehls ins Abhängigkeit zum pH-Wert (eigene Darstellung)	33
Abbildung 3: Stärkeverdaulichkeit der RDS, SDS, RS und TDS des vollfett und entölte Carioca Bohnenmehls, der isolierten Stärken und der erhitzten isolierten Stärke des entölte Carioca Bohnenmehls (eigene Darstellung).....	45
Abbildung 4: Mikroskopisches Erscheinungsbild des vollfett Carioca Bohnenmehls.....	53
Abbildung 5: Mikroskopisches Erscheinungsbild des entölte Carioca Bohnenmehls.....	54
Abbildung 6: Mikroskopisches Erscheinungsbild der unerhitzten isolierten Stärke des vollfett Carioca Bohnenmehls	55
Abbildung 7: Mikroskopisches Erscheinungsbild der unerhitzten isolierten Stärke des entölte Carioca Bohnenmehls	56
Abbildung 8: Mikroskopisches Erscheinungsbild der isolierten Stärke des vollfett Carioca Bohnenmehls nach Erhitzung auf 95 °C und zusätzlich auf 135 °C ohne Gefriertrocknung.....	57
Abbildung 9: Mikroskopisches Erscheinungsbild der isolierten Stärke des entölte Carioca Bohnenmehls nach Erhitzung auf 95 °C und zusätzlich auf 135 °C ohne Gefriertrocknung.....	58

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Spezifikation der verwendeten Messgeräte	13
Tabelle 2: Spezifikation der verwendeten Materialien	15
Tabelle 3: Spezifikation der verwendeten Chemikalien und Reagenzien	21
Tabelle 4: Spezifikation der verwendeten Testkits	22
Tabelle 5: Herstellung der L- Glycin Kalibrierungsstandards	28
Tabelle 6: Mittelwert der Proteinlöslichkeit [%] mit Standardabweichung des entölte Carioca Bohnenmehls (eigene Darstellung).....	32
Tabelle 7: Proteinlöslichkeit des vollfett und entölte Carioca Bohnenmehls bei den pH-Werten 4,0, 4,5 und 7,0 (eigene Darstellung).....	34
Tabelle 8: Auswertung der ANOVA zur Proteinlöslichkeit [%] in Abhängigkeit zum pH-Wert mittels Microsoft Excel (eigene Darstellung).....	35
Tabelle 9: Darstellung der chemischen Zusammensetzung des entölte Carioca Bohnenmehls mit Mittelwerten und Standardabweichung (eigene Darstellung).....	36
Tabelle 10: Ölbindevermögen und die Wasserbindevermögen des entölte Carioca Bohnenmehls (eigene Darstellung).....	37
Tabelle 11: Auswertung der ANOVA zum Wasser- und Ölbindevermögen des Carioca Bohnenmehls (eigene Darstellung).....	38
Tabelle 12: Darstellung der Versuchsergebnisse des Bestimmung der Proteinverdaulichkeit mit Mittelwerten und Standardabweichung (eigene Darstellung).....	39
Tabelle 13: Auswertung der ANOVA mittels Microsoft Excel der Proteinverdaulichkeit des Carioca Bohnenmehls (eigene Darstellung).....	41
Tabelle 14: Darstellung der Messergebnisse der Bestimmung der Stärkeverdaulichkeit von RDS, SDS, RS und TDS (eigene Darstellung).....	44
Tabelle 15: Auswertung der ANOVA der Stärkeverdaulichkeit der RDS, SDS; RS und TDS des entölte Carioca Bohnenmehls und des vollfett Carioca Bohnenmehls, sowie deren isolierte Stärken mittels RStudio (eigene Darstellung).....	46
Tabelle 16: Auswertung der ANOVA der Stärkeverdaulichkeit der RDS, SDS; RS und TDS der Stärkeisolate des entölte Carioca Bohnenmehls und des vollfett Carioca Bohnenmehls, sowie auf 95 °C als auch zusätzlich auf 135°C erhitzt mittels RStudio (eigene Darstellung).....	48
Tabelle 17: Auswertung des rechtseitigen t-Tests der Stärkeverdaulichkeit der RDS, SDS, RS und TDS des auf 95 °C erhitzten Stärkeisolates und des zusätzlich auf 135°C für eine Minute erhitzten Stärkeisolates des entölte Carioca Bohnenmehls mittels RStudio (eigene Darstellung).....	50
Tabelle 18: Darstellung der Mittelwerte und Standardabweichung der Masse Proteinisolat (PI) [g / 100 g Mehl], des Proteingehalts [%] und der Proteinausbeute [%] des entölte Carioca Bohnenmehls (eigene Darstellung).....	51

Tabelle 19:Darstellung der Mittelwerte und Standardabweichung der Masse Stärkeisolat (SI) [g / 100 g Mehl], des Stärkegehalts [%] und der Stärkeausbeute [%] des entölkten Carioca Bohnenmehls (eigene Darstellung).....	51
--	----

Abkürzungsverzeichnis

NaOH	Natriumhydroxid
HCL	Salzsäure
RZB	Relative Zentrifugalbeschleunigung
RPM	Rounds per Minute
TCA	Trichloressigsäure
STD	Standard
RDS	Rapidly Digestible Starch
TDS	Total Digestible Starch
SDS	Slowly Digestible Starch
RS	Resistant Starch
IS	Isolierte Stärke
SI	Stärkeisolat
PI	Proteinisolat
TS	Trockensubstanz
ml	Milliliter
L	Liter
um	Mikrometer
cm	Zentimeter
mM	Millimolar
M	Mol
g	Gramm
ul	Mikroliter
t	Zeit

Zusammenfassung

Da pflanzliche Rohstoffe einen immer höheren Wert als funktionelle und proteinreiche Lebensmittelzutat gewinnen, bietet sich die Carioca Bohne aufgrund ihrer ernährungsphysiologischen Wertigkeit und chemischen Zusammensetzung optimal an. Infolgedessen wird in dieser Abschlussarbeit der Einfluss der Entölung auf die chemische Zusammensetzung, ernährungsphysiologische Qualität und mikroskopische Struktur des geschälten Carioca Bohnenmehls sowie daraus gewonnenen Protein- und Stärkefraktionen dargestellt. Das Carioca Bohnenmehl wird mithilfe des Lösungsmittels N-Hexan entölt. Durch die Bestimmung der Proteinlöslichkeit, nach der vom Fraunhofer-Institut angepassten Methode an die Proteinlöslichkeitsbestimmung nach C.V.Morr, und Betrachtung der Wasser- und Ölbindekapazität wird der Einfluss der Entölung auf diese funktionellen Eigenschaften dargestellt. Die Protein- und Stärkeverdaulichkeit werden durch die Enzymkits „DIGESTIBLE STARCH and RESISTANT STARCH KIT“ und „PROTEIN DIGESTIBILITY“ von Megazyme bestimmt. Die Bewertung der Morphologie der Proben erfolgt unter dem Mikroskop. Anhand der ermittelten Ergebnisse zeigt sich, dass die Entölung einen signifikanten Einfluss auf die Proteinlöslichkeit des Bohnenmehls sowie Wasser- und Ölbindekapazität ausübt. Der Stärkegehalt kann durch die Entölung auf 25,2 % erhöht und der Fettgehalt auf 1,1 % gesenkt werden. Hinsichtlich der Proteinverdaulichkeit, erhöht die Entölung den Amino Acid Score und den Protein Digestibility Corrected Amino Acid Score des Bohnenmehls, jedoch nicht die In Vitro Digestibility. Durch die Entölung wird besonders die Stärkeverdaulichkeit der RS des Carioca Bohnenmehls beeinflusst und die der TDS des Stärkeisolates. Die Proteinausbeute aus dem entölten Carioca Bohnenmehl liegt bei 34,7 % und die Stärkeausbeute bei 96,0 %. Die Morphologie der Stärkekörner des Bohnenmehls, welche Bindungen mit Öltröpfchen eingehen, und des Stärkeisolates ist unabhängig von der Entölung des Mehls.

Abstract

As plant-based raw materials gain more and more value as a functional and protein-rich food ingredient, carioca bean is an ideal choice due to its nutritional value and chemical composition.

Consequently, this dissertation presents the influence of deoiling on the chemical composition, nutritional value and microscopic structure of dehulled Carioca bean flour and protein and starch fractions obtained from it. Carioca bean flour is deoiled using the solvent N-hexane. By determining the protein solubility, according to the method adapted by the Fraunhofer Institute to the protein solubility determination according to C.V.Morr, and consideration of the water and oil binding capacity, the influence of deoiling on these functional properties is shown. Protein and starch digestibility are determined by the enzyme kits "DIGESTIBLE STARCH and RESISTANT STARCH KIT" and "PROTEIN DIGESTIBILITY" from Megazyme. The evaluation of the morphology of the samples is carried out under the microscope. The results obtained show that deoiling has a significant effect on the protein solubility of the bean flour as well as water and oil binding capacity. The starch content can be increased to 25.2 % and the fat content reduced to 1.1 % by deoiling. Regarding protein digestibility, deoiling increases the Amino Acid Score and Protein Digestibility Corrected Amino Acid Score of the bean flour, but not the In Vitro Digestibility. Deoiling particularly affects the starch digestibility of the RS of the Carioca bean flour and that of the TDS of the starch isolate. The protein yield from the deoiled carioca bean flour is 34.7 % and the starch yield at 96,0 %. The morphology of the starch grains of the bean flour, which form bonds with oil droplets, and of the starch isolate is independent of the deoiling of the flour.

1. Einleitung und Problemstellung

Pflanzliche Rohstoffe gewinnen, vor allem in der veganen und vegetarischen Ernährung, einen immer höheren Wert als funktionelle und proteinreiche Lebensmittelzutat. Dies lässt sich davon ableiten, dass es einen deutlich abnehmenden Konsum der Konsumenten an tierischen Produkten gibt und sich der Trend in Richtung pflanzlicher Produktalternativen und zur Suche nach neuen veganen Proteinquellen bewegt (Rassow et al., 2022, S. 287). Bereits gängige pflanzliche Produktalternativen auf dem Lebensmittelmarkt weisen jedoch häufig Herausforderungen für die Lebensmittelhersteller hinsichtlich der sensorischen Qualität in Bezug auf deren Aussehen, Geruch, Geschmack und Textur auf (Dr. Pabel, B. & Schiller, S., 2017). Problematisch ist ebenfalls, dass viele Konsumenten eine Nahrungsmittelallergie gegen häufige pflanzliche Rohstoffe, wie Weizen, Soja oder Nüsse aufweisen (Bundesinstitut für Risikobewertung, 2023). Besonders die Weiterverwertung von Nebenströmen aus der Lebensmittelindustrie, in Hinblick auf die nachhaltige, ressourceneffiziente und vollkommene Ausnutzung des Rohstoffes, gewinnt an Aufmerksamkeit und Bedeutung (Deutsche Gesellschaft für Ernährung e.V., o. J.-b). Im Trend liegt die Entwicklung von verzehrfertigen oder halb fertigen Bohnenprodukten, da Bohnenmehle einen hohen Proteingehalt bieten und dem glutenfreien Markt dienen können (Costa, G.E. de A. et al., 2006, S. 68). Die Carioca Bohne bietet sich aufgrund ihrer ernährungsphysiologischen Wertigkeit und chemischen Zusammensetzung optimal an und weist einen hohen Protein- und Stärkegehalt auf. Darüber hinaus fallen in der industriellen Verarbeitung Nebenströme in Form von Bruchbohnen an, welche entweder entsorgt oder als Tierfutter genutzt werden (Ferreira, K.C. et al., 2022, S. 68). Diese Bruchbohnen können zur Herstellung von nachhaltigen, proteinreichen, allergenarmen und gentechnikfreien Lebensmittelzutaten für vegane Lebensmittel verwertet werden. Die Extraktion von Protein- und Stärkefraktionen bietet eine neue Alternative zur Verwendung der Bruchbohnen an, da die Fraktionen als funktionelle Lebensmittelzutaten in gängigen und neuartigen Lebensmitteln eingesetzt werden können (Ferreira, K.C. et al., 2022, S. 68).

Die Ausschöpfung des hohen Potenzials der Carioca Bohne kann durch die Fraktionierung in ihre Stärke- und Proteinfractionen erreicht werden. Das optimale Schälverfahren sowie die idealen Parameter für die Fraktionierung wurden bereits in wissenschaftlichen Arbeiten in Zusammenarbeit mit dem Fraunhofer Institut für Verfahrenstechnik und Verpackung bestimmt. Die Auswirkung der Entölung des Carioca Bohnenmehls wurden jedoch noch nicht untersucht und bestimmt, welches einen Vorteil von Stärke- und Proteinfractionen mit einem Fettanteil von unter 1 % als Ziel verfolgt. So leitet sich das Ziel dieser wissenschaftlichen Abschlussarbeit und die Forschungsfrage ab, welchen Einfluss die Entölung auf die chemische Zusammensetzung, ernährungsphysiologische Qualität

und mikroskopische Struktur von Mehlen sowie daraus gewonnenen Protein- und Stärkefraktionen der geschälten Carioca Bohne (*Phaseolus vulgaris* L.) hat.

2. Stand der Technik und Wissenschaft

2.1. Die Carioca Bohne

Die Carioca Bohne (*Phaseolus vulgaris* L.) gehört zur Gattung *Phaseolus*, der Art der Gartenbohne und zur Familie der Hülsenfrüchte und stammt aus der Unterfamilie der Schmetterlingsblütler (Kottelmann, V., 2022, S. 2). Sie ist eine der wichtigsten Bestandteile der Nahrungsquellen in Brasilien (Santos, F.Q. et al., 2015). Die Bohnen der Gattung und Art *Phaseolus vulgaris* L. sind sich in ihren ernährungsphysiologischen, chemischen und physikalischen Eigenschaften ähnlich, weisen jedoch unterschiedliche Farbe und Form auf. Der Prokopf- Verbrauch an getrockneten Bohnen liegt in Brasilien im Jahr bei 15 kg (Ferreira, K.C. et al., 2022, S. 68), wobei vom Verbrauch rund 60 % auf die Carioca Bohne fallen (Los, F.G.B. et al., 2021). 2019 betrug die geschätzte Trockenbohnenproduktion rund 30,2 Millionen Tonnen. Dabei machten Brasilien, Indien, China, die Vereinigte Republik Tansania und Myanmar 59,4 % der weltweiten Trockenbohnen-Produktion aus (Ferreira, K.C. et al., 2022, S. 68).

2.1.1. Ernährungsphysiologische Wertigkeit

Die Carioca Bohne ist reich an Proteinen, hat einen hohen Gehalt an Kohlenhydraten, Eisen und Mineralien (Santos, F.Q. et al., 2015). Aus der Literatur lässt sich entnehmen, dass die rohe Carioca Bohne zu 9,93 % aus Feuchtigkeit, zu 3,8 % Asche, zu 54,3 % Kohlenhydraten, zu 2,94% Fett und zu 20,9 % aus Proteinen besteht (Costa, G.E. de A. et al., 2006). „Der gesamte Kohlenhydratanteil der trockenen Bohnen umfasst Stärke, löslichen Zucker und Ballaststoffe“ (Kottelmann, V., 2022, S. 4). „Von den Kohlenhydraten entfällt die größte Menge auf die Stärke, die 30-35 % Amylose enthält“ (Acker, L. et al., 1967, S. 406–407). Die Carioca Bohne besteht zu 36 % aus Stärke (Kottelmann, V., 2022, S. 4). Das Fett der Carioca Bohne besteht zu einem großen Bestandteil aus Linolensäure (Acker, L. et al., 1967, S. 406–407).

2.1.1.1. Bedeutung der Kohlenhydrate

Kohlenhydrate haben einen Brennwert von 4 kcal/g und übernehmen verschiedene Aufgaben im Körper (Heinrich, P.C. et al., 2014, S. 688). Sie dienen als schnell zur Verfügung stehende Energiequelle, besonders Glykogen und Stärke, da diese in tierischen und pflanzlichen Zellen zur Speicherung von Energie eingesetzt werden. Außerdem dienen Polysaccharide als extrazelluläre Strukturbe-

standteile des Körpers von Lebewesen und „sind an der für vielzellige Organismen besonders wichtigen Zell-Zell-Kommunikation beteiligt“ (Heinrich, P.C. et al., 2014, S. 688). Außerdem unterstützen Kohlenhydrate die Proteinfunktion, da Glykoproteine mit Oligosaccharidstrukturen ausgerüstet sind (Heinrich, P.C. et al., 2014, S. 688).

2.1.1.2. Bedeutung der Proteine

Proteine haben einen Brennwert von 4 kcal/g und übernehmen im Körper verschiedene Funktionen (Heinrich, P.C. et al., 2014, S. 688). Die Zufuhr von Proteinen ist für den Menschen elementar, da Proteine Bestandteile „im Bau- und Strukturstoffwechsel von Muskeln, Knochen und Bindegewebe“ (König, D. et al., 2020, S. 132) sind. Außerdem sind sie am Hormonhaushalt, Zell- und Energiestoffwechsel und Immun- sowie Gerinnungssystem des Körpers beteiligt (König, D. et al., 2020, S. 132). Es gibt 20 proteinogene Aminosäuren, die natürlich vorkommen und als Bausteine für Proteine dienen (Bille, J. & Schlegel, W., 1999). Von diesen proteinogenen Aminosäuren sind neun essenziell (Valin, Tryptophan, Threonin, Phenylalanin, Histidin, Leucin, Methionin, Isoleucin und Lysin) und müssen vom Organismus über die Nahrung aufgenommen werden (Deutsche Gesellschaft für Ernährung e.V., o. J.). Die nicht-essenziellen Aminosäuren können selbst vom menschlichen Körper synthetisiert werden (Föller, M. & Stangl, G.I., 2021, S. 56).

Nicht-proteinogene Aminosäuren sind alle Aminosäuren, „die nicht über eine spezifische tRNA in neu-synthetisierte Proteine eingebaut werden“ (Heinrich, P.C. et al., 2014, S. 688). „Pflanzen und viele Mikroorganismen sind im Gegensatz zum Säugetier in der Lage, alle Aminosäuren zu produzieren“ (W. Baltes, 1995, S. 114).

2.1.1.3. Bedeutung der Fette

Fette haben einen Brennwert von 9 kcal/g (Heinrich, P.C. et al., 2014, S. 688) und dienen im Körper zur „Bereitstellung von Substraten für die Energiegewinnung“ (Heinrich, P.C. et al., 2014, S. 688), Speicherung von Energie als Triacylglycerine, Signaltransduktion und als Bausteine von Plasma- und intrazellulären Membranen (Heinrich, P.C. et al., 2014, S. 688).

Fette sind substanziell für die Aufnahme der essenziellen Fettsäuren Linolensäure und Linolsäure und unterstützen die Aufnahme der fettlöslichen Vitamine D, A, K und E (Rassow et al., 2022, S. 223).

2.1.1.4. Bedeutung des Aschegehalts

Durch die vollständige Verbrennung von organischen Bestandteilen eines Lebensmittels, entsteht unter festgelegten Bedingungen ein Rückstand, die Asche. Nachdem Verunreinigungen und Kohlepartikel abgezogen sind, lässt sich der Aschegehalt mit dem Mineralstoffgehalt des Lebensmittels in Korrelation stellen. Mineralstoffe werden über die Nahrung aufgenommen und sind essenziell für lebenswichtige Stoffwechselfvorgänge im Körper (Schünke et al., 1997, S. 9–10).

2.1.2. Chemische Zusammensetzung

Kohlenhydrate sind organische Verbindungen, die „aus einer Kette von mindestens drei C-Atomen“ (Rassow et al., 2022, S. 43) bestehen. Ein C-Atom der Kette muss Bestandteil einer Carbonylgruppe sein und die anderen C-Atome müssen eine OH-Gruppe gebunden haben und in H-C-OH-Form vorliegen (Rassow et al., 2022, S. 43).

Durch die Nahrungsaufnahme erfolgt die Kohlenhydrataufnahme hauptsächlich in Form von Stärke, die als Polysaccharid vorliegt. Stärke ist aufgebaut durch unverzweigte, linear aufgebaute Amylose und verzweigtes Amylopektin (Rassow et al., 2022, S. 43).

Stärke ist ein Polysaccharid, welches aus n-Glukose aufgebaut ist und besteht aus den zwei trennbaren Fraktionen Amylose und Amylopektin. „Die beiden Stärkefraktionen sind nicht polymereinheitlich aufgebaut und unterscheiden sich auch im Verzweigungsgrad“ (Acker, L. et al., 1967, S. 172).

Die chemische Struktur der Proteine besteht aus, durch Peptidverbindungen aneinandergelinkten Aminosäuren (Rassow et al., 2022, S. 72). Zwischen gegenüberliegenden Peptidbindungen, innerhalb des Proteins, kann es zur Bildung von Wasserstoffbrücken kommen, wodurch die Struktur des Proteins stabilisiert wird (Rassow et al., 2022, S. 72). Eine Kette von weniger als 50 Aminosäuren wird als Peptid bezeichnet. Bilden 50-150 Aminosäuren eine Kette, wird diese als Polypeptid bezeichnet. Polypeptidketten bezeichnen nicht spezifisch definierte Aminosäureketten. Mehrere miteinander assoziierte Polypeptidketten bilden einen Proteinkomplex (Rassow et al., 2022, S. 71).

Proteinstrukturen werden in Primär-, Sekundär-, Tertiär- und Quartärstrukturen unterschieden (Rassow et al., 2022, S. 73). Die Primärstruktur beschreibt die Aminosäuresequenz. Die Sekundärstruktur wird durch Wasserstoffbrückenbindungen zwischen den Aminosäuren stabilisiert, wobei die Tertiärstruktur durch Disulfidbrücken, ionische Wechselwirkungen, hydrophobe Wechselwirkungen, van der Waals-Kräfte und Wasserstoffbrücken stabilisiert wird. Die Zahl und Anordnung der unterschiedlichen Aminosäureketten im Proteinkomplex wird durch die Quartärstruktur beschrieben (Rassow et al., 2022, S. 73–76). Die dreidimensionale Struktur eines Proteins wird als native Struktur bezeichnet, in welcher das Protein seine physiologischen Funktionen ausführt.

Die Proteinlöslichkeit ist abhängig von verschiedenen Eigenschaften des Proteins und den Lösungsbestandteilen (Wille, G. & Reitz, J., 2020, S. 1–2).

„Generell sind Proteine in Lösungen mit niedriger Ionenstärke besser löslich als in reinem Wasser (salting-in-Effekt), jedoch können sie durch hohe Salzkonzentrationen (z.B. Ammoniumsulfat) ebenfalls ausgefällt werden (salting-out-Effekt)“ (Wille, G. & Reitz, J., 2020, S. 1–2).

In der Biochemie werden Fette bei den Lipiden eingeordnet. Lipide weisen unterschiedliche chemische Strukturen auf. Ihre Gemeinsamkeit ist jedoch, dass sie alle vom Essigsäurerest Acetyl-Coenzym A synthetisiert werden (Tauber, R. & Perschel, F.H., 2019, S. 21).

Fette bestehen in ihrer chemischen Struktur aus einer Veresterung von Glycerin. An jedes Glycerin-Molekül sind drei Fettsäuren gebunden. Die organische Verbindung der Fettsäure besteht aus einer Kohlenwasserstoffkette, welche an einem Ende in Verbindung mit einer Carboxylgruppe steht. Fettsäuren werden in gesättigte und ungesättigte Fettsäuren unterschieden. Bei gesättigten Fettsäuren ist an jedes Kohlenstoffatom der Kohlenstoffkette die maximale Anzahl an Wasserstoffatomen gebunden. Die Kohlenstoffatome sind durch Einfachbindungen aneinander verknüpft. Bei ungesättigten Fettsäuren ist an die Kohlenstoffatome nicht die maximale Anzahl an Wasserstoffatomen gebunden, sondern es liegen zwischen einzelnen Kohlenstoffatomen Doppelbindungen vor (Universität zu Köln- Institut für Chemie und ihre Didaktik, o. J.).

2.2. Verdauung von Stärke und Protein

2.2.1. Stärkeverdauung

Die Verdauung der Stärke, die als Polysaccharide vorliegt, wird durch die α -Amylase, welche in Speichel und des Pankreas enthalten ist, eingeleitet. α -Amylasen hydrolysieren „die $\alpha 1 \rightarrow 4$ -glykosidischen Bindungen *innerhalb* der Polysaccharidketten“ (Rassow et al., 2022, S. 240). Dabei werden die am Ende der Polysaccharidketten stehenden Glucosemonomere nicht abgetrennt. Bei der Einwirkung der α -Amylasen werden die Polysaccharide zuerst in Dextrine zerlegt und nach länger anhaltender Einwirkung in Maltose, Maltotriose und Isomaltose gespalten. Am Bürstensaum der Enterozyten werden die Oligosaccharide durch die zwei Enzyme Maltase-Glucoamylase (MAG) und Saccharase-Isomaltase (SI), die nur α -glykosidische Bindungen hydrolysieren, in Glucosemonomere gespalten. Die Maltase-Glucoamylase trennt die Glucose von den nicht reduzierenden Ketten-Enden der Poly- und Oligosaccharide ab und die Disaccharide werden von der Saccharase-Isomaltase hydrolysiert (Rassow et al., 2022, S. 241). Abhängig von der Rate und dem Umfang der Verdaulichkeit der Stärke, wird die Stärke in verschiedene Gruppen eingeteilt. Es gibt die Rapidly Digestible Starch

(RDS), die Slowly Digestible Starch (SDS) und die Total Digestible Starch (TDS) (Gani, A. & Bilal, A.A., 2021, S. 19).

2.2.2. Proteinverdauung

Der erste Schritt der Proteinverdauung ist die Denaturierung der Proteine im Magen durch Salzsäure, wodurch die Proteine ihre native Struktur verlieren. Die Hydrolyse der Proteine wird zu Anfang durch Pepsin eingeleitet (Rassow et al., 2022, S. 287). Pepsin ist laut Definition nach R. Tauber und F. H. Perschel eine „Gruppe mehrerer Proteinasen (Pepsin A, B, C; EC 3.4.23.1, 2, 3) der Magennukosa, die die Hydrolyse von Nahrungsproteinen zu Polypeptidgemischen katalysieren“ (Tauber, R. & Perschel, F.H., 2019, S. 1849). Pepsin wird in Form des Proenzym Pepsinogen von der Magennukosa abgesondert. Bei einem sauren pH-Wert werden aktive Proenzyme gespalten. Die Endopeptidase Pepsin A spaltet die Peptidbindungen der Proteine bei Leucin, Tyrosin, Phenylalanin und Tyrosin. Der optimale pH-Wert Pepsinisoenzyme liegt zwischen 1,8 und 3,5 (Tauber, R. & Perschel, F.H., 2019, S. 1849). Die Hydrolyse der Substrate erfolgt folglich innerhalb der Aminosäureketten, während endständige Aminosäuren nicht hydrolysiert werden. Im Dünndarms erfolgt die Hydrolyse der Polypeptide durch die Proteasen, für welche der optimale pH-Wert im alkalischen Milieu liegt. Proteasen werden in Serin-Proteasen und Carboxypeptidasen unterschieden (Tauber, R. & Perschel, F.H., 2019, S. 287). Zu den Serin-Proteasen gehören Trypsin, Chymotrypsin und Elastase. Die Enteropeptidase der Bürstensaummembran aktiviert das Trypsin, welches die Proteine der positiv geladenen Aminosäuren Arginin und Lysin am C-terminalen Ende, mit der freien Carboxylgruppe, spaltet (Tauber, R. & Perschel, F.H., 2019, S. 287).

Die Vorstufen des Chymotrypsins und der Carboxypeptidasen werden durch das Trypsin aktiviert. Chymotrypsin dient der Spaltung „an der carboxyterminalen Seite hydrophober Aminosäuren“ (Tauber, R. & Perschel, F.H., 2019, S. 287) und das Protein Elastin wird durch die Elastase hydrolysiert (Tauber, R. & Perschel, F.H., 2019, S. 287). Zu den Carboxypeptidasen gehören die Carboxypeptidasen A und B. Als Exopeptidasen spalten sie die carboxyterminalen Aminosäuren der Substrate ab. Die Hydrolyseprodukte der Proteasen des Pankreas sind Oligopeptide und freie Aminosäuren. An der Bürstensaummembran der Enterozyten erfolgt die letzte Hydrolyse der Substrate durch Peptidasen, vor allem durch die Aminopeptidasen und Dipeptidasen (Tauber, R. & Perschel, F.H., 2019, S. 288).

2.3. Entölung von Rohstoffen und der Einfluss auf die Funktionalität der Inhaltsstoffe

Hexan, welches auch in dieser Arbeit als Lösungsmittel bei der Ölextraktion der geschälten Carioca Bohne verwendet wird, wird bereits traditionell als Lösungsmittel für die Ölextraktion in der ölverarbeitenden Industrie eingesetzt, aufgrund seines günstigen Preises und seiner stark löslich wirkenden Eigenschaft (*Sawada, M.M. et al., 2014, S. 662*). Nach Dipl.-Ing. Axel Natsch sollte die zu entöhlende Saat, vor der Ölextraktion mit dem Lösungsmittel Hexan, geschält werden, da das Hexan sonst in Schalenresten im Mehl verbleiben könnte (Dipl.-Ing. Natsch, A., 2006, S. 19).

Die Entölung von Rohstoffen, wie der geschälten Carioca Bohne, kann positive, als auch negative Auswirkungen auf die Funktionalität der Inhaltsstoffe haben. Je nach den geforderten spezifischen Anforderungen an den entöhlten Rohstoff, muss der Einfluss der Entölung auf die Funktionalität berücksichtigt werden.

Um den Einfluss der Entölung des Carioca Bohnenmehls bestimmen zu können, sind neben der Beurteilung der ernährungsphysiologische Bedeutung und chemischen Zusammensetzung dessen funktionelle Eigenschaften von Interesse. „Als lebensmitteltechnologisch bedeutendste funktionelle Eigenschaften gelten das Wasser- und Ölbindevermögen, die Löslichkeit, die Emulgierereigenschaften sowie das Gel- und Schaumbildungsvermögen“ (Dipl. Lebm.-Chem. Melde, D., 2017, S. 26). In dieser Arbeit wurden das Wasserbindevermögen, das Ölbindevermögen und die Proteinlöslichkeit untersucht.

Nach der Definition von C. V. Morr und E. Y. W. Ha sind funktionelle Eigenschaften physiko-chemische Eigenschaften, durch welche die Komposition, die Textur, das Erscheinungsbild, die Viskosität, sowie das Mundgefühl und die Geschmackserhaltung beeinflussen (Morr, C.V. & Ha, E.Y., 1993, S. 434–435). Die Löslichkeit und das Wasserbindevermögen werden von molekularen Strukturen der Rohstoffbestandteile und den angewandten Prozessparametern während der Verarbeitung beeinflusst. Prozessparameter während der Verarbeitung seien beispielsweise der pH-Wert, die Temperatur oder die Ionenkonzentration (Morr, C.V. & Ha, E.Y., 1993, S. 435–436). Neben der Löslichkeit und dem Wasserbindevermögen ist auch das Ölbindevermögen eine wichtige funktionelle Eigenschaft (Dipl. Lebm.-Chem. Melde, D., 2017, S. 26).

Die Proteinlöslichkeit des Carioca Bohnenmehls ist ein wichtiges funktionelles Kriterium, „da die funktionellen Eigenschaften der Produkte insbesondere von ihrer Löslichkeit bzw. von ihrer Dispergierbarkeit abhängen“ (Dipl.-Ing. Dazert, D., 2004, S. 117). Des Weiteren besteht eine Nachfrage an Proteinen mit speziellen Eigenschaften, da es eine erhöhte Nachfrage nach ihrem Einsatz in Lebensmittelformulierungen gibt. Diese funktionellen Eigenschaften werden durch das physikalische und

chemische Verhalten der Proteinmoleküle in Lösungen geprägt. Die Proteinlöslichkeit ist als funktionelle Eigenschaft von großer Bedeutung, aufgrund ihres Einflusses auf die Emulgierung, Gelierung und Schaumbildung (Sawada, M.M. et al., 2014, S. 662).

Die Erstellung einer Proteinlöslichkeitskurve eines Proteins, welche die Proteinlöslichkeit in Abhängigkeit zu verschiedenen pH-Werten darstellt, ist eine wichtige praktische Vorgehensweise zu Bestimmung von funktionellen Eigenschaften, um das Ausmaß der Proteindenaturierung zu messen (Sawada, M.M. et al., 2014, S. 665).

Laut K.W. Becker hat die Entölung von pflanzlichen Rohstoffen einen Einfluss auf deren funktionelle Eigenschaften. Der Ölgehalt sollte auf unter 1,0% gebracht werden, da das Öl sonst bei der Proteinfraction verbliebe und die Emulsionsfähigkeit negativ beeinflusse. Ein zu hoher Ölgehalt könne außerdem dazu führen, dass das Protein im Rohstoff schneller ranzig werde. Das Öl könne sich außerdem in weiteren Verarbeitungsschritten vom Protein trennen und „Fischaugen“ bilden (Becker, K.W., 1971, S. 301). Die Wahl des Extraktionsverfahren zur Entölung hänge außerdem vom Ölgehalt des Rohstoffes und von der erlaubten Denaturierung der Proteine während des Extraktionsverfahren ab (Becker, K.W., 1971, S. 301). Die Extraktionstemperatur während der Ölextraktion hat einen statistisch signifikanten Einfluss auf die Proteinlöslichkeit. Ein negativer Aspekt ist, dass eine höhere Extraktionstemperatur, unabhängig von der Hydratation durch das Lösungsmittel, zu einer geringeren Proteinlöslichkeit führt, was die Verwendbarkeit des Rohstoffes in bestimmten Anwendungen beeinträchtigen kann (Sawada, M.M. et al., 2014, S. 666).

Eine positive Auswirkung ist, dass sich beim Vergleich von Proben vor und nach der Ölextraktion mit dem Lösungsmittel Hexan, ein Anstieg im Proteingehalt der Probe, aufgrund der Entfernung des Öls, ergibt. Nach den Studienergebnissen von Mirian Megumi Sawada et al., in welcher unter anderem die Effekte der alkoholischen Extraktionsbedingungen von Sojabohnenöl auf das entölte Mehl untersucht wurden, führt die Ölextraktion aufgrund der milden Proteindenaturierung während der Extraktionsprozesses, zu einem Anstieg der Denaturierungstemperatur und Abnahme der Enthalpie der Proteine (Sawada, M.M. et al., 2014, S. 668). „Viele denaturierte Eiweiße sind enzymatisch leichter spaltbar“ (Westphal, G. et al., 2003, S. 104).

2.4. Einfluss von Stärke und Protein auf die mikroskopischen Strukturen und Textur von daraus hergestellten Lebensmitteln

Stärke und Proteine sind wichtige Bestandteile von Lebensmitteln und haben unterschiedliche Auswirkungen auf die mikroskopischen Strukturen und die Textur von daraus hergestellten Lebensmitteln. Stärkekörner der Gartenbohne (*Phaseolus vulgaris* L.) kommen in verschiedenen Größen und Formen vor. Die Länge der Stärkekörner liegt bei großen Stärkekörnern zwischen 30 und 50 µm. Einzelne Stärkekörner weisen eine Länge zwischen 10 bis zu 60 µm auf. Die Form variiert zwischen

nieren- und bohnenförmig, elliptisch, rundlich, dreieckig, gerundet oder ausgebuchtet (Acker, L. et al., 1967, S. 217) und ist im allgemeinen schlank (Gassner, G., 1989, S. 100). „Der Querdurchmesser beträgt meist 8-30 um“ (Acker, L. et al., 1967, S. 217). Außerdem weisen die Stärkekörner scharfe Konturen auf, eine starke Schichtung und eine deutlich hervorstechende Kernspalte, wobei große und undeutliche Kernhöhlen meist nicht vorhanden sind (Gassner, G., 1989, S. 100).

„Die physikalisch- chemischen Eigenschaften der Stärkefraktionen sind ausschlaggebend für den Einsatz der Stärke auf dem Lebensmittelsektor“ (Acker, L. et al., 1967, S. 172).

Stärke beeinflusst hauptsächlich die Textur und das Volumen von Lebensmitteln durch die Quellung der Stärkekörner oder die Gelbildung beim Abkühlen der Stärke (Acker, L. et al., 1967, S. 178–179). Die Form und Größe der Stärkekörner sind für die Verwendung des Rohstoffes, ob als Backzutat oder als „Formpuder bei der Herstellung von Süßwaren“ (Acker, L. et al., 1967, S. 178) relevant. So kann Stärke als Ersatz für Mehl in Backwaren eingesetzt werden, wobei jedoch aufgrund der begrenzten Wasserzugabe nicht die vollständige Quellung der Stärkekörner erfolgt (Acker, L. et al., 1967, S. 178). Auch die Gelbildung ist eine wichtige texturgebende Eigenschaft der Stärke im Einsatz in Lebensmitteln. Durch die genügende Erhitzung der Stärkekörner, hat diese die Eigenschaft sich durch Abkühlen zu einem Stärkegel zu versteifen, der „Puddingeffekt“ tritt ein (Acker, L. et al., 1967, S. 181). Durch die Erhitzung der Stärke mit Wasser, beginnen die Stärkekörner durch die Aufnahme des Wassers ab 50°C irreversibel zu quellen und sich zu verändern. Im kalten Wasser wird die Quellung nicht eingeleitet und die Stärke ist unlöslich. Die Struktur der Stärkekörner kann bei einer genügenden Menge an Wasser und der Zufuhr von Wärme vollkommen zerstört werden. Dadurch geht die Form der Stärkekörner verloren und es bildet sich eine homogene Masse, welche auch als Stärkekleister oder Stärkegel bezeichnet wird (Acker, L. et al., 1967, S. 179)

Proteine sind hauptsächlich verantwortlich für die Struktur von Lebensmitteln, wie zum Beispiel in Gebäck oder Fleischprodukten. Es hat jedoch durch seine technologischen Eigenschaften auch Einfluss auf die Emulsionsbildung durch seine emulgierende Wirkung oder Schaumbildung (Stephan, A., 2018, S. 8–10). Das Protein kann im Endprodukt für eine feste Struktur sorgen, da es durch Hitzeinfluss ein koaguliertes Gel bilden kann, welches die Produktstruktur stabilisiert und beim Erhitzen für die Emulsionsstabilisierung sorgt (Stephan, A., 2018, S. 93).

Beim Backprozess von Brot denaturieren die Proteine abhängig vom Grad der Erhitzung, einhergehend „mit einer stärkeren oder schwächeren Entquellung, wobei die kleberbildenden Proteine ihre elastischen Eigenschaften verlieren und starr und zäh werden“ (Acker, L. et al., 1967, S. 306). Ein höherer Anteil an Proteinen in einem Lebensmittel kann also zu einer härteren und festeren Textur führen, während Stärke zu einer gelartigeren, weicheren Textur führen kann (Acker, L. et al., 1967, S. 306).

3. Material und Methoden

3.1. Geräte, Material, Chemikalien und Testkits

Die verwendeten Gerätschaften, Materialien, Chemikalien und Reagenzien und Testkits sind in den nachfolgenden Tabellen (siehe Tabelle 1-4) aufgelistet. Die jeweiligen spezifischen Einstellungen der Gerätschaften und die verwendeten Softwares für diese sind in den jeweiligen Methodenbeschreibungen in Kapitel 3.2. ausführlich beschrieben.

Die Versuche wurden mit der Carioca Bohne der Firma Pantera Alimentos als Rohstoff durchgeführt.

Tabelle 1: Spezifikation der verwendeten Messgeräte

Gerät	Hersteller	Spezifikation
Schüttelwasserbad	Grant Instruments (Cambridge) Ltd 29 Station Rd, Shepreth, Royston SG8 6GB, Vereinigtes Königreich	Type: OLS200 SN: 8Q1126007
Wasserbad	Memmert GmbH + Co. KG Äußere Rittersbacher Straße 38 91126 Schwabach	Type: WNB 29 ohne De- ckel
Vortex- Mixer	IKA®-Werke GmbH & CO. KG Janke & Kunkel-Str. 10 79219 Staufen/ Germany	Type: Genius 3 Model: VG3
Analysenwaage	Sartorius Lab Instruments GmbH & Co. KG Otto-Brenner-Straße 20 37079 Göttingen	Type: AZ214 SN: 26807957
Tischzentrifuge	Eppendorf AG 22331 Hamburg	SN: 5452FL794597
Zentrifuge	SIGMA Laborzentrifugen GmbH An d. Unteren Söse 50 37520 Osterode am Harz	Type: 3K30 SN: 737992000
Magnetrührplatte	2mag AG I-K, Schragenhofstraße 35 80992 München	Type: MIXdrive 15 HT SN: 176750124621
Fotometer	Analytik Jena GmbH Konrad-Zuse-Straße 1 07745 Jena	Type: Spector 210 Plus

Gerät	Hersteller	Spezifikation
ZIEGRA Crasheismaschine ZBE 70-35	Intercontinentale Ziegma Eismaschinen GmbH Sattlerstraße 5 30916 Isernhagen	Art-Nr. 24935
pH-Meter	WTW Xylem Analytics Germany GmbH D-82362 Weilheim	SN: 17380621 pH 3310
Umluft- Trockenschrank	Thermo Electron LED GmbH, Robert-Bosch-Straße 1 63505 Langenselbold	Typ: UT 6060 Bestell- Nr. 51023867 Fabriknummer: 41155168mühle
Kreisschüttler	Thermo Fisher Scientific Co., Ltd. Building 6, NO. 27 Xin Jinqiao Road, Pudong, Shanghai, China	Model: 88881102 SN: KCCT81102049
Multi Mode Reader	BioTek Instruments, Inc 5301 Stevens Creek Blvd. Santa Clara, CA 95051 United States	Type: Synergy HTX SN: 190611E REF: S1LFA
Thermomixer	Eppendorf AG 22331 Hamburg	Type: Thermomixer C
Rühr- Heizhaube	Electrothermal Engineering Unit 12A Purdeys Way Purdeys Industrial Estate SS4 1ND Vereinigtes Königreich	Cat. No.: EMA2000/CEB SN: 10032556/ 01
Recirculating Chiller	BÜCHI Labortechnik AG CH- 9230 Flawil Switzerland	Type: F-108 SN: 658211
Horizontaler Tischautoklav	Systec GmbH Konrad- Adenauer- Straße 15 D-35440 Linden	Type: DX-45 SN: D 4331
C-Mag hotplate stirrer	IKA®-Werke GmbH & CO. KG Janke & Kunkel-Str. 10 79219 Staufen	Type: C-MAG HS 7 Ident-Nr.: 0003581800 size 200 mm × 200 mm
Messermühle Grindomix	Retsch GmbH Rheinische Straße 36 42781 Haan	Type: GM 200 SN: 1211071106A

Gerät	Hersteller	Spezifikation
Rührwerk	Phoenix Instrument GmbH Heinkelstraße 4 30827 Garbsen	Type: RSO 40D
Zentrifuge	SIGMA Laborzentrifugen GmbH An d. Unteren Söse 50 37520 Osterode am Harz	Type: 8K SN: 117347/2006
Waage	Sartorius Weighing Technology GmbH Otto-Brenner-Straße 20 37079 Göttingen	Signum 1 Type SIWRDCP-1-15-1
Thermomix TM6	Vorwerk Deutschland Stiftung & Co. KG Mühlenweg 17 - 37 D-42270 Wuppertal	SN: 21414257013608905
Feuchtbestimmer	Sartorius Lab Instruments GmbH & Co. KG Otto-Brenner-Straße 20 37079 Göttingen	Serie: MA37-1 Art-Nr.: 999999
Blockthermostat	Eppendorf AG 22331 Hamburg	SN: 003000 2,0 ml für 24x 2,0 ml

Tabelle 2: Spezifikation der verwendeten Materialien

Messgerät	Hersteller	Spezifikation
Zentrifugenröhrchen 15 ml, PP Unsteril	LABSOLUTE Th. Geyer GmbH & Co. KG Dornierstr. 4 – 6 71272 Renningen	LOT Nr.: D-06-10- 280621 Art-Nr.: 7696712
Glastrichter	-	Durchmesser: 75mm
Messkolben 100 ml	ISOLAB Laborgeräte GmbH Am Dillhof 2 63863 Eschau	DIN A NS 14/23 Boro.3.3

Messgerät	Hersteller	Spezifikation
Haushaltsrollen	Metsä Tissue GmbH 56316 Raubach Deutschland	Marke: ÖKO-PUREX
Parafilm M Labor Ver- schlussfolie	Research Products International Cor- poration 410 E Business Center Dr, Mt Pro- spect, IL 60056 Vereinigte Staaten	Art-Nr.: 164996, 10,2 cm X 125 Fuß Rolle
Eppendorf Pipette 20- 200 µl	Eppendorf AG 22331 Hamburg	Type: Research plus
Eppendorf Pipette 100- 1000 µl	Eppendorf AG 22331 Hamburg	Type: Research plus
Eppendorf Pipette 0,2- 5ml	Eppendorf AG 22331 Hamburg	Type: Research plus
Eppendorf Pipette 0,5- 10 ml	Eppendorf AG 22331 Hamburg	Type: Research plus
epT.I.P.S. Standard/ Bulk 2- 200 µl	Eppendorf AG 22331 Hamburg	LOT Nr.: L203611K Order no.: 0030000.870
epT.I.P.S. Standard 50- 1000 µl	Eppendorf AG 22331 Hamburg	LOT Nr.: L205711N Order no.: 0030000.919
epT.I.P.S. Standard/ Bulk 0.2- 5 ml	Eppendorf AG 22331 Hamburg	LOT Nr.: K195498L Cat. No.: 022492080 Order no.: 0030000.978
epT.I.P.S. Standard/ Bulk 0.5- 10 ml	Eppendorf AG 22331 Hamburg	LOT Nr.: K199292Q Order no.: 0030000.765 Cat. No.: 022492098
Küvette	LABSOLUTE Th. Geyer GmbH & Co. KG Dornierstr. 4 – 6 71272 Renningen	Polystyrol (PS) Makro, 4,0 ml LOT Nr.: 76054 Art-Nr.: 7697100

Messgerät	Hersteller	Spezifikation
Safe- Lock Tubes 2.0 ml	Eppendorf AG 22331 Hamburg	LOT Nr.: J192945P Order no.: 0030120.094
Zentrifugenröhrchen 50 ml, PP Unsteril	LABSOLUTE Th. Geyer GmbH & Co. KG Dornierstr. 4-6 D-71272 Renningen	LOT Nr.: D-06-10- 240721
Container 120 ml	SARSTEDT AG & Co. KG Sarstedtstraße 1 D-51588 Nümbrecht	Steril 105x44 PP+ Ver- schluss gelb LOT Nr.: 2105384 REF 75.9922.420
Zentrifugenröhrchen 30 ml	Nalgene Thermo Fisher Scientific 168 Third Avenue Waltham, MA USA 02451	Material. PTFE FEP
Analysensieb	Retsch GmbH Rheinische Straße 36 42781 Haan	SN: 603755 Weite: 0,500 mm DIN 4188
Microplate	BRAND GmbH+ Co. KG Otto- Schott- Straße 25 97877 Wertheim	REF: 781602 LOT Nr.: 661142
Aluminiumfolie	PAPSTAR GmbH 53925 Kall	Art-Nr.: 14020 20mx 30cm
Messkolben 500 ml	Duran Group GmbH Hirschmann EM techcolor	NS 19/26 DIN 12 664 A
Messkolben 50 ml	ISOLAB Laborgeräte GmbH Am Dillhof 2 63863 Eschau	DIN A NS 14/23 BORO 3.3
Messkolben 1L	BRAND GMBH + CO KG Otto-Schott-Str. 25 97877 Wertheim	NS 24/29
Messkolben 250 ml	DURAN GmbH	NS 14/23

Messgerät	Hersteller	Spezifikation
	Hirschmann EM techcolor	DIN 121 664 A
Weithalsfass 10,4 Liter mit Schraubdeckel	CurTec Deutschland GmbH Prinzenallee 7 40549 Düsseldorf	Volumen: 10 Liter Art-Nr.: 7011
Soxhlet	Hans-Udo WINZER Laborglastechnik Ferdinand-Friedrich-Straße 5 97877 Wertheim	2000 ml NS100
Rundkolben 2L	LABSOLUTE Th. Geyer GmbH & Co. KG Dornierstr. 4 – 6 71272 Renningen	NS 29/32
Schott Flasche 50 ml	Duran Group GmbH Otto Schott Straße 21 97877 Wertheim	-
Schott Flasche 1L	Duran Group GmbH Otto Schott Straße 21 97877 Wertheim	-
Becherglas 1L	SIMAX Glas	Boro 3.3
Becherglas 250 ml	LABSOLUTE Th. Geyer GmbH & Co. KG Dornierstr. 4 – 6 71272 Renningen	Boro 3.3
Becherglas 100 ml, hohe Form	LABSOLUTE Th. Geyer GmbH & Co. KG Dornierstr. 4 – 6 71272 Renningen	Boro 3.3
Extraktionshülsen	MACHEREY-NAGEL GmbH & Co. KG Valenciennes Str. 11, 52355 Düren	Type: MN 645 Länge 330 mm Durchmesser: 70 mm

Messgerät	Hersteller	Spezifikation
Whatman 1 Filterpapier	Whatman plc Cytiva Europe GmbH Munzinger Str. 5 79111 Freiburg	Cat. No.: 1001-150 LOT Nr.: 17443017 Diameter 150 mm
Laborspatel	-	-
Aluschale klein	WIMEX GmbH Wangen 2 D-88677 Markdorf	129x103x34mm 250 ml ALU
Aluschale groß	WIMEX GmbH Wangen 2 D-88677 Markdorf	ALU 222x158x38 mm 862 ml
Mikroskop	Olympus Deutschland GmbH Wendenstraße 20 20097 Hamburg	Type: Olympus Provis AX70
Deckgläser, quadratisch und rechteckig	Carl Roth GmbH+ Co. KG Schoemperlenstraße 3-5 D-76185 Karlsruhe	Type: H878.2 24x60mm #1
Objektträger	Paul Marienfeld GmbH & Co. KG Am Wöllerapfad 4 97922 Lauda- Königshofen	REF: 100412 LOT Nr.: 44033317 76x26x1mm
Mörser mit Pistil	Jizerská porcelánka s.r.o. Údolní 138, 468 61 Desná Tschechien	Type: 4495 Material: Melamin
Glasstab	-	Länge: 40 cm Durchmesser: 0,8cm
Doppelrührer	-	Länge: 62cm Breite des Rührkopfes: 14cm

Messgerät	Hersteller	Spezifikation
		Höhe des Rührkopfes: 7cm
Zentrifugengefäße für Sigma 8K	SIGMA Laborzentrifugen GmbH An d. Unteren Söse 50 37520 Osterode am Harz	Type: 13840 Max. 1300 ml
Messbecher	VITLAB GmbH Linus-Pauling-Str. 1 63762 Großostheim	Volumen in ml: 5000 Art-Nr.: 445081
Teigschaber	FACKELMANN GmbH + Co. KG Sebastian-Fackelmann-Str. 6 D-91217 Hersbruck	Material: Silikon Länge: 26cm
Glass- Microfibre Disc	Sartorius Lab Instruments GmbH & Co. KG Otto-Brenner-Straße 20 37079 Göttingen	LOT Nr.: 3810 Order no.: FT-3-01110-090 Grade: MG 160 Size: Durchmesser 90mm
Aluschale für Feuchtebestimmer	-	Durchmesser: 92mm
Analysensieb	-	Weite: 71 um
Analysensieb	Retsch D-5657 Haan	DIN-ISO 3310/1 Weite 280 um SN: 375983
Kühlthermostat	Hans-Udo WINZER Laborglastechnik Ferdinand-Friedrich-Straße 5 97877 Wertheim	250mm NS100

Messgerät	Hersteller	Spezifikation
Aluschale klein Deckel	WIMEX GmbH Wangen 2 D-88677 Markdorf	PAP/ALU 120x95 mm
Aluschale groß Deckel	WIMEX GmbH Wangen 2 D-88677 Markdorf	PAP/ALU 211 x 148 mm
Rührfisch	-	Länge: 30mm
Glasschale	-	30x20cm
Mörser	RETSCH GmbH Retsch-Allee 1-5 42781 Haan	Type: ZM 200 Art-Nr.: 20.823.0001

Tabelle 3: Spezifikation der verwendeten Chemikalien und Reagenzien

Chemikalie	Hersteller	Spezifikation
N- Hexan z.A.	CHEMSOLUTE Th. Geyer GmbH & Co. KG Dornierstr. 4-6 D-71272 Renningen	Min. 99% C ₆ H ₁₄ Art-Nr.: 1929 CAS- Nr.: 110-54-3
Ethanol absolute	VWR International GmbH Hilpertstraße 20a 64295 Darmstadt	CAS- Nr.: 64-17-5 LOT Nr.: 21F214015
Salzsäure z.A.	CHEMSOLUTE Th. Geyer GmbH & Co. KG Dornierstr. 4-6 D-71272 Renningen	Min. 37,0% CAS- Nr.: 7647-01- 0 Art-Nr.: 836.1000
Natriumhydroxid Mikrogranulat z.A.	CHEMSOLUTE Th. Geyer GmbH & Co. KG Dornierstr. 4-6 D-71272 Renningen	Art-Nr.: 1375.1000 CAS- Nr.: 1310-73- 2
Demineralisiertes Wasser	-	-

Chemikalie	Hersteller	Spezifikation
Natriumacetat wasserfrei	CHEMSOLUTE Th. Geyer GmbH & Co. KG Dornierstr. 4-6 D-71272 Renningen	Min. 99,0% Art-Nr.: 8684
Essigsäure (Eisessig) z.A.	CHEMSOLUTE Th. Geyer GmbH & Co. KG Dornierstr. 4-6 D-71272 Renningen	Art-Nr.: 2289.2500 CAS- Nr.: 64-19-7
Ninhydrin- Reagent 2%	Sigma-Aldrich Chemie GmbH Eschenstr. 5 82024 Taufkirchen	LOT Nr.: #SLCH0229
Lugolsche Lösung (5 %), Iod- Kaliumiodid- Lö- sung	Laborladen.de Römerstr. 39 78183 Hüfingen	Art-Nr.: L10.0080.00050 CAS- Nr.: 12298- 68-9
Natriumhydrogensulfit	Sigma-Aldrich Chemie GmbH Eschenstr. 5 82024 Taufkirchen	CAS- Nr.: 7631-90- 5
Speisestärke	RUF Lebensmittelwerk KG Oldenburger Str. 1, 49610 Quakenbrück	MHD: 09.2023 LOT Nr.: 9002503

Tabelle 4: Spezifikation der verwendeten Testkits

Testkit	Hersteller	Spezifikation
Enzymkit „DIGESTIBLE STARCH and RE- SISTANT STARCH KIT, K-DSTRS 11/19“	Megazyme, BRAY BUSINESS PARK, Southern Cross Rd, Bray, Co. Wicklow A98 YV29 Irland	LOT Nr.: 211010-1 EXPIRY: Dec 2025
Enzymkit “PROTEIN DI- GESTEBILITY, K- PDCAAS 12/19“	Megazyme, BRAY BUSINESS PARK, Southern Cross Rd, Bray, Co. Wicklow A98 YV29, Irland	LOT Nr.: 210617-2 EXPIRY: Dec 2024

3.2. Methoden

3.2.1. Mahlen des Carioca Bohnenmehls

Mithilfe einer Ultra-Zentrifugalmühle und einem Sieb, mit einer Maschenweite von 0,5 mm werden 2 kg geschälte Carioca Bohnen zu Mehl gemahlen. Dafür werden die Bohnen langsam mit Hilfe eines Esslöffels in die Ultra-Zentrifugalmühle gegeben. Das Carioca Bohnenmehl wird gewogen und in einem Eimer mit Drehverschluss gelagert.

3.2.2. Ölextraktion

Für die Ölextraktion des gemahlene Carioca Bohnenmehls findet unter einem Abzug, wofür zwei Extraktionshülsen benötigt werden. Beide Hülsen werden mit dem gleichen Füllvolumen an Carioca Bohnenmehl aus Kapitel 3.2.1. befüllt. Der Recirculating Chiller wird angestellt. In zwei Rühr-Heizhauben wird je ein 2 L Rundkolben gestellt, in welchem sich ein Rührfisch befindet. Der 2 L Soxhlet wird auf dem 2 L Rundkolben befestigt und die Extraktionshülsen hineingestellt. Es werden je 2 L N-Hexan z.A., abgemessen in 2 L Messbechern, von oben durch die Extraktionshülsen in die Soxhletapparaturen gegeben und die Systeme durch aufsetzten der Kühlthermostate geschlossen. Den Rührheizhaube auf Stufe 4 stellen und den Rührer einschalten. Die Ölextraktion verläuft für 48 Stunden. Anschließend werden die entölten Carioca Bohnenmehle M_1 und M_2 für mindestens 24 Stunden in je einer Glasschale unter dem Abzug getrocknet und das noch im Mehl enthaltene Hexan desolventiert.

3.2.3. Proteinextraktion

Die zweistufige Proteinextraktion, Mehlproben M_1 und M_2 , welche in Kapitel 3.2.2. hergestellt wurden, erfolgt durch die saure Vorextraktion mit der darauffolgenden alkalischen Extraktion. In Abbildung 1 ist das Verfahren der Proteinextraktion graphisch dargestellt. Die saure und die alkalische Proteinorextraktion, sowie die isoelektrische Fällung werden nach der Methodenbeschreibung von V. Kottelmann durchgeführt (Kottelmann, V., 2022)

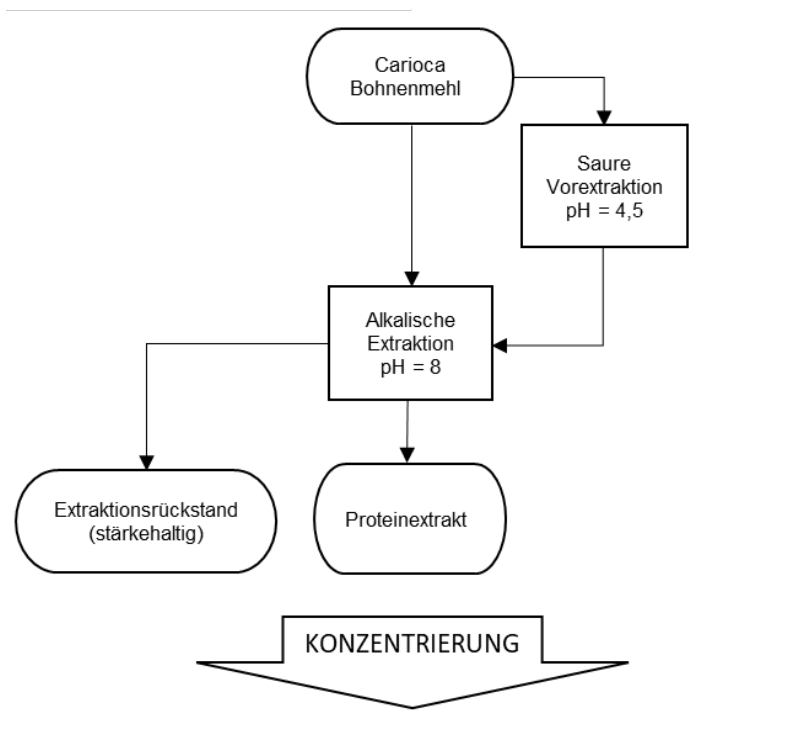


Abbildung 1: Zweistufige Proteinextraktion mit saurer Vorextraktion und alkalischer Extraktion

Quelle: (Kottelmann, V., 2022, S. 19)

(Quelle: Kottelmann, V. (15. Juli 2022). Erarbeitung eines Extraktionsverfahrens zur Gewinnung von Protein- und Stärkefraktionen aus der Carioca Bohne (*Phaseolus vulgaris* L.) und deren Charakterisierung. Freising: Technische Universität München.)

3.2.3.1. Saure Vorextraktion

Es werden je 500 g der Mehlproube M_1 und M_2 abgewogen und in einem 5 L Messbecher in einem Verhältnis von 1:10 mit demineralisiertem Wasser aufgefüllt. Sich bildende Klumpen werden mit einem Teigschaber zerdrückt, während die Proben mit einem Doppelrührer bei einer Drehzahl von 100 U/min gerührt werden. Der pH-Wert wird durch die Zugabe von 1 mol/L HCL auf 4,0 eingestellt und das Gemisch wird eine Stunde gerührt. Dabei wird der pH-Wert alle 15 Minuten kontrolliert. Die Proben werden mit der Sigma 8K Zentrifuge bei 20°C und 3300 RZB für 10 Minuten zentrifugiert. Vom Rückstand und Überstand wird jeweils eine Probenahme für die Analyse entnommen. Die Rückstände werden verworfen, während die Masse der Überstände gewogen und jeweils die Trockensubstanz mithilfe des Feuchtbestimmers ermittelt wird.

3.2.3.2. Alkalische Extraktion

Die in Kapitel 3.2.3.1. entstandenen Überstände werden in einem Verhältnis von 1:8, unter Berücksichtigung des im Überstand enthaltenen Wassers, mit demineralisiertem Wasser resuspendiert und

die entstandenen Klumpen mit einem Teigschaber zerdrückt. Die Proben werden durch die Zugabe von 1 mol/L NaOH auf den pH-Wert 8,0 eingestellt, eine Stunde bei einer Drehzahl von 100 U/min gerührt und der pH-Wert alle 15 Minuten kontrolliert. Folgend werden die Proben mit der Sigma 8K Zentrifuge bei 20 °C und 3300*g RZB für 10 Minuten zentrifugiert. Es wurde je eine Probe der Über- und Rückstände genommen und der Analytik übergeben. Der Überstand wird im weiteren Schritt für die isoelektrische Fällung des Proteins verwendet und der stärkehaltige Rückstand für die Stärkegewinnung verwendet.

3.2.3.3. Isoelektrische Fällung

Die Überstände aus Kapitel 3.2.3.2. werden durch die Zugabe von 1 mol/l HCL auf den pH- Wert 4,0 eingestellt und 24 Stunden bei 4°C stehen gelassen. Die sich bildenden Überstände werden durch Zentrifugation bei 20 °C für 10 Minuten bei 3300*g RZB vom proteinreichen Fällungsrückstand getrennt. Die Rückstände werden bei 100 U/min mit einem Rührer verrührt, mit 1 mol/l NaOH auf den pH-Wert 7,0 eingestellt, in Aluschalen umgefüllt und gefriergetrocknet.

Nach der Gefriertrocknung werden die beiden Proteinisolate mit einem Mörser gemahlen.

3.2.4. Stärkeextraktion

Die Stärkeextraktion wurde nach der Methodenbeschreibung von V. Kottelmann durchgeführt (Kottelmann, V., 2022). Die Trockensubstanz der stärkehaltigen Rückstände aus Kapitel 3.2.3.2. wird gemessen, um das im Rückstand enthaltene Wasser zu bestimmen. Die Rückstände werden mit demineralisiertem Wasser und NaHSO₃, in einem Anteil von 0,16 % w/w zur Gesamtmenge, vermischt und für 24 Stunden bei 4 °C gelagert.

Nach 24 Stunden wird die obere Phase abgegossen und die Rückstände mit 670 ml demineralisiertem Wasser im Thermomix (Stufe 10, t= 2 min) gemixt. Die entstandene Masse wird mit zwei Sieben (280 µm und 71 µm) gesiebt und die auf den Sieben zurückgebliebenen Rückstände mit 400 ml demineralisiertem Wasser durchgespült. Der Siebrückstand wurde mit 500 ml demineralisiertem Wasser resuspendiert und erneut über die Siebe gegeben. Eine Probe des Siebrückstandes wird zur Analytik gegeben. Das Filtrat wird 24 Stunden bei -1 °C stehen gelassen.

Der sich bildende Überstand wird abgegossen und der Rückstand mit 300 ml Wasser vermischt. Anschließend wird die Masse bei 20 °C, 1200*g RZB für 15 Minuten zentrifugiert. Der Überstand wird verworfen und die beige Schicht auf dem Rückstand mit einem Spatel abgetragen. Der Rückstand wird mit 1 L demineralisiertem Wasser vermischt und erneut mit den gleichen Parametern zentrifugiert. Die beige Schicht wird abgetragen und die Stärke in einer Aluschale in einem Wärmeschrank bei 40 °C getrocknet. Eine Probe der Stärke wird an die Analytik gegeben.

3.2.5. Proteinlöslichkeit

Die Bestimmung der Proteinlöslichkeit der in Kapitel 3.2.2. hergestellten entölte Carioca Bohnenmehle M_1 und M_2 wird nach der vom Fraunhofer- Institut angepassten Methode in Anlehnung an die Proteinlöslichkeitsbestimmung nach C.V.Morr (Morr, C. V. et al., 1985) durchgeführt.

Es werden die pH-Werte 3,0, 3,5, 4,0, 4,5, 7,0, 8,0, 8,5 und 9,0 für die Mehlproben eingestellt und getestet. Für jeden pH-Wert und jede Mehlprobe werden 1500 mg Probe in ein 100 ml Becherglas mit Rührfisch eingewogen.

Es werden 35 ml demineralisiertes Wasser unter Rühren auf einer Magnetrührplatte mit 170 U/min in die Bechergläser gegeben, bis die Proben vollständig gelöst sind. Die Ausgangs- pH-Werte werden im Laufzettel notiert und die angestrebten pH-Werte durch die Zugabe von HLC-Lösung und NaOH-Lösung eingestellt. Die gewünschten pH-Werte werden für eine Stunde gehalten und eine Kontrolle mit gegebenenfalls notwendiger Nachtitration nach 30 Minuten sowie nach 60 Minuten durchgeführt. Die Probe wird in einen 50 ml Messkolben überführt und das 100 ml Becherglas mit demineralisiertem Wasser nachgespült. Der Messkolben wird auf 50 ml mit demineralisiertem Wasser aufgefüllt, verschlossen und geschüttelt.

Es werden 20 ml der Lösung in ein 30 ml Zentrifugenröhrchen pipettiert und mit der 3K30 Laborzentrifuge für 15 Minuten bei 20000 RZB und 15 °C zentrifugiert. Der Überstand wird durch einen Whatman No.1 Filter filtriert und der Analytik zur Bestimmung des enthaltenen Stickstoffes übergeben. Die Berechnung des Proteingehaltes erfolgt durch die Multiplikation des ermittelten Stickstoffgehaltes mit dem Proteinfaktor 5,28.

3.2.6. Proteinverdaulichkeit

Die Proteinverdaulichkeit wird mit dem Enzymkit "PROTEIN DIGESTIBILITY, K-PDCAAS 12/19" von Megazyme (Megazyme, 2019) bestimmt. Die nicht mitgelieferten Reagenzlösungen und Suspensionen werden, wie in der Methodenbeschreibung des Enzymkits beschrieben, vorbereitet.

Die zu untersuchenden Proben müssen so gemahlen sein, dass sie ein 0,5 mm- Sieb passieren. Es werden 0,5 g der Probe in 50 ml Zentrifugenröhrchen eingewogen, sodass sich die gesamte Probe auf dem Boden des Röhrchens befindet.

Es werden 19 ml 0,06 mol/L HCL zur Probe gegeben, das Zentrifugenröhrchen geschlossen und gründlich mit dem Vortex- Mixer vermischt. Die Probe wird 30 Minuten bei 37 °C in einem Kreisschüttler bei 300 U/min in einem Umluft- Trockenschrank inkubiert. Es wird 1 ml, Pepsinlösung zu jeder Probe gegeben und erneut gründlich gevortext. Die Proben werden für 60 Minuten bei 37 °C im Kreisschüttler bei 300 U/min im Umluft- Trockenschrank inkubiert. Nach der Inkubation werden die Proben aus dem Umluft- Trockenschrank entnommen und der pH-Wert durch die Zugabe von

2 ml 1,0 M Tris- Puffer (pH 7,4) auf 7,4 ein gestellt. Falls notwendig wird der pH-Wert durch die Zugabe von 1,0 mol/L HCL und 1,0 mol/L NaOH nachjustiert und die Probe gevortext.

200 µl Trypsin/ Chymotrypsin- Lösung werden zu jeder Probe gegeben, diese mit dem Vortex- Mixer vermischt und 4 Stunden bei 37°C im Kreisschüttler bei 300 U/min im Umluft- Trockenschrank inkubiert. Nach der Trypsin/ Chymotrypsin- Inkubation werden die Proben 10 Minuten in ein Wasserbad mit 99 °C gestellt. Nachdem die Proben aus dem Wasserbad entnommen werden, werden die gründlich gevortext und mindestens 20 Minuten auf Raumtemperatur abgekühlt. Von jeder Probe werden jeweils 4 ml in 15 ml Zentrifugenröhrchen pipettiert. Die restlichen Teile der Probe können bei -80 °C gelagert und für weitere Bestimmungen aufbewahrt werden. Zu jeder Probe wird 1 ml TCA- Lösung (40 %) hinzugegeben, die Zentrifugenröhrchen geschlossen und gevortext. Danach inkubieren die Proben mindestens 16 Stunden bei 4 °C. Es werden 1,75 ml der Überstände jeder Probe in ein 2 ml Safe- Lock Tube pipettiert und für 10 Minuten bei 15.000*g RZB bei Raumtemperatur mit einer Tischzentrifuge zentrifugiert.

Nun werden die L- Glycin Kalibrierungsstandards in 15 ml Probenröhrchen hergestellt und wie die Proben in der die kolorimetrische Bestimmung der Amine behandelt. Die Herstellung der L-Glycin Kalibrierungsstandards ist Tabelle 5 zu entnehmen.

Tabelle 5:Herstellung der L- Glycin Kalibrierungsstandards

L-Glycine Standards (mM)		Sodium Acetate (50 mM, pH 5.5)	L- Glycin Kalibrie- rungsstandards
ST 11	1	9 ml	1 ml von 10 mM L- Glycine
ST 10	0.75	9.25 ml	0.75 ml von 10 mM L-Glycine
ST 9	0.5	9.5 ml	0.5 ml von 10 mM L- Glycine
ST 8	0.25	9.75 ml	0.25 ml von 10 mM L-Glycine
ST 7	0.1	9.9 ml	0.1 ml von 10 mM L- Glycine
ST 6	0.075	9 ml	1 ml STD 10
ST 5	0.05	9 ml	1 ml STD 9
ST 4	0.025	9 ml	1 ml STD 8
ST 3	0.01	9 ml	1 ml STD 7
ST 2	0.007	9 ml	1 ml STD 6
ST 1	0.005	9 ml	1 ml STD 5
ST 0	0	10 ml	0

Quelle: (Megazyme, 2019, S. 7)

Nach der Zentrifugation der Proben werden 10- und 20- fache Verdünnungen in Acetat- Buffer (50 mM, pH 5,5) hergestellt. Die Kontrollproben A-F, sowie die Blankprobe werden 10- fach verdünnt, die Caseinprobe und die Proteinisolatproben werden 20- fach verdünnt und die Mehlproben

benötigen eine 10- fach Verdünnung aufgrund des Amingehalts in den Proben. Die verdünnten Überstände der Proben, die Blankprobe, die L- Glycin Kalibrierungsstandards und die Caseinprobe werden auf die kolorimetrische Bestimmung der Amine angewandt. Das Ninhydrin wird 30 Minuten vor der Verwendung aus dem Kühlschrank genommen, um sich auf Raumtemperatur zu erwärmen. Für die kolorimetrische Bestimmung der Amine wird für die Proben, die Caseinprobe und die Blankprobe 0,2 ml und 0,1 ml Ninhydrin in Safe- Lock Tubes pipettiert und für die L- Glycin Kalibrierungsstandards 0,2 ml der L- Glycin Kalibrierungsstandards und 0,1 ml Ninhydrin. Die Safe- Lock Tubes werden im Blockthermostat auf dem Thermomixer (Eppendorf) mit Alufolie abgedeckt und für 35 Minuten bei 70 °C und 300 RPM inkubiert. Nach der Inkubation kühlen die Proben 10 Minuten auf Raumtemperatur mit Alufolie bedeckt ab. Anschließend werden in jedes Safe- Lock Tube 0,3 ml 50 % v/v Ethanol pipettiert, diese gevortext und jeweils 0,3 ml in die Microplate überführt. Die Absorption wird bei 570 nm mit dem Multi Mode Reader gemessen. Dabei wird das Programm „BioTek Gen5“ und der Version 3.08 von BioTek Instruments verwendet.

3.2.7. Stärkeverdaulichkeit

Die Stärkeverdaulichkeit wurde mit dem Enzymkit „DIGESTIBLE STARCH and RESISTANT STARCH KIT, K-DSTRS 11/19“ von Megazyme bestimmt. Die nicht mitgelieferten Reagenzlösungen und Suspensionen werden, wie in der Methodenbeschreibung des Enzymkits beschrieben, vorbereitet. Für die Absorptionsmessung wird für das Photometer die Software „ASpect UV“ in der Version 1.4 von Analytik Jena © 2016 verwendet.

Es werden 0,5 g der Probe auf die dritte Dezimalstelle genau in ein 120 ml Probengefäß eingewogen und die eingewogene Menge notiert. Dem Probengefäß wird ein Magnetrührfisch hinzugegeben und die Probe mit 0,5 ml 95 % v/v Ethanol und 17,5 ml Natriummaleat- Puffer 50 mM, pH 6,0 plus 2 mM Calciumchlorid auf einer Magnetrührplatte im Wasserbad bei 37 °C und 170 U/min für 5 Minuten verrührt. Als nächstes erfolgt die Inkubation mit 2,5 ml PAA/AMG- Lösung. Nach der Zugabe der Pankreas- Amylase/ Amyloclucosidase- Lösung, wird die Probe erneut im Wasserbad bei 37 °C und 170 U/min für insgesamt 240 Minuten verrührt. Nach 20 Minuten wird der Probe (zur Bestimmung der schnell verdaulichen Stärke), 120 Minuten (zur Bestimmung der langsam verdaulichen Stärke) und nach 240 Minuten (zur Bestimmung der verdaulichen Gesamtstärke) jeweils 1,0 ml Probe mit einer Eppendorf Pipette entnommen und direkt in 20 ml 50 mM Essigsäurelösung gegeben und vermischt. Die Lösung wird bis zur Analyse bei 4 °C gelagert. Es werden 2 ml der Lösung in 2 ml Zentrifugenröhrchen gegeben und bei 13.000 U/min für 5 Minuten mit einer Tischzentrifuge zentri-

fugiert. Danach wird zur Doppelbestimmung 0,1 ml in 15 ml Probenröhrchen pipettiert, 0,1 ml verdünnte Amyloclucosidase hinzugegeben, gemischt und 30 Minuten bei 50 °C inkubiert. Nach der Zugabe von 3,0 ml D- Glucose/ Peroxidase- Reagenz wird erneut 20 Minuten bei 50 °C inkubiert. Die Proben werden in Küvetten überführt und die Absorption bei 510 nm und 23 °C mit dem Fotometer gegen die Reagenzienblindlösung gemessen. Die Reagenzienblindlösung wird durch das Mischen von 0,2 ml 100mM Essigsäure, pH 4,5 und 3,0 ml D- Glucose/ Peroxidase- Reagenz hergestellt. Außerdem werden vier gleich hergestellte D- Glucosestandards fotometrisch gemessen, welche durch das Mischen von 0,1 ml D- Glucose (1 mg/ml), 0,1 ml Acetatpuffer und 3,0 ml D- Glucose/ Peroxidase- Reagenz hergestellt werden. Die D- Glucosestandards werden vor der Messung bei 50 °C für 20 Minuten inkubiert. Zur Bestimmung der resistenten Stärke werden nach 240 Minuten ebenfalls 4,0 ml mit einer Eppendorf Pipette aus der Lösung entnommen und in ein Zentrifugenröhrchen überführt. Es werden 4,0 ml 95 % v/v Ethanol hinzugegeben und die Lösung durch Umdrehen des Röhrchens vermischt. Das Röhrchen wird 10 Minuten bei 4.000 RPM zentrifugiert und der Überstand sofort abgossen. Der Rückstand wird in 2 ml 50 % v/v Ethanol mit dem Vortex- Mixer gelöst und erneut 6 ml 50 % v/v Ethanol hinzugegeben.

Der Vorgang der Zentrifugation und des Abgießens der Überstandes wird wiederholt und erneut der Rückstand mit 2 ml 50 % v/v Ethanol mit dem Vortex- Mixer gelöst und 6 ml 50 % v/v Ethanol hinzugegeben.

Das Röhrchen wird bei 4.000 RPM zentrifugiert, der Rückstand abgossen und die restliche freie Flüssigkeit, durch Umdrehen des Röhrchens auf Küchenpapier entfernt.

Der Rückstand wird mit einem Spatel in ein 30 ml Probengefäß überführt 2 ml kaltes 1,7 M NaOH hinzugefügt und der Rückstand durch das Rühren auf der Magnetrührplatte in einem Eisbad im Wasserbad 20 °C resuspendiert. Es werden 8,0 ml 1,0 M Natriumacetatpuffer, pH 3,8 unter Rühren in die Probengefäße pipettiert und danach sofort 0,1 ml Amyloclucosidase hinzugegeben und gemischt. Die Probengefäße werden in ein Wasserbad mit 50 °C gestellt und 30 Minuten inkubiert, wobei sie alle 10 Minuten gevortext werden.

Da bei der Probe von einem resistenten Stärke- Gehalt von mehr als 10 % ausgegangen wird, wird der Inhalt aus den Probengefäßen in einen 100 ml Messkolben gegeben und auf 100 ml mit destilliertem Wasser aufgefüllt und gemischt. 2,0 ml Probe werden danach mit einer Eppendorf Pipette in Zentrifugenröhrchen pipettiert und mit der Tischzentrifuge bei 13.000 U/min für 5 Minuten zentrifugiert. 0,2 ml des Überstandes werden in 15 ml Probenröhrchen überführt, mit 3,0 ml D- Glucose/ Peroxidase- Reagenz vermischt und 20 Minuten bei 50 °C inkubiert.

Die Probe wird in Küvetten überführt und die Absorption bei 510 nm und 23 °C gegen eine zweite Reagenzienblindlösung gemessen. Die zweite Reagenzienblindlösung wird durch das Mischen von 3,0 ml D- Glucose/ Peroxidase- Reagenz und 0,1 ml 100mM Natriumacetatpuffer, pH 4,5 und Inkubation bei 50 °C für 20 Minuten hergestellt.

3.2.8. Stärkeverdaulichkeit nach Erhitzung der Stärkeisolate

3.2.8.1. Erhitzung der Stärke auf 95 °C

Um die Stärkeverdaulichkeit nach der Erhitzung zu bestimmen, wird 4,0 g Probe auf die dritte Nachkommastelle genau in einen 50 ml Messkolben eingewogen und dieser mit demineralisiertem Wasser bis zur Ringmarkierung aufgefüllt. Die Probe wird in ein 100 ml Becherglas überführt, ein Rührfisch hinzugegeben und auf einer Magnetrührplatte auf der Rührstufe 2,5 bis auf 95 °C erhitzt. Die Probe wird ab einer Temperatur von 80 °C zusätzlich mit einem Glasstab verrührt. Nach der Erhitzung wird die Probe in eine kleine Aluschale gefüllt und kühlt auf Raumtemperatur ab. Danach wird die Stärke gefriergetrocknet und mit einem Mörser zu Pulver zerkleinert.

3.2.8.2. Erhitzung der Stärke auf 95 °C und zusätzlich auf 135 °C

Es wird 4,0 g Probe und eine Referenzstärke in eine 200 ml Schottflasche eingewogen, ein Rührfisch hinzugegeben und diese auf 50 ml mit demineralisiertem Wasser aufgefüllt. Die Probe wird auf einer Magnetrührplatte auf der Rührstufe 2,5 bis auf 95 °C erhitzt. Nach der Erhitzung wird die Probe in einem Tischautoklav auf 135 °C für eine Minute erhitzt (SterTemp= 135,0 °C, SterTime= 1 Minute, DryTime= 0 Minuten, Pulses= 0, EndTemp= 80 °C). Nach der Autoklavierung wird die Probe in eine kleine Aluschale gefüllt. Vor der Gefriertrocknung werden die Stärkegele, wie in Kapitel 3.2.8. unter dem Mikroskop untersucht. Nach der Gefriertrocknung werden die Proben mit einem Mörser zu Pulver zerkleinert.

3.2.9. Mikroskopie

Um die mikroskopische Struktur der Proben zu untersuchen, wird ein Mikroskop, das Programm von „Analysis Pro“, die Einstellung „Hellfeld“ und ein Okular mit der Vergrößerung 50x verwendet. Zur Bewertung wird von jeder mikroskopischen Ansicht ein Foto festgehalten.

Es wird die Mehlprobe des nicht entöhlten und des entöhlten Carioca Bohnenmehls, sowie deren unerhitzte Stärkeisolate untersucht.

Um den Effekt der Erhitzung auf 95 °C als auch zusätzlich auf 135 °C zu beurteilen, werden diese Proben, vor der Gefriertrocknung, ebenfalls unter dem Mikroskop betrachtet. Die auf 95 °C als auch zusätzlich auf 135 °C erhitzten Stärkeisolate, welche zu Stärkegele erhitzt wurden, werden vor der Betrachtung mit Lugolscher Lösung (5 %) eingefärbt.

3.2.10. Chemische Analysen

Die Bestimmung der Proteinlöslichkeit, des Wasser- und Ölbindevermögens, teilweise des Trockensubstanzgehalts sowie des Fett-, Asche- und Proteingehalts wurden vom Analytikteam des Fraunhofer-Instituts für Verfahrenstechnik und Verpackung durchgeführt und die Ergebnisse bereitgestellt.

3.2.11. Statistische Auswertung

Die statistische Auswertung der Ergebnisse wurde mittels RStudio Version 2022.12.0+353 und Microsoft Excel Version 16.70 durchgeführt.

4. Ergebnisse und Diskussion

4.1. Einfluss der Entölung auf die Proteinlöslichkeit des Mehls

Die Ergebnisse der Bestimmung der Proteinlöslichkeit [%] des entölkten Carioca Bohnenmehls in Abhängigkeit zu verschiedenen pH-Werten von 3,0 bis 9,0 sind in Tabelle 6 tabellarisch dargestellt. Erkennbar ist, dass die Proteinlöslichkeit [%] bei einem pH-Wert von 3,5 mit $30,3 \pm 2,0$ % ihr Minimum und bei einem pH-Wert von 9,0 und $75,3 \pm 2,6$ % ihr Maximum hat.

Tabelle 6: Mittelwert der Proteinlöslichkeit [%] mit Standardabweichung des entölkten Carioca Bohnenmehls (eigene Darstellung)

pH-Wert	Mittelwert der Proteinlöslichkeit [%] mit Standardabweichung
3,0	$35,5 \pm 4,7$
3,5	$30,3 \pm 2,0$
4,0	$31,2 \pm 0,9$
4,5	$39,6 \pm 0,9$
7,0	$71,3 \pm 0,3$
8,0	$70,8 \pm 2,3$
8,5	$71,0 \pm 2,7$
9,0	$75,3 \pm 2,6$

In Abbildung 2 sind die Mittelwerte der Proteinlöslichkeit [%] in Abhängigkeit zum pH-Wert des entölte Carioca Bohnenmehls graphisch dargestellt.

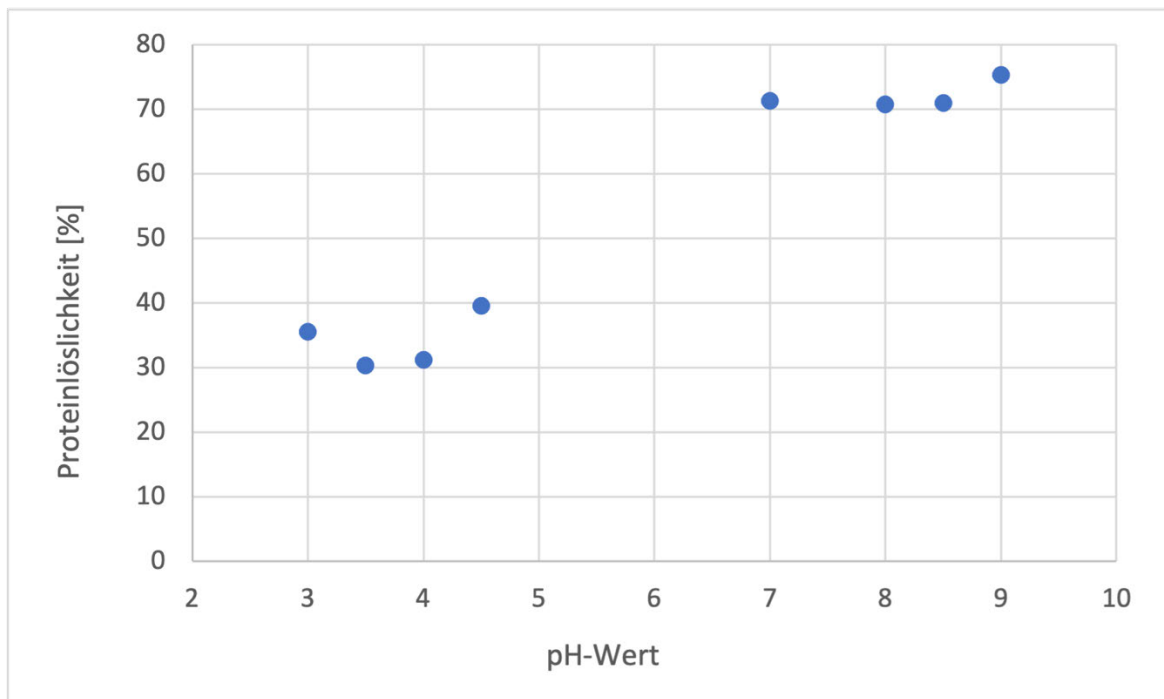


Abbildung 2: Darstellung der Mittelwert der Proteinlöslichkeit [%] des entölte Carioca Bohnenmehls ins Abhängigkeit zum pH-Wert (eigene Darstellung)

Die Proteinlöslichkeit [%] des vollfett Carioca Bohnenmehls hat ihr Minimum bei einem pH-Wert von 4,0 mit 34,7 % und ihr Maximum bei einem pH-Wert von 7,0 mit 80,3 %. Bei einem pH-Wert von 4,5 liegt die Proteinlöslichkeit [%] in Abhängigkeit zum pH-Wert bei 39,5 % (Kottelmann, V., 2022, S. 33).

Zur Bestimmung der Proteinlöslichkeit in Abhängigkeit zum pH-Wert des vollfett Carioca Bohnenmehls wurden übereinstimmend zu der Bestimmung der Proteinlöslichkeit in Abhängigkeit zum pH-Wert des entölte Carioca Bohnenmehls, die Proteinlöslichkeit in Abhängigkeit zum pH-Wert, bei den Werten 4,0, 4,5 und 7,0 bestimmt. So können diese drei Mittelwerte mit Standardabweichung gegenübergestellt werden (siehe Tabelle 7) und in Kapitel 4.1.1. statistisch analysiert werden. Die Werte für die Proteinlöslichkeit in Abhängigkeit zu den pH-Werten 4,0, 4,5 und 7,0 des vollfett Carioca Bohnenmehls werden aus der Bachelorarbeit von Valerie Kottelmann entnommen (Kottelmann, V., 2022, S. 33).

Tabelle 7: Proteinlöslichkeit des vollfett und entölten Carioca Bohnenmehls bei den pH-Werten 4,0, 4,5 und 7,0 (eigene Darstellung)

pH-Wert	Proteinlöslichkeit [%]	
	vollfett BM	entöltes BM
4,0	37,7 ± 1,3	31,2 ± 0,9
4,5	39,5 ± 0,0	39,6 ± 0,9
7,0	80,3 ± 0,0	71,3 ± 0,3

4.1.1. Auswertung des rechtseitigem ANOVA

Um zu testen, ob die Entölung einen signifikanten Unterschied auf das Carioca Bohnenmehls hinsichtlich des Untersuchungsparameters Proteinlöslichkeit in Abhängigkeit zum pH-Wert ausübt, wurden folgende Hypothesen aufgestellt und mittels der ANOVA mittels Microsoft Excel untersucht.

H₀: Die Entölung übt keinen signifikanten Einfluss hinsichtlich des untersuchten Parameters Proteinlöslichkeit [%] in Abhängigkeit zum pH-Wert zwischen dem vollfett und dem entölten Carioca Bohnenmehl aus.

H₁: Die Entölung übt einen signifikanten Einfluss hinsichtlich des untersuchten Parameters Proteinlöslichkeit [%] in Abhängigkeit zum pH-Wert zwischen dem vollfett und dem entölten Carioca Bohnenmehl aus.

In Tabelle 8 sind die ermittelten Ergebnisse der ANOVA mittels Excel dargestellt. Die Rechenschritte der ANOVA mittels Excel sind im Anhang 1 dargestellt.

Tabelle 8: Auswertung der ANOVA zur Proteinlöslichkeit [%] in Abhängigkeit zum pH-Wert mittels Microsoft Excel (eigene Darstellung)

Einflussparameter	p-Wert	Signifikanzniveau α	p-Wert < α	Signifikanz	H₀ ablehnen
Proteinlöslichkeit pH-Wert 4,0					
Entölung	0,00935	5 %	Ja	*	Ja
Proteinlöslichkeit pH-Wert 4,5					
Entölung	0,30317	5 %	Nein	-	Nein
Proteinlöslichkeit pH-Wert 7,0					
Entölung	0,00052	5 %	Ja	*	Ja

* ein signifikanter Unterschied liegt vor - es liegt kein signifikanter Unterschied vor

Aus der statistischen Auswertung mittels der ANOVA abgeleitet (siehe Tabelle 8) hat die Entölung hinsichtlich der Proteinlöslichkeit [%] in Abhängigkeit zum pH-Wert 4,5 keinen signifikanten Einfluss auf das Carioca Bohnenmehl. Die Entölung hat jedoch einen signifikanten Einfluss auf die Proteinlöslichkeit [%] in Abhängigkeit zu den pH- Werten 4,0 und 7,0. Dies ist durch die Extraktionstemperatur während der Ölextraktion zu erklären, welche einen statistisch signifikanten Einfluss auf die Proteinlöslichkeit hat, so auch Mirian Megumi Sawada et al. von 2014 (Sawada, M.M. et al., 2014, S. 666).

Dass das Minimum der Proteinlöslichkeit [%] in Abhängigkeit zum pH-Wert des entölten Carioca Bohnenmehls beim pH-Wert 3,5 liegt. Dies lässt laut einer Studie von Flávia Souza Almeida et al. von 2022, bei der ebenfalls eine geringe Löslichkeit zweier Proteinextrakte im pH-Bereich zwischen 3,0 und 4,0 liegt, „auf eine verringerte elektrostatische Abstoßung zwischen den Proteinmolekülen, was die Aggregation und Ausfällung über hydrophobe Wechselwirkungen fördern und damit die Löslichkeit der Proteine verringern könnte“ (Almeida, F.S. et al., 2022, S. 1804) schließen. Dass das Maximum der Proteinlöslichkeit bei $75,3 \pm 2,6$ % liegt, lässt sich davon ableiten, dass ein Teil des Proteingehalts in Bindungen mit Kohlenhydraten vorliegt, wodurch sich die hohe Löslichkeit des Bohnenproteins schlussfolgern lässt (Acker, L. et al., 1967, S. 406). Im Allgemeinen liegt eine schlechte Proteinlöslichkeit um den isoelektrischen Punkt des Carioca Bohnenmehls vor, welcher bei einem pH-Wert von ca. 3,5 liegt. Bei stark sauren oder alkalischen pH-Werten liegt eine hohe Proteinlöslichkeit vor. Dies trifft mit den Ergebnissen der Arbeit von Mirian Megumi Sawada et al. von 2014 überein, bei den ebenfalls eine hohe Proteinlöslichkeit über und unter dem isoelektrischen

Punkt bei einem pH-Wert von 2,0 und 9,0 aufgewiesen wurde (Sawada, M.M. et al., 2014, S. 665). Da in dieser Arbeit die Proteinlöslichkeit nur im pH-Bereich zwischen 3,0 und 9,0 bestimmt wurde, lässt sich schlussfolgern, dass die Proteinlöslichkeit in Abhängigkeit zum pH-Wert im sauren Bereich unter 3,0 stark ansteigt.

4.2. Einfluss der Entölung auf die chemische Zusammensetzung der Zutaten

Die chemische Zusammensetzung des entölten Carioca Bohnenmehls ist in Tabelle 9 aufgeführt. Der Trockensubstanzgehalt liegt bei $92,3 \pm 0,2$ %, und der Aschegehalt bei $3,6 \pm 0,1$ %. Der Gehalt an Protein liegt bei $19,1 \pm 0,0$ %, der Gesamtstärkegehalt bei 25,1 % und der Fettgehalt bei $1,1 \pm 0,2$ %. Der Gesamtstärkegehalt des entölten Carioca Bohnenmehls wurde in Kapitel 4.4. ermittelt und ist die Summe der „Total Digestible Starch“ und der „Resistant Starch“.

Tabelle 9: Darstellung der chemischen Zusammensetzung des entölten Carioca Bohnenmehls mit Mittelwerten und Standardabweichung (eigene Darstellung)

Probe	Trockensubstanz [%]	Asche [%] *	Protein [%] *, **	Stärke [%] *	Fett [%] *
Entöltes Carioca Bohnenmehl	$92,3 \pm 0,2$	$3,6 \pm 0,1$	$19,1 \pm 0,0$	25,2	$1,1 \pm 0,2$

* bezogen auf die Trockensubstanz

** bestimmt nach Dumas unter Verwendung des Umrechnungsfaktors 5,28

Wird der Gehalt an Asche, Protein, Stärke und Fett des entölten Carioca Bohnenmehls addiert, ergibt sich eine Summe von 49,1 %. Die restlichen 50,9 % ergeben sich unter anderem zu einem großen Anteil aus Rohfasern (W. Baltes, 1995, S. 393).

Das vollfett Carioca Bohnenmehl besteht in seiner chemischen Zusammensetzung zu 92,8 % aus Trockensubstanz, 3,7 % aus Asche, zu 19,1 % aus Protein, zu 19,2 % aus Stärke und zu 2,7 % aus Fett (Kottelmann, V., 2022, S. 26).

Durch die Entölung des Carioca Bohnenmehls hat sich der Gehalt [%] der Trockensubstanz, des Proteins und der Asche nicht wesentlich erhöht oder gesenkt. Durch die Entölung entsteht jedoch ein erhöhter Stärkegehalt von 19,2 % auf 25,2 % und der Fettgehalt kann von 2,7 % auf 1,1 % gesenkt werden. Aufgrund der Entfernung des Öls kann der angestrebte Fettgehalt von 1,1 % erreicht werden. Die Entölung führt also nicht, wie laut Mirian Megumi Sawada et al., zu einem erhöhten Proteingehalt (Sawada, M.M. et al., 2014, S. 668), jedoch zu einem erhöhten Stärkegehalt. Der

Stärkegehalt des Carioca Bohnenmehls liegt jedoch auch nach der Entölung noch unter dem in der Literatur angegebenen Wert von 36 % (Kottelmann, V., 2022, S. 4). Die Gründe für diese Abweichung können äußerliche Bedingungen während des Versuchsablaufes sein, wie Temperatur und Luftfeuchtigkeit. Zudem kann die Differenz durch Messungenauigkeiten, durch die verwendeten Gerätschaften, das Personal und an Verlusten an die Umgebung entstanden sein.

In Tabelle 10 ist das ermittelte Ölbindevermögen und die Wasserbindevermögen des vollfett und des entölte Carioca Bohnenmehls aufgelistet. Das Ölbindevermögen des entölte Carioca Bohnenmehls liegt bei $1,2 \pm 0,0$ ml pro Gramm des Mehls und das Wasserbindevermögen liegt bei $1,9 \pm 0,0$ ml pro Gramm des Mehls. Das Ölbindevermögen des vollfett Carioca Bohnenmehls liegt bei $0,6$ ml pro Gramm des Mehls und das Wasserbindevermögen bei $2,1$ ml pro Gramm des Mehls.

Das Wasserbindevermögen beschreibt die Fähigkeit Wasser zu binden und „gegen die Schwerkraft zu behalten, was die Textur und das Mundgefühl eines Lebensmittels beeinflusst“ (Dipl. Lebm.-Chem. Melde, D., 2017, S. 26). Es wird beeinflusst vom Aminosäureprofil, da polare Aminosäuren mit Wasser in Wechselwirkung treten und abhängig von den Bedingungen während des Experimentes sind (Dipl. Lebm.-Chem. Melde, D., 2017, S. 26). In Bezug auf das entölte Carioca Bohnenmehl wird das Wasserbindevermögen durch die Extraktionsbedingungen während der Ölextraktion beeinflusst. Das Ölbindevermögen „ergibt sich, indem unpolare Seitenketten der Proteine an die Kohlenwasserstoffketten der Lipide binden“ (Dipl. Lebm.-Chem. Melde, D., 2017, S. 26). Es wirkt sich auf die Aroma- sowie Geschmackserhaltung eines Lebensmittelproduktes aus und ist ein wichtiger Parameter bei Entwicklung von Produkten, die auf Emulsionen basieren (Dipl. Lebm.-Chem. Melde, D., 2017, S. 26).

Tabelle 10: Ölbindevermögen und die Wasserbindevermögen des entölte Carioca Bohnenmehls (eigene Darstellung)

Probe	Ölbindevermögen (ml/g)	Wasserbindevermögen (ml/g)
Vollfett Carioca Bohnenmehl	$0,6 \pm 0,1$	$2,1 \pm 0,0$
Entölte Carioca Bohnenmehl	$1,2 \pm 0,0$	$1,9 \pm 0,0$

4.2.1. Auswertung der ANOVA mittels Microsoft Excel

Um zu testen, ob die Entölung einen signifikanten Einfluss auf innerhalb des Untersuchungsparameters Wasser- und Ölbindevermögen auf das Carioca Bohnenmehls ausübt, wurden folgende Hypothesen aufgestellt und mittels der ANOVA mittels Microsoft Excel untersucht. Hinsichtlich des Wasserbindevermögens des Carioca Bohnenmehls wurden folgende Hypothesen aufgestellt.

H₀: Die Entölung übt keinen signifikanten Einfluss hinsichtlich des Wasserbindevermögens des Carioca Bohnenmehls aus.

H₁: Die Entölung übt einen signifikanten Einfluss hinsichtlich des Wasserbindevermögens des Carioca Bohnenmehls aus.

Hinsichtlich des Ölbindevermögens des Carioca Bohnenmehls wurden folgende Hypothesen aufgestellt.

H₀: Die Entölung übt keinen signifikanten Einfluss hinsichtlich des Ölbindevermögens des Carioca Bohnenmehl aus.

H₁: Die Entölung übt einen signifikanten Einfluss hinsichtlich des Ölbindevermögens des Carioca Bohnenmehls aus.

In Tabelle 11 sind die ermittelten Ergebnisse des rechtseitigen t-Tests mittels RStudio dargestellt. Die Rechenschritte des rechtseitigen t-Test mittels RStudio sind im Anhang 18 dargestellt.

Tabelle 11: Auswertung der ANOVA zum Wasser- und Ölbindevermögen des Carioca Bohnenmehls (eigene Darstellung)

Einflussparameter	p-Wert	Signifikanzniveau α	p-Wert < α	Signifikanz	H₀ ablehnen
Wasserbindevermögen des Carioca Bohnenmehls					
Entölung	0,00981	5 %	Ja	*	Ja
Ölbindevermögen des Carioca Bohnenmehls					
Entölung	0,02667	5 %	Ja	*	Ja

* ein signifikanter Unterschied liegt vor - es liegt kein signifikanter Unterschied vor

Tabelle 11 ist zu entnehmen, dass die Entölung ein signifikanter Einfluss hinsichtlich des Wasserbindevermögens des Carioca Bohnenmehls ausübt. Erklären lässt sich dies dadurch, dass es zu einer leichten Proteindenaturierung durch die Wärmezufuhr während der Ölextraktion kommt und zur „Freilegung hydrophober Aminosäurereste und nachfolgender Aggregation der entfalteten Proteinbereiche unter Bildung neuer intra- und intermolekularer Bindungen“ (Westphal, G. et al., 2003, S. 104).

Hinsichtlich des Ölbindevermögens hat die Entölung ebenfalls einen signifikanten Einfluss auf das Carioca Bohnenmehl. Dies stimmt mit den Beobachtungen von Axel Natsch überein, nach denen die Wasser- und Ölbindekapazität durch die Proteindenaturierung während der Ölextraktion erhöht werden (Dipl.-Ing. Natsch, A., 2006, S. 69).

„In Hinblick auf die Herstellung von Proteinprodukten mit guten emulgierenden Eigenschaften ist daher eine Denaturierung der Proteine zu vermeiden und die Extraktion sollte bei Raumtemperatur durchgeführt werden“ (Dipl.-Ing. Natsch, A., 2006, S. 69), da durch die Denaturierung der Proteine die emulgierenden Eigenschaften verringert werden (Dipl.-Ing. Natsch, A., 2006, S. 69).

4.3. Einfluss der Entölung auf die Proteinverdaulichkeit der Zutaten

In Tabelle 12 sind die Ergebnisse der Bestimmung der In Vitro Digestibility, der Amino Acid Score, der Protein Digestibility Corrected Amino Acid Score (PDCAAS) mit Mittelwerten und Standardabweichung sowie die First Limiting Amino Acid der verschiedenen Proben dargestellt.

Tabelle 12: Darstellung der Versuchsergebnisse des Bestimmung der Proteinverdaulichkeit mit Mittelwerten und Standardabweichung (eigene Darstellung)

Probe	In Vitro Digestibility	Amino Acid Score	PDCAAS	First Limiting Amino Acid
Vollfett Carioca Bohnenmehl	0,87 ± 0,0	0,92 ± 0,0	0,80 ± 0,0	L-Cysteine + L-Methionine
Entöltes Carioca Bohnenmehl	0,86 ± 0,0	1,09 ± 0,00	0,93 ± 0,0	L-Cysteine + L-Methionine
Proteinisolat Entöltes Carioca Bohnenmehl	0,90 ± 0,2	0,83 ± 0,0	0,75 ± 0,1	L-Cysteine + L-Methionine

Der Protein Digestibility Corrected Amino Acid Score (PDCAAS) ist ein von der Weltgesundheitsorganisation (WHO/FAO) in den 1990er- Jahren etablierter Begriff, der darauf aufbaut, dass für das zu untersuchende Protein eine Aminosäure Acid Score bestimmt wird (Föllner, M. & Stangl, G.I., 2021, S. 64). Grundlegend für den Amino Acid Score des untersuchten Proteins ist der Vergleich der Aminosäurezusammensetzung des idealen Proteins mit der des untersuchten Proteins (Föllner, M. & Stangl, G.I., 2021, S. 64). „Dabei legt diejenige Aminosäure, deren Gehalt im Testprotein verglichen

mit der idealen Aminosäurezusammensetzung am meisten nach unten abweicht, den AAS-Wert fest“ (Föllner, M. & Stangl, G.I., 2021, S. 64).

Der Wert des Amino Acid Scores wird mit dem Wert der Protein In Vitro Digestibility multipliziert und ergibt den Wert des PDCAAS und die In Vitro Digestibility des zu untersuchenden Proteins schließt die Bioverfügbarkeit mit ein (Föllner, M. & Stangl, G.I., 2021, S. 64).

Unter den First Limiting Amino Acids wird verstanden, „dass ein Proteinmangel auch bei eigentlich ausreichender Proteinzufuhr besteht, solange nicht die limitierende Aminosäure in genügender Menge aufgenommen wird“ (Föllner, M. & Stangl, G.I., 2021, S. 56).

Das vollfett Carioca Bohnenmehl besitzt eine In Vitro Digestibility von $0,82 \pm 0,0$, den Amino Acid Score von $0,92 \pm 0,0$ und den PDCAAS von $0,80 \pm 0,0$. Das entölte Carioca Bohnenmehl weist eine In Vitro Digestibility von $0,86 \pm 0,0$, den Amino Acid Score von $1,09 \pm 0,0$ und einen Wert von $0,93 \pm 0,0$ für den PDCAAS auf. Zusätzlich wurde die Proteinverdaulichkeit für das Proteinisolat des entölte Carioca Bohnenmehls bestimmt, welches die In Vitro Digestibility von $0,90 \pm 0,2$, den Amino Acid Score von $0,83 \pm 0,0$ und den PDCAAS von $0,75 \pm 0,1$ aufweist.

Das vollfett und das entölte Carioca Bohnenmehl sowie das Proteinisolat des entölte Carioca Bohnenmehls weisen L-Cysteine und L-Methionine als First Limiting Amino Acid auf. L-Cysteine und L-Methionine gehören zu den essenziellen Aminosäuren in der menschlichen Ernährung und müssen über die Nahrung aufgenommen werden (Deutsche Gesellschaft für Ernährung e.V., o. J.). Das Proteinisolat des entölte Carioca Bohnenmehls weist eine In Vitro Digestibility von $0,90 \pm 0,2$, den Amino Acid Score von $0,83 \pm 0,0$ und den Wert von $0,75 \pm 0,1$ für den PDCAAS auf.

Die extern bestimmten Aminosäureprofile des vollfett und entölte Carioca Bohnenmehls sind in Anhang 4 dargestellt. Die extern bestimmten Aminosäureprofile des Proteinisolates der beiden Mehlproben des entölte Carioca Bohnenmehls sind in Anhang 5 dargestellt.

Die Einzelwerte der Doppelbestimmung der In Vitro Digestibility, (IVD) dem Amino Acid Score (AAS) und der Protein Digestibility Corrected Amino Acid Score (PDCAAS) der Proteinisolate aus dem entölte Carioca Bohnenmehl sind in Anhang 3 dargestellt.

Abgeleitet aus der statistischen Auswertung der ANOVA in Kapitel 4.3.1. ist festzustellen, dass die Entölung keinen signifikanten Einfluss in Hinblick auf die In Vitro Digestibility zwischen dem vollfett und dem entölte Carioca Bohnenmehl ausübt (siehe Tabelle 13). Die Entölung des Carioca Bohnenmehls hat einen signifikanten Einfluss auf den Amino Acid Score und den Protein Digestibility Corrected Amino Acid Score des Carioca Bohnenmehls (siehe Tabelle 13).

4.3.1. Auswertung der ANOVA mittels Microsoft Excel

Um zu testen, ob die Entölung einen signifikanten Einfluss auf die Proteinverdaulichkeit des Carioca Bohnenmehles ausübt, wurden folgende Hypothesen aufgestellt und mit der ANOVA mittels Microsoft Excel überprüft. In Bezug auf das Carioca Bohnenmehl wurden folgende Hypothesen aufgestellt.

H_0 : Die Entölung übt keinen signifikanten Einfluss hinsichtlich der Proteinverdaulichkeit zwischen dem vollfett und dem entölten Carioca Bohnenmehl aus.

H_1 : Die Entölung übt einen signifikanten Einfluss hinsichtlich der Proteinverdaulichkeit zwischen dem vollfett und dem entölten Carioca Bohnenmehl aus.

In Tabelle 13 ist die statistische Auswertung der Proteinverdaulichkeit des Carioca Bohnenmehls mittels Microsoft Excel dargestellt.

Tabelle 13: Auswertung der ANOVA mittels Microsoft Excel der Proteinverdaulichkeit des Carioca Bohnenmehls (eigene Darstellung)

Einflussparameter	p-Wert	Signifikanzniveau α	p-Wert < α	Signifikanz	H_0 ablehnen
In Vitro Digestibility des Carioca Bohnenmehls					
Entölung	0,59175	5 %	Nein	-	Nein
Amino Acid Score des Carioca Bohnenmehls					
Entölung	9,1272E-06	5 %	Ja	*	Ja
PDCAAS des Carioca Bohnenmehls					
Entölung	0,02833	5 %	Ja	*	Ja

* ein signifikanter Unterschied liegt vor - es liegt kein signifikanter Unterschied vor

4.4. Einfluss der Entölung auf die Stärkeverdaulichkeit der Zutaten

Die Stärkefraktion, welche innerhalb von 20 Minuten während der Inkubation verdaut wird, wird als RDS bezeichnet. Die Stärkefraktion, welche zwischen 20 und 120 Minuten der Inkubation verdaut wird, ist die SDS und die Stärkefraktion, welche nicht weiter verdaut wird, wird als RS bezeichnet. Die RDS löst einen schnellen Anstieg des Insulinspiegels und des Blutzuckers aus und kann dadurch

verschiedene gesundheitliche Beschwerden hervorrufen. Die SDS wird langsam im Dünndarm verdaut und es kommt zu einem langsamen Anstieg des Blutzuckers und einer langsamen glykämischen Reaktion (Gani, A. & Bilal, A.A., 2021, S. 19).

Die RS wird nicht von der α -Amylase hydrolysiert und kann im Dickdarm fermentieren, wobei die Endprodukte Methan, Kohlendioxid, Wasserstoff und kurzkettige Fettsäuren entstehen können (Gani, A. & Bilal, A.A., 2021, S. 19).

Die Summe aus der „Total Digestible Starch“ und der „Resistant Starch“ ergibt den Gesamtstärkegehalt der Proben.

Die Stärkeverdaulichkeit des vollfett und entölten Bohnenmehls, der vollfett und entölten isolierten Stärke, der auf 95 °C erhitzten entölten isolierten Stärke sowie der auf 95 °C und zusätzlich auf 135 °C für eine Minute erhitzten entölten isolierten Stärke sind in Tabelle 14 dargestellt.

Es ist zu erkennen, dass die Werte der RDS und SDS des unerhitzten, vollfett und entölten Carioca Bohnenmehls deutlich geringer sind als die Werte der RS. Der hohe Gehalt an RS des unerhitzten Bohnenmehls, lässt sich dadurch erklären, dass das Carioca Bohnenmehl gut strukturierte kristalline Bereiche und amorphe unstrukturierte Bereiche aufweist (Los, F.G.B. et al., 2021, S. 5).

Das vollfett Bohnenmehls weist die Stärkeverdaulichkeit der RDS von $7,0 \pm 1,5$ % und der SDS von $5,5 \pm 2,7$ % auf. Das entölte Bohnenmehl weist eine deutlich geringere Stärkeverdaulichkeit der RDS mit $1,8 \pm 0,3$ % und der SDS mit $3,7 \pm 0,3$ % auf. Die Stärkeverdaulichkeit der RS und TDS des vollfett und entölten Bohnenmehl unterscheidet sich nicht wesentlich und liegt für die RS bei $13,3 \pm 0,8$ % und $14,1 \pm 1,7$ % sowie für die TDS bei $11,6 \pm 4,5$ % und $11,1 \pm 3,2$ %.

Durch die statistische Auswertung mittels ANOVA in Kapitel 4.4.1. kann geschlussfolgert werden, dass die Entölung einen signifikanten Einfluss hinsichtlich der Stärkeverdaulichkeit der RS, SDS, RS und TDS des Carioca Bohnenmehls ausübt (siehe Tabelle 15). Der Gesamtstärkegehalt des vollfett Carioca Bohnenmehls liegt bei 24,9 % und der des entölten Carioca Bohnenmehls bei 25,5 % (siehe Tabelle 14).

Das unerhitzte Stärkeisolat des vollfett Carioca Bohnenmehls weist eine Stärkeverdaulichkeit der RDS von $13,3 \pm 2,0$ %, der SDS von $35,0 \pm 3,8$ %, der TDS von $70,8 \pm 2,6$ % und der RS von $4,3 \pm 0,8$ % auf (siehe Tabelle 14).

Das unerhitzte Stärkeisolat des entölten Carioca Bohnenmehls weist eine Stärkeverdaulichkeit der RDS von $13,4 \pm 3,0$ %, der SDS von $37,7 \pm 5,0$ %, der TDS von $75,3 \pm 1,3$ % und der RS von $3,1 \pm 0,5$ % auf. Der Gesamtstärkegehalt der isolierten Stärke des vollfett Carioca Bohnenmehls liegt bei 75,1 %. Der Gesamtstärkegehalt der isolierten Stärke des entölten Carioca Bohnenmehls liegt bei 78,4 % (siehe Tabelle 14). Durch die statistische Auswertung in Kapitel 4.4.1. kann geschlussfolgert werden, dass die Entölung des vollfett Carioca Bohnenmehls einen signifikanten Einfluss hinsichtlich der Stärkeverdaulichkeit der TDS ausübt. Die Entölung hat keinen signifikanten Einfluss auf die

Stärkeverdaulichkeit der RDS, SDS und RS der isolierten unerhitzten Stärke des Carioca Bohnenmehls (siehe Tabelle 15).

Die deutlich geringere Gesamt-Stärkeverdaulichkeit des unerhitzten Carioca Bohnenmehls, im Gegensatz zum unerhitzten als auch erhitzten Stärkeisolates (siehe Tabelle 14), lässt sich wie folgt erklären. Im Allgemeinen verringern enzymatischen Inhibitoren, wie Phytinsäure, Lectine oder Polyphenole, welche in Hülsenfrüchten enthalten sind und so folglich auch im unerhitzten Carioca Bohnenmehl, die Stärkeverdaulichkeit (Los, F.G.B. et al., 2021, S. 5).

Das auf 95 °C erhitze Stärkeisolat des entölten Carioca Bohnenmehls weist eine Stärkeverdaulichkeit der RDS von $81,7 \pm 10,0$ %, der SDS von $1,2 \pm 2,3$ %, der RS von $2,4 \pm 0,3$ % und der TDS von $82,1 \pm 5,9$ % auf. Der Gesamtstärkegehalt des auf 95 °C erhitzten Stärkeisolates des entölten Carioca Bohnenmehls liegt bei 84,5 %. Der hohe Wert für die Stärkeverdaulichkeit der RS lässt sich wie folgt erklären. Durch die Erhitzung des Stärkeisolates des entölten Carioca Bohnenmehls brechen die kristallinen Strukturen der Stärkekörner durch die Quellung auf, wodurch die Verdauungsenzyme leichter auf die Amylose- und Amylopectinmoleküle Zugriff haben (Los, F.G.B. et al., 2021, S. 5). Die Erhitzung des Stärkeisolates des entölten Carioca Bohnenmehls auf 95 °C hat einen signifikanten Einfluss auf die Stärkeverdaulichkeit der RDS, SDS und TDS. Auf die Stärkeverdaulichkeit der RS hat die Erhitzung auf 95 °C jedoch keinen signifikanten Einfluss (siehe Tabelle 16).

Die Erhitzung des Stärkeisolates des entölten Carioca Bohnenmehls auf 95 °C und zusätzliche Erhitzung auf 135 °C für eine Minute hat nach der statistischen Auswertung in Kapitel 4.1.1. einen signifikanten Einfluss auf die Stärkeverdaulichkeit der RDS und SDS. Dies stimmt mit der Aussage von A. Gani überein, dass Autoklavieren einen deutlichen Effekt auf den Ertrag der Stärkeverdaulichkeit der SDS hat (Gani, A. & Bilal, A.A., 2021, S. 22).

Auf die Stärkeverdaulichkeit der TDS und der RS wirkt sich die Erhitzung auf 95 °C und zusätzliche Erhitzung auf 135 °C für eine Minute nicht signifikant aus (siehe Tabelle 16). Die Stärkeverdaulichkeit der RDS ist durch die zusätzliche Erhitzung auf 135 °C für eine Minute von 81,7 % auf 67,5 % und die Stärkeverdaulichkeit der TDS von 82,1 % auf 77,4 % gesunken (siehe Tabelle 14).

Tabelle 14: Darstellung der Messergebnisse der Bestimmung der Stärkeverdaulichkeit von RDS, SDS, RS und TDS (eigene Darstellung)

Probe	Stärkever- daulichkeit der RDS [%]	Stärkever- daulichkeit der SDS [%]	Stärkever- daulichkeit der RS [%]	Stärkever- daulichkeit der TDS [%]	Gesamt- stärkegehalt [%]
Vollfett Carioca Bohnenmehl	7,0 ± 1,5	5,5 ± 2,7	13,3 ± 0,8	11,6 ± 4,5	24,9
Entöltes Carioca Bohnenmehl	1,8 ± 0,3	3,7 ± 0,3	14,1 ± 1,7	11,1 ± 3,2	25,2
IS vollfett Carioca Bohnenmehl	13,3 ± 2,0	35,0 ± 3,8	4,3 ± 0,8	70,8 ± 2,6	75,1
IS entöltes Carioca Bohnenmehl	13,4 ± 3,0	37,7 ± 5,0	3,1 ± 0,5	75,3 ± 1,3	78,4
Auf 95 °C erhitzte IS entöltes Carioca Bohnenmehl	81,7 ± 10,0	1,2 ± 2,3	2,4 ± 0,3	82,1 ± 5,9	84,5
Auf 95 °C + auf 135 °C erhitzte IS entöltes Carioca Bohnenmehl	67,5 ± 2,5	4,9 ± 1,0	3,7 ± 0,7	77,4 ± 1,9	81,1

In Darstellung 3 ist die Stärkeverdaulichkeit des vollfett und des entölten Carioca Bohnenmehls, der Stärkeisolate des vollfett und entölten Carioca Bohnenmehls sowie die der auf 95 °C erhitzten als auch zusätzlich auf 135 °C für eine Minute erhitzten Stärkeisolate des entölten Carioca Bohnenmehls graphisch dargestellt.

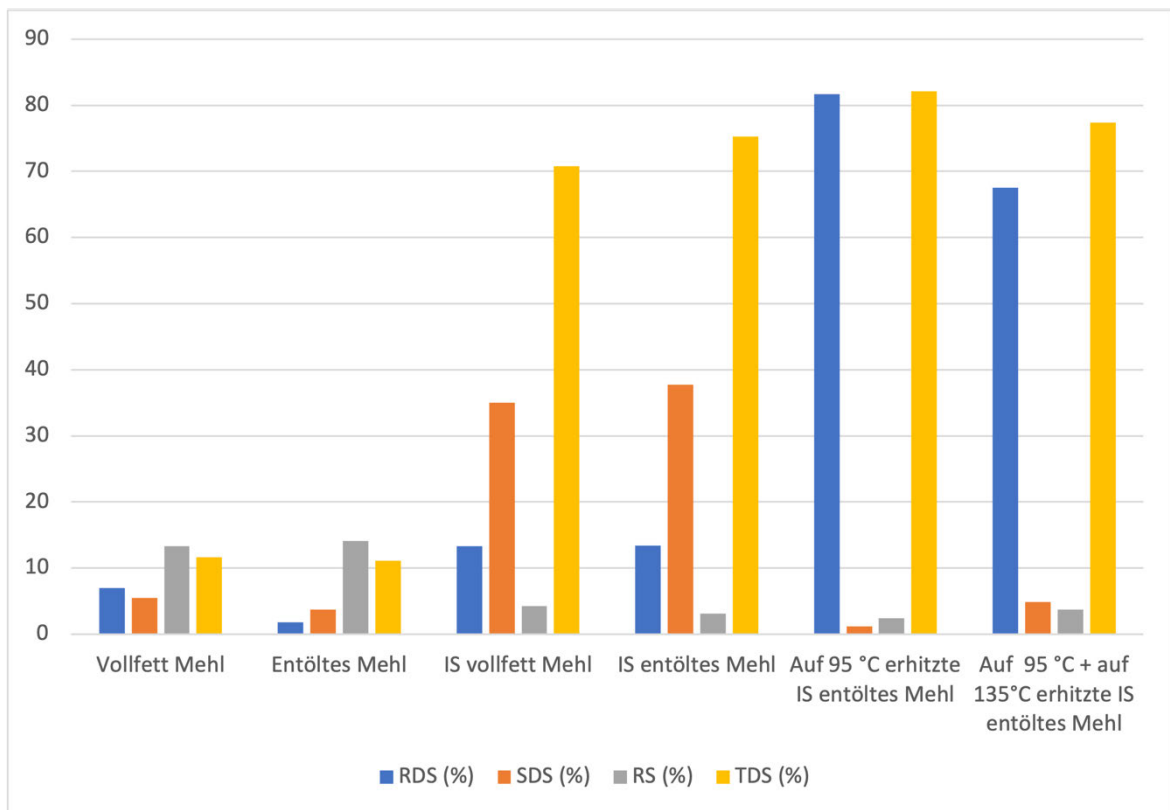


Abbildung 3: Stärkeverdaulichkeit der RDS, SDS, RS und TDS des vollfett und entölte Carioca Bohnenmehls, der isolierten Stärken und der erhitzten isolierten Stärke des entölte Carioca Bohnenmehls (eigene Darstellung)

RDS= Rapidly Digestible Starch, SDS= Slowly Digestible Starch, RS= Resistant Starch, TDS= Total Digestible Starch

4.4.1. Auswertung der ANOVA mittels RStudio und Microsoft Excel

Um zu testen, ob die Entölung einen signifikanten Einfluss auf die Stärkeverdaulichkeit des Carioca Bohnenmehles und auf die des Stärkeisolates hat, wurden folgende Hypothesen aufgestellt und mit der ANOVA mittels RStudio überprüft. In Bezug auf das Carioca Bohnenmehl wurden folgende Hypothesen aufgestellt.

H_0 : Die Entölung übt keinen signifikanten Einfluss hinsichtlich der Stärkeverdaulichkeit zwischen dem vollfett und dem entölte Carioca Bohnenmehl aus.

H_1 : Die Entölung übt einen signifikanten Einfluss hinsichtlich der Stärkeverdaulichkeit zwischen dem vollfett und dem entölte Carioca Bohnenmehl aus.

In Bezug auf die Stärkeisolate, wurden folgende Hypothesen aufgestellt.

H₀: Die Entölung übt keinen signifikanten Einfluss hinsichtlich der Stärkeverdaulichkeit zwischen dem Stärkeisolat des vollfett und des entöhlten Carioca Bohnenmehles aus.

H₁: Die Entölung übt einen signifikanten Einfluss hinsichtlich der Stärkeverdaulichkeit zwischen dem Stärkeisolat des vollfett und des entöhlten Carioca Bohnenmehles aus.

In Tabelle 15 sind die ermittelten Ergebnisse der ANOVA mittels RStudio dargestellt. Die Rechenschritte der ANOVA für das vollfett und entöhlte Carioca Bohnenmehl sind im Anhang 6 dargestellt. Die Rechenschritte der ANOVA mittels Microsoft Excel für die Stärkeverdaulichkeit der Stärkeisolate des vollfett und entöhlten Carioca Bohnenmehls sind im Anhang 7 dargestellt.

Tabelle 15: Auswertung der ANOVA der Stärkeverdaulichkeit der RDS, SDS; RS und TDS des entöhlten Carioca Bohnenmehls und des vollfett Carioca Bohnenmehls, sowie deren isolierte Stärken mittels RStudio (eigene Darstellung)

Einflussparameter	p-Wert	Signifikanzniveau α	p-Wert < α	Signifikanz	H₀ ablehnen
Stärkeverdaulichkeit der RDS des Carioca Bohnenmehls					
Entölung	0	5 %	Ja	*	Ja
Stärkeverdaulichkeit der SDS des Carioca Bohnenmehls					
Entölung	0	5 %	Ja	*	Ja
Stärkeverdaulichkeit der TDS des Carioca Bohnenmehls					
Entölung	0,00095	5 %	Ja	*	Ja
Stärkeverdaulichkeit der RS des Carioca Bohnenmehls					
Entölung	0,01006	5 %	Ja	*	Ja
Stärkeverdaulichkeit der RDS der isolierten Stärke des Carioca Bohnenmehls					
Entölung	0,85735	5 %	Nein	-	Nein
Stärkeverdaulichkeit der SDS der isolierten Stärke des Carioca Bohnenmehls					
Entölung	0,17772	5 %	Nein	-	Nein
Stärkeverdaulichkeit der TDS der isolierten Stärke des Carioca Bohnenmehls					
Entölung	0,01535	5 %	Ja	*	Ja
Stärkeverdaulichkeit der RS der isolierten Stärke des Carioca Bohnenmehls					
Entölung	0,15210	5 %	Nein	-	Nein

* ein signifikanter Unterschied liegt vor - es liegt kein signifikanter Unterschied vor

Zusätzlich soll mit der ANOVA mittels Microsoft Excel überprüft werden, ob die Erhitzung der isolierten Stärke des entölten Carioca Bohnenmehls mit und ohne Autoklav einen Einfluss auf die Stärkeverdaulichkeit hat. Zur Überprüfung wurden folgende Hypothesen aufgestellt.

H_0 : Der Prüfparameter übt keinen Einfluss auf die Stärkeverdaulichkeit des Stärkeisolates des entölten Carioca Bohnenmehles aus.

H_1 : Der Prüfparameter übt einen Einfluss auf die Stärkeverdaulichkeit des Stärkeisolates des entölten Carioca Bohnenmehles aus.

In Tabelle 16 sind die ermittelten Ergebnisse der ANOVA mittels RStudio dargestellt. Die Rechenschritte der ANOVA sind im Anhang 9 dargestellt.

Tabelle 16: Auswertung der ANOVA der Stärkeverdaulichkeit der RDS, SDS; RS und TDS der Stärkeisolate des entölte Carioca Bohnenmehls und des vollfett Carioca Bohnenmehls, sowie auf 95 °C als auch zusätzlich auf 135 °C erhitzt mittels RStudio (eigene Darstellung)

Einflussparameter	p-Wert	Signifikanzniveau α	p-Wert < α	Signifikanz	H₀ ablehnen
Stärkeverdaulichkeit der RDS der isolierten Stärke des entölte Carioca Bohnenmehls					
Erhitzung auf 95 °C	1,239E-07	5 %	Ja	*	Ja
Erhitzung auf 95 °C + auf 135 °C für eine Minute	7,7228E-12	5 %	Ja	*	Ja
Stärkeverdaulichkeit der SDS der isolierten Stärke des entölte Carioca Bohnenmehls					
Erhitzung auf 95 °C	3,40922E-11	5 %	Ja	*	Ja
Erhitzung auf 95 °C + auf 135 °C für eine Minute	1,80155E-11	5 %	Ja	*	Ja
Stärkeverdaulichkeit der TDS der isolierten Stärke des entölte Carioca Bohnenmehls					
Erhitzung auf 95 °C	0,04916	5 %	Ja	*	Ja
Erhitzung auf 95 °C + auf 135 °C für eine Minute	0,07456	5 %	Nein	-	Nein
Stärkeverdaulichkeit der RS der isolierten Stärke des entölte Carioca Bohnenmehls					
Erhitzung auf 95 °C	0,06470	5 %	Nein	-	Nein
Erhitzung auf 95 °C + auf 135 °C für eine Minute	0,18199	5 %	Nein	-	Nein

* ein signifikanter Unterschied liegt vor - es liegt kein signifikanter Unterschied vor

4.4.2. Auswertung des rechtseitigen t-Tests mittels RStudio

Um zu überprüfen, ob ein signifikanter Unterschied in der Stärkeverdaulichkeit der RDS, SDS, TDS und RS zwischen dem auf 95 °C erhitzten Stärkeisolat des entölte Carioca Bohnenmehls und dem

zusätzlich auf 135 °C für eine Minute erhitzen Stärkeisolat des entölkten Carioca Bohnenmehls vorliegt, wurden folgende Hypothesen aufgestellt und mittels des rechtsseitigen t-Tests untersucht.

H_0 : Es besteht kein signifikanter Unterschied hinsichtlich des untersuchten Parameters, zwischen dem auf 95 °C erhitzen Stärkeisolates und dem zusätzlich auf 135 °C für eine Minute erhitzen Stärkeisolat des entölkten Carioca Bohnenmehls.

H_1 : Es besteht ein signifikanter Unterschied hinsichtlich des untersuchten Parameters, zwischen dem auf 95 °C erhitzen Stärkeisolates und dem zusätzlich auf 135 °C für eine Minute erhitzen Stärkeisolat des entölkten Carioca Bohnenmehls.

Um die Nullhypothese abzulehnen, muss der berechnete t- Wert größer als der kritische t- Wert sein. Tritt dieser Fall ein, wird die Nullhypothese verworfen und die Alternativhypothese angenommen, dass ein signifikanter Unterschied hinsichtlich des untersuchten Parameters zwischen dem auf 95 °C erhitzten Stärkeisolat und dem zusätzlich mit dem Autoklav erhitzen Stärkeisolat des entölkten Carioca Bohnenmehls vorliegt. Ist der ermittelte t- Wert kleiner als der kritische t-Wert, wird die Nullhypothese angenommen und die Alternativhypothese verworfen, wodurch festgelegt wird, dass kein signifikanter Unterschied hinsichtlich des untersuchten Parameters zwischen dem auf 95 °C erhitzten Stärkeisolat und dem zusätzlich mit dem Autoklav erhitzen Stärkeisolat des entölkten Carioca Bohnenmehls vorliegt.

In Tabelle 17 sind die ermittelten Ergebnisse des rechtseitigen t-Tests mittels RStudio dargestellt. Die Rechenschritte des rechtseitigen t-Test mittels RStudio sind im Anhang 8 dargestellt.

Tabelle 17: Auswertung des rechtseitigen t-Tests der Stärkeverdaulichkeit der RDS, SDS, RS und TDS des auf 95 °C erhitzten Stärkeisolates und des zusätzlich auf 135 °C für eine Minute erhitzten Stärkeisolates des entölten Carioca Bohnenmehls mittels RStudio (eigene Darstellung)

Parameter	t-Wert	Kritischer t-Wert	Signifikanzniveau α	Kritischer t-Wert < t-Wert	Signifikanz	H₀ ablehnen
Stärkeverdaulichkeit der RDS	3,2476	1,894579	5 %	Ja	*	Ja
Stärkeverdaulichkeit der SDS	-7,861	1,894579	5 %	Nein	-	Nein
Stärkeverdaulichkeit der TDS	2,8933	1,894579	5 %	Ja	*	Ja
Stärkeverdaulichkeit der RS	-4,7717	1,894579	5 %	Nein	-	Nein

* ein signifikanter Unterschied liegt vor - es liegt kein signifikanter Unterschied vor

4.5. Protein- und Stärkeausbeute

In Tabelle 18 ist die Masse des Proteinisolates in 100 g des entölten Carioca Bohnenmehls, die daraus berechnete Proteinausbeute [%] sowie die Proteinausbeute [%] dargestellt. Die chemische Zusammensetzung der entölten Bohnenmehle zur Berechnung ist in Anhang 10 tabellarisch dargestellt. Die Einzelwerte der Masse Proteinisolat (PI) [g /100 g Mehl], des Proteingehalts [%] und der Proteinausbeute [%] des entölten Carioca Bohnenmehls sind im Anhang 11 dargestellt.

Die chemische Zusammensetzung mit Mittelwerten und Standardabweichung der Proteinisolate (PI) des entölten Carioca Bohnenmehls sind in Anhang 13 dargestellt.

In 100 g entölten Carioca Bohnenmehl sind $9,5 \pm 0,0$ g Proteinisolat enthalten. Der Proteingehalt des Proteinisolates des entölten Carioca Bohnenmehls liegt bei $70,0 \pm 0,4$ %. Die Proteinausbeute aus dem entölten Carioca Bohnenmehl liegt bei $34,7 \pm 0,3$ % (siehe Tabelle 18). Proteinisolate haben

laut in der Literatur genannten Werten einen Proteingehalt von $\leq 90\%$ und Proteinkonzentrate einen Proteingehalt ab 50% (Morr, C.V. & Ha, E.Y., 1993, S. 431). Das in dieser Arbeit extrahierte Proteinisolat hat folglich einen vergleichbar zu geringen Proteingehalt, um als Proteinisolat zu gelten und ist nach seinem Proteingehalt zu den Proteinkonzentraten einzuordnen. In dieser Arbeit wird es jedoch weiterhin als Proteinisolat bezeichnet.

Tabelle 18: Darstellung der Mittelwerte und Standardabweichung der Masse Proteinisolat (PI) [g / 100 g Mehl], des Proteingehalts [%] und der Proteinausbeute [%] des entölte Carioca Bohnenmehls (eigene Darstellung)

Masse PI [g / 100g Mehl]		Proteingehalt [%]		Proteinausbeute [%]	
9,5	$\pm 0,0$	70,0	$\pm 0,4$	34,7	$\pm 0,3$

In Tabelle 19 ist die Masse des Stärkeisolates in 100 g des entölte Carioca Bohnenmehls, die daraus berechnete Stärkeausbeute [%] sowie die Stärkeausbeute [%] dargestellt. Die chemische Zusammensetzung der entölte Bohnenmehle zur Berechnung ist in Anhang 10 tabellarisch dargestellt. Die Einzelwerte der Masse Stärkeisolat (PI) [g /100 g Mehl], des Stärkegehalts [%] und der Stärkeausbeute [%] des entölte Carioca Bohnenmehls sind im Anhang 12 dargestellt. Aus 100 g entölte Carioca Bohnenmehl sind $30,8 \pm 0,0$ g Stärkeisolat extrahiert worden. Der Stärkegehalt des Stärkeisolates liegt bei $78,4 \pm 1,8\%$. Die Stärkeausbeute aus dem entölte Carioca Bohnenmehl liegt bei $96,0 \pm 2,5\%$.

Das Stärkeisolat hat einen Stärkegehalt von $<90\%$ und gilt damit laut Literatur nicht als Isolat, sondern als Konzentrat (Morr, C.V. & Ha, E.Y., 1993, S. 431).

Tabelle 19: Darstellung der Mittelwerte und Standardabweichung der Masse Stärkeisolat (SI) [g / 100 g Mehl], des Stärkegehalts [%] und der Stärkeausbeute [%] des entölte Carioca Bohnenmehls (eigene Darstellung)

Masse SI [g /100g Mehl]		Stärkegehalt [%]		Stärkeausbeute [%]	
30,8	$\pm 0,0$	78,4	$\pm 1,8$	96,0	$\pm 2,5$

4.6. Einfluss der Entölung auf das mikroskopische Erscheinungsbild

4.6.1. Mikroskopisches Erscheinungsbild des entölte und vollfett Carioca Bohnenmehls

In Abbildung 4 ist das mikroskopische Erscheinungsbild des vollfett Carioca Bohnenmehls zu erkennen. Die Länge der Stärkekörner liegt zwischen 10 μm und 30 μm . Die Breite der Stärkekörner liegt zwischen 12,5 μm und 25 μm . Die Stärkekörner weisen eine nieren- und bohnenförmige, runde und ovale Form auf.

Das mikroskopische Erscheinungsbild des entölte Carioca Bohnenmehls ist in Abbildung 5 abgebildet. Die Länge der Stärkekörner liegt zwischen 10 μm und 30 μm . Die Breite der Stärkekörner liegt zwischen 8 μm und 14 μm . Auch die Stärkekörner des entölte Carioca Bohnenmehls weisen eine nieren- und bohnenförmige, runde und ovale Form auf.

Die Längen der Stärkekörner beider Mehle liegen in in der Literatur genannten Bereich zwischen 10 und 60 μm (Acker, L. et al., 1967, S. 217). Der Querdurchmesser der Stärkekörner liegt ebenfalls in in der Literatur genannten Bereich zwischen 8 und 30 μm (Acker, L. et al., 1967, S. 217) Die Form stimmt mit den Angaben von Gustav Gassner überein (Gassner, G., 1989, S. 100). Einzelne mit dem Programm „Analysis Pro“ gemessenen Längen und Breiten der Stärkekörner des vollfett sowie des entölte Carioca Bohnenmehls sind in Anhang 14 zu sehen.

Die Stärkekörner beider Carioca Bohnenmehle weisen starke Konturen auf, jedoch ist in beiden Abbildungen keine deutliche Kernspalte der Stärkekörner zu erkennen, wie dies laut Gassner der Fall sein sollte (Gassner, G., 1989, S. 100). Obwohl es sich bei den in Abbildung 4 und 5 abgebildeten Proben um Bohnenmehle aus geschälten Carioca Bohnen handelt, können neben den Stärkekörnern noch Spuren der Fragmente der Samenschale, die Pallisadenzellen und Trägerzellen, vorhanden sein, deren Anwesenheit durch Anreicherung und das Lösen der Stärke oder das Verwenden einer Polarisationsvorrichtung, nachgewiesen werden kann (Gassner, G., 1989, S. 100). Im Carioca Bohnenmehl sind laut Gassner ebenfalls die inneren Kotyledonarzellen vorhanden, deren Wände und Tüpfelfelder sich durch die Zugabe von wässriger Toluidinlösung rot-violett färben würden (Gassner, G., 1989, S. 101).

An den Stärkekörner beider Mehle sind kleine Öltröpfchen angelagert. An das vollfett Carioca Bohnenmehl scheinen mehr Öltröpfchen angelagert zu sein. Die lässt sich dadurch erklären, dass die Amylose in hydrophoben Helixen vorliegen kann, wodurch eine Bindung mit im Bohnenmehl vorliegenden freien Fettsäuren und Fettsäurebausteinen von Glyceriden eingegangen werden kann (Gani, A. & Bilal, A.A., 2021, S. 5).

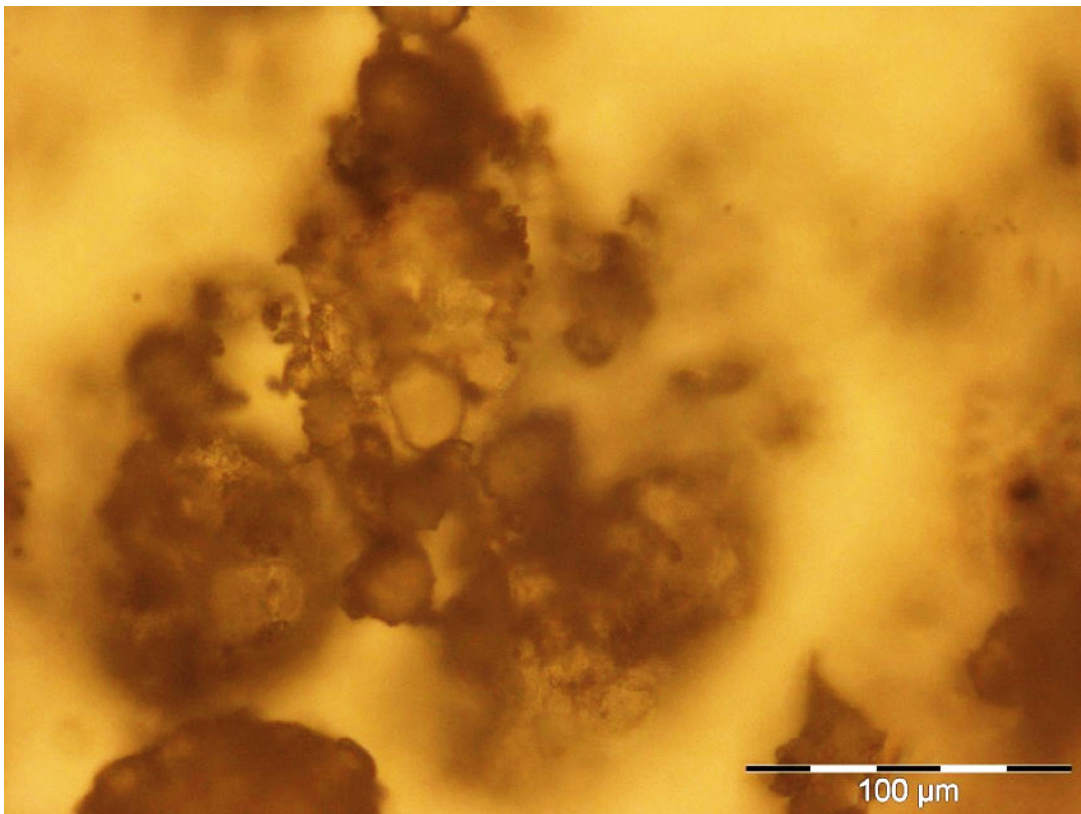


Abbildung 4: Mikroskopisches Erscheinungsbild des vollfett Carioca Bohnenmehls

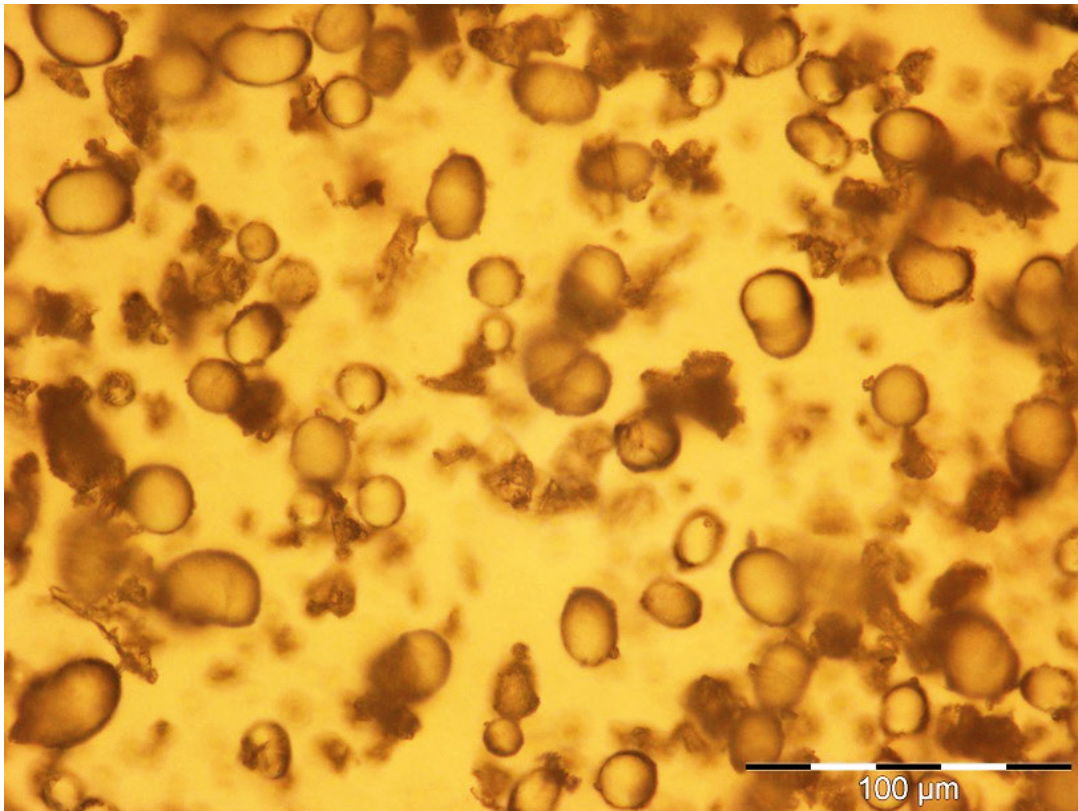


Abbildung 5: Mikroskopisches Erscheinungsbild des entölte Carioca Bohnenmehls

4.6.2. Mikroskopisches Erscheinungsbild der unerhitzten isolierten Stärke des entölte und vollfett Carioca Bohnenmehls

In Abbildung 6 ist das mikroskopische Erscheinungsbild der unerhitzten isolierten Stärke des vollfett Carioca Bohnenmehls zu sehen. Die Stärkekörner weisen eine Länge von 10 bis 34 μm auf und einen Breitendurchmesser von 10 bis 17 μm .

In Abbildung 7 ist das mikroskopische Erscheinungsbild der unerhitzten isolierten Stärke des entölte Carioca Bohnenmehls zu sehen. Die Länge der Stärkekörner liegt zwischen 10 und 33 μm . Der Breitendurchmesser liegt zwischen 10 und 17 μm .

Die Stärkekörner der isolierten Stärken des vollfett sowie des entölte Bohnenmehls weisen beide eine nieren- und bohnenförmige, runde und ovale Form auf.

Die Längen der Stärkekörner beider unerhitzter Stärkeisolate liegen im in der Literatur genannten Bereich zwischen 10 und 60 μm (Acker, L. et al., 1967, S. 217). Der Querdurchmesser der Stärkekörner der Stärkeisolate liegt ebenfalls im in der Literatur genannten Bereich zwischen 8 und 30 μm (Acker, L. et al., 1967, S. 217). Die Form der Stärkekörner der unerhitzten isolierten Stärken stimmt mit den Angaben von Gustav Gassner überein (Gassner, G., 1989, S. 100).

An den Stärkekörner der isolierten Stärken des vollfett Carioca Bohnenmehls sind, wie beim vollfett Bohnenmehl, kleine Öltröpfchen angelagert. Die lässt ebenfalls auf die Bindung der Amylose mit vorliegenden freien Fettsäuren und Fettsäurebausteinen von Glyceriden schließen (Gani, A. & Bilal, A.A., 2021, S. 5). Einzelne mit dem Programm „Analysis Pro“ gemessenen Längen und Breiten der Stärkekörner des unerhitzten Stärkeisolates des vollfett sowie des entölten Carioca Bohnenmehls sind in Anhang 15 zu sehen.

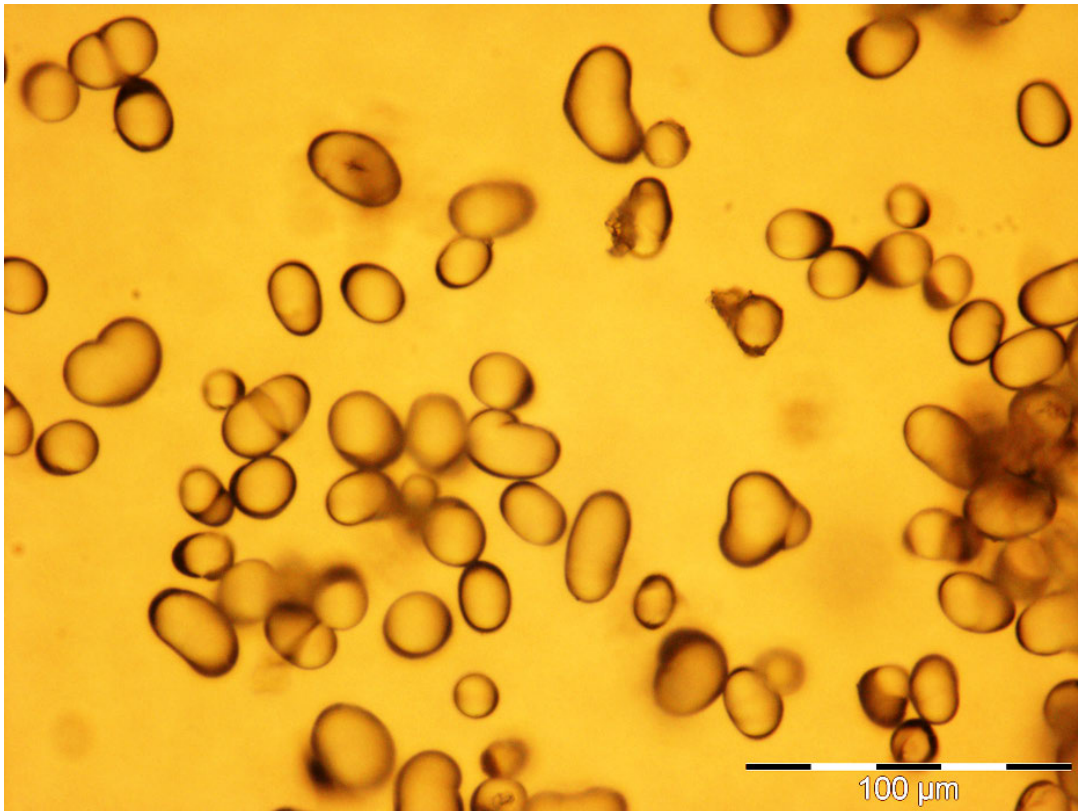


Abbildung 6: Mikroskopisches Erscheinungsbild der unerhitzten isolierten Stärke des vollfett Carioca Bohnenmehls

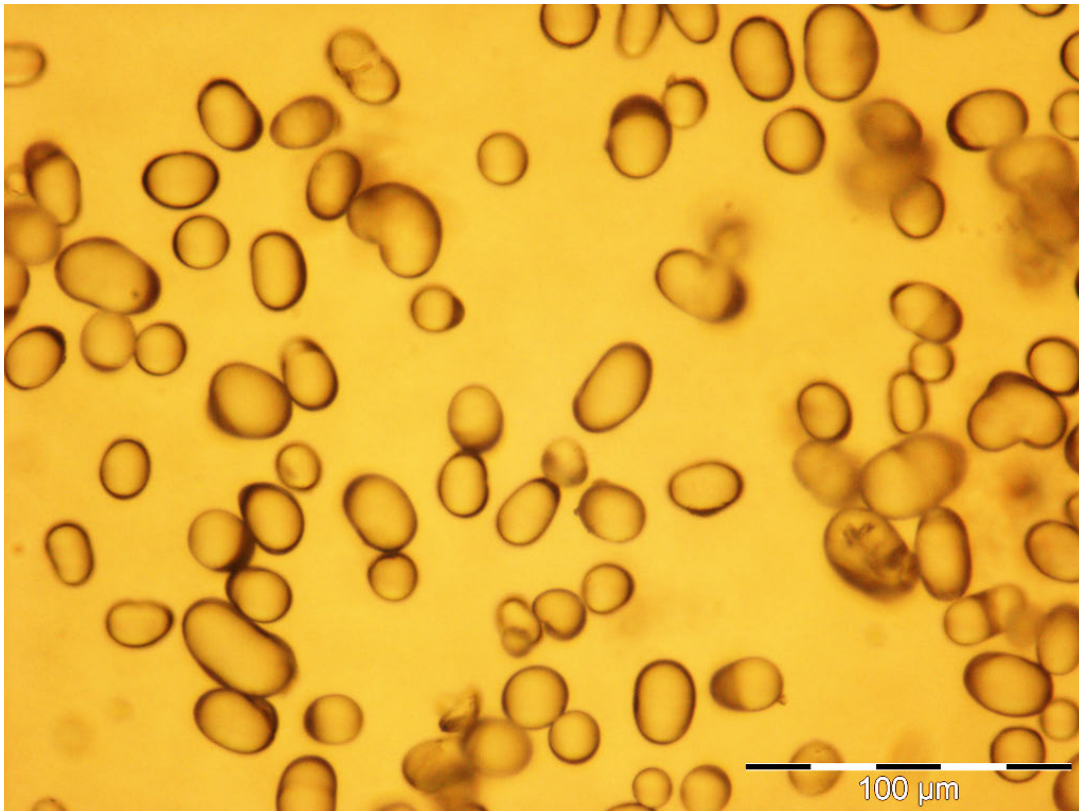


Abbildung 7: Mikroskopisches Erscheinungsbild der unerhitzten isolierten Stärke des entölte Carioca Bohnenmehls

4.6.3. Mikroskopisches Erscheinungsbild der isolierten Stärke des entölte und vollfett Carioca Bohnenmehls nach der Erhitzung auf 95 °C und auf 135 °C ohne Gefriertrocknung

In Abbildung 8 ist das Stärkeisolat des vollfett Carioca Bohnenmehls zu sehen, welche auf 95 °C und zusätzlich auf 135 °C zu einem Stärkegel erhitzt wurde. In Abbildung 9 ist das Stärkeisolat des entölte Carioca Bohnenmehls zu sehen, welche auf 95 °C und zusätzlich auf 135 °C für eine Minute zu einem Stärkegel erhitzt wurde. Die Stärkekörner beider Stärkeisolate sind durch die Erhitzung und Wasserzugabe gequollen und haben native Form verloren (Acker, L. et al., 1967, S. 179). Durch die Zugabe der Lugolschen Lösung (5 %) kann die Anwesenheit von Stärkekörnern nachgewiesen werden und diese besser sichtbar gemacht werden. Das Jod der Lugolschen Lösung (5 %) wird von den Stärkekörnern aufgenommen (Acker, L. et al., 1967, S. 198) und es kommt zu einer Blau- beziehungsweise Violettfärbung der Stärkekörner (Gassner, G., 1989, S. 13). In Abbildung 8 ist das mikroskopische Erscheinungsbild der isolierten Stärke des vollfett Carioca Bohnenmehls zu sehen. Die Stärkekörner sind durch die Erhitzung gequollen und haben das Jod aufgenommen und sich blauviolett gefärbt. Die Länge der Stärkekörner liegt zwischen 41 μm und 90 μm. Die Breite der Stärkekörner liegt zwischen 25 μm und 45 μm.

Durch die Quellung und Verkleisterung der Stärkekörner sind die Kernspalten der einzelnen Stärkekörner der isolierten Stärke des vollfett in Abbildung 8 als auch des entölten Stärkeisolates in Abbildung 9 hervorstechend zu erkennen (Gassner, G., 1989, S. 100).

In Abbildung 9 die sich blau- violett gefärbten gequollenen Stärkekörner der isolierten Stärke des entölten Carioca Bohnenmehls erkennen, welche eine Länge von 26 um bis 80 aufweisen. Die Breite der in Abbildung 9 zu erkennen Stärkekörner liegt bei 27 um.

Einzelne mit dem Programm „Analysis Pro“ gemessenen Längen und Breiten der Stärkekörner der Stärkeisolate des vollfett sowie des entölten Carioca Bohnenmehls, welche auf 95 °C und zusätzlich auf 135 °C erhitzt wurden, sind in Anhang 16 zu sehen.

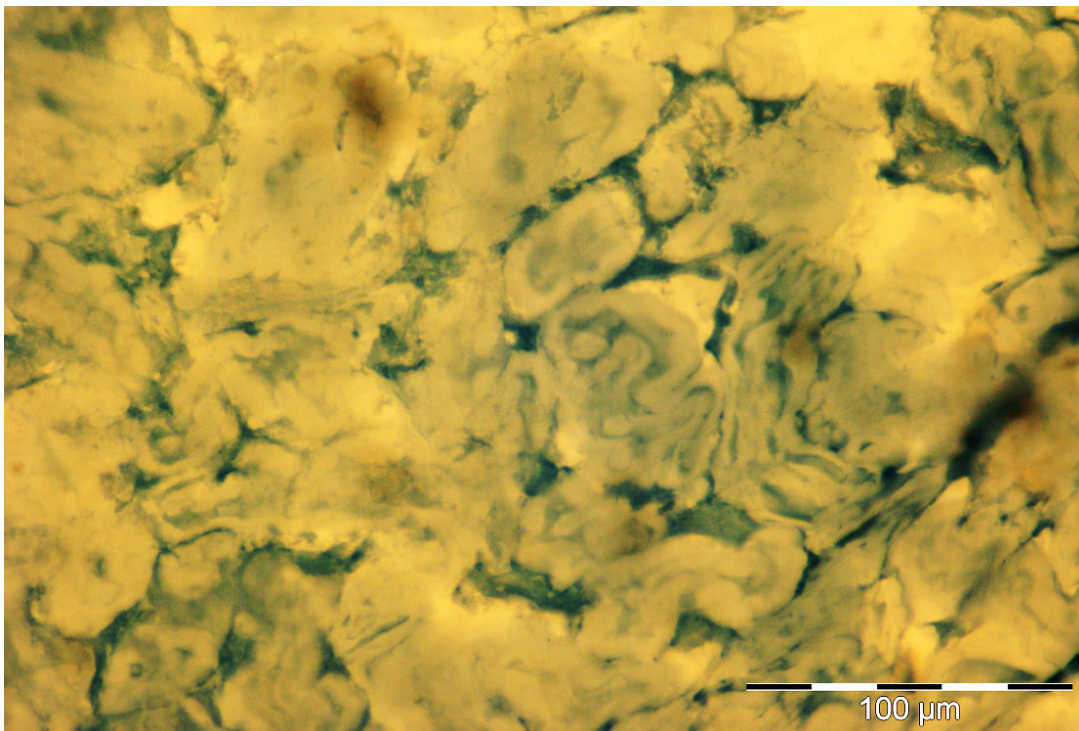


Abbildung 8: Mikroskopisches Erscheinungsbild der isolierten Stärke des vollfett Carioca Bohnenmehls nach Erhitzung auf 95 °C und zusätzlich auf 135 °C ohne Gefriertrocknung

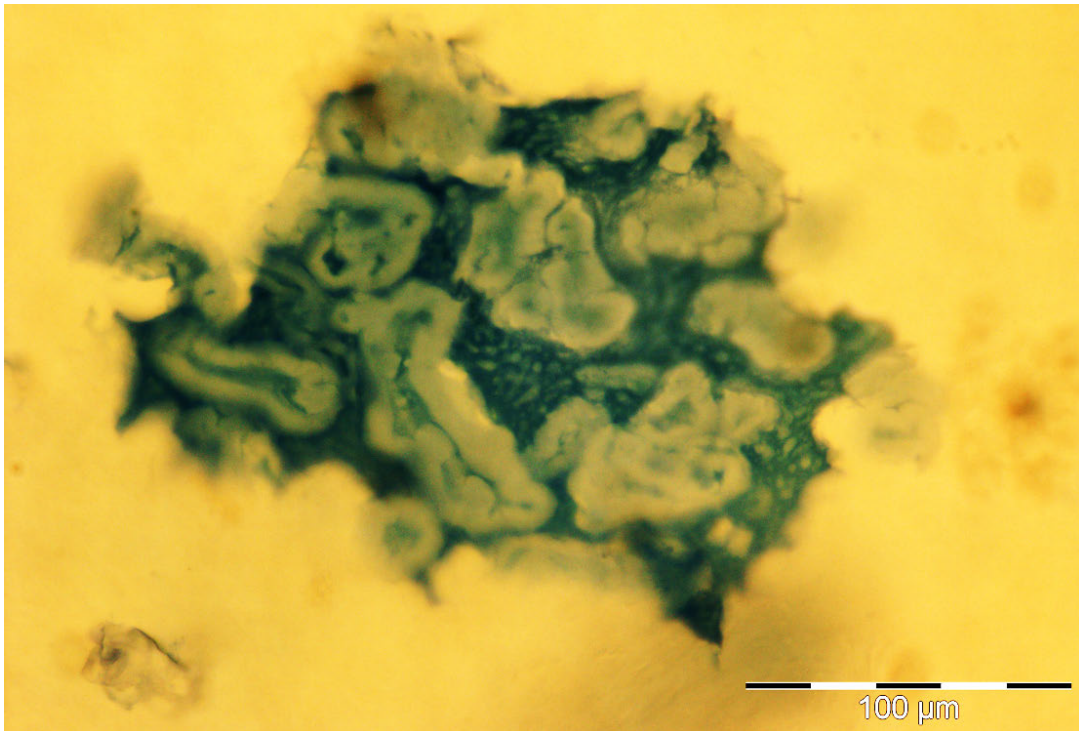


Abbildung 9: Mikroskopisches Erscheinungsbild der isolierten Stärke des entölten Carioca Bohnenmehls nach Erhitzung auf 95 °C und zusätzlich auf 135 °C ohne Gefriertrocknung

5. Schlussfolgerung

Ziel dieser Abschlussarbeit war es, herauszufinden welchen Einfluss die Entölung auf die chemische Zusammensetzung, ernährungsphysiologische Qualität und mikroskopische Struktur von Mehlen sowie daraus gewonnenen Protein- und Stärkefraktionen der geschälten Carioca Bohne (*Phaseolus vulgaris* L.) hat.

Hinsichtlich der Beurteilung des Einflusses der Entölung auf die funktionellen Eigenschaften können folgende Rückschlüsse gezogen werden. Durch die Bestimmung der Proteinlöslichkeit, nach der vom Fraunhofer-Institut angepassten Methode in Anlehnung an die Proteinlöslichkeitsbestimmung nach C.V.Morr (C. V. Morr et al., 1985), wurde das Ergebnis erzielt, dass die Entölung einen signifikanten Einfluss auf die Proteinlöslichkeit in Abhängigkeit zum pH-Wert aufgrund der Proteindenaturierung während der Ölextraktion ausübt und diese senkt. Die Entölung des Carioca Bohnenmehls hat einen signifikanten Einfluss auf dessen Wasser- und Ölbindevermögen, wobei das Ölbindevermögen nach der Entölung bei 1,2 % und das Wasserbindevermögen bei 1,9 % liegt. Bezüglich der chemischen Zusammensetzung des Carioca Bohnenmehls hat sich durch die Entölung der Stärkegehalt auf 25,2 % erhöht und der Fettgehalt auf 1,1 % verringert. Durch die Entölung des Carioca Bohnenmehls konnte dessen Amino Acid Score und der Protein Digestibility Corrected Amino Acid Score signifikant erhöht werden, während die In Vitro Digestibility nicht signifikant beeinflusst wurde. Die essenziellen Aminosäuren L-Cysteine und L-Methionine bilden die limitierenden Aminosäuren des Carioca Bohnenmehls sowie des Proteinisolates aus dem entölten Carioca Bohnenmehl. Das entölte Proteinisolat weist einen geringeren Wert für den AAS und den PDCAAS sowie eine erhöhte In Vitro Digestibility im Vergleich zum entölten Carioca Bohnenmehl auf. Die Entölung übt einen signifikanten Einfluss auf die Stärkeverdaulichkeit der RDS, SDS, RS und TDS des Carioca Bohnenmehls aus. Hinsichtlich der Stärkeverdaulichkeit des entölten Stärkeisolates hat die Entölung nur auf die TDS, nicht aber auf die Stärkeverdaulichkeit der RDS, SDS und RS, einen signifikanten Einfluss. Im Allgemeinen lässt sich schlussfolgern, dass die Stärkeisolate eine geringere Stärkeverdaulichkeit der RS und aufweisen als die Bohnenmehle und dass die Stärkeisolate einen höheren Gesamtstärkegehalt als die Carioca Bohnenmehle aufweisen. Die Proteinausbeute aus dem entölten Carioca Bohnenmehl liegt bei $34,7 \pm 0,3$ % und die Stärkeausbeute bei $96,0 \pm 2,5$ %. Da das aus dem entölten Carioca Bohnenmehl extrahierte Proteinisolat einen Proteingehalt von $70,0 \pm 0,4$ % und Stärkeisolat einen Stärkegehalt von $78,4 \pm 1,8$ % sind war die Extraktion der Protein- und Stärkefraktion nicht erfolgreich und es handelt sich um Protein- und Stärkekonzentrate. Die Längen Durchmesser und die Form der Stärkekörner des vollfett als auch entölten Carioca Bohnenmehls, sowie der Stärkeisolate liegen im in der Literatur genannten Bereich und sind durch die Entölung nicht beeinflusst worden.

Literaturverzeichnis

Acker, L., Diemair, W., Heimann, W., Kiermeier, F., Schormüller, J., & Souci, S. W. (1967). *Handbuch der Lebensmittelchemie- Kohlenhydratreiche Lebensmittel: Bd. 5/ Teil 1*. Springer Berlin.

Almeida, F.S., Dias, F.F.G., Sato, A.C.K., Leite, J.M., & Bell, N.de M. (2022). Scaling up the Two-Stage Countercurrent Extraction of Oil and Protein from Green Coffee Beans: Impact of Prolysis on Extractability, Protein Functionality, and Oil Recovery. 1794–1809. *Food and Bioprocess Technology*. <https://doi.org/10.1007/s11947-022-02831-2>

Becker, K.W. (1971, Juni 1). Processing of Oilseeds to Meal and Protein Flakes. *Journal of the American Oil Chemists Society*, Volume 48, Issue 6, 299–304. <https://doi.org/10.1007/BF02638466>

Bille, J. & Schlegel, W. (1999). *Medizinische Physik I*. Springer Berlin.
<https://doi.org/10.1007/978-3-642-58461-9>

Bundesinstitut für Risikobewertung. (2023, Januar). Bundesinstitut für Risikobewertung.
<http://www.bfr.bund.de/de/lebensmittelallergien-61267.html>, abgerufen am 18.03.2023

Costa, G.E. de A., Queiroz-Monici, K. da S., Reis, S.M.P.M., & Oliveira, A.C. de. (2006). Chemical composition, dietary fibre and resistant starch contents of raw and cooked pea, common bean, chickpea and lentil legumes. *Food Chemistry*, 94, Issue 3, 327–330. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2004.11.020>

Deutsche Gesellschaft für Ernährung e.V. (o. J.). Ausgewählte Fragen und Antworten zu veganer Ernährung. Deutsche Gesellschaft für Ernährung e.V. Abgerufen 4. Januar 2023, von <https://www.dge.de/wissenschaft/faqs/vegane-ernaehrung/>, abgerufen am 18.03.2023

Dipl. Lebm.-Chem. Melde, D. (2017). Einfluss der Entkeimung von Lupinensaatgut und Lupinenproteinisolen auf ausgewählte ernährungsphysiologische, sensorische und technofunktionelle Eigenschaften [Dissertation]. der Fakultät Mathematik und Naturwissenschaften der Technischen Universität Dresden.
<https://d-nb.info/114155769X/34>, abgerufen am 18.03.2023

Dipl.-Ing. Natsch, A. (2006). Untersuchung der Herstellbarkeit von Rapsproteinprodukten auf der Grundlage verschiedener Entölungungsverfahren [Dissertation]. Der Technischen Universität Berlin.

<https://api-depositonce.tu-berlin.de/server/api/core/bitstreams/66565781-8fea-4df9-a836-231179e47bef/content>, abgerufen am 18.03.2023

Dipl.-Ing.Dazert, D. (2004). Untersuchung der Entölbbarkeit von Sojamehl zur Herstellung von Sojaproteinprodukten. Fakultät III Prozesswissenschaften der Technischen Universität.
<https://docplayer.org/81987137-Untersuchung-der-entoeelbarkeit-von-sojamehl-zur-herstellung-von-sojaproteinprodukten.html>, abgerufen am 18.03.2023

Dr. Pabel, B. & Schiller, S. (2017). Basiswissen zu veganen Lebensmittel in Theorie und Praxis. 5, 1–12.

Ferreira, K.C., Bento, J.A.C., Caliari, M., Bassinello, P.Z., & Berrios, J. de J. (2022). Dry bean proteins: Extraction methods, functionality, and application in products for human consumption. *Cereal Chemistry*, Volume 99(Issue 1), 67–77. <https://doi.org/10.1002/cche.10514>

Föllner, M. & Stangl, G.I. (2021). *Ernährung – Physiologische und Praktische Grundlagen*. Springer Spektrum Berlin.

Gani, A. & Bilal, A.A. (2021). *Food biopolymers: Structural, functional and nutraceutical properties* (1. Aufl.). Springer Cham.

Gassner, G. (1989). *Mikroskopische Untersuchungen pflanzlicher Lebensmittel und Futtermittel* (5., neubearb. von Berthold Hohmann u. Fritz Deutschmann Aufl.). Gustav Fischer Verlag.

Heinrich, P.C., Müller, M., & Graeve, L. (2014). *Biochemie und Pathobiochemie*. Springer Berlin. <https://doi.org/10.1007/978-3-642-17972-3>

König, D., Carlsohn, A., Braun, H., Großhauser, M., Lampen, A., Mosler, S., Nieß, A., Schäbenthal, K., Schek, A., Virmani, K., Ziegenhagen, R., & Hesecker, H. (2020). Proteinzufuhr im Sport. *Ernaehrungs Umschau international*, 132–139.

Kottelmann, V. (2022). Erarbeitung eines Extraktionsverfahrens zur Gewinnung von Protein- und Stärkefraktionen aus der Carioca Bohne (*Phaseolus vulgaris* L.) und deren Charakterisierung (S. 1–63) [Bachelorarbeit]. Technische Universität München.

Los, F.G.B., Chezini, A., Piroski, C.S., Lacerda, L.G., Nogueira, A., & Demiate, I.M. (2021). Evaluation of Physicochemical Properties of Starch from Brazilian Carioca Beans (*Phaseolus vulgaris*). *Starch*, 74, 1–6.

Megazyme. (2019). “PROTEIN DIGESTIBILITY, K-PDCAAS 12/19“.

Morr, C. V., German, B., Kinsella, J.E., Regenstein, J.M., Van Buren, J.P., Kilara, A., Lewis, B.A., & Mangino, M.E. (1985). A Collaborative Study to Develop a Standardized Food Protein Solubility Procedure. *JOURNAL OF FOOD SCIENCE*, Volume 50, 1715–1718.

<https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.1985.tb10572.x>

Morr, C.V. & Ha, E.Y. (1993). Whey protein concentrates and isolates: Processing and functional properties. 33, 431–476. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*

<https://doi.org/10.1080/10408399309527643>

Rassow, J., Netzker, R., & Hauser, K. (2022). *Duale Reihe Biochemie* (5. vollständig überarbeitete Edition). Thieme.

Santos, F.Q., Carneiro, J.E. de S., Pimentel, L.D., Queiroz, G.D. de, & Borém, A. (2015). ESTRATÉGIAS PARA O CONTROLE DO MOFO-BRANCO NA CULTURA DO FEIJOEIRO (*Phaseolus vulgaris* L.) (S. 13–18). UNIVERSIDADE FEDERAL DE VIÇOSA DEPARTAMENTO DE FITOTECNIA. <https://www.agn.ufv.br/wp-content/uploads/2017/08/SantosF.Q.-73619.pdf>, abgerufen am 18.03.2023

Sawada, M.M., Venâncio, L.L., Toda, T.A., & Rodrigues, C.E.C. (2014). Effects of different alcoholic extraction conditions on soybean oil yield, fatty acid composition and protein solubility of defatted meal. 62, 662–670. *Food Research International*,

<https://doi.org/10.1016/j.foodres.2014.04.039>

Schünke, G., Kuhlmann, D., & Lau, W. (1997). *Arbeitsbuch orthomolekulare Medizin: Bestandteile unserer Nahrung zur Prophylaxe und in der Therapie; [Vitamine, Mineralstoffe, Spurenelemente; mit integriertem Lexikon]*. Georg Thieme Verlag.

Stephan, A. (2018). Produktentwicklung von innovativen Lebensmitteln auf Basis einer alternativen Proteinquelle aus Basidiomyceten [Dissertation]. Institut für Lebensmittelchemie und Lebensmittelbiotechnologie. <http://geb.uni-giessen.de/geb/volltexte/2018/13835/>, angerufen am 18.03.2023

Tauber, R. & Perschel, F.H. (2019). *Lexikon der Medizinischen Laboratoriumsdiagnostik* (A. M. Gressner & T. Arndt, Hrsg.). Springer Berlin.

Universität zu Köln- Institut für Chemie und ihre Didaktik. (o. J.). Fette. Fette. Abgerufen 9. Januar 2023, von <http://www.uni-koeln.de/math-nat-fak/didaktiken/chemie/schokomaterialien/p9.pdf>

W. Baltes. (1995). Lebensmittelchemie. Springer- Verlag.

Westphal, G., Gerber, G., & Lipke, B. (2003). *Proteine—Nutritive und funktionelle Eigenschaften*. Springer Berlin.

Wille, G. & Reitz, J. (2020). Kristallisation von Proteinen (S. 1–8). Institut für Biophysik Johann Wolfgang-Goethe-Universität. http://www.biophys.uni-frankfurt.de/~wille/prakt/anleitungen/12_proteinkristallisation.pdf, abgerufen am 18.03.2023

Anhang

1. ANOVA Proteinlöslichkeit in Abhängigkeit zum pH-Wert mittels Microsoft Excel

Anova: Single Factor						
SUMMARY						
Groups	Count	Sum	Average	Variance		
Vollfett Mehl pH 4,0	2	75,41215181	37,7060759	1,80717936		
Entöltes Mehl pH 4,0	4	124,8730498	31,21826244	2,79463694		
ANOVA						
Source of Variation	SS	df	MS	F	P-value	F crit
Between Groups	56,122298	1	56,12229799	22,027986	0,00935	7,708647422
Within Groups	10,1910902	4	2,547772541			
Total	66,3133882	5				

Anova: Single Factor						
SUMMARY						
Groups	Count	Sum	Average	Variance		
Vollfett Mehl pH 4,5	3	133,1097148	44,36990494	72,2179231		
Entöltes Mehl pH 4,5	4	158,303105	39,57577626	1,74134209		
ANOVA						
Source of Variation	SS	df	MS	F	P-value	F crit
Between Groups	39,4005769	1	39,40057688	1,31633738	0,30317	6,607890974
Within Groups	149,659873	5	29,9319745			
Total	189,060449	6				

Anova: Single Factor						
SUMMARY						
Groups	Count	Sum	Average	Variance		
Vollfett Mehl pH 7,0	2	160,6088719	80,30443594	0		
Entöltes Mehl pH 7,0	4	285,0162676	71,25406689	1,39272994		
ANOVA						
Source of Variation	SS	df	MS	F	P-value	F crit
Between Groups	109,21224	1	109,2122398	104,554599	0,00052	7,708647422
Within Groups	4,17818982	4	1,044547455			
Total	113,39043	5				

2. ANOVA- Auswertung der Proteinverdaulichkeit des vollfett und des entöltten Carioca Bohnenmehls mittels RStudio

```
> t.test(Nathalie_Otter_Proteinverdauung_Richtig$`Mehl vollfett 10 IDV`, Nathalie_Otter_Proteinverdauung_Richtig$`Mehl entölt 10 IDV`,
# Daten
+ alternative = 'g',      # rechts
+ paired = T)

Paired t-test

data: Nathalie_Otter_Proteinverdauung_Richtig$`Mehl vollfett 10 IDV` and Nathalie_Otter_Proteinverdauung_Richtig$`Mehl entölt 10 IDV`
t = 0.5, df = 1, p-value = 0.3524
alternative hypothesis: true mean difference is greater than 0
95 percent confidence interval:
 -0.116275      Inf
sample estimates:
mean difference
      0.01

> qt(0.95, 1)# rechts (1-alpha, df-1)
[1] 6.313752
>
```

```
> t.test(Nathalie_Otter_Proteinverdauung_Richtig$`Mehl vollfett 10 AAS`, Nathalie_Otter_Proteinverdauung_Richtig$`Mehl entölt 10 AAS`,
# Daten
+ alternative = 'g',      # rechts
+ paired = T)

Paired t-test

data: Nathalie_Otter_Proteinverdauung_Richtig$`Mehl vollfett 10 AAS` and Nathalie_Otter_Proteinverdauung_Richtig$`Mehl entölt 10 AAS`
t = -331, df = 1, p-value = 0.999
alternative hypothesis: true mean difference is greater than 0
95 percent confidence interval:
 -0.1686569      Inf
sample estimates:
mean difference
      -0.1655

> qt(0.95, 1)# rechts (1-alpha, df-1)
[1] 6.313752
>
```

```
> t.test(Nathalie_Otter_Proteinverdauung_Richtig$`Mehl vollfett 10 PDCAAS`, Nathalie_Otter_Proteinverdauung_Richtig$`Mehl entölt 10 PDCAAS`,
# Daten
+ alternative = 'g',      # rechts
+ paired = T)

Paired t-test

data: Nathalie_Otter_Proteinverdauung_Richtig$`Mehl vollfett 10 PDCAAS` and Nathalie_Otter_Proteinverdauung_Richtig$`Mehl entölt 10 PDCAAS`
t = -4.3333, df = 1, p-value = 0.9278
alternative hypothesis: true mean difference is greater than 0
95 percent confidence interval:
 -0.3194125      Inf
sample estimates:
mean difference
      -0.13

> qt(0.95, 1)# rechts (1-alpha, df-1)
[1] 6.313752
>
```


3. Einzelwerte der Doppelbestimmung der In Vitro Digestibility, (IVD) dem Amino Acid Score (AAS) und der Protein Digestibility Corrected Amino Acid Score (PDCAAS) der Proteinisolate aus dem entölten Carioca Bohnenmehl

	Proteinisolat 1		Proteinisolate 2	
IVD	0,75	1,05	0,77	1,03
AAS	0,81	0,81	0,84	0,84
PDCAAS	0,61	0,85	0,65	0,87

4. Aminosäureprofil des vollfett und entölt Carioca Bohnenmehls

AGROLAB LUFA GmbH

Dr.-Hell-Str. 6, 24107 Kiel, Germany
www.agrolab.de



AGROLAB LUFA Dr.-Hell-Str. 6, 24107 Kiel

Fraunhofer IVV
Giggenhauser Str. 35
85354 Freising

Datum 14.12.2022
Kundenr. 10043559

PRÜFBERICHT

Auftrag	3181687	Auftraggeberin: Frau Ignatzy
Analysenr.	699212	
Probeneingang	05.12.2022	
Probenahme	keine Angabe	
Probennehmer	Auftraggeber	
Kunden-Probenbezeichnung	Bohnenmehl 1 (vollfett)	
Produktkennung	PB_MK	
Verpackung	1x Kunststoffbehälter, 60g	

Einheit Ergebnis Deklaration Substanz Methode

Aminosäuren

Lysin	%	1,33		OS	VO(EG) 152/2009, III, F : 2009-01 (mod.)
Methionin, bestimmt als Methioninsulfon	%	0,22		OS	VO(EG) 152/2009, III, F : 2009-01 (mod.)
Cyst(e)in, bestimmt als Cysteinsäure	%	0,19		OS	VO(EG) 152/2009, III, F : 2009-01 (mod.)
Asparaginsäure	%	2,21		OS	VO(EG) 152/2009, III, F : 2009-01 (mod.)
Threonin	%	0,80		OS	VO(EG) 152/2009, III, F : 2009-01 (mod.)
Serin	%	1,06		OS	VO(EG) 152/2009, III, F : 2009-01 (mod.)
Glutaminsäure	%	2,93		OS	VO(EG) 152/2009, III, F : 2009-01 (mod.)
Prolin	%	0,65		OS	VO(EG) 152/2009, III, F : 2009-01 (mod.)
Glycin	%	0,78		OS	VO(EG) 152/2009, III, F : 2009-01 (mod.)
Alanin	%	0,87		OS	VO(EG) 152/2009, III, F : 2009-01 (mod.)
Valin	%	1,13		OS	VO(EG) 152/2009, III, F : 2009-01 (mod.)
Isoleucin	%	0,96		OS	VO(EG) 152/2009, III, F : 2009-01 (mod.)
Leucin	%	1,64		OS	VO(EG) 152/2009, III, F : 2009-01 (mod.)
Tyrosin	%	0,57		OS	VO(EG) 152/2009, III, F : 2009-01 (mod.)
Phenylalanin	%	1,04		OS	VO(EG) 152/2009, III, F : 2009-01 (mod.)
Histidin	%	0,55		OS	VO(EG) 152/2009, III, F : 2009-01 (mod.)
Arginin	%	1,03		OS	VO(EG) 152/2009, III, F : 2009-01 (mod.)
Tryptophan	%	0,22		OS	VO(EG) 152/2009, III, G : 2009-01 (mod.)
Summe Aminosäuren	%	18,2		OS	Berechnung

Die parameterspezifischen analytischen Messunsicherheiten sowie Informationen zum Berechnungsverfahren sind auf Anfrage verfügbar, sofern die berichteten Ergebnisse oberhalb der parameterspezifischen Bestimmungsgrenze liegen.

Erläuterung: Substanz: OS=Originalsubstanz, TS=Trockensubstanz

DOC-021768292-0E-F1

AG Kiel
HRB 5796
Ust./VAT-ID-Nr:
DE 813 356 511

Geschäftsführer
Dr. Paul Wimmer
Dr. Stephanie Nagorny



Seite 1 von 2

AGROLAB LUFA Dr.-Hell-Str. 6, 24107 Kiel

Fraunhofer IVV
Giggenhauser Str. 35
85354 Freising

Datum 14.12.2022
Kundennr. 10043559

PRÜFBERICHT

Auftrag **3181687** Auftraggeberin: Frau Ignatzy
 Analysennr. **699213**
 Probeneingang **05.12.2022**
 Probenahme **keine Angabe**
 Probenehmer **Auftraggeber**
 Kunden-Probenbezeichnung **Bohnenmehl 2 (entölt)**
 Produktkennung **PB_MO**
 Verpackung **1x Kunststoffbehälter, 60g**

Die in diesem Dokument berichteten Verfahren sind gemäß DIN EN ISO/IEC 17025:2018 akkreditiert. Ausschließlich nicht akkreditierte Verfahren sind mit dem Symbol (*) gekennzeichnet.

	Einheit	Ergebnis	Deklaration	Substanz	Methode
Aminosäuren					
Lysin	%	1,43		OS	VO(EG) 152/2009, III, F : 2009-01 (mod.)
Methionin, bestimmt als Methioninsulfon	%	0,25		OS	VO(EG) 152/2009, III, F : 2009-01 (mod.)
Cyst(e)in, bestimmt als Cysteinsäure	%	0,23		OS	VO(EG) 152/2009, III, F : 2009-01 (mod.)
Asparaginsäure	%	2,38		OS	VO(EG) 152/2009, III, F : 2009-01 (mod.)
Threonin	%	0,88		OS	VO(EG) 152/2009, III, F : 2009-01 (mod.)
Serin	%	1,14		OS	VO(EG) 152/2009, III, F : 2009-01 (mod.)
Glutaminsäure	%	3,19		OS	VO(EG) 152/2009, III, F : 2009-01 (mod.)
Prolin	%	0,81		OS	VO(EG) 152/2009, III, F : 2009-01 (mod.)
Glycin	%	0,83		OS	VO(EG) 152/2009, III, F : 2009-01 (mod.)
Alanin	%	0,90		OS	VO(EG) 152/2009, III, F : 2009-01 (mod.)
Valin	%	1,12		OS	VO(EG) 152/2009, III, F : 2009-01 (mod.)
Isoleucin	%	0,97		OS	VO(EG) 152/2009, III, F : 2009-01 (mod.)
Leucin	%	1,65		OS	VO(EG) 152/2009, III, F : 2009-01 (mod.)
Tyrosin	%	0,59		OS	VO(EG) 152/2009, III, F : 2009-01 (mod.)
Phenylalanin	%	1,09		OS	VO(EG) 152/2009, III, F : 2009-01 (mod.)
Histidin	%	0,58		OS	VO(EG) 152/2009, III, F : 2009-01 (mod.)
Arginin	%	1,17		OS	VO(EG) 152/2009, III, F : 2009-01 (mod.)
Tryptophan	%	0,22		OS	VO(EG) 152/2009, III, G : 2009-01
Summe Aminosäuren	%	19,4		OS	Berechnung

Die parameterspezifischen analytischen Messunsicherheiten sowie Informationen zum Berechnungsverfahren sind auf Anfrage verfügbar, sofern die berichteten Ergebnisse oberhalb der parameterspezifischen Bestimmungsgrenze liegen.

Erläuterung: Substanz: OS=Originalsubstanz, TS=Trockensubstanz

AG Kiel
HRB 5796
Ust./VAT-ID-Nr:
DE 813 356 511

Geschäftsführer
Dr. Paul Wimmer
Dr. Stephanie Nagorny



5. Aminosäureprofil des Proteinisolates der beiden entölte Mehlproben der Carioca Bohne

AGROLAB LUFA GmbH

Dr.-Hell-Str. 6, 24107 Kiel, Germany
www.agrolab.de



AGROLAB LUFA Dr.-Hell-Str. 6, 24107 Kiel

Fraunhofer IVV
Giggenhauser Str. 35
85354 Freising

Datum 14.12.2022
Kundennr. 10043559

PRÜFBERICHT

Auftrag **3181699** Auftraggeberin: Frau Ignatzy
 Analysennr. **699214**
 Probeneingang **05.12.2022**
 Probenahme **keine Angabe**
 Probenehmer **Auftraggeber**
 Kunden-Probenbezeichnung **Proteinisolat 1**
 Produktkennung **PB_M1_PI**
 Verpackung **1x Kunststoffbehälter, 40g**

Die in diesem Dokument berichteten Verfahren sind gemäß DIN EN ISO/IEC 17025:2018 akkreditiert. Ausschließlich nicht akkreditierte Verfahren sind mit dem Symbol "*" gekennzeichnet.

	Einheit	Ergebnis	Deklaration	Substanz	Methode
Aminosäuren					
Lysin	%	5,93		OS	VO(EG) 152/2009, III, F: 2009-01 (mod.)
Methionin, bestimmt als Methioninsulfon	%	0,87		OS	VO(EG) 152/2009, III, F: 2009-01 (mod.)
Cyst(e)in, bestimmt als Cysteinsäure	%	0,44		OS	VO(EG) 152/2009, III, F: 2009-01 (mod.)
Asparaginsäure	%	9,58		OS	VO(EG) 152/2009, III, F: 2009-01 (mod.)
Threonin	%	2,95		OS	VO(EG) 152/2009, III, F: 2009-01 (mod.)
Serin	%	4,69		OS	VO(EG) 152/2009, III, F: 2009-01 (mod.)
Glutaminsäure	%	13,1		OS	VO(EG) 152/2009, III, F: 2009-01 (mod.)
Prolin	%	3,09		OS	VO(EG) 152/2009, III, F: 2009-01 (mod.)
Glycin	%	3,04		OS	VO(EG) 152/2009, III, F: 2009-01 (mod.)
Alanin	%	3,10		OS	VO(EG) 152/2009, III, F: 2009-01 (mod.)
Valin	%	4,23		OS	VO(EG) 152/2009, III, F: 2009-01 (mod.)
Isoleucin	%	3,95		OS	VO(EG) 152/2009, III, F: 2009-01 (mod.)
Leucin	%	6,99		OS	VO(EG) 152/2009, III, F: 2009-01 (mod.)
Tyrosin	%	3,02		OS	VO(EG) 152/2009, III, F: 2009-01 (mod.)
Phenylalanin	%	5,02		OS	VO(EG) 152/2009, III, F: 2009-01 (mod.)
Histidin	%	2,53		OS	VO(EG) 152/2009, III, F: 2009-01 (mod.)
Arginin	%	4,68		OS	VO(EG) 152/2009, III, F: 2009-01 (mod.)
Tryptophan	%	0,73		OS	VO(EG) 152/2009, III, G: 2009-01 (mod.)
Summe Aminosäuren	%	77,9		OS	Berechnung

Die parameterspezifischen analytischen Messunsicherheiten sowie Informationen zum Berechnungsverfahren sind auf Anfrage verfügbar, sofern die berichteten Ergebnisse oberhalb der parameterspezifischen Bestimmungsgrenze liegen.

Erläuterung: Substanz: OS=Originalsubstanz, TS=Trockensubstanz

AG Kiel
HRB 5796
Ust./VAT-ID-Nr.
DE 813 356 511

Geschäftsführer
Dr. Paul Wimmer
Dr. Stephanie Nagorny



Seite 1 von 2

DOC-18-17862314-DE-P1

AGROLAB LUFA GmbH

Dr.-Hell-Str. 6, 24107 Kiel, Germany
www.agrolab.de



AGROLAB LUFA Dr.-Hell-Str. 6, 24107 Kiel

Fraunhofer IVV
Giggenhauser Str. 35
85354 Freising

Datum 14.12.2022
Kundennr. 10043559

PRÜFBERICHT

Auftrag **3181699** Auftraggeberin: Frau Ignatzy
 Analysennr. **699217**
 Probeneingang **05.12.2022**
 Probenahme **keine Angabe**
 Probenehmer **Auftraggeber**
 Kunden-Probenbezeichnung **Proteinisolat 2**
 Produktkennung **PB_M2_PI**
 Verpackung **1x Kunststoffbehälter, 40g**

Die in diesem Dokument berichteten Verfahren sind gemäß DIN EN ISO/IEC 17025:2018 akkreditiert. Ausschließlich nicht akkreditierte Verfahren sind mit dem Symbol "*" gekennzeichnet.

	Einheit	Ergebnis	Deklaration	Substanz	Methode
Aminosäuren					
Lysin	%	5,82		OS	VO(EG) 152/2009, III, F: 2009-01 (mod.)
Methionin, bestimmt als Methioninsulfon	%	0,89		OS	VO(EG) 152/2009, III, F: 2009-01 (mod.)
Cyst(e)in, bestimmt als Cysteinsäure	%	0,46		OS	VO(EG) 152/2009, III, F: 2009-01 (mod.)
Asparaginsäure	%	9,49		OS	VO(EG) 152/2009, III, F: 2009-01 (mod.)
Threonin	%	2,94		OS	VO(EG) 152/2009, III, F: 2009-01 (mod.)
Serin	%	4,70		OS	VO(EG) 152/2009, III, F: 2009-01 (mod.)
Glutaminsäure	%	12,9		OS	VO(EG) 152/2009, III, F: 2009-01 (mod.)
Prolin	%	3,02		OS	VO(EG) 152/2009, III, F: 2009-01 (mod.)
Glycin	%	3,05		OS	VO(EG) 152/2009, III, F: 2009-01 (mod.)
Alanin	%	3,14		OS	VO(EG) 152/2009, III, F: 2009-01 (mod.)
Valin	%	4,35		OS	VO(EG) 152/2009, III, F: 2009-01 (mod.)
Isoleucin	%	3,88		OS	VO(EG) 152/2009, III, F: 2009-01 (mod.)
Leucin	%	7,00		OS	VO(EG) 152/2009, III, F: 2009-01 (mod.)
Tyrosin	%	2,88		OS	VO(EG) 152/2009, III, F: 2009-01 (mod.)
Phenylalanin	%	4,86		OS	VO(EG) 152/2009, III, F: 2009-01 (mod.)
Histidin	%	2,53		OS	VO(EG) 152/2009, III, F: 2009-01 (mod.)
Arginin	%	4,65		OS	VO(EG) 152/2009, III, F: 2009-01 (mod.)
Tryptophan	%	0,70		OS	VO(EG) 152/2009, III, G: 2009-01 (mod.)
Summe Aminosäuren	%	77,3		OS	Berechnung

Die parameterspezifischen analytischen Messunsicherheiten sowie Informationen zum Berechnungsverfahren sind auf Anfrage verfügbar, sofern die berichteten Ergebnisse oberhalb der parameterspezifischen Bestimmungsgrenze liegen.

Erläuterung: Substanz: OS=Originalsubstanz, TS=Trockensubstanz

Seite 1 von 2

AG Kiel
HRB 5796
USt/VAT-ID-Nr:
DE 813 356 511

Geschäftsführer
Dr. Paul Wimmer
Dr. Stephanie Nagorny



DOC-18-1785314-DE-F3

6. ANOVA- Auswertung der Stärkeverdaulichkeit des Carioca Bohnenmehls mittels RStudio

```
> ANOVA(Stärkeverdaulichkeit, Stärkeverdaulichkeit$`Vollfett Mehl RDS`, Stärkeverdaulichkeit$`Entöltetes Mehl RDS`,0.05)
      Attribut      Wert
1      Totale Quadratsumme (ANOVA) 14.96026
2      Treatmentquadratsumme (ANOVA) 14.96015
3      Fehlerquadratsumme (ANOVA) 0.00011
4      Gesamtfreiheitsgrade (ANOVA) 7
5      Treatmentfreiheitsgrade (ANOVA) 4
6      Fehlerfreiheitsgrade (ANOVA) 3
7      Fehlervarianz (ANOVA) 4e-05
8      Treatmentvarianz (ANOVA) 3.74004
9      Prüfgröße F (ANOVA) 93501
10     F_kritisch (ANOVA) 9.11718
11 Empirisches Signifikanzniveau (p-Wert) (ANOVA) 0
12     p-Wert (ANOVA) < alpha (ANOVA)? Ja
13     HO_ANOVA_ablehnen? Ja
>
```

```
> ANOVA(Stärkeverdaulichkeit, Stärkeverdaulichkeit$`Vollfett Mehl SDS`, Stärkeverdaulichkeit$`Entöltetes Mehl SDS`,0.05)
      Attribut      Wert
1      Totale Quadratsumme (ANOVA) 50.76996
2      Treatmentquadratsumme (ANOVA) 50.76924
3      Fehlerquadratsumme (ANOVA) 0.00072
4      Gesamtfreiheitsgrade (ANOVA) 7
5      Treatmentfreiheitsgrade (ANOVA) 4
6      Fehlerfreiheitsgrade (ANOVA) 3
7      Fehlervarianz (ANOVA) 0.00024
8      Treatmentvarianz (ANOVA) 12.69231
9      Prüfgröße F (ANOVA) 52884.625
10     F_kritisch (ANOVA) 9.11718
11 Empirisches Signifikanzniveau (p-Wert) (ANOVA) 0
12     p-Wert (ANOVA) < alpha (ANOVA)? Ja
13     HO_ANOVA_ablehnen? Ja
>
```

```
> ANOVA(Stärkeverdaulichkeit, Stärkeverdaulichkeit$`Vollfett Mehl TDS`, Stärkeverdaulichkeit$`Entöltetes Mehl TDS`,0.05)
      Attribut      Wert
1      Totale Quadratsumme (ANOVA) 139.25437
2      Treatmentquadratsumme (ANOVA) 139.25433
3      Fehlerquadratsumme (ANOVA) 4e-05
4      Gesamtfreiheitsgrade (ANOVA) 7
5      Treatmentfreiheitsgrade (ANOVA) 6
6      Fehlerfreiheitsgrade (ANOVA) 1
7      Fehlervarianz (ANOVA) 4e-05
8      Treatmentvarianz (ANOVA) 23.20905
9      Prüfgröße F (ANOVA) 580226.25
10     F_kritisch (ANOVA) 233.986
11 Empirisches Signifikanzniveau (p-Wert) (ANOVA) 0.00095
12     p-Wert (ANOVA) < alpha (ANOVA)? Ja
13     HO_ANOVA_ablehnen? Ja
>
```

```
> ANOVA(Stärkeverdaulichkeit, Stärkeverdaulichkeit$`Vollfett Mehl RS`, Stärkeverdaulichkeit$`Entöltetes Mehl RS`,0.05)
      Attribut      Wert
1      Totale Quadratsumme (ANOVA) 2.00217
2      Treatmentquadratsumme (ANOVA) 2.00197
3      Fehlerquadratsumme (ANOVA) 2e-04
4      Gesamtfreiheitsgrade (ANOVA) 3
5      Treatmentfreiheitsgrade (ANOVA) 2
6      Fehlerfreiheitsgrade (ANOVA) 1
7      Fehlervarianz (ANOVA) 2e-04
8      Treatmentvarianz (ANOVA) 1.00099
9      Prüfgröße F (ANOVA) 5004.95
10     F_kritisch (ANOVA) 199.5
11 Empirisches Signifikanzniveau (p-Wert) (ANOVA) 0.01006
12     p-Wert (ANOVA) < alpha (ANOVA)? Ja
13     HO_ANOVA_ablehnen? Ja
>
```

7. ANOVA- Auswertung der Stärkeverdaulichkeit der Stärkeisolate des vollfett und des entöl-
ten Carioca Bohnenmehls mittels Microsoft Excel

Anova: Single Factor						
SUMMARY						
Groups	Count	Sum	Average	Variance		
Entöltes Mehl IS RDS	4	53,47302544	13,36825636	6,478739505		
Vollfett Mehl IS RDS	4	54,68090656	13,67022664	3,881010837		
ANOVA						
Source of Variation	SS	df	MS	F	P-value	F crit
Between Groups	0,1823721	1	0,1823721	0,035207817	0,857345543	5,987377607
Within Groups	31,07925103	6	5,179875171			
Total	31,26162313	7				

Anova: Single Factor						
SUMMARY						
Groups	Count	Sum	Average	Variance		
Entöltes Mehl IS SDS	6	233,2475261	38,87458768	15,26214774		
Vollfett Mehl IS SDS	6	213,8774386	35,64623976	14,48573969		
ANOVA						
Source of Variation	SS	df	MS	F	P-value	F crit
Between Groups	31,26669083	1	31,26669083	2,102111681	0,177724034	4,964602744
Within Groups	148,7394371	10	14,87394371			
Total	180,006128	11				

Anova: Single Factor						
SUMMARY						
Groups	Count	Sum	Average	Variance		
Entöltes Mehl IS RS	4	12,28915829	3,072289572	0,687991106		
Vollfett Mehl IS RS	4	16,07278763	4,018196908	0,64254201		
ANOVA						
Source of Variation	SS	df	MS	F	P-value	F crit
Between Groups	1,789481378	1	1,789481378	2,689871236	0,15209858	5,987377607
Within Groups	3,991599346	6	0,665266558			
Total	5,781080723	7				

Anova: Single Factor						
SUMMARY						
Groups	Count	Sum	Average	Variance		
Entöltes Mehl IS TDS	4	301,1638037	75,29095093	1,900498685		
Vollfett Mehl IS TDS	4	281,3336583	70,33341458	6,841630368		
ANOVA						
Source of Variation	SS	df	MS	F	P-value	F crit
Between Groups	49,15433338	1	49,15433338	11,24539185	0,015354286	5,987377607
Within Groups	26,22638716	6	4,371064526			
Total	75,38072054	7				

8. Rechtseitiger T-Test erhitzte Stärkeisolate mit und ohne zusätzliche Erhitzung mit Autoklav mittels RStudio

```
> t.test(t_Test_erhitzte_ISS`Entöltes Mehl_EIS_ohne Autoklav RDS`, t_Test_erhitzte_ISS`Entöltes Mehl_EIS_mit Autoklav RDS`,
Daten
+ alternative = 'g', # rechts
+ paired = T)

Paired t-test

data: t_Test_erhitzte_ISS`Entöltes Mehl_EIS_ohne Autoklav RDS` and t_Test_erhitzte_ISS`Entöltes Mehl_EIS_mit Autoklav RDS`
t = 3.2476, df = 7, p-value = 0.007052
alternative hypothesis: true mean difference is greater than 0
95 percent confidence interval:
 5.940427      Inf
sample estimates:
mean difference
 14.25866

> qt(0.95, 7)# rechts (1-alpha, df-1)
[1] 1.894579
```

```
--
> t.test(t_Test_erhitzte_ISS`Entöltes Mehl_EIS_ohne Autoklav SDS`, t_Test_erhitzte_ISS`Entöltes Mehl_EIS_mit Autoklav SDS`,
Daten
+ alternative = 'g', # rechts
+ paired = T)

Paired t-test

data: t_Test_erhitzte_ISS`Entöltes Mehl_EIS_ohne Autoklav SDS` and t_Test_erhitzte_ISS`Entöltes Mehl_EIS_mit Autoklav SDS`
t = -7.861, df = 7, p-value = 0.9999
alternative hypothesis: true mean difference is greater than 0
95 percent confidence interval:
-4.601608      Inf
sample estimates:
mean difference
 -3.707958

> qt(0.95, 7)# rechts (1-alpha, df-1)
[1] 1.894579
```



```

> t.test(t_Test_erhitzte_ISS`Entölktes Mehl_EIS_ohne Autoklav TDS`, t_Test_erhitzte_ISS`Entölktes Mehl_EIS_mit Autoklav TDS`,
Daten
+ alternative = 'g', # rechts
+ paired = T)

Paired t-test

data: t_Test_erhitzte_ISS`Entölktes Mehl_EIS_ohne Autoklav TDS` and t_Test_erhitzte_ISS`Entölktes Mehl_EIS_mit Autoklav TDS`
t = 2.8933, df = 7, p-value = 0.0116
alternative hypothesis: true mean difference is greater than 0
95 percent confidence interval:
 1.62938      Inf
sample estimates:
mean difference
 4.720388

> qt(0.95, 7)# rechts (1-alpha, df-1)
[1] 1.894579

```

```

> t.test(t_Test_erhitzte_ISS`Entölktes Mehl_EIS_ohne Autoklav RS`, t_Test_erhitzte_ISS`Entölktes Mehl_EIS_mit Autoklav RS`,
ten
+ alternative = 'g', # rechts
+ paired = T)

Paired t-test

data: t_Test_erhitzte_ISS`Entölktes Mehl_EIS_ohne Autoklav RS` and t_Test_erhitzte_ISS`Entölktes Mehl_EIS_mit Autoklav RS`
t = -4.7717, df = 7, p-value = 0.999
alternative hypothesis: true mean difference is greater than 0
95 percent confidence interval:
-1.88695      Inf
sample estimates:
mean difference
-1.350672

> qt(0.95, 7)# rechts (1-alpha, df-1)
[1] 1.894579

```

9. ANOVA der unerhitzten Stärkeisolate des entölkten Carioca Bohnenmehls mit auf 95 °C erhitzten Stärkeisolat und zusätzlich auf 135 °C für eine Minute erhitzten Stärkeisolat mittels Microsoft Excel

Anova: Single Factor								
SUMMARY								
Groups	Count	Sum	Average	Variance				
Entölktes Mehl IS RDS	4	53,47302544	13,36825636	6,478739505				
Entölktes Mehl EIS ohne Autoklav RDS	8	653,6890911	81,71113639	100,2794032				
ANOVA								
Source of Variation	SS	df	MS	F	P-value	F crit		
Between Groups	12455,33134	1	12455,33134	172,6568999	1,239E-07	4,964602744		
Within Groups	721,3920406	10	72,13920406					
Total	13176,72338	11						

Anova: Single Factor								
SUMMARY								
Groups	Count	Sum	Average	Variance				
Entölktes Mehl IS SDS	6	233,2475261	38,87458768	15,26214774				
Entölktes Mehl EIS ohne Autoklav SDS	8	9,487915455	1,185989432	5,506649472				
ANOVA								
Source of Variation	SS	df	MS	F	P-value	F crit		
Between Groups	4870,047215	1	4870,047215	508,8102734	3,40922E-11	4,747225347		
Within Groups	114,857285	12	9,571440416					
Total	4984,9045	13						

Anova: Single Factor						
SUMMARY						
Groups	Count	Sum	Average	Variance		
Entöltes Mehl IS RS	4	12,28915829	3,072289572	0,687991106		
Entöltes Mehl EIS ohne Autoklav RS	8	19,11092361	2,388865451	0,118265835		
ANOVA						
Source of Variation	SS	df	MS	F	P-value	F crit
Between Groups	1,245516076	1	1,245516076	4,307010728	0,064702374	4,964602744
Within Groups	2,891834163	10	0,289183416			
Total	4,137350239	11				

Anova: Single Factor						
SUMMARY						
Groups	Count	Sum	Average	Variance		
Entöltes Mehl IS TDS	4	301,1638037	75,29095093	1,900498685		
Entöltes Mehl EIS ohne Autoklav TDS	8	657,0745713	82,13432142	34,80191878		
ANOVA						
Source of Variation	SS	df	MS	F	P-value	F crit
Between Groups	124,8845856	1	124,8845856	5,009109838	0,049162108	4,964602744
Within Groups	249,3149275	10	24,93149275			
Total	374,1995131	11				

Anova: Single Factor						
SUMMARY						
Groups	Count	Sum	Average	Variance		
Entöltes Mehl IS RDS	4	53,47302544	13,36825636	6,478739505		
Entöltes Mehl EIS mit Autoklav RDS	8	539,6198347	67,45247934	6,125954067		
ANOVA						
Source of Variation	SS	df	MS	F	P-value	F crit
Between Groups	7800,275135	1	7800,275135	1251,691009	7,7228E-12	4,964602744
Within Groups	62,31789699	10	6,231789699			
Total	7862,593032	11				

Anova: Single Factor						
SUMMARY						
Groups	Count	Sum	Average	Variance		
Entöltes Mehl IS SDS	6	233,2475261	38,87458768	15,26214774		
Entöltes Mehl EIS mit Autoklav SDS	8	39,15157886	4,893947358	1,065284762		
ANOVA						
Source of Variation	SS	df	MS	F	P-value	F crit
Between Groups	3958,916285	1	3958,916285	567,127631	1,80155E-11	4,747225347
Within Groups	83,76773203	12	6,980644336			
Total	4042,684017	13				

Anova: Single Factor						
SUMMARY						
Groups	Count	Sum	Average	Variance		
Entöltes Mehl IS RS	4	12,28915829	3,072289572	0,687991106		
Entöltes Mehl EIS mit Autoklav RS	8	29,916299	3,739537375	0,529557284		
ANOVA						
Source of Variation	SS	df	MS	F	P-value	F crit
Between Groups	1,187252349	1	1,187252349	2,057317984	0,181999634	4,964602744
Within Groups	5,770874303	10	0,57708743			
Total	6,958126652	11				

Anova: Single Factor						
SUMMARY						
Groups	Count	Sum	Average	Variance		
Entöltes Mehl IS TDS	4	301,1638037	75,29095093	1,900498685		
Entöltes Mehl EIS mit Autoklav TDS	8	619,3114679	77,41393349	3,51919558		
ANOVA						
Source of Variation	SS	df	MS	F	P-value	F crit
Between Groups	12,01881316	1	12,01881316	3,961915415	0,074563965	4,964602744
Within Groups	30,33586512	10	3,033586512			
Total	42,35467828	11				

10. Chemische Zusammensetzung der zwei entölte Carioca Bohnenmehle mit Mittelwerten und Standardabweichung

Probe	Trockensubstanz [%]	Asche [%] *	Protein [%] * **	Fett [%] *
Entöltes Carioca Bohnenmehl 1	92,45 ± 0,3	3,61 ± 0,3	19,05 ± 0,1	1,24 ± 0,1
Entöltes Carioca Bohnenmehl 2	92,22 ± 0,6	3,50 ± 0,5	19,09 ± 0,0	0,92 ± 0,1

* bezogen auf die Trockensubstanz

** bestimmt nach Dumas unter Verwendung des Umrechnungsfaktors 5,28

11. Darstellung der Einzelwerte der Masse Proteinisolat (PI) [g /100 g Mehl], des Proteingehalts [%] und der Proteinausbeute [%] des entölte Carioca Bohnenmehls

Masse [g /100 g Mehl]		Proteingehalt [%]		Proteinausbeute [%]	
PI 1	PI 2	PI 1	PI 2	PI 1	PI 2
9,5	9,5	70,3	69,6	34,9	34,5

12. Darstellung der Einzelwerte der Masse Stärkeisolat (SI) (g/100 g Mehl), des Stärkegehalts [%] und der Stärkeausbeute [%] des entölte Carioca Bohnenmehl

Masse [g /100 g Mehl]		Stärkegehalt [%]		Stärkeausbeute [%]	
SI 1	SI 2	SI 1	SI 2	SI 1	SI 2
30,8	30,8	79,7	77,1	97,7	94,2

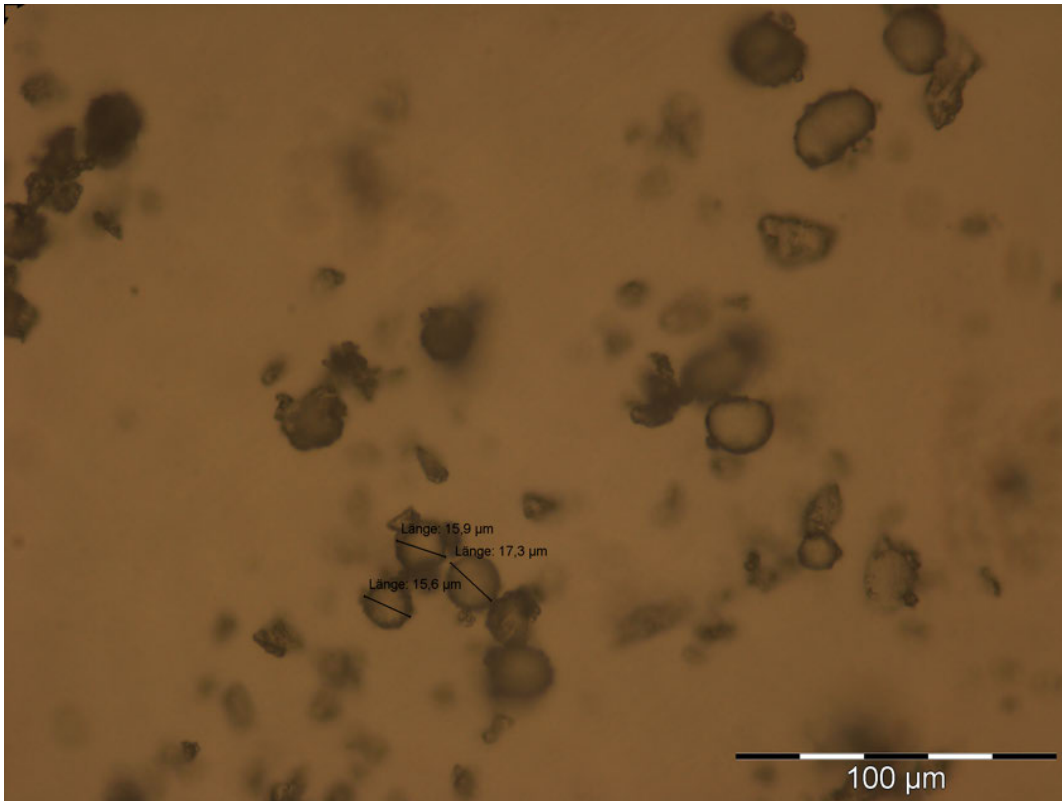
13. Chemische Zusammensetzung mit Mittelwerten und Standardabweichung der Proteinisolate (PI) des entölte Carioca Bohnenmehls

Probe	TS [%]	Asche [%] *	Protein [%] *
PI 1	91,9 ± 0,1	8,8	70,3
PI 2	91,9 ± 0,2	8,9	69,6

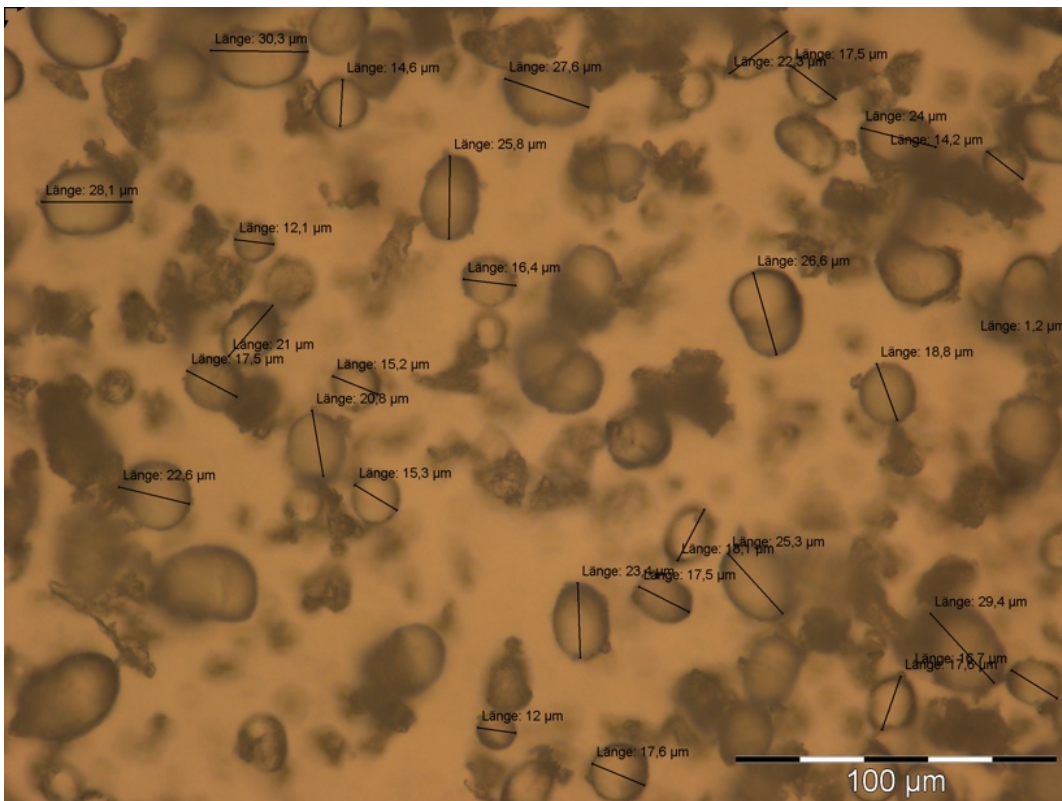
* bezogen auf die Trockensubstanz

** bestimmt nach Dumas unter der Verwendung des Umrechnungsfaktors 5,28

14. Bilder des mikroskopischen Erscheinungsbildes des vollfett und entölten Carioca Bohnenmehls mit Durchmesser der Stärkekörner mittels „Analysis Pro“

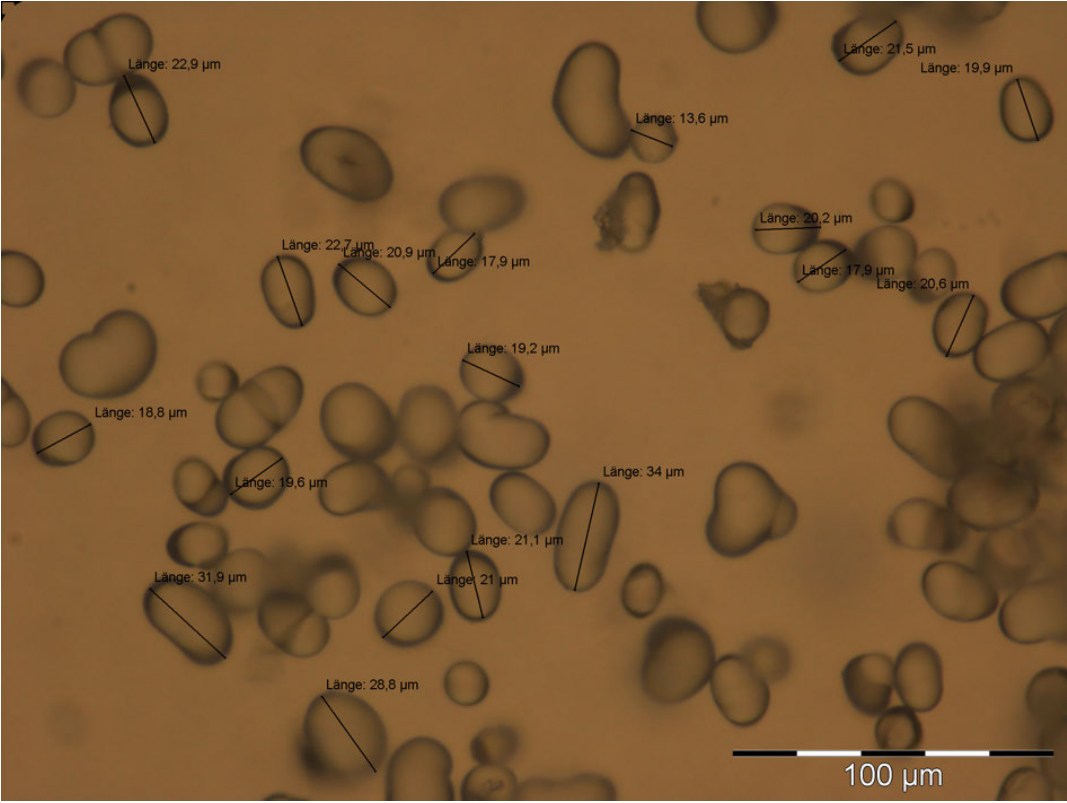


Vollfett Carioca Bohnenmehl unter dem Mikroskop mit Durchmesser der Stärkekörner

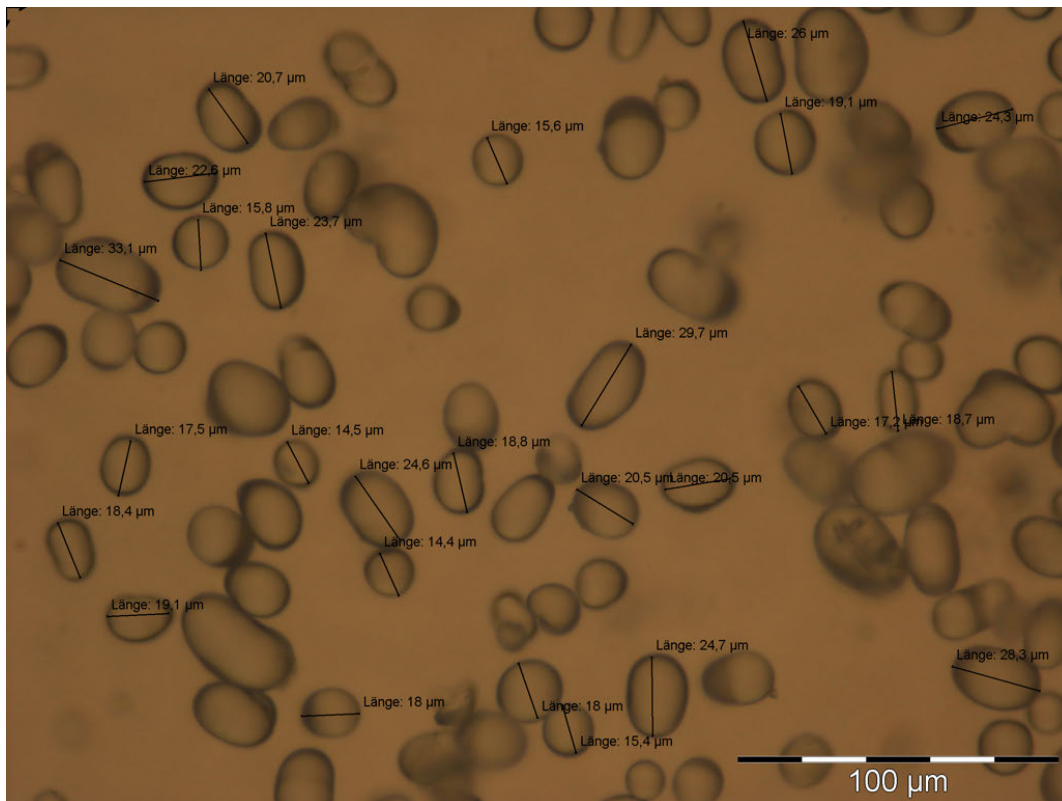


Entöltes Carioca Bohnenmehl unter dem Mikroskop mit Durchmesser der Stärkekörner

15. Bilder des mikroskopischen Erscheinungsbildes der unerhitzten Stärkeisolate des vollfett und entölten Carioca Bohnenmehls mit Durchmesser der Stärkekörner mittels „Analysis Pro“

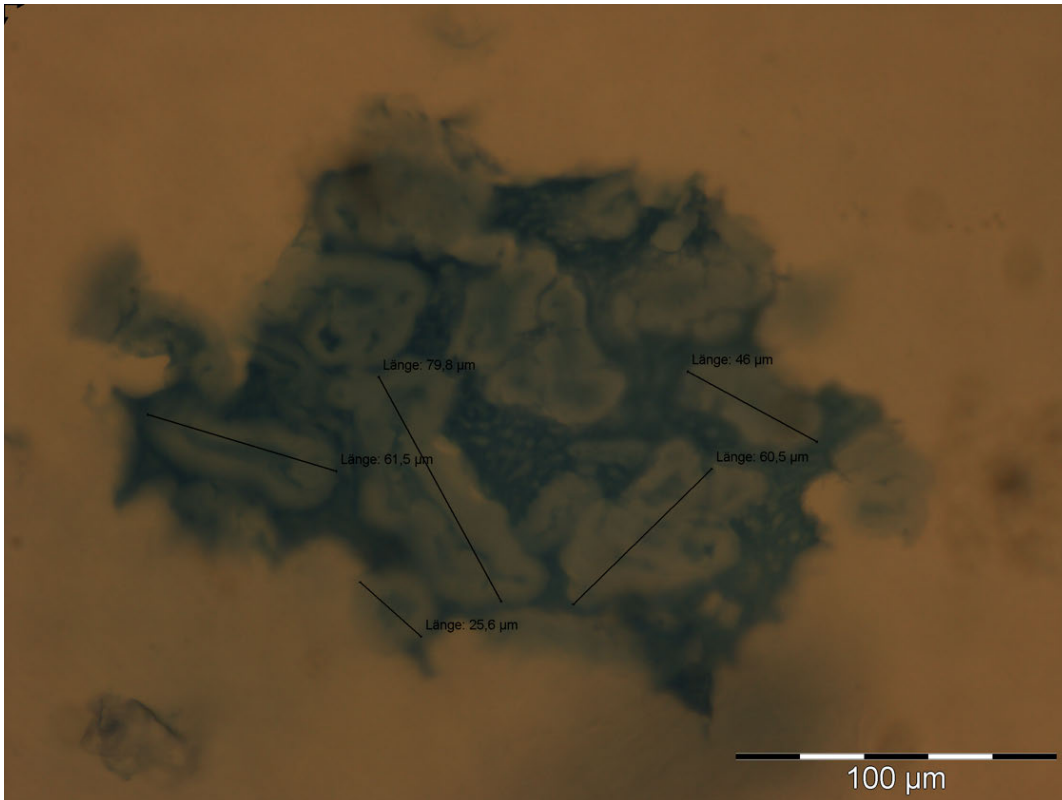


Stärkeisolat des vollfett Carioca Bohnenmehls mit Durchmesser der Stärkekörner



Stärkeisolat des entöleten Carioca Bohnenmehls mit Durchmesser der Stärkekörner

16. Bilder des mikroskopischen Erscheinungsbildes der auf 95 °C und zusätzlich auf 135 °C für eine Minute erhitzten Stärkeisolate des vollfett und entöleten Carioca Bohnenmehls mit Durchmesser der Stärkekörner mittels „Analysis Pro“



Stärkeisolat des entölten Carioca Bohnenmehls nach Erhitzung auf 95 °C und zusätzlich auf 135 °C für eine Minute ohne Gefriertrocknung mit Durchmesser der Stärkekörner



Stärkeisolat des vollfett Carioca Bohnenmehls nach Erhitzung auf 95 °C und zusätzlich auf 135 °C für eine Minute ohne Gefriertrocknung mit Durchmesser der Stärkekörner

17. ANOVA der Proteinverdaulichkeit mittels Microsoft Excel

Anova: Single Factor						
SUMMARY						
Groups	Count	Sum	Average	Variance		
IVD vollfett Mehl	2	1,73	0,865	0,00045		
IVD entöltes Mehl	2	1,71	0,855	5E-05		
ANOVA						
Source of Variation	SS	df	MS	F	P-value	F crit
Between Groups	0,0001	1	0,0001	0,4	0,59175	18,5128205
Within Groups	0,0005	2	0,00025			
Total	0,0006	3				

Anova: Single Factor						
SUMMARY						
Groups	Count	Sum	Average	Variance		
AAS vollfett Mehl	2	1,848	0,924	0		
AAS entöltes Mehl	2	2,179	1,0895	5E-07		
ANOVA						
Source of Variation	SS	df	MS	F	P-value	F crit
Between Groups	0,02739025	1	0,02739025	109561	9,1272E-06	18,5128205
Within Groups	5E-07	2	2,5E-07			
Total	0,02739075	3				

Anova: Single Factor						
SUMMARY						
Groups	Count	Sum	Average	Variance		
PDCAAS vollfett Mehl	2	1,6	0,8	0,0008		
PDCAAS entöltes Mehl	2	1,86	0,93	0,0002		
ANOVA						
Source of Variation	SS	df	MS	F	P-value	F crit
Between Groups	0,0169	1	0,0169	33,8	0,02833	18,5128205
Within Groups	0,001	2	0,0005			
Total	0,0179	3				

18. ANOVA mittels Microsoft Excel des Wasser- und Ölbindevermögens des Carioca Bohnenmehls

Anova: Single Factor						
SUMMARY						
<i>Groups</i>	<i>Count</i>	<i>Sum</i>	<i>Average</i>	<i>Variance</i>		
Wasserbindevermögen vollfett	2	4,25387191	2,12693596	1,3689E-05		
Wasserbindevermögen entölt	2	3,75	1,875	0,00125		
ANOVA						
<i>Source of Variation</i>	<i>SS</i>	<i>df</i>	<i>MS</i>	<i>F</i>	<i>P-value</i>	<i>F crit</i>
Between Groups	0,06347173	1	0,06347173	100,454698	0,009808515	18,5128205
Within Groups	0,00126369	2	0,00063184			
Total	0,06473541	3				

Anova: Single Factor						
SUMMARY						
<i>Groups</i>	<i>Count</i>	<i>Sum</i>	<i>Average</i>	<i>Variance</i>		
Ölbindevermögen vollfett	2	1,2	0,6	0,02		
Ölbindevermögen entölt	2	2,4	1,2	0		
ANOVA						
<i>Source of Variation</i>	<i>SS</i>	<i>df</i>	<i>MS</i>	<i>F</i>	<i>P-value</i>	<i>F crit</i>
Between Groups	0,36	1	0,36	36	0,026671473	18,5128205
Within Groups	0,02	2	0,01			
Total	0,38	3				

Eidesstattliche Erklärung

Ich versichere, dass ich vorliegende Arbeit ohne fremde Hilfe selbstständig verfasst und nur die angegebenen Hilfsmittel benutzt habe. Wörtlich oder dem Sinn nach aus anderen Werken entnommene Stellen sind unter Angabe der Quelle kenntlich gemacht.



Nathalie Otter, Hamburg, den 21.04.2023