

Skrajda Marta, Dąbrowski Grzegorz. Czekolada jako źródło związków bioaktywnych oddziałujących na organizm = Chocolate as a source of bioactive compounds acting on the organism. *Journal of Education, Health and Sport*. 2015;5(9):429-442. ISSN 2391-8306. DOI [10.5281/zenodo.31046](https://doi.org/10.5281/zenodo.31046)
<http://dx.doi.org/10.5281/zenodo.31046>
<http://ojs.ukw.edu.pl/index.php/johs/article/view/2015%3B5%289%29%3A429-442>
<https://pbn.nauka.gov.pl/works/626991>
Formerly Journal of Health Sciences. ISSN 1429-9623 / 2300-665X. Archives 2011–2014
<http://journal.rsw.edu.pl/index.php/JHS/issue/archive>

Deklaracja.

Specyfika i zawartość merytoryczna czasopisma nie ulega zmianie.
Zgodnie z informacją MNiSW z dnia 2 czerwca 2014 r., że w roku 2014 nie będzie przeprowadzana ocena czasopism naukowych; czasopismo o zmienionym tytule otrzymuje tyle samo punktów co na wykazie czasopism naukowych z dnia 31 grudnia 2014 r.

The journal has had 5 points in Ministry of Science and Higher Education of Poland parametric evaluation. Part B item 1089. (31.12.2014).

© The Author (s) 2015;

This article is published with open access at Licensee Open Journal Systems of Kazimierz Wielki University in Bydgoszcz, Poland and Radom University in Radom, Poland
Open Access. This article is distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Noncommercial License which permits any noncommercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original author(s) and source are credited. This is an open access article licensed under the terms of the Creative Commons Attribution Non Commercial License

(<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0/>) which permits unrestricted, non commercial use, distribution and reproduction in any medium, provided the work is properly cited.
This is an open access article licensed under the terms of the Creative Commons Attribution Non Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0/>) which permits unrestricted, non commercial use, distribution and reproduction in any medium, provided the work is properly cited.
The authors declare that there is no conflict of interests regarding the publication of this paper.
Received: 26.08.2015. Revised 05.09.2015. Accepted: 15.09.2015.

CZEKOLADA JAKO ŹRÓDŁO ZWIĄZKÓW BIOAKTYWNYCH ODDZIAŁUJĄCYCH NA ORGANIZM Chocolate as a source of bioactive compounds acting on the organism

Marta Skrajda, Grzegorz Dąbrowski

Katedra Przetwórstwa i Chemii Surowców Roślinnych
Wydział Nauki o Żywności, Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie

Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie
Katedra Przetwórstwa i Chemii Surowców Roślinnych
Pl. Cieszyński 1, 10-726 Olsztyn
e-mail: marta.skrajda@uwm.edu.pl

Streszczenie

Czekolada jest jednym z najbardziej lubianych smakołyków wszech czasów. Jej historia sięga czasów Olmeków, czyli około 3 tysięcy lat. Początkowo spożywana jako napój, dopiero w XVII wieku przyjęła obecną formę. Na rynku dostępnych jest wiele rodzajów czekolad. W zależności od zawartości miazgi kakaowej wyróżnia się czekoladę gorzką (tzw. naturalną, 35-70% miazgi), deserową (do 50% miazgi), mleczną (nie mniej niż 25% miazgi) i białą (nie mniej niż 20% tłuszczu kakaowego). Ponadto każdy z tych rodzajów może występować w postaci nadziewanej czy z dodatkiem orzechów, owoców, nasion, itp. Czekolada krytykowana jest za zawartość nasyconych kwasów tłuszczowych i wysoką kaloryczność, ale jest doceniana za zawartość związków biologicznie aktywnych. Wśród tych związków wyróżnia się: polifenole (głównie flawonoidy), aminy biogenne (fenyloetyloamina), alkaloidy (teobromina, kofeina) oraz składniki mineralne (np. magnez, potas). Należy jednak pamiętać, że zawartość tych związków w czekoladzie jest determinowana: rodzajem czekolady (zawartość miazgi kakaowej, rodzaj dodatków), rodzajem i pochodzeniem ziarna, sposobem obróbki ziarna.

Słowa kluczowe: czekolada, aktywność antyoksydacyjna, związki biologicznie aktywne.

Abstract

Chocolate is one of the most popular sweets of all time. Its history dates back to about 3,000 years, the times of Olmec people. It was originally used as a drink and took its present form in seventeenth century. On the market there are many types of chocolate. Depending on the content of cocoa liquor stand out dark (35-70% of cocoa liquor), dessert (50% cocoa liquor), milk (not less than 25% cocoa liquor) and white (no less than 20% cocoa butter) chocolate.

Moreover, each of these kinds may be either filled or with addition of nuts, fruits, seeds, and exc. Chocolate is criticized for its saturated fatty acid content and a high caloric value, but is appreciated for its biologically active compounds. Among these compounds are distinguished: polyphenols (especially flavonoids), biogenic amines (phenylethylamine), alkaloids (theobromine, caffeine) and minerals (e.g. magnesium, potassium). The content of these compounds in chocolate is determined by: type of chocolate (content of cocoa liquor, type of additives), type and origin of the cocoa bean and its processing method.

Key words: chocolate, antioxidant activity, biologically active compounds.

Wstęp

Historia czekolady sięga około 3 tysięcy lat, kiedy to Olmekowie (ludzie pochodzący z nizinnych regionów wschodniego wybrzeża Meksyku) uprawiali ziarno kakaowe. Początkowo z ziarna kakaowca (*Theobroma cacao L.*) przygotowywano napój, w Ameryce Środkowej z dodatkiem miodu, wanilii, chilli, który zagęszczano mąką kukurydzianą. Do Europy czekolada trafiła w XVI wieku, po podbiciu Meksyku przez Hiszpanię. W obecnej formie produkowana jest od XVII wieku, a produkcję przemysłową zaczęto w roku 1819 w Szwajcarii [1, 2].

Pierwsze dowody na wykorzystanie ziarna kakaowca w celach leczniczych sięgają czasów Azteków. Napój czekoladowy był pity w celu leczenia dolegliwości żołądkowych oraz jelitowych. Twierdzono ponadto, że w połączeniu z korą kastyłki sprężystej (*Castilla elastica*) leczy infekcje [3].

Według Dyrektywy WE z roku 2000 [4] czekolada oznacza wyrób czekoladowy z dodatkiem cukrów zawierający nie mniej niż 35% suchej masy kakaowej ogółem, w tym nie mniej niż 18% masła kakaowego i nie mniej niż 14% suchej masy kakaowej. W zależności od zawartości miazgi kakaowej wyróżnia się czekoladę gorzką (tzw. naturalną, 35-70% miazgi), deserową (do 50%), mleczną (nie mniej niż 25%) i białą (nie mniej niż 20% tłuszczu kakaowego). Ponadto każdy z tych rodzajów może występować w postaci nadziewanej czy z dodatkiem orzechów, owoców, nasion, itp.

Czekolada krytykowana jest za zawartość nasyconych kwasów tłuszczowych i wysoką kaloryczność jednocześnie jest doceniana za zawartość związków biologicznie aktywnych [5]. Jest ona źródłem m.in. polifenoli (głównie flawonoidów), amin biogennych (tyramina, fenyloetyloamina), alkaloidów purynowych (kofeina, teobromina) oraz składników mineralnych (m.in. magnezu) [6-8].

Zawartość tych związków w produktach czekoladowych jest determinowana wieloma czynnikami: rodzajem czekolady (zawartość miazgi kakaowej, rodzaj dodatków), rodzajem i pochodzeniem ziarna, sposobem obróbki ziarna [7, 9-13].

Związki bioaktywne czekolady

Flawonoidy

Flawonoidy są szeroką grupą związków, do której zaliczane są antocyjany, flawonole (takie jak kwercetyna), izoflawony, flawanole (takie jak katechina) i proantocyjanidyny oraz skondensowane taniny [14]. W czekoladzie w największych ilościach występują katechiny, epikatechiny oraz proantocyjanidyny stanowiące ich oligomery. W większości produktów pochodzenia roślinnego bogatych we flawonoidy proantocyjanidyny stanowią dimery lub trimery, czekolada wyróżnia się ilością związanych jednostek, która wynosi od dwóch, trzech do nawet dziesięciu [15].

Zawartość flawonoidów oraz ich aktywność antyoksydacyjna w czekoladzie w porównaniu z innymi źródłami jest bardzo wysoka (Tabela 1). W zależności od rodzaju czekolady zawartość flawonoidów waha się od 70 do 170 mg/100g produktu, gdy dla jabłek 106 mg/100g, a dla wina tylko 22 mg/100g. Aktywność antyoksydacyjna czekolad, wyrażona w ekwiwalentach Troloxu (mmol), jest ok. 10-20-krotnie większa niż w pozostałych źródłach [16].

Tabela 1. Zawartość flawanoli w wybranych produktach spożywczych [16].

Produkt (100g)	Flawanole i proantocyjanidy (mg)	ORAC (ekwiwalenty mmol Troloxu)
ciemna czekolada	170	13,1
mleczna czekolada	70	6,7
jabłka	106	0,2
czerwone wino	22	0,7

Badania Gu i in. [17] wykazały, że aktywność antyoksydacyjna czekolad jest silnie skorelowana (współczynnik korelacji $r=0,92$) z zawartością proantocyjanidyn, sugeruje się więc, że są one głównym antyoksydantem kakao. Ponadto autorzy [17] potwierdzili (współczynnik korelacji $r=0,99$) wprost proporcjonalną zależność pomiędzy całkowitą zawartością proantocyjanidyn w czekoladzie a zawartością beztłuszczowej miazgi kakaowej (NFCS-Nonfat Cocoa Solid). Naturalny proszek kakaowy o największym udziale beztłuszczowej miazgi kakaowej zawierał najwięcej proantocyjanidyn. Z kolei mleczna czekolada o najmniejszym udziale NFCS najmniej. Proszek holenderski zawierał podobne ilości NFCS co proszek naturalny, ale znacznie mniej proantocyjanidyn [17]. Może to być wynikiem degradacji w wyniku stosowanej podczas produkcji czekolady holenderskiej alkalizy ziaren kakaowych [18].

Nie tylko zawartość związków o charakterze antyoksydacyjnym, ale także ich biodostępność decyduje o właściwościach prozdrowotnych. Biodostępność flawonoidów w organizmie ludzkim waha się w przedziale od 1 do 26%. Zależy ona od różnorodności osobniczej, a także od rodzaju związku. Struktura chemiczna odgrywa ogromną rolę w procesach absorpcji, dystrybucji, metabolizmu, wydalania, a także w biologicznych właściwościach tych związków [19-20]. Bezpośrednim sposobem określenia biodostępności jest oznaczanie koncentracji flawonoidu lub jego metabolitu w osoczu. Pośrednie metody polegają na oznaczaniu biomarkerów np. aktywności antyoksydacyjnej osocza [21-22]. W

wielu badaniach klinicznych [22-24] wykazano, że flawonoidy czekolady (katechiny i epikatechiny) pojawiają się w osoczu krwi już po około jednej godzinie od spożycia. Ilość epikatechiny w osoczu jest wyższa niż katechiny, ponieważ w czekoladzie jest jej 6-7 krotnie więcej. Już po około 6 godzinach od spożycia związki te występują w osoczu w śladowych ilościach. Świadczy to o tym, że są relatywnie szybko przyswajane i usuwane z organizmu [25].

Składniki mineralne

Składniki mineralne są niezbędne do prawidłowego funkcjonowania organizmu. Zarówno ich niedobór, jak i nadmiar w diecie mogą powodować schorzenia układu sercowo-naczyniowego, osteoporozę czy cukrzycę [42]. W zależności od rodzaju produktu czekoladowego zawartość składników mineralnych znacząco się różni (Tabela 2). Proszek kakaowy jest najbardziej cennym źródłem składników mineralnych. Skład minerałów w czekoladzie zależy od zawartości beztłuszczowej miazgi kakaowej [7]. Tradycyjna dieta Polaków wykazuje odstępstwa w zawartości w całodziennych racjach pokarmowych wapnia, fosforu, magnezu, żelaza, cynku i miedzi [42].

Potas zapewnia prawidłową gospodarkę wodno-elektrolitową organizmu, jest także niezbędny do prawidłowego spalania węglowodanów i białek. Normy na potas zostały opracowane na poziomie odpowiedniego spożycia (AI) i dla osób dorosłych wynosi ono 4700 mg/dobę. Z tego wynika, że 100 g proszku kakaowego zapewnia około 32% AI [43].

Magnez bierze udział w procesach katalizy wielu biologicznych reakcji, włączając w to syntezę białek, transmisję impulsów nerwowych czy rozluźnienie mięśni. Zalecane dzienne spożycie tego minerału wynosi dla osób dorosłych od 310 mg (kobiety) do 420 mg (mężczyźni) [43]. Jedna porcja kakao (10 g proszku kakaowego) zapewni 16% dziennego zapotrzebowania wobec tego składnika dla kobiet i 12% dla mężczyzn.

Wapń jest podstawowym składnikiem budulcowym kości i zębów. Bierze także udział w przewodnictwie bodźców nerwowych, kurczliwości mięśni, aktywacji niektórych enzymów oraz w krzepnięciu krwi. Zalecane dzienne spożycie tego minerału dla osób dorosłych kształtuje się na poziomie 1200 mg [43]. 100 g mlecznej czekolady dostarczy 18% dziennego zapotrzebowania.

Rola żelaza polega głównie na procesach oddychania tkankowego, jest ono składnikiem hemoglobiny i mioglobiny, występuje także w enzymach komórkowych. Odpowiednie spożycie tego pierwiastka wynosi dla osób dorosłych 3-4 mg [43]. 100 g gorzkiej czekolady zapewni 60-80% dziennego zapotrzebowania, a porcja kakao (10g) 25-35%.

Miedź należy do minerałów występujących w śladowych ilościach, odpowiada za reakcje enzymatyczne (wchodzi w skład białek enzymatycznych) oraz syntezę kolagenu i neuroprzekazników. Będąc składnikiem dysmutazy ponadtlenkowej wpływa na reakcję dekompozycji wolnych rodników. Zalecane dzienne spożycie tego składnika wynosi dla osób dorosłych 0,9 mg [43]. Porcja ciemnej czekolady (44g) dostarcza 0,3 mg miedzi i jest w stanie zabezpieczyć 35% dziennego zapotrzebowania.

Fosfor podobnie jak wapń bierze udział w mineralizacji kości i zębów. Jest niezbędny do budowy tkanek miękkich, błon komórkowych oraz wchodzi w skład kwasów nukleinowych. Dzielne zapotrzebowanie wynosi dla osób dorosłych 700 mg [43]. 100 g mlecznej czekolady dostarczy 35% dziennego zapotrzebowania na ten składnik mineralny.

Tabela 2. Zawartość wybranych składników mineralnych w proszku czekoladowym, czekoladzie mlecznej oraz w ciemnej czekoladzie (mg/100g produktu) [7].

Składnik mineralny	Proszek kakaowy	Czekolada mleczna	Ciemna czekolada
	mg/100g		
Potas	1500	420	300
Wapno	130	220	38
Magnez	520	55	100
Żelazo	10,5	1,6	2,4
Miedź	3,9	0,3	0,7
Fosfor	660	240	140

Substancje o charakterze psychoaktywnym

W czekoladzie znajdują się także substancje mogące mieć charakter psychoaktywny. Do najważniejszych zaliczamy kofeinę, teobrominę, anandamid, teofilinę, fenyloetyloaminę, a także w śladowych ilościach kokainę i morfinę [7].

Kofeina i teobromina są zaliczane do grypy alkaloidów. Przeciętnie, w mlecznej czekoladzie zawartość kofeiny wynosi 11 mg/ 100 g (około 4-krotnie mniej niż w filiżance kawy), natomiast teobrominy 197 mg/100 g [7]. Nehlig i in. [44] zasugerowali, że w mózgu alkaloidy konkurują z adenozyną, blokując jej receptor i tym samym wywołując pobudzenie. Kofeina natomiast jest uważana za katalizator w uwalnianiu epinefryny i innych katecholamin z nadnerczy, w ten sposób wywołując reakcje przez nie pobudzane.

Aminy biogenne to związki azotowe, które w organizmie niezbędne są do utrzymania żywotności komórek i prawidłowego przebiegu procesów komórkowych [45]. W czekoladzie w największych ilościach występują tyramnina i fenyloetyloamina (PEA). PEA w czekoladzie występuje w ilościach od 0,4 do 6,6 µg/g. Uważana jest przez badaczy za modulator nastroju, którego deficyt może być przyczyną patogenezy depresji [7].

Nie udowodniono, aby koncentracja wymienionych związków w czekoladzie była na tyle wysoka, aby zmieniać nastrój, może jednak wpływać na pożądalność czekolady poprzez wpływ na uwydatnianie walorów sensorycznych [7].

Prozdrowotne oddziaływanie składników czekolady

Mechanizmów, poprzez które czekolada może wykazywać działanie ochronne przed chorobami sercowo-naczyniowymi jest kilka. Zalicza się do nich działanie: antyoksydacyjne, przeciwplatek, przeciwzapalne, zwiększające stężenie HDL, obniżające ciśnienie krwi, poprawiające czynności śródbłonna [30].

Reaktywne formy tlenu mogą reagować ze składowymi komórkami powodując zmiany w strukturze białek, peroksydację lipidów oraz uszkodzenie struktury kwasów nukleinowych. Polifenole czekolady wychwytyją reaktywne formy tlenu oraz hamują aktywność oksygenaz komórkowych. Flawanole zmniejszają aktywność zakrzepową i zapalną, powodowaną przez reaktywne formy tlenu [31].

Koncentracja cholesterolu HDL w surowicy krwi, a także zmiany oksydacyjne LDL odgrywają istotną rolę w patogenezie miażdżycy. W badaniach *ex vivo* [32] dowiedziono, że spożycie kakao oraz ciemnej czekolady zwiększa koncentrację HDL cholesterolu oraz potencjał antyoksydacyjny osocza, a także zmniejsza produkcję wtórnych produktów utleniania oraz hamuje oksydację LDL cholesterolu. W badaniach prowadzonych przez Mursu i in. [32] na grupie 45 osób dowiedziono, że spożycie ciemnej czekolady skutkuje wzrostem koncentracji HDL cholesterolu o 11% oraz o 14%, jeżeli czekolada ta jest wzbogacona w polifenole.

Czekolada oraz polifenole w niej zawarte prawdopodobnie mają działanie hamujące agregację i aktywację płytek krwi, odgrywających dużą rolę w patogenezie miażdżycy i jej powikłań. Badania Hamed i in. [33] dowiodły, że aktywacja płytek krwi jest mniejsza po

okresie 7 dni spożywania czekolady. Również eksperyment Bordeaux i in. [34] potwierdza te wyniki. W badaniach tych zaobserwowano dłuższy czas tworzenia się czopu płytkowego. Badania kliniczne na grupie zdrowych wolontariuszy wykazały ponadto znaczne zmniejszenie markerów biologicznych odpowiedzialnych za aktywację płytek, dodatkowo zaobserwowano istotną korelację tych wyników ze stężeniem katechiny i epikatechiny w osoczu [35-38].

Czekolada może również wpływać na poziom leukotrienów i prostacyklin. Leukotrieny są uważane jako odpowiedzialne za zwężanie światła naczyń krwionośnych, czynniki prozapalne oraz stymulujące agregację płytek krwi. Z kolei prostacykliny działają w odwrotny sposób, czyli rozszerzają naczynia krwionośne i hamują agregację płytek krwi. W badaniach żywieniowych wykazano, że spożywanie czekolady o wysokiej zawartości proantocyjanidyn (147 mg) znacznie obniża poziom leukotrienów (29%) i podnosi prostacyklin (32%) w porównaniu do grupy kontrolnej spożywającej czekoladę z niską zawartością proantocyjanidyn (3,3 mg) [39].

Działanie przeciwzapalne polifenoli czekolady może być wywołane poprzez inne mechanizmy mianowicie: hamowanie aktywacji limfocytów T wywołanej przez miogeny, poliklonalną aktywację limfocytów B, redukcję ekspresji przebieżnika RNA interleukiny-2 oraz zmniejszenie wydzielania interleukiny-2 przez limfocyty T [40]. Inni badacze wykazali, że proantocyjanidyny czekolady mogą także modyfikować wiele innych cytokin (np. Interleukina-5), o charakterze przeciwzapalnym [41-45].

Podsumowanie

Czekolada wykazuje szereg właściwości prozdrowotnych. Zagrożeniem wynikającym z jej częstego spożywania, może być jednak otyłość. Powodowane jest to jej energetycznością (525 kcal/100g ciemnej czekolady), a także ilością cukru (64,8 g/100g) i tłuszczu (29,2 g/100g). Spożywanie jej w małych ilościach przez osoby zdrowe może pomagać w

uzupełnianiu magnezu, wyrównaniu bilansu energetycznego po wysiłku fizycznym, pobudzaniu procesów myślenia i obniżać ryzyko chorób sercowo-naczyniowych [7]. Ważny jest rodzaj wybieranej do spożycia czekolady. Im więcej kakao ma czekolada, tym silniejsze jej działanie antyoksydacyjne i większa zawartość magnezu.

Piśmiennictwo:

1. Coe SD, Coe MD. The true history of chocolate. Thames and Hudson, London 2000
2. Gajewska D, Myszkowska-Ryciak J. Słodki smakołyk, czy lekarstwo. *Przeł Gastr* 2006; 5:26–27.
3. Sahagun B. General history of the things of New Spain. The School of American Research and The University of Utah Monographs of the School of American Research and the Museum of New Mexico, Santa Fe 1590, 12–112.
4. Dyrektywa 2000/36/WE Parlamentu Europejskiego i Rady z dnia 23 czerwca 2000 r. odnosząca się do wyrobów kakaowych i czekoladowych przeznaczonych do spożycia przez ludzi.
5. Ding E, Hutfless S, Ding X et al. Chocolate and prevention of cardiovascular disease: A systematic review. *Nutr Metab* 2006; 3: 1–12.
6. Lee K, Kim Y, Lee H, et al. Cocoa has more phenolic phytochemicals and a higher antioxidant capacity than teas and red wine. *J Agric Food Chem* 2003; 51:7292–7295.
7. Bruinsma K, Taren D. Chocolate: Food or drug? *J Am Diet Assoc* 1999; 99(10): 1249–1256.
8. Steinberg F, Bearden M, Keen C. Cocoa and chocolate flavonoids: Implications for cardiovascular health. *J Am Diet Assoc*. 2003; 103(2): 215–23.
9. Liendoa R, Padillab F, Quintanab A. Characterization of cocoa butter extracted from Criollo cultivars of *Theobroma cacao* L. *Food Res Int* 1997; 9(30): 727–731.

10. Luna F, Crouzillat D, Cirou L, et al. Chemical composition and flavor of Ecuadorian cocoa liquor. *J Agric Food Chem* 2002; 50 (12): 3527–3532.
11. Andres-Lacueva C, Monagas M, Khan N, et al. Flavanol and flavonol contents of cocoa powder products: influence of the manufacturing process. *J Agric Food Chem* 2008; 56(9): 3111–3117.
12. Othmana A, Ismaila A, Ghani N, et al. Antioxidant capacity and phenolic content of cocoa beans. *Food Chem* 2007; 100(7): 1523–1530.
13. de Brito E, García N, Gallão N, et al. Structural and chemical changes in cocoa (*Theobroma cacao* L.) during fermentation, drying and roasting. *J Sci Food Agr* 2001; 81(2): 281–288.
14. Harbone J. *Methods in plant biochemistry: plant phenolics*. London Academic Press 1989.
15. Natsume M, Osakabe B, Yamagishi M, et al. Analyses of polyphenols in cocoa liquor, cocoa and chocolate by normal-phase and reversed-phase HPLC. *Biosci Biotechnol Biochem* 2000; 64: 2581–2587.
16. Steinberg F, Bearden M, Keen C. Cocoa and chocolate flavonoids: implications for cardiovascular health. *J Am Diet Assoc* 2003; 103: 215–223.
17. Gu L, House S, Wu X, et al. Procyanidin and catechin contents and antioxidant capacity of cocoa and chocolate products. *J Agric Food Chem* 2006; 54: 4057–4061.
18. Zhu Q, Holt R, Lazarus S, et al. Stability of flavan-3-ols epicatechin and catechin and related dimeric procyanidins derived from cocoa. *J Agric Food Chem* 2002; 50: 1700–1705.
19. Scalbert A, Williamson G, Dietary intake and bioavailability of polyphenols. *J Nutr* 2000; 130: 2273S–2285S.

20. Spencer J, Schroeter H, Rechner A, et al. Bioavailability of flavan-3-ols and procyanidins: gastrointestinal tract influences and their relevance to bioactive forms *in vivo*. *Antioxid Redox Signal* 2001; 3: 1023–1039.
21. Richelle M, Tavazzi I, Enslin M. Plasma kinetics in man of epicatechin from black chocolate. *Eur J Clin Nutr* 1999; 53: 22–26.
22. Rein R, Lotito S, Holt R, et al. Epicatechin in human plasma: *in vivo* determination and effect of chocolate consumption on plasma antioxidant capacity *J Nutr* 2000; 130: 2109S–2114S.
23. Baba S, Osakabe N, Yasuda A, et al. Bioavailability of epicatechin upon intake of chocolate and cocoa in human volunteers. *Free Radic Res* 2000; 33: 635–641.
24. Spadafranca A, Conesa M, Sirini S, et al. Effect of dark chocolate on plasma epicatechin levels, DNA resistance to oxidative stress and total antioxidant activity in healthy subject. *Br J Nutr* 2010; 103(7): 1008–14.
25. Keen C. Chocolate: food as a medicine/medicine as food. *J Am Coll Nutr* 2001; 5: 436S–439S.
26. Boleslawska I, Przyslawski J, Schlegel-Zawadzka M, et al. Zawartość składników mineralnych w całodziennych racjach pokarmowych kobiet i mężczyzn stosujących dietę tradycyjną i ‘optymalną’ –analiza porównawcza. *Zywn-Nauk Technol* 2009; 4(65): 303–311.
27. Jarosz M, Traczyk I, Stoś K, et al. Normy żywienia dla populacji polskiej-aktualizacja. Instytut Żywności i Żywienia, Warszawa 2012.
28. Nehlig A, Daval J, Debry G. Caffeine and the central nervous system mechanism of action, biochemical, metabolic and psychostimulant effects. *Brain Res Rev* 1992; 17: 139–170.

29. Cieślak I, Migdał W. Aminy biogenne w żywności. *Bromat Chem Toksykol* 2011; 4: 1087–1096.
30. Ding E, Hutfless S, Ding X, et al. Chocolate and prevention of cardiovascular disease: a systematic review. *Nutr Metab* 2006; 3: 1–12.
31. Weglarz M, Kubica A, Sienkiewicz W. Znaczenie czekolady w prewencji chorób sercowo-naczyniowych. *Folia Cardiol Excrep* 2011; 6: 127–134.
32. Mursu J, Voutilainen S, Nurmi T, et al. Dark chocolate consumption increases HDL cholesterol concentration and chocolate fatty acid may inhibit lipid peroxidation in healthy humans. *Free Radic Biol Med* 2004, 37(9): 1351–1359.
33. Hamed M, Gambert S, Bliden K, et al. Dark chocolate effect on platelet activity, C-reactive protein and lipid profile: a pilot study. *South Med J*. 2008; 101: 1203–1208.
34. Bordeaux B, Yanek R, Moy T, et al. Casual chocolate consumption and inhibition of platelet function. *Am J Clin Nutr* 2009; 90: 1144–1150.
35. Rein D, Paglieroni T, Pearson D, et al. Cocoa and wine polyphenols modulate platelet activation and function. *J Nutr* 2000; 130(8S Suppl): 2120S–2126S.
36. Murphy K, Chronopoulos A, Singh I, et al. Dietary flavanols and procyanidin oligomers from cocoa (*Theobroma cacao*) inhibit platelet function. *Am J Clin Nutr* 2003; 77(6): 1466–1473.
37. Holt R, Schramm D, Keen C, et al. Chocolate consumption and platelet function. *Jama* 2002; 287(17): 2212–2213.
38. Rein D, Paglieroni T, Wun T, Pearson D, et al. Cocoa inhibits platelet activation and function. *Am J Clin Nutr* 2000; 72(1): 30–35.
39. Schramm D, Wang J, Holt R, et al. Chocolate procyanidins decrease the leukotriene-prostacyclin ratio in humans and human aortic endothelial cells. *Am J Clin Nutr* 2001; 73(1): 36–40.

40. Sanbongi C, Suzuki N, Sakane T. Polyphenols in chocolate, which have antioxidant activity, modulate immune functions in humans *in vitro*. *Cell Immunol* 1997; 177(2): 129–136.
41. Mao T, Powell J, Van de Water J, et al. The effect of cocoa procyanidins on the transcription and secretion of interleukin 1 beta in peripheral blood mononuclear cells. *Life Sci* 2000; 66(15): 1377–1386.
42. Mao T, Van De Water J, Keen C, et al. Cocoa procyanidins and human cytokine transcription and secretion. *J Nutr* 2000; 130(8S Suppl): 2093S–2099S.
43. Mao T, Van de Water J, Keen C, et al. Effect of cocoa flavanols and their related oligomers on the secretion of interleukin-5 in peripheral blood mononuclear cells. *J Med Food* 2002; 5(1): 17–22.
44. Mao T, van de Water J, Keen C, et al. Modulation of TNF-alpha secretion in peripheral blood mononuclear cells by cocoa flavanols and procyanidins. *Dev Immunol* 2002; 9(3): 135–141.
45. Mao T, Van De Water J, Keen C, et al. Cocoa flavonols and procyanidins promote transforming growth factor-beta1 homeostasis in peripheral blood mono-nuclear cells. *Exp Biol Med (Maywood)* 2003; 228(1): 93–99.