

Im Hinblick auf die protektive Wirkung von Antioxidanzien bei vielen Krankheiten ist neben Obst, Gemüse, Wein und Tee auch Schokolade – hier besonders Bitterschokolade mit einem hohen Kakaoanteil – interessant geworden [1–4]. Manche Hersteller werben sogar auf ihren Schokolade-Packungen mit dem besonders hohen Gehalt an Antioxidanzien¹.

Antioxidative Kapazität verschiedener Schokoladensorten in Abhängigkeit vom Kakaogehalt

Einleitung

In der aktuellen Lebensmittelforschung interessiert man sich derzeit besonders für solche Lebensmittel, die reich an Antioxidanzien sind [5–9]. Neben Obst, Wein und Tee [10, 11] können auch Bitterschokoladen mit einem hohen Kakaoanteil viele Antioxidanzien enthalten. In-vitro- und In-vivo-Untersuchungen weisen darauf hin, dass vorrangig der Kakaogehalt die Menge an Antioxidanzien bestimmt und damit verbun-

den, die positiven gesundheitlichen Wirkungen. Kann man sich nun beim Kauf einer Schokolade darauf verlassen, dass ein hoher deklarierter Kakaogehalt automatisch einen hohen Gehalt an Antioxidanzien bedeutet? Wir sind der Frage mit drei In-vitro-Untersuchungsmethoden nachgegangen.

Die Untersuchung von Schokoladen ist besonders interessant, da ihr Genuss unter ernährungsphysiologischen Gesichtspunkten eher als ungesund gilt. Der hohe Fett- und Zuckeranteil bedingt einen hohen Energiegehalt und kann bei übermäßigem Verzehr zu Übergewicht, Herz-Kreislauferkrankungen usw. beitragen.

Aktuelle Untersuchungen haben nun aber interessanterweise ergeben, dass Schokolade bereits in geringen Mengen positive Wirkung besitzt [17, 18]. So wurde in einer Studie mit Rauchern nachgewiesen, dass der Verzehr von Bitterschokolade blutgefäßschützende Wirkung hat, da die Inhaltsstoffe einen positiven Einfluss auf den Blutfluss haben und vermutlich den „oxidativen Stress“ verringern. Bei der Kontrollgruppe, die weiße Schokolade erhielt, zeigten sich diese positiven Auswirkungen nicht [17]. In einer weiteren Unter-

Kakao-Inhaltsstoffe

Schon seit den 1950er Jahren werden die Polyphenole im Kakao untersucht, damals galt das Interesse aber mehr deren Geschmackseigenschaften. Hauptbestandteile des Kakaos sind die Flavan-3-ole (+)-Catechin und (-)-Epicatechin [12]. Weiterhin enthält Kakao oligomere und polymere Procyanidine. In unfermentiertem Kakao wurden Procyanidine mit bis zu 12 Untereinheiten gefunden [13, 14]. PORTER et al. und HATANO et al. fanden zusätzlich verschiedene Procyanidine, deren Untereinheiten durch zwei Bindungen, bzw. einmal zwei Bindungen und einmal eine Bindung (Trimer), miteinander verbunden sind. [15, 16]. Es fanden sich außerdem Spuren von Gallocatechin und Epigallocatechin [13]. Kakao enthält außerdem zwei Zimtsäureamide [12].

¹ PURPUR Edelbitter Schokolade 78% Kakao, „reich an wertvollen Antioxidanzien“, Sarotti GmbH, www.sarotti.de



Prof. Dr. Kerstin Höner und Nicole Frerichs
TU Braunschweig
Abt. Chemie und Chemiedidaktik
Pockelsstr. 11
38106 Braunschweig
E-Mail:
k.hoener@tu-bs.de

suchung wurde gezeigt, dass dunkle Schokolade den Blutdruck senken kann, weiße Schokolade aber in dieser Hinsicht keinen Effekt hat [18]. Diese Effekte werden in erster Linie auf den höheren Kakaogehalt der dunklen Schokoladen im Vergleich zu weißen bzw. Milkschokoladen zurückgeführt. Bisher wurde aber noch nicht systematisch untersucht, ob ein höherer Kakaanteil automatisch eine größere Menge an Polyphenolen und dadurch eine höhere antioxidative Aktivität bedingt. In fast allen Studien wird nur grob zwischen dunkler und Milkschokolade unterschieden (s. Vergleich der Ergebnisse mit anderen Literaturdaten).

Bestimmung des Gesamtphenolgehalts und der relativen antioxidativen Aktivität verschiedener Schokoladen

Methodische Aspekte

Es gibt inzwischen eine große Anzahl an Methoden (meist In-vitro-Tests), um die antioxidative Kapazität zu bestimmen. Prinzipiell sind direkte In-vitro-Methoden aussagekräftiger, aber auch viel komplizierter, weil man es mit komplexen Systemen zu tun hat. Daher gibt es bis jetzt kein routinemäßig anwendbares In-vitro-Verfahren.

Wir verwendeten für die vorliegende Untersuchung die Gesamtphenolbestimmung nach FOLIN-CIOCALTEU, die TEAC-Methode (Trolox Equivalent Antioxidant Capacity) und die BR-Methode (BRIGGS-RAUSCHER-Methode), was sich folgendermaßen begründen lässt:

Die meisten In-vitro-Testverfahren laufen im neutralen pH-Milieu ab. Lebensmittel gelangen aber zunächst in den Magen und damit in ein saures Milieu. Dass der menschliche Magen ein wahrer Bioreaktor ist, zeigten KANNER et al. [19]. Im Magenmilieu können im Zuge des Nahrungsaufschlusses und der Verdauung Lipidperhydroxide entstehen, da hier bei sehr niedrigem pH-Wert auch gelöster Sauerstoff vorliegt. Mit der Mahlzeit aufgenommene Antioxidanzien können daher bereits im Magen der Lipidperoxidation vorbeugen bzw. deren Ausmaß verringern [20–22].

Mit Hilfe der BR-Methode, die bei pH <2 arbeitet, können diese Vorgänge simuliert werden. Außerdem tritt bei dieser Reaktion das Perhydroxylradikal auf, das auch im menschlichen Körper vorkommt [23]. Bei der BR-Methode werden die Oszillationen der BR-Reaktion durch Zugabe von Antioxidanzien gestoppt, setzen aber nach einer bestimmten Zeit wieder ein. Über diese Inhibierungszeit wird in Bezug auf eine Standardsubstanz die relative antioxidative Aktivität bestimmt. Bei dieser Methode wird 2,6-Dihydroxybenzoesäure als Standard verwendet und die relative antioxidative Aktivität als in mg DHBA/g Probe ausgedrückt.

Andererseits wurde in Tierversuchen mit Ratten gezeigt, dass Anthocyane nach ihrer oralen Aufnahme sehr schnell durch die Magenschleimhaut absorbiert werden und im Blutplasma nachweisbar sind, wo sie bei einem pH-Wert von 7,4 wirksam werden können [24], deshalb erscheint auch ein Testsystem, das bei diesem pH-Wert arbeitet, sinnvoll. Weit verbreitet ist die TEAC-Methode, bei der durch Kaliumperoxodisulfat ein langlebiges blaugrünes Radikalkation (ABTS^{•+}) erzeugt wird, das durch Zugabe von Antioxidanzien wieder reduziert wird und danach nur noch schwach grün gefärbt ist. Die Extinktionsänderung wird photometrisch gemessen. Von der TEAC-Methode existieren mehrere Modifikationen. Wir verwendeten die nach RE et al. [25] bei pH = 7,4. Bei der TEAC-Methode dient Trolox – ein Vitamin-E-Analogon – als Standardbezugssubstanz und die Ergebnisse werden als mg TEAC/g Probe berechnet (TEAC = Trolox Equivalent Antioxidant Capacity).

Die Bestimmung des Gesamtphenolgehalts mit dem FOLIN-CIOCALTEU-Reagenz ist eigentlich keine Methode zur Bestimmung der antioxidativen Kapazität, wird aber häufig als Indiz dafür verwendet, da der Gesamtreaktionsmechanismus eine Redoxreaktion ist. Eine Reihe von Untersuchungen [z. B. 26] hat gezeigt, dass der Gesamtphenolgehalt und die antioxidative Aktivität positiv korrelieren.

Inzwischen wird die Methode als eine mögliche Standardmethode zur Bestimmung der antioxidativen Kapazität von Lebensmitteln vorgeschlagen [27]. Das Bestimmungsprinzip beruht auf dem FOLIN-CIOCALTEU-Reagenz, das eine Mischung aus Phosphormolybdän- und Phosphorwolframsäuren enthält, die zu Molybdän- und Wolframblau reduziert werden [28, 29]. Die Farbänderung wird photometrisch gemessen. Für die Gesamtphenolgehaltsbestimmung werden die Aktivitäten auf Gallussäure als Standard bezogen und als mg GAE/g Probe angegeben.

Schokoladenextraktion

Die in der Schokolade enthaltenen Fette können bei den verwendeten Messmethoden als Störfaktoren auftreten, so dass die Antioxidanzien mit einem geeigneten Verfahren extrahiert werden müssen.

In der Literatur werden sehr unterschiedliche Extraktionsverfahren verwendet, die zu sehr unterschiedlichen Ergebnissen hinsichtlich der relativen antioxidativen Aktivität führen, so dass die Werte verschiedener Untersuchungen in der Regel nicht vergleichbar sind. Für die vorliegende Untersuchung wurde das Verfahren nach SERAFINI et al. [30] insofern modifiziert, dass zweimal mit n-Hexan extrahiert wurde anstatt nur einmal.

Ergebnisse und Diskussion

◆ Tabelle 1 zeigt die untersuchten Schokoladensorten, in ◆ Tabelle 2 sind die ermittelten relativen antioxidativen Aktivitäten jeweils in mg Standardsubstanz/g Schokolade angegeben.

Trägt man die jeweiligen relativen Aktivitäten gegen den Kakaogehalt in % auf, zeigt sich bei allen drei Verfahren ein linearer Zusammenhang (◆ Abbildungen 1–3).

Auffällig ist aber, dass die L99 mit einem Kakaanteil von 99 % bei allen drei Verfahren herausfällt und eine sehr niedrige Aktivität besitzt. Im Vergleich dazu hat die L75 in Relation zu ihrem Kakaanteil eine recht hohe Aktivität bzw. einen hohen Ge-

Glossar:

Extinktion = von lat. „Entfärbung“; Maß für die Abschwächung des Lichts einer bestimmten Wellenlänge durch die Probensubstanz. Die E. ist abhängig von der Konzentration in der Probenlösung und kann so zur Mengenbestimmung eingesetzt werden.

Kakao-Fermentation = Das die Kakaobohnen umgebende Fruchtfleisch halbiertes Kakaofrüchte (vgl. Ernährungs Umschau Heft 4/2007, S. 214) kommt in Behältern für mehrere Tage zur kontrollierten Gärung, wodurch die Keimung der Kakaosamen vermieden und deren Bitterstoffspektrum verändert wird. Anschließend werden die Kakaobohnen aus den Früchten entnommen, getrocknet und bei Temperaturen von 100 – 160 °C bis zu 30 Min geröstet. Hierbei werden Mikroorganismen abgetötet und das Kakao-Aroma ändert sich erneut röstspezifisch.

Abk.	Name und Hersteller	Kakaoanteil in %	deklarierte Inhaltsstoffe
M30	Milka Alpenmilch Kraft Foods	30	Zucker, Kakaobutter, Magermilchpulver, Kakaomasse, Süßmolkepulver, Butterreinfett, Emulgator: Sojalecithin, Aroma (Vanillin), (kann Spuren von Nüssen enthalten)
L30	Vollmilch Lindt und Sprüngli GmbH	30	Zucker, Vollmilchpulver, Kakaobutter, Kakaomasse, Emulgator (Sojalecithin), Aroma, (kann Spuren von Haselnüssen und Mandeln enthalten)
G37	Edelvollmilch Java 37% Edelcacao J.D. Gross	37	Zucker, 26 % Vollmilchpulver, Kakaobutter, Kakaomasse, Emulgator (Sojalecithin, Vanillin)
L52	Zartbitter Lindt und Sprüngli GmbH	52	Kakaomasse, Kakaobutter, Zucker, Emulgator (Sojalecithin), Aroma, (kann Spuren von Haselnüssen, Mandeln und Milchbestandteilen enthalten)
L55	Excellence Cuba Lindt und Sprüngli GmbH	55	Zucker, Kakaomasse (Cuba), Kakaobutter, (kann Spuren von Haselnüssen, Mandeln, Milch und Sojalecithin enthalten)
G56	Edel Zartbitter Venezuela 56 % Edelcacao J.D. Gross	56	Zucker, Kakaomasse, Kakaopulver stark entölt, Emulgator (Sojalecithin, Vanillin)
S60	Schwarze Herren Schokolade Edelbitter Sarotti GmbH	60	Kakaomasse, Kakaobutter, Zucker, Süßmolkepulver, Emulgator Sojalecithin, Aroma (Vanillin), (kann Spuren von Gluten und Ei sowie anderen Milchbestandteilen enthalten)
L65	Excellence Madagascar Lindt und Sprüngli GmbH	65	Kakaomasse (Madagascar), Kakaobutter, Zucker, Vanillestängel, (kann Spuren von Haselnüssen, Mandeln, Milch und Sojalecithin enthalten)
L70	Excellence 70 % Lindt und Sprüngli GmbH	70	Kakaomasse, Zucker, Kakaobutter, natürliches Aroma: Vanille, (kann Spuren von Sojalecithin, Haselnüssen, Mandeln und Milchbestandteilen enthalten)
S72	Edelbitter 72 % Stollwerk AG	72	Kakaomasse, Zucker, Kakaobutter, Emulgator Sojalecithin, Aroma (Vanillin), (kann Spuren von Nüssen, Erdnüssen, Milchbestandteilen, Gluten und/oder Ei enthalten)
G75	Extra Bitter Trinidad 75 % Edelcacao J.D. Gross	75	Zucker, Kakaomasse, Kakaopulver stark entölt, Emulgator (Sojalecithin, Vanillin)
L75	Excellence Ecuador Lindt und Sprüngli GmbH	75	Kakaomasse (Ecuador), Zucker, Kakaobutter, natürliches Aroma, (kann Spuren von Haselnüssen, Mandeln, Milch und Sojalecithin enthalten)
L85	Excellence 85 % Lindt und Sprüngli GmbH	85	Kakaomasse, fettarmes Kakaopulver, Kakaobutter, Zucker, natürliches Aroma (Vanille), (kann Spuren von Nüssen sowie Sojalecithin enthalten)
L99	Excellence 99 % Lindt und Sprüngli GmbH	99	Kakaomasse, fettarmes Kakaopulver, Kakaobutter, Rohrzucker, (kann Spuren von Haselnüssen, Mandeln, Milchbestandteilen und Sojalecithin enthalten)

Tab. 1: Verwendete Schokoladen

samtphenolgehalt (◆Abbildungen 2 und 3).

Die Korrelationskoeffizienten für den Zusammenhang zwischen dem Kakaogehalt und der Aktivität bzw. dem Phenolgehalt sind alle hochsignifikant ($p < 0,01$). In ◆Tabelle 3 sind die Werte einmal für die Berechnung mit der L99 und einmal unter Ausschluss der Probe L99 gezeigt.

Die Korrelationskoeffizienten zeigen signifikante hohe positive Korrelationen zwischen dem Kakaogehalt und der antioxidativen Aktivität bzw. dem Gesamtphenolgehalt. Auffällig ist jedoch der Abfall bei der L99. Auf Nachfrage bei der Lindt & Sprüngli GmbH teilte man mit, dass die Schokoladen mit unterschiedlichen Mischungsverhältnissen der Kakaoarten hergestellt werden. So kann angenommen werden, dass bei diesen Schokoladen eine oder mehrere Kakaoarten beigemischt werden, die einen geringeren Gehalt an Antioxidanzien haben bzw. deren Antioxidanzien weniger aktiv sind. Dies lässt sich daraus schließen, dass auch der Gesamtphenolgehalt geringer ist. Bei den drei „Länderschokoladen“ Cuba 55% (L55), Madagascar 65% (L65) und Ecuador 75% (L75) werden ausschließlich Kakaoarten aus den jeweiligen Ländern eingesetzt. Auch hier zeigt sich keine eindeutige Tendenz der Zunahme der antioxidativen Aktivität mit dem Kakaogehalt. Ebenso zeigt sich dieses beim Vergleich der Schokoladen L75 und G75, die beide einen Kakaogehalt von 75% haben. Die G75 liefert bei allen drei Methoden sehr viel geringere Werte. Dies trifft in geringerem Maße auch für die beiden 30%igen Schokoladen M30 und L30 zu.

Da mittlerweile Kakao unter unterschiedlichen Bedingungen fermentiert wird, lassen sich diese Unterschiede auch damit erklären. Kakao mit einer Fermentationsdauer von weniger als 4 Tagen, enthält größere Mengen an Polyphenolen als länger fermentierter Kakao. Werden solche kurz fermentierten Kakao der Schokolade beigemischt, so enthalten diese eine größere Menge an Antioxidanzien [31]. Edelkakao enthält

dagegen aus Geschmacksgründen häufig phenolarme Kakaosorten.

Zu bedenken ist außerdem, dass sich der Kakaoanteil in Prozent auf die Gesamtmenge an Kakaomasse und Kakaobutter bezieht. Letztere dürfte wenig zur antioxidativen Aktivität beitragen.

Dass die Ergebnisse der drei verschiedenen Testverfahren ebenfalls miteinander korrelieren, zeigen die hoch signifikanten ($p < 0,01$) Korrelationskoeffizienten (◆ Tabelle 4).

Dies bedeutet, dass es im Fall der Schokoladenuntersuchung im Prinzip reichen würde, *eine* Methode zu

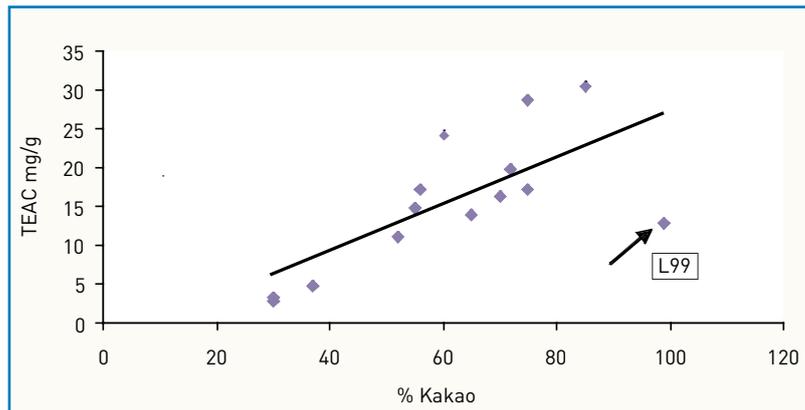


Abb. 1: TEAC-Werte aufgetragen gegen den Kakaogehalt in %

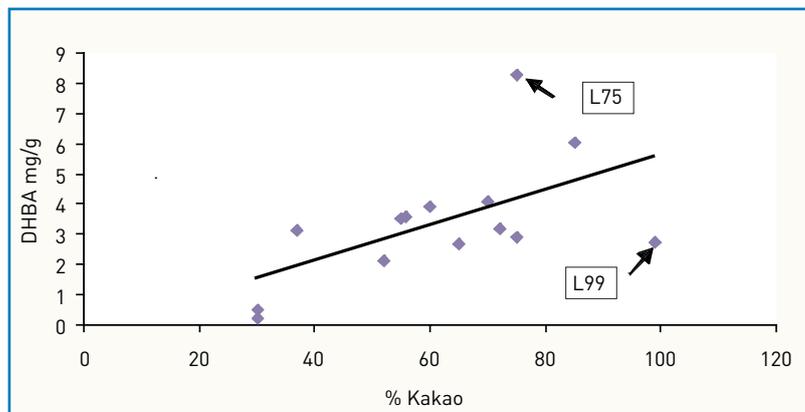


Abb. 2: DHBA-Werte aufgetragen gegen den Kakaogehalt in %

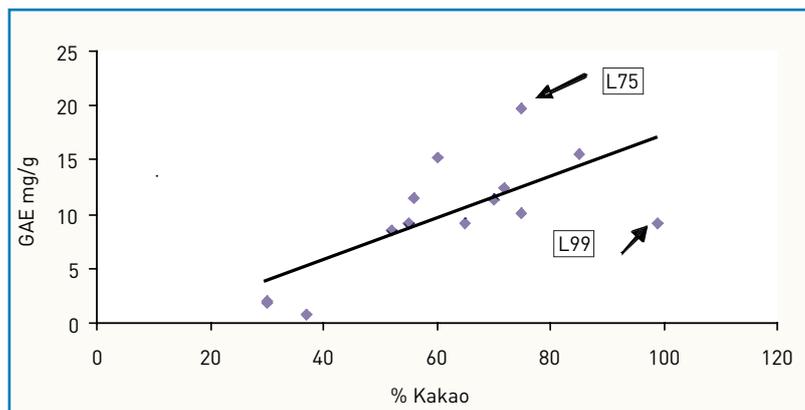


Abb. 3: GAE-Werte aufgetragen gegen den Kakaogehalt in %

Schokolade Abk.	TEAC mg/g	DHBA mg/g	GAE mg/g
M30	3,25	0,51	1,98
L30	2,78	0,23	1,84
G37	4,76	3,16	0,84
L52	11,16	2,13	8,53
L55	14,72	3,50	9,23
G56	17,27	3,57	11,46
S60	24,03	3,90	15,19
L65	13,92	2,71	9,14
L70	16,24	4,07	11,36
S72	19,77	3,20	12,42
L75	28,67	8,25	19,77
G75	17,27	2,91	10,11
L85	30,34	6,04	15,56
L99	12,76	2,74	9,15

Tab. 2: Relative antioxidative Aktivitäten angegeben als mg Standard/g Schokolade

verwenden, um einen Anhaltspunkt über die antioxidative Aktivität zu erhalten.

Es hat sich auch hier wieder bestätigt, dass die Gesamtphenolbestimmung nach FOLIN-CIOCALTEU als Indikator für die antioxidative Aktivität verwendet werden kann.

Um die Aktivitäten der Schokoladenextrakte bei den beiden verschiedenen pH-Werten der BR-(DHAB-) und der TEAC-Methode zu vergleichen, müssen die relativen Aktivitäten in eine gleiche Größenordnung gebracht werden. Dafür werden die Werte der L55, die bei beiden Methoden einen mittleren Rangplatz

Zusammenhang zwischen	R mit L99	R ohne L99
TEAC - % Kakao	0,701	0,893
DHBA - % Kakao	0,578	0,743
GAE - % Kakao	0,708	0,860

Tab. 3: Korrelationskoeffizienten R ($p < 0,01$) für die Zusammenhänge zwischen Kakaanteil und Aktivität bzw. Gesamtphenolgehalt

einnimmt, als 100% gesetzt und die Aktivitäten der anderen Schokoladen als % von L55 ausgedrückt. Die Ergebnisse sind in **◆**Abbildung 4 dargestellt.

Zusammenhang zwischen	R
TEAC – DHBA	0,866
TEAC – GAE	0,966
DHBA – GAE	0,844

Tab. 4: Korrelationskoeffizienten R ($p < 0,01$) für die Zusammenhänge zwischen den drei Methoden

Es zeigt sich kein besonderer Unterschied zwischen DHBA und TEAC. In vier Fällen ist die mit der TEAC-Methode bestimmte Aktivität bei pH = 7,4 signifikant höher, in nur einem Fall der DHBA-Wert (BR-Methode) bei pH < 2. Anders als bei Weißweinen und Magenbittern [10, 26] zeigt sich hier also kein eindeutiger Unterschied der Aktivitäten in Abhängigkeit vom pH-Wert.

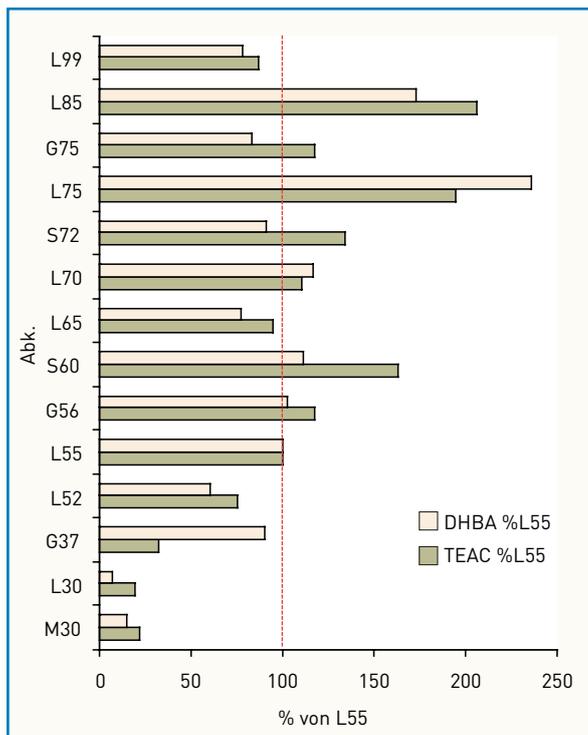


Abb. 4: Aktivitäten der Schokoladenextrakte ausgedrückt als % von L55

Vergleich der Ergebnisse mit anderen Literaturdaten

Für die Ergebnisse der DHBA-(BR-)Messungen gibt es keine Vergleichswerte in der Literatur, da die Methode noch relativ neu ist.

Auch für die beiden anderen Verfahren ist es schwierig, die Daten zu vergleichen. Zum einen werden in der Literatur meist keine Angaben zum Kakaogehalt gemacht, sondern nur zwischen Milch- und dunkler Schokolade unterschieden. Zum anderen sind die Extraktionsverfahren sehr unterschiedlich, was starken Einfluss auf die Ergebnisse hat [32].

Unsere Daten stimmen gut mit denen von MILLER et al. überein, dort werden aber keine Angaben über das Extraktionsverfahren gemacht. MILLER et al. [33] finden GAE-Werte zwischen 11,73 und 14,88 mg/g für dunkle Schokoladen. Der Wert für die Lindt 70% (11,73 mg/g), die MILLER et al. untersucht haben, passt sehr gut zu unseren 11,36 mg/g für die L70.

Auch die TEAC-Werte von MILLER et al. für dunkle Schokolade, die um 14,21 mg/g liegen, passen gut zu unserem Wert von 13,92 mg/g für die L65.

WATERHOUSE et al. [34] führten die Extraktion mit einem Gemisch aus 95% wässrigem Methanol und Hexan durch. Auch hier passen die Größenordnungen der erhaltenen Werte zu unseren Ergebnissen, und es passt die Tendenz, dass der Phenolgehalt mit dem Kakaanteil zunimmt. Bei VINSON et al. [35] wurden die gefriergetrockneten Schokoladen mit in Methanol gelöster Salzsäure extrahiert. Da sie Catechin als Standard verwendeten, müssen die Werte zum Vergleich mit unseren Daten in GAE-Werte umgerechnet werden. Für dunkle Schokolade erhalten sie 21,44 mg GAE/g, was in der Größenordnung ebenfalls zu unseren Werten passt.

Fazit

Der Vergleich von Bitterschokolade mit einem hohen Kakaogehalt mit anderen Lebensmitteln zeigt, dass Scho-

koladen eine relativ hohe antioxidative Kapazität besitzen. WON LEE et al. [32] berichten, dass Kakao (kommerzielles Kakaopulver/200 ml Wasser) eine höhere antioxidative Kapazität als Tee oder Rotwein besitzt. Das Kakaogetränk enthält 611 mg GAE, während 200 ml Rotwein nur 486 mg GAE besitzt. Der Konsum von 200 ml Rotwein würde also z. B. dem Genuss von etwa 24 g der Lindt Ecuador 75% (L75) entsprechen.

HÖNER et al. [10] untersuchten deutsche Weißweine auf deren antioxidative Aktivität und ermittelten Gallussäureäquivalente für jeweils 200 ml Wein zwischen 31 mg GAE und 58 mg GAE, was einer Portion von 1,4–2,9 g der Lindt 75% entsprechen würde.

Diese Werte zeigen, dass Bitterschokoladen eine hohe relative antioxidative Kapazität haben, so dass der Verzehr von geringen Mengen Schokolade, ähnlich wie beispielsweise Wein, positive gesundheitliche Wirkungen durch Antioxidanzien haben kann.

In der Regel kann man sich beim Kauf einer Schokolade darauf verlassen, dass der Gehalt an Antioxidanzien mit steigendem Kakaogehalt zunimmt, auch wenn es von Schokolade zu Schokolade deutliche Unterschiede gibt.

Literatur

1. Kinsella JE et al. (1993) Possible mechanisms for the protective role of antioxidants in wine and plant food. *Food Technol.* 47: 85–89
2. Hannum SM (2004) Potential impact of strawberries on human health: a review of the science. *Crit Rev Food Sci Nutr.* 44: 1
3. Heber D (2004) Vegetables, fruits and phytoestrogens in the prevention of disease. *J Postgrad Med* 50: 145
4. Boyer J, Lui RH (2004) Apple phytochemicals and their health benefits. *Nutr J* 3: 5
5. Wisemann SA, Balentine DA, Frei B (1997) Antioxidants in tea. *Crit Rev Food Sci Nutr* 37: 705–718
6. Serafini M, Ghiselli A, Ferro-Luzzi A (1996) In vivo antioxidant effect of green and black tea in man. *Eur J Clin Nutr* 50: 28–32

7. Wang H, Cao G, Prior RL (1996) Total antioxidant capacity of fruits. *J Agric Food Chem* 44: 701–705
8. Velioglu YS et al. (1998) Antioxidant activity and total phenolics in selected fruits, vegetables, and grain products. *J Agric Food Chem* 46: 4113–4117
9. Proteggente AR et al. (2002) The antioxidant activity of regularly consumed fruit and vegetables reflects their phenolic and vitamin C composition. *Free Rad Res* 36: 217–233
10. Höner K, Cervellati R, Neddens C (2002) Measurements of the in-vitro antioxidant activity of German white wines using a novel method. *Eur Food Res Technol* 214: 356–360
11. Höner K, Cervellati R (2002) Measurements of the Antioxidant Capacity of Fruits and Vegetables Using the BR Reaction Method. *Eur Food Res Technol* 215: 437–442
12. Sanbongi C et al. (1998) Antioxidative Polyphenols Isolated from *Theobroma cacao*. *J Agric Food Chem* 46: 454–457
13. Forsyth WGC (1955) Cacao polyphenolic substances. 3. Separation and estimation on paper chromatograms, *Biochem J.* 60: 108–111
14. Hammerstone JF et al. (1999) Identification of procyanidins in cocoa (*Theobroma cacao*) and chocolate using high-performance liquid chromatography/mass spectrometry. *J Agric Food Chem* 47: 490–496
15. Porter LJ, Ma Z, Chan BG (1991) Cacao procyanidins: major flavonoids and identification of some minor metabolites. *Phytochem* 30: 1657–1666
16. Hatano T et al. (2002) Proanthocyanidin glycosides and related polyphenols from cocoa liquor and their antioxidant effects. *Phytochem* 59: 749–758
17. Christiane Limberg, Pressemitteilung, Deutsche Gesellschaft für Kardiologie-Herz- und Kreislaufforschung e. V. 09/2005
18. Taubert D (2003) Chocolate and Blood Pressure in Elderly Individuals With Isolated Systolic Hypertension. *Research Letters* 280(8): 1029–1030
19. Kanner J, Lapidot T (2001) The stomach as a bioreactor: Dietary lipid peroxidation in the gastric fluid and the effects of plant-derived antioxidants. *Free Radic Biol Med* 21(1): 1388–1395
20. Kroger-Ohlsen MV, Andersen ML, Skibsted LH (1998) Acid-catalysed autoreduction of ferrylmyoglobin in aqueous solution studied by freeze quenching and ESR spectroscopy. *Free Radic Res* 30: 661–667
21. King NK, Winfield ME (1963) The mechanism of methmyoglobin oxidation. *J Biol Chem.* 238: 1520–1528
22. Giulivi C, Cadenas E (1998) Heme protein radicals: formation, fate, and biological consequences. *Free Radic Biol Med* 24: 269–279
23. Cervellati R. et al. (2001) The Briggs-Rauscher Reaction as a Test to measure the Activity of Antioxidants. *Helv Chim. Acta* 84 (12): 3533–3547
24. Talavera S et al. (2003) Anthocyanins are efficiently absorbed from the stomach in anesthetized rats. *J Nutr* 133(12): 4178–4182
25. Re N et al. (1999) Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radic Biol Med* 26: 1231–1237
26. Höner K, Cervellati R (2005) Evaluation of Antioxidant activity of spirits using two different free radical scavenging testing methods. *Ital J Food Sci* 17(4): 395–406
27. Prior RL, Wu X, Schaich K (2005) Standardized Methods for the Determination of Antioxidant Capacity and Phenolics in Foods and Dietary Supplements. *J Agric Food Chem* 53(10): 4290–4302
28. Swain T, Goldstein JL (1964) The quantitative analysis of phenolic compounds. In: J.B. Prodhom (Hrsg), Mac Millan Co., New York, S. 134
29. Singleton VL, Rossi JA (1965) Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *Am J Enol Vitic* 16: 144–158
30. Serafini M et al. (2003) Plasma antioxidants from chocolate. *Nature* 424: 1013
31. Lee KW et al. (2003) Cocoa Has More Phenolic Phytochemicals and a Higher Antioxidant Capacity than Teas and Red Wine. *J Agric Food Chem* 51: 7292–7295
32. Miller KB et al. (2006) Antioxidant Activity and Polyphenol and Procyanidin Contents of Selected Commercially Available Cocoa-Containing and Chocolate Products in the United States. *J Agric Food Chem* 54: 4062–4068
33. Waterhouse AL, Shirley JR, Donovan JL (1996) Antioxidants in chocolate. *The Lancet*, 348: 834
34. Vinson JA, Proch J, Zubik L (1999) Phenol Antioxidant Quantity and Quality in Foods: Cocoa, Dark Chocolate, and Milk Chocolate. *J Agric Food Chem.* 47: 4821–4824

Zusammenfassung

Antioxidative Kapazität verschiedener Schokoladensorten in Abhängigkeit vom Kakao-gehalt

Kerstin Höner und Nicole Frerichs, Braunschweig

Verschiedene Schokoladensorten mit unterschiedlichen Kakaogehalten wurden zur Bestimmung der antioxidativen Kapazität bzw. des Gesamtphenolgehaltes untersucht. Drei unterschiedliche Methoden kamen zum Einsatz. Die BR-(DHBA-)Methode wird bei pH-Werten <2 ausgeführt, was etwa dem pH-Wert im menschlichen Magensaft entspricht. Die TEAC-Methode wird bei pH 7,4 durchgeführt, was dem pH-Wert des Blutes entspricht. Die dritte Methode zur Bestimmung des Gesamtphenolgehalts mit dem Folin-Ciocalteu-Reagenz wird in anderen Arbeiten häufig zur Bestimmung der antioxidativen Kapazität eingesetzt. Für die unterschiedlichen Testmethoden mussten die Antioxidanzien zunächst aus der Schokoladenmasse extrahiert werden. Die Ergebnisse zeigen eine hohe Korrelation zwischen Kakaogehalt, antioxidativer Aktivität und Polyphenolgehalt.

Summary

Antioxidative capacity of different kinds of chocolate as a function of their cocoa content

Kerstin Höner and Nicole Frerichs, Braunschweig

Antioxidative capacity and total phenolic content, resp., of different chocolates with varying cocoa content were determined by means of three different methods. The BR method works at pH <2 which approximately corresponds to the pH of the human stomach (gastric fluids), while the TEAC method works at pH 7.4 corresponding to the pH of human blood. The third method to determine total phenolic content by means of the Folin-Ciocalteu reagent has frequently been described in the literature as an indicator of antioxidative capacity. Antioxidants had to be extracted from the chocolates first. The results have shown a high correlation among cocoa content, antioxidative activity and total phenolic content.

Keywords: Antioxidants, antioxidative capacity, chocolate, cocoa, Folin-Ciocalteu method, phenols, phytochemicals

Ernährungs Umschau 54 (2007) S. 520–525