

AUTENTICITA ČOKOLÁD S RŮZNÝM OBSAHEM KAKAOVÉ SUŠINY

AUTHENTICITY OF CHOCOLATES WITH DIFFERENT COCOA SOLIDS CONTENT

Pavel Diviš, Jaromír Pořízka, Zuzana Juglová, Zuzana Slavíková

Abstract: This work deals with the analysis of chocolate samples with different cocoa solids content purchased in the Czech sales network. The work aims to verify whether the producers do not deceive the consumer by artificially increasing the value of the cocoa solids content on the product packaging. A total of 15 chocolate samples with a cocoa solids content of 50 to 90% were analyzed. The total cocoa solids were determined from the total fat content and the theobromine and caffeine content of the chocolate samples. Theobromine and caffeine concentration in chocolate samples were determined by high performance liquid chromatography with a DAD detector. The fat content of the analyzed samples in most cases corresponded to the information given by the manufacturer on the packaging. No lower content of total cocoa solids was found in any of the examined samples compared to the declared amount on the packaging. On the contrary, most samples had a higher total cocoa solids content (in an average 3.9 %) than stated by the producers. The results of the total cocoa solids content in the chocolate did not show a significant difference when using a calculation involving the concentration of theobromine and caffeine or only the concentration of theobromine.

Keywords: chocolate, theobromine, caffeine, total cocoa solids

ÚVOD

Čokoláda je tvořena směsí kakaové sušiny, kakaového másla a dalších přísad. Tato velmi populární pochutina je vyráběna z plodů kakaovníku *Theobroma cacao* který je nejvíce pěstován v Africe a v Jižní Americe. Složení čokolády nebo čokoládového výrobku by vždy mělo odpovídat deklarovanému složení a mělo by být v souladu s vyhláškou č. 76/2003 Sb. (MZe ČR, 2004), kterou se stanoví požadavky pro přírodní sladidla, med, cukrovinky, kakaový prášek, směsi kakaa s cukrem, čokoládu a čokoládové bonbony. Uvedená vyhláška vychází z požadavků EU (směrnice 2000/36/ES o kakaových a čokoládových výrobcích určených k lidské spotřebě). Výroba čokolády a čokoládových výrobků je náročná a vyžaduje přísnou kontrolu vstupních produktů a dodržování technologických postupů. Spotřeba kakaových bobů jako základní suroviny pro výrobu čokolády neustále stoupá. V sezoně 2018/19 byla světová produkce kakaových bobů odhadnuta na 4,8 milionů tun (ICCO, 2019), téměř o 4 % více než v předchozí sezóně. Se zvýšenou poptávkou po kakaových bobech dochází také ke zvyšování ceny této suroviny. Cena kakaa na světových trzích například jenom za poslední rok narostla přibližně o 500 USD za tunu. Zvyšující se cena vstupních surovin často bývá důvodem k falšování potravin. Falšování potravin v sobě obecně zahrnuje především změněné složení potraviny nebo změnu obsahu některé ze složek potraviny, uvádění jiné odrůdy nebo druhu potraviny, nesprávně deklarovaný geografický původ potraviny, uvedení jiného stáří potraviny, deklarování jiného způsobu výroby potraviny nebo použití jiné než deklarované technologie (Cuhra 2011). Ke kontrole kvality a průkazu falšování potravin slouží celá řada metod od těch nejjednodušších (např. senzorická analýza), přes chemické a fyzikální metody (volumetrie, gravimetrie, elektrochemické metody) až po složitější instrumentální metody (Amin and Mir, 2018; Perini et al., 2016; Perez et al., 2020). V případě testování autenticity čokolády a čokoládových výrobků se nejvíce používají základní chemické metody a dále chromatografické a spektrometrické metody (Pura Naik, 2011; Alvarez et al., 2012). U čokolády je zejména

sledován podíl kakaového másla a kakaové sušiny. Obsah látek specifických pro kakaové máslo by měl odpovídat jeho podílu ve výrobku (např. obsah tuku, zastoupení jednotlivých mastných kyselin a triacylglycerolů, obsah a složení fytoosterolů a theobrominu a kofeinu).

Tato práce sleduje kvalitu 15 vzorků čokolád s různým deklarovaným podílem kakaové sušiny zakoupených v obchodní síti v České republice a ověřuje, zda v případě testovaných vzorků nedochází k falšování čokolády snížením obsahu celkové kakaové sušiny a zda nedochází ke klamání spotřebitele.

MATERIÁL A METODIKA

K analýze bylo vybráno 15 vzorků hořké čokolády s různým obsahem kakaové sušiny zakoupených v obchodní síti ČR (velkoobchodní i maloobchodní). Seznam zkoumaných vzorků včetně deklarovaného obsahu celkové kakaové sušiny (CKS) a celkového tuku (CT) je uveden v tabulce 1. Stanovení tukuprosté kakaové sušiny (TKS) bylo provedeno podle normy ČSN 560578 (ČSN, 2017) a podle Richards and Wailes (2012). Celková kakaová sušina byla vypočítána jako součet TKS+CT. Obsah kofeinu a theobrominu byl stanoven po extrakci těchto látek do horké deionizované vody pomocí vysokoúčinného kapalinového chromatografu Agilent Infinity 1260 (Agilent, USA) s DAD detektorem. Jako stacionární fáze byla použita kolona EVO C18 Polar (150x3 mm, zrnitost 2,5 μm , Phenomenex, ČR), jako mobilní fáze byla použita směs acetonitrilu a vody. Použita byla gradientová eluce kdy v čase 0-5 minut bylo složení mobilní fáze acetonitril:voda 10:90%_{v/v}, v čase 5,1-15 min došlo k postupné změně složení mobilní fáze acetonitril:voda na 40:60%_{v/v}, a v čase 15,1 až 20 min došlo k postupnému návratu složení mobilní fáze acetonitril:voda opět na 10:90%_{v/v}. Použitý acetonitril byl v kvalitě pro HPLC (VWR, ČR) Nástřik vzorku byl 5 μl a signál sledovaných látek byl monitorován při 280 nm. Kofein a theobromin byly v chromatogramu identifikovány na základě porovnání retenčního času látek v reálném vzorku a ve standardu a dále byla porovnávána absorpční spektra čistých látek s absorpčními spektry identifikovaných látek v reálném vzorku. Standardy obou látek o čistotě vyšší než 99 % byly zakoupeny od firmy Sigma-Aldrich (Německo). Obsah celkového tuku byl stanoven gravimetricky s použitím Soxhletovy extrakce. Pro extrakci v přístroji Soxtherm SOX 412 (Gerhard, Německo) bylo použito 10 gramů zhomogenizovaného vzorku čokolády, jako rozpouštědlo byl použit petrolether (VWR, ČR). Po skončení extrakce byl zbylý petrolether oddestilován a extrahovaný tuk byl dosušen v horkovzdušné sušárně při 105°C.

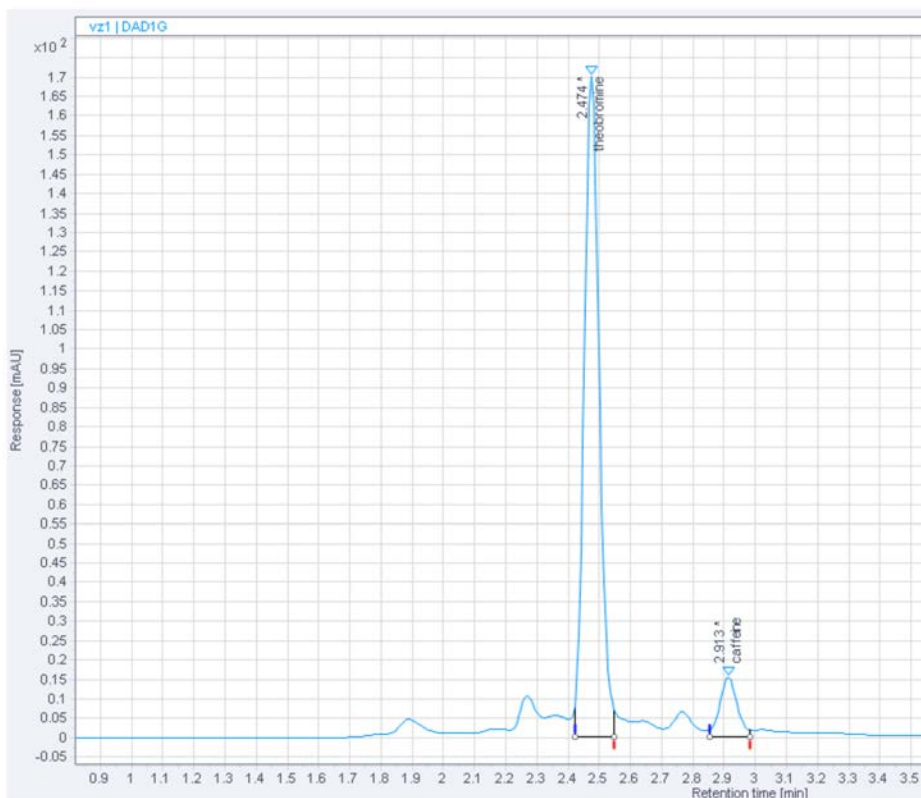
Tabulka 1 Popis testovaných vzorků

| Vzorek | Původ - výrobce | CKS (%) | CT (%) |
|--------|-----------------|---------|--------|
| 1 | ČR | 50 | 33 |
| 2 | Německo | 50 | 29,5 |
| 3 | Polsko | 50 | 31 |
| 4 | ČR | 52 | 31,6 |
| 5 | Německo | 55 | 33,5 |
| 6 | Německo | 70 | 40,3 |
| 7 | Francie | 70 | 41 |
| 8 | ČR | 70 | 45 |
| 9 | ČR | 80 | 47,8 |
| 10 | Polsko | 80 | 43 |
| 11 | Francie | 85 | 46 |
| 12 | Belgie | 85 | 49,9 |

| | | | |
|-----------|---------|----|----|
| 13 | Německo | 90 | 55 |
| 14 | ČR | 90 | 45 |
| 15 | Belgie | 90 | 51 |

VÝSLEDKY A DISKUSE

Zkrácený chromatogram reálného vzorku zobrazující píky theobrominu a kofeinu je znázorněn na obrázku 1. Obsah theobrominu ve vzorcích čokolád byl přibližně desetkrát vyšší než obsah kofeinu (Tabulka 2). Průměrný obsah theobrominu ve vzorcích čokolád se pohyboval v rozmezí od $0,494 \pm 0,032$ do $1,052 \pm 0,049$ g ve 100 g vzorku v závislosti na obsahu tukuprosté kakaové sušiny. Tyto výsledky jsou v souladu s výsledky publikovanými autory Doka et al. (2013) a Richards and Wailes (2012). Obsah theobrominu v surových kakaových bobech se v závislosti na stupni zralosti kakaového bobu pohybuje v rozmezí od 0,5 do 2,9 g ve 100 g vzorku (Wadsworth, 1922; Richards and Wailes 2012) a obsah kofeinu od 0,09 do 0,17 g ve 100 g vzorku (Dang and Nguyen, 2019). Těmto obsahům obou sledovaných methylxanthinů se nejvíce blížila čokoláda s udávaným množstvím 90 % celkové kakaové sušiny. Obsah tuku v analyzovaných vzorcích se ve většině případů shodoval s údaji uváděnými výrobcem na obalu. V některých případech byl ve vzorku čokolády naměřen nepatrně vyšší než deklarovaný obsah tuku. U vzorků 8 a 9 byl i při započtení chyby měření nalezen nižší obsah tuku ve vzorku čokolády, než jaký byl deklarován výrobcem na obalu, přičemž rozdíl činil přibližně 5 %. Obsah celkové kakaové sušiny v čokoládě závisí na celkovém obsahu tukuprosté kakaové sušiny, která souvisí s celkovým obsahem methylxanthinů, a na celkovém obsahu tuků. Richards and Wailes (2012) ve své práci uvádí možnost výpočtu celkového obsahu tukuprosté kakaové sušiny také pouze z obsahu theobrominu. Při použití této metody je používán přepočítávací faktor $f=40,7$. V tabulce 2 je uveden obsah celkové kakaové sušiny vypočtený oběma způsoby, tedy podle metodiky ČSN (ČSN, 2017) a podle Richards and Wailes (2012) se započtením obsahu theobrominu místo celkových methylxanthinů. Oba použité postupy výpočtu celkového obsahu kakaové sušiny poskytovaly při zvážení nejistoty měření srovnatelné výsledky. U žádného ze zkoumaných vzorků nebyl nalezen nižší obsah celkové kakaové sušiny v porovnání s deklarovaným množstvím na obalech. Naopak, u většiny vzorků byl stanoven vyšší obsah celkové kakaové sušiny, než udávali výrobci, a to v průměru o 3,9 %.



Obrázek 1 Chromatogram reálného vzorku čokolády – pík pro theobromin a kofein
Tabulka 2 Obsah theobrominu a kofeinu, tukproště kakaové sušiny (TKS), celkového tuku (CT) a celkové kakaové sušiny (CKS) v analyzovaných vzorcích

| Vzorek | theobromin g/100g vz. | kofein g/100g vz. | TKS (%) | CT (%) | CKS % theob+kof | CKS % thobromin |
|--------|--------------------------|----------------------|----------|----------|--------------------|--------------------|
| 1 | 0,494±0,032 | 0,064±0,005 | 20,2±0,3 | 38,8±0,2 | 55,7±3,2 | 58,9±1,4 |
| 2 | 0,544±0,045 | 0,056±0,007 | 21,7±0,5 | 30,9±0,3 | 52,5±2,6 | 53,0±1,2 |
| 3 | 0,527±0,037 | 0,049±0,005 | 20,8±0,4 | 29,8±0,7 | 50,6±3,5 | 51,2±0,9 |
| 4 | 0,551±0,049 | 0,058±0,004 | 21,9±0,5 | 34,7±0,2 | 56,4±5,4 | 57,1±3,6 |
| 5 | 0,621±0,062 | 0,075±0,009 | 25,1±0,2 | 34,1±0,3 | 59,2±5,7 | 59,4±2,6 |
| 6 | 0,823±0,038 | 0,101±0,007 | 33,4±0,3 | 43,1±0,1 | 75,9±2,5 | 76,6±1,1 |
| 7 | 0,866±0,029 | 0,092±0,005 | 34,6±0,5 | 42,5±0,2 | 76,5±5,9 | 77,7±3,5 |
| 8 | 0,856±0,048 | 0,142±0,011 | 36,0±0,3 | 37,3±0,7 | 73,5±6,5 | 72,1±2,8 |
| 9 | 0,988±0,055 | 0,121±0,009 | 40,0±0,4 | 42,0±0,3 | 82,2±3,5 | 82,2±1,3 |
| 10 | 0,869±0,031 | 0,084±0,006 | 34,4±0,6 | 50,4±0,2 | 84,4±2,2 | 85,8±1,2 |
| 11 | 1,026±0,057 | 0,114±0,007 | 41,2±0,5 | 45,8±0,3 | 86,2±4,4 | 87,6±1,9 |
| 12 | 1,052±0,049 | 0,125±0,003 | 42,5±0,4 | 47,8±0,9 | 90,6±1,2 | 90,6±0,5 |
| 13 | 0,987±0,032 | 0,118±0,005 | 39,9±0,5 | 55,4±0,1 | 95,7±5,6 | 95,6±2,9 |
| 14 | 0,946±0,041 | 0,190±0,009 | 41,0±0,5 | 49,3±0,5 | 89,5±5,7 | 87,8±2,3 |
| 15 | 0,965±0,025 | 0,137±0,005 | 39,8±0,6 | 52,5±0,1 | 92,3±0,5 | 91,8±0,2 |

ZÁVĚR

V této práci bylo analyzováno celkem 15 vzorků čokolád zakoupených v obchodní síti ČR. Vzorky čokolád byly vybírány tak, aby obsahovaly různý podíl celkové kakaové sušiny. Pomocí stanovení celkového obsahu tuku a obsahu theobrominu a kofeinu ve vzorcích bylo následně ověřováno reálné množství celkové kakaové sušiny ve vzorcích s obsahem celkové

kakaové sušiny který výrobce uváděl na obalu čokolády. U žádného ze zkoumaných vzorků nebyl nalezen nižší obsah celkové kakaové sušiny v porovnání s deklarovaným množstvím na obalech. Naopak, u většiny vzorků byl stanoven vyšší obsah celkové kakaové sušiny, než udávali výrobci, a to v průměru o 3,9 %. Výsledky obsahu celkové kakaové sušiny vypočtené pouze z obsahu theobrominu nebo z obsahu theobrominu a kofeinu nevykazovaly při zvážení chyby měření významný rozdíl. U dvou vzorků čokolády byl naměřen o 5 % nižší obsah tuku, než udával výrobce na obalu. I přes toto drobné odhalené pochybení lze konstatovat, že během náhodně provedené kontroly hořkých čokolád prodávaných v obchodní síti ČR nebylo zaznamenáno klamání spotřebitele a udávanému obsahu celkové kakaové sušiny na obalech hořkých čokolád může spotřebitel věřit.

LITERATURA

- Álvarez, C., Pérez, E., Cros, E., Lares, M., Assemat, S., Boulanger, R., Devrieux, F. 2012. The Use of near Infrared Spectroscopy to Determine the Fat, Caffeine, Theobromine and (–)-Epicatechin Contents in Unfermented and Sun-Dried Beans of Criollo Cocoa. In *Journal of Near Infrared Spectroscopy*. vol. 20, no.2, pp. 307-315, doi:10.1255/jnirs.990
- Amin, S., Mir, S. R. 2018. Application of Authentication and Traceability in Chocolate. In *Fingerprinting Techniques in Food Authentication and Traceability*, pp. 363-382, CRC Press, ISBN: 9781315277219
- Cuhra, P. 2001. Zkušenosti s prokazováním falšování potravin v uplynulých letech. In *Metody a kritéria pro ověřování autenticity potravin a potravinářských surovin*, Key Publishing, 127p. ISBN-978-80-7418-124-5.
- ČSN (2017). Česká technická norma ČSN 560578: Čokoláda a čokoládové cukrovinky-Stanovení obsahu tukuprosté kakaové sušiny.
- Dang, Y. K. T., Nguyen, H. V. H. 2019. Effects of Maturity at Harvest and Fermentation Conditions on Bioactive Compounds of Cocoa Beans. In *Plant Foods Hum Nutr*. Vol 74, no.1, pp.54-60. doi: 10.1007/s11130-018-0700-3.
- ICCO, The International Cocoa Organization. (2019). Quarterly Bulletin of Cocoa Statistics XLVI no.3.
- MZe ČR 2004. Ministerstvo zemědělství ČR, Vyhláška č. 76/2003 Sb. Vyhláška, kterou se stanoví požadavky pro přírodní sladidla, med, cukrovinky, kakaový prášek a směsi kakaa s cukrem, čokoládu a čokoládové bonbony.
- Perez, M., Lopez-Yerena, A., Vallverdú-Queralt, A. 2020. Traceability, authenticity and sustainability of cocoa and chocolate products: a challenge for the chocolate industry, *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, vol. 62, no.2, pp.475-489, doi: 10.1080/10408398.2020.1819769
- Perini, M., Bontempo, L., Ziller, L., Barbero, A., Caligiani, A., Camin, F. 2016. Stable isotope composition of cocoa beans of different geographical origin. *Journal of Mass Spectrometry*, vol. 51, no. 9, pp. 684–689. doi:10.1002/jms.3833
- Pura Naik J. 2001. Improved high-performance liquid chromatography method to determine theobromine and caffeine in cocoa and cocoa products. In *J Agric Food Chem.*, vol.49, no. 8, pp.:3579-83. doi: 10.1021/jf000728z.
- Richards, A., Wailes, B. 2012. Estimation of fat free cocoa solids in chocolate and cocoa products – Global survey of typical concentrations of theobromine and caffeine determined by HPLC. In *Journal of the Association of Public Analysts*, vol. 40., pp. 1–12
- Wadsworth, R. V. 1922. The theobromine content of cacao-beans and cocoa. *The Analyst*, vol. 47, pp. 152-163. doi:10.1039/an9224700152

Poděkování: Tato práce byla podpořena projektem FCH-S-21-7483. Autoři děkují Ing. Petře Vanduchové za technickou pomoc.

Kontaktní adresa: doc. Ing. Pavel Diviš, Ph.D., Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická, Ústav chemie potravin a biotechnologií, Purkyňova 118, Brno 61200, Česká republika