

*Małgorzata Jędra, Andrzej Starski, Halina Gawarska,
Dorota Sawilska-Rautenstrauch*

WYSTĘPOWANIE BENZENU W NAPOJACH BEZALKOHOLOWYCH

Zakład Badania Żywności i Przedmiotów Użytku Narodowego Instytutu Zdrowia
Publicznego – Państwowego Zakładu Higieny w Warszawie
Kierownik: doc. dr hab. *K. Karłowski*

Benzen w napojach oznaczono za pomocą chromatografii gazowej sprzężonej ze spektrometrią mas. Zwrócono uwagę na problem zanieczyszczenia benzenem napojów konserwowanych benzoesanami.

Hasła kluczowe: benzen, benzoesan, napoje, konserwanty.
Key words: benzene, benzoate, beverages, preservatives.

Benzen występuje powszechnie w środowisku – w powietrzu, wodzie i glebie. Głównym jego źródłem są procesy przemysłowe: spalanie węgla i oleju, przetwórstwo ropy naftowej, przemysł chemiczny. Większość ludzi jest narażona na kontakt z benzenem pochodzącym ze spalin samochodowych, dymu papierosowego, oparów produktów chemicznych zawierających benzen takich, jak: kleje, farby, pasty do podłóg i mebli, detergenty. Benzen działa neurotoksycznie, powoduje uszkodzenie szpiku i jest przyczyną leukemii, działa genotoksycznie, osłabia system odpornościowy, wywołuje również zaburzenia w układzie rozrodczym, a jego działanie teratogenne stwierdzono doświadczalnie u zwierząt. Międzynarodowa Agencja Badań nad Rakiem (IARC) zaliczyła benzen do grupy I – substancji o udowodnionym działaniu rakotwórczym u ludzi (1).

W badaniach przeprowadzonych przez Food and Drug Administration (FDA) oznaczono stężenie lotnych związków organicznych w żywności dostępnej w obrocie handlowym na obszarze USA (2). Wykryto obecność benzenu w różnego rodzaju produktach spożywczych w ilości do 190 $\mu\text{g}/\text{kg}$. Najniższy poziom stwierdzono w mlecznych mieszankach dla niemowląt i surowych truskawkach (1 $\mu\text{g}/\text{kg}$). Największe ilości benzenu zawierała wołowina – średni poziom w 12 próbkach wynosił 40 $\mu\text{g}/\text{kg}$. Wykrycie benzenu w tak wielu produktach potwierdza jego wszechobecność w środowisku przemysłowym.

Najwyższe dopuszczalne stężenie benzenu w żywności nie zostało dotychczas określone. Maksymalny dopuszczalny poziom zanieczyszczenia (MCL) benzenem wody pitnej został ustalony przez amerykańską Agencję Ochrony Środowiska (EPA) na 5 $\mu\text{g}/\text{dm}^3$, natomiast w Polsce tak, jak w innych krajach Unii Europejskiej, woda przeznaczona do spożycia przez ludzi nie może zawierać benzenu więcej niż 1 $\mu\text{g}/\text{dm}^3$ (3). Zazwyczaj woda do picia zawiera benzenu mniej niż 0,1 $\mu\text{g}/\text{dm}^3$. Przeprowadzając ocenę ryzyka w oparciu o wyniki badań epidemiologicznych przy

narażeniu inhalacyjnym wyliczono, że stężenie benzenu na poziomie $1 \mu\text{g}/\text{dm}^3$ wody pitnej niesie ryzyko wystąpienia raka rzędu 10^{-6} (1 na milion) (4).

W żywności produkowanej z dodatkiem konserwantów (benzoesanów), benzen może tworzyć się jako produkt dekarboksylacji kwasu benzoesowego. Znaczne ilości benzenu mogą tworzyć się szczególnie w napojach o kwaśnym pH, zawierających zarówno kwas askorbinowy, jak i kwas benzoesowy lub jego sole. Dekarboksylacja przebiega w wyniku działania rodników hydroksylowych powstających w reakcji kwasu askorbinowego z jonami metali przejściowych takich, jak miedź czy żelazo. Jony metali będące katalizatorami, są obecne w wodzie stosowanej w produkcji żywności (5). Kwas askorbinowy stosowany jest w napojach jako substancja dodatkowa pełniąca funkcję przeciwutleniacza E 300 (w ilości uzasadnionej dla osiągnięcia efektu technologicznego) bądź jako substancja wzbogacająca (witamina C). Kwas benzoesowy E 210 oraz jego sole: sodowa E 211, potasowa E 212 i wapniowa E 213 pełnią funkcję konserwantów i mogą być dodawane do napojów bezalkoholowych w ilości do $150 \text{ mg}/\text{dm}^3$ (6).

Celem pracy było oznaczenie zawartości benzenu w napojach bezalkoholowych produkowanych w Polsce.

MATERIAŁ I METODY

W ramach wykonywanych badań zakupiono w warszawskich sklepach 60 próbek napojów bezalkoholowych wytwarzanych przez 27 producentów. Do czasu wykonania analiz, próbki przechowywano w temperaturze pokojowej bez dostępu światła.

Benzen oznaczano metodą analizy fazy nadpowierzchniowej, za pomocą chromatografu gazowego z detektorem MS, opracowaną na podstawie zaleceń International Council of Beverages Association (7).

Krzywa kalibracyjna zachowywała przebieg liniowy w zakresie od 0,5 do $10,0 \mu\text{g}/\text{dm}^3$. Próbki napojów lub odpowiednie roztwory standardu (benzen 99,9% GC, Fluka) o obj. 10 cm^3 dodawano do próbek pomiarowych zawierających 3,5 g NaCl, następnie dodawano standard wewnętrzny (benzen- d_6 99,96 atom % D, Aldrich) w ilości 20 ng/próbkę. W razie potrzeby napoje uprzednio odgazowywano przez dodanie 1 cm^3 30% wodnego roztworu NaOH do 40 cm^3 napoju.

Wyznaczona granica wykrywalności (LOD) wynosiła $0,36 \mu\text{g}/\text{dm}^3$

WYNIKI I ICH OMÓWIENIE

Badane próbki 60 napojów bezalkoholowych odznaczały się zróżnicowanym poziomem benzenu w zakresie od $< 0,36 \mu\text{g}/\text{dm}^3$ (poniżej LOD) do $16,67 \mu\text{g}/\text{dm}^3$. W 37 napojach stężenie benzenu było niższe od granicy wykrywalności metody, napoje te stanowiły 62% wszystkich zbadanych próbek. Zanieczyszczenie benzenem przekraczające $1 \mu\text{g}/\text{dm}^3$ tj. najwyższe stężenie dopuszczalne w wodzie przeznaczonej do picia, wykryto w 11 próbkach, co stanowi ponad 18% badanych napojów.

Analizując uzyskane wyniki uwzględniono różnice w składzie napojów, biorąc pod uwagę obecność benzoesanów jako konserwantów oraz kwasu askorbinowego.

W tab. I przedstawiono poziomy benzen w napojach wyprodukowanych z dodatkiem kwasu askorbinowego i benzoianu sodu.

We wszystkich napojach zawierających te składniki ($n = 20$) stwierdzono obecność benzenu: poniżej poziomu wykrywalności – w 6 próbkach; w zakresie 0,36–1,0 $\mu\text{g}/\text{dm}^3$ – w 6 próbkach; w zakresie 1,0–3,0 $\mu\text{g}/\text{dm}^3$ – w 4 próbkach; w zakresie 3,0–4,0 $\mu\text{g}/\text{dm}^3$ – w 2 próbkach; ponadto w 1 próbce 7,73 $\mu\text{g}/\text{dm}^3$ i w 1 próbce 16,67 $\mu\text{g}/\text{dm}^3$.

W grupie 12 napojów konserwowanych benzoianem, w których składzie nie wymieniono kwasu askorbinowego, jedynie w 3 próbkach zawartość benzenu była wyższa niż LOD. Śladowe ilości benzenu oznaczono w napojach, które zawierały dodatek soków owocowych i w 1 napoju typu oranżada. Wyniki przedstawione w tab. II mogą wskazywać, że kwas askorbinowy naturalnie obecny w sokach owocowych może inicjować dekarboksylację kwasu benzoianowego i powstawanie benzenu. Poziomy benzen 0,91 i 0,37 $\mu\text{g}/\text{dm}^3$ w napojach zawierających ekstrakty roślinne może sugerować zanieczyszczenie benzenem tych ekstraktów.

Badane napoje konserwowane benzoianem miały odczyn kwaśny, w zakresie pH 2,37–3,62. Nie stwierdzono zależności poziomu benzenu od wartości pH.

Wśród 28 próbek nie zawierających benzoianu i utrwalonych przez pasteryzację znajdowało się: 6 napojów, 3 syropy, 7 soków owocowych, 4 soki warzywne i 8 nektarów owocowych. Jedenaście z tych produktów zawierało dodatek kwasu askorbinowego lub było wzbogaconych witaminą C (tab. III).

Benzen nie wykryto (nd) w 14 produktach, a w 8 oznaczono ślady (poniżej LOD). Wyższym poziomem benzenu odznaczały się 3 produkty zawierające żurawiny (0,82–8,76 $\mu\text{g}/\text{dm}^3$) i 1 zawierający borówki (1,72 $\mu\text{g}/\text{dm}^3$).

Tabela I. Zawartość benzenu w napojach z dodatkiem kwasu askorbinowego, konserwowanych benzoianem sodowym

Table I. Benzene levels in beverages contain benzoate and ascorbic acid as ingredients

L.p.	Nazwa napoju	Benzen $\mu\text{g}/\text{dm}^3$
1	Fanta pomarańczowa	2,15
2	Hoop frutti pomarańcza	7,73
3	Hoop frutti winogrono	1,32
4	Hoopek marchew, pomarańcza, wiśnia	3,86
5	Hoopek marchew, pomarańcza, wiśnia	2,76
6	Ice tea Jurajska o smaku cytrynowym	<0,36
7	Ice Tea o smaku cytrynowym	<0,36
8	Jupik Spidermens truskawka	3,12
9	Jupik Spidermens multired	0,75
10	Montain Dew o smaku cytrynowym	<0,36
11	Montain Dew o smaku cytrynowym	<0,36
12	Mirinda pomarańczowa eksplozja	0,98
13	Nata orange	2,48
14	Snipp orange	16,67
15	Super Hero zakręcone żelki	0,66
16	Super Hero magiczne owoce	0,38
17	Super Hero odlotowa cola	0,69
18	3 witaminy A+C+E	0,40
19	3 limonki	<0,36
20	3 witaminy A+C+E	<0,36
Mediana		0,72

Tabela II. Zawartość benzenu w napojach bez dodatku kwasu askorbinowego, konserwowanych benzoesanem sodu

Table II. Benzene level in beverages without ascorbic acid but containing sodium benzoate

Lp	Nazwa napoju Składnik	Benzen $\mu\text{g}/\text{dm}^3$
1	Żywiec Zdrój herbata ekstrakt hibiskusa	0,91
2	Hellena grejfrut sok grejfrutowy	0,76
3	Mineral beauty aloes ekstrakty z aloesu, hibiskusa, kwiatu czarnego bzu	0,37
4	Flip jabłko brzoskwinia sok jabłkowy	<0,36
5	Mr Max smak pomarańczowy sok pomarańczowy	<0,36
6	Grappa jabłko mięta sok jabłkowy	<0,36
7	Grappa truskawka sok owocowy	<0,36
8	Hoop fruti citrus ice sok cytrynowy	<0,36
9	Hellena oranżada	<0,36
10	Hoop oranżada	nd
11	Napój o smaku brzoskwiowym	nd
12	Club pomarańczowy	nd
Mediana		<0,36

nd – nie wykryto; < 0,36 – wynik poniżej LOD.

w USA. W badaniach 114 różnego rodzaju napojów zakupionych na terenie 3 stanów jedynie 30% było całkowicie wolnych od benzenu, 46% zawierało mniej niż $1 \mu\text{g}/\text{dm}^3$, a w 7% napojów poziom benzenu przewyższał $5 \mu\text{g}/\text{dm}^3$ (MCL dla wody pitnej w USA) (9). Podobnie w kolejnych badaniach, obejmujących 199 napojów produkowanych w USA, 71% próbek zawierało benzen w ilości poniżej $1 \mu\text{g}/\text{dm}^3$, a 9% ponad $5 \mu\text{g}/\text{dm}^3$ (10).

Wysoki poziom benzenu w niektórych napojach zawierających sok z żurawin, stwierdzono zarówno w Kanadzie (w koktajlach z żurawin – $0,64$ i $1,3 \mu\text{g}/\text{dm}^3$) (8), jak i w USA (w 2 z 22 zbadanych soków – $5,4$ i $9,9 \mu\text{g}/\text{dm}^3$) (10). Produkty te nie były konserwowane benzoesanem, a źródłem benzenu mógł być zdaniem autorów kwas benzoesowy zawarty w owocach żurawiny (cranberry). Takie same obserwacje dotyczą napojów wytwarzanych w naszym kraju (tab. III).

Oznaczając poziom benzenu w napojach uzyskano dane liczbowe, które zgodnie z oczekiwaniem, nie mają charakteru rozkładu normalnego. Różnice zawartości benzenu w trzech badanych grupach napojów dobrze charakteryzuje wartość mediany, która w grupie napojów zawierających benzoesan i kwas askorbinowy wynosi $0,72 \mu\text{g}/\text{dm}^3$, podczas gdy w pozostałych dwóch grupach jej wartość jest niższa od granicy wykrywalności.

Badania napojów w zakresie zanieczyszczenia benzenem wykonane były również w innych krajach. W Kanadzie objęły one 124 napoje. W 75 z nich (60%) nie wykryto obecności benzenu, a jedynie 5% produktów zawierało średni poziom powyżej $5 \mu\text{g}/\text{dm}^3$ (obowiązujący w Kanadzie MCL wody pitnej). Dane te są zbieżne z przedstawionymi wyżej wynikami odnośnie napojów polskich – 62% i 5% odpowiednio. W kilku produktach z benzoesanem i bez deklarowanego dodatku E 300 stwierdzono poziom benzenu tak wysoki jak $5,6 \mu\text{g}/\text{dm}^3$. Autorzy wywnioskowali, że produkty te zawierały pewne ilości kwasu askorbinowego występującego naturalnie w soku owoców (8).

Wyższy poziom zanieczyszczenia benzenem stwierdzono w napojach

W niektórych pracach można spotkać się z sugestią, że obecność cukru może wpływać hamująco na powstawanie benzenu w reakcji dekarboksylacji kwasu benzoowego. Wysokie stężenia benzenu były stwierdzane w napojach dietetycznych (11), a także w niskosłodzonym napoju dla dzieci (19 i 23 $\mu\text{g}/\text{dm}^3$) podczas gdy podobnego typu produkt, ale zawierający 10 razy więcej cukru miał poziom benzenu 6 razy niższy (8). Wśród napojów konserwowanych benzoesaniem i będących przedmiotem badań w niniejszej pracy, jedynie 4 zawierały wyłącznie substancje słodzące, a 5 zawierało równocześnie takie substancje i cukier. Napoje te nie różniły się wysokim poziomem benzenu (od 0 do 0,76 $\mu\text{g}/\text{dm}^3$).

Należy uwzględnić, że reakcja, w której tworzy się benzen w środkach spożywczych zależy nie tylko od obecności kwasu askorbinoowego lecz od wielu innych czynników takich, jak: światło, stężenie substratów, obecność śladowych ilości jonów miedzi i żelaza, zawartość czynników chelatujących w składnikach użytych do produkcji napoju, obecność tlenu w opakowaniu itd. Po dokonaniu analizy wyników badań wykonanych w USA, FDA uzgodniła z producentami wprowadzenie zmian w recepturach napojów, polegających na wycofaniu kwasu askorbinoowego, benzoesanu lub częściowym zastąpieniu benzoesanu przez

Table III. Poziom benzenu w napojach pasteryzowanych, bez dodatku benzoesanu sodowego

Table III. Benzene level in pasteurized beverages without sodium benzoate additive

L.p	Nazwa napoju	Benzen $\mu\text{g}/\text{dm}^3$
1	Cappy 100% sok pomarańczowy	nd
2	Cappy 100% sok jabłkowy	nd
3	Carotella plus wit.A+C+E – sok	<0,36
4	Coca Cola	<0,36
5	Costa multivitamina – napój	nd
6	Cymes malina wysokosłodzony	0,54
7	Dr Witt owoce południowe – nektar	nd
8	Dr Witt Multivitamina – napój	<0,36
9	Fortuna gruszka – nektar	nd
10	Fortuna Aronia – nektar	nd
11	Fortuna wielowarzywny – sok 100%	nd
12	Fortuna różowy grejfrut – nektar	<0,36
13	Fortuna pomidor z oliwką – sok	nd
14	Granini black currant – nektar	<0,36
15	Granini Banana – nektar	nd
16	Hortex multivitamina – sok	<0,36
17	Hortex napój winogronowy	<0,36
18	Nektar żurawinowy dosładzany	8,76
19	Ogrody natury – borówka brusznica	1,72
20	Ogrody natury – jeżyna	0,38
21	Ogrody natury – sok z jabłek i żurawin	1,06
22	Owocowa spiżarnia. Malina	nd
23	Paola syrop domowy malinowy	nd
24	Paola sok domowy żurawina	0,82
25	Pudliszki sok pomidorowy	nd
26	Tarczyn z czarnej porzeczki – nektar	nd
27	Tymbark Multivit immunobalans – napój	nd
28	Tymbark żurawina – napój	<0,36
Mediana		<0,36

nd – nie wykryto; < 0,36 – wynik poniżej LOD.

sorbinian, usunięcia Ca, dodania EDTA chelatującego jony metali. Zmiany te, spowodowały znaczne obniżenie zawartości benzenu w tych napojach, nawet do poziomu poniżej wykrywalności (10).

Porównując wartości uzyskane w badaniach zanieczyszczenia benzenem napojów produkowanych w Polsce można stwierdzić, że nie odbiegają one w sposób znaczący od poziomów benzenu oznaczonych na obszarze Ameryki w napojach, a także innych produktach spożywczych. Na podstawie danych, uzyskanych przez FDA obliczono, że średnie pobranie benzenu z dietą wynosi 5 $\mu\text{g}/\text{dzień}$. Ilość ta stanowi niewielki procent całkowitego dziennego pobrania, w którym główny udział ma benzen wdychany z otaczającego powietrza. Pobranie dzienne, obliczone dla osoby nie palącej papierosów i nie jeżdżącej samochodem, wynosi ok.: 40 μg na obszarach wiejskich, 80 μg w miastach, 160 μg w wielkich miastach. Kierowcy w miastach pobierają dziennie ponad 250 μg benzenu, natomiast w przypadku osób palących tytoń dzienna dawka absorbowanego benzenu ulega znacznemu zwiększeniu i może wynosić od ok. 450 μg na obszarach wiejskich do ponad 600 μg w dużych miastach (12).

WNIOSKI

1. W napojach konserwowanych benzoesanem i zawierających w składzie kwas askorbinowy (witaminę C) lub sok owocowy będący naturalnym źródłem kwasu askorbinowego obecny był benzen.
2. W 11 próbkach (18,3%) poziom benzenu przekraczał 1 $\mu\text{g}/\text{dm}^3$ tj. najwyższe stężenie dopuszczalne w krajach Unii Europejskiej w wodzie przeznaczonej do spożycia przez ludzi.
3. Zawartość benzenu w napojach konserwowanych benzoesanem była istotnie wyższa ($p < 0,02$) w porównaniu z poziomem benzenu w napojach pasteryzowanych.

M. Jędra, A. Starski, H. Gawarska, D. Sawilska-Rautenstrauch

OCCURENCE OF BENZENE IN BEVERAGES

Summary

Benzene contents in 60 samples of non-alcoholic beverages was determined by GC/MS method with static headspace. Range of level of contamination was from below limit of detection (LOD) 0,36 $\mu\text{g}/\text{dm}^3$ to 16,67 $\mu\text{g}/\text{dm}^3$. In 37 beverages samples benzene contents was below LOD, this represents 62% of all samples. Concentration above 1 $\mu\text{g}/\text{dm}^3$ (e.g. maximum contamination level in drinking water) was determined in 11 samples, which represents 18% of beverages. The formula of beverages was considered in discussion of obtained results. In samples contained benzoates and ascorbic acid the median was 0,72 $\mu\text{g}/\text{dm}^3$, and in rest of samples median was below limit of detection.

PIŚMIENNICTWO

1. International Agency for Research on Cancer. IARC Monographs. Supplement 7. 1987; 7 (supl.): 120-122. – 2. *Fleming-Jones M.E., Smith R.E.*: Volatile organic compounds in foods: a five Year Study. J. Agric. Food Chem. 2003; 51: 8120-8127. – 3. Rozporządzenie Ministra Zdrowia z dnia 29 marca 2007 r.

w sprawie jakości wody przeznaczonej do spożycia przez ludzi. Dz. U. 2007; Nr 61, poz. 417. – 4. World Health Organization. Geneva, 1996. Guidelines for drinking-water quality, 2nded. Vol.2. Health criteria and other supporting information. – 5. *Gardner L.K., Lawrence G.D.*: Benzene production from decarboxylation of benzoic acid in the presence of ascorbic acid and a transition-metal catalyst. *J. Agric. Food Chem.* 1993; 41: 693-695. – 6. Rozporządzenie Ministra Zdrowia z dnia 23 kwietnia 2004 r. w sprawie dozwolonych substancji dodatkowych i substancji pomagających w przetwarzaniu. Dziennik Ustaw RP załącznik do nr 94 poz. 933 z dnia 30.04.2004. – 7. International Council of Beverages Associations. Washington DC, Brussels, Tokyo.: ICBA draft guidance document to mitigate the potential for benzene formation in beverages. Draft 31 march 2006; 19-26. – 8. *Cao X.L., Casey V., Seaman S., Tague B., Becalski A.*: Determination of benzene in soft drinks and other beverages by isotope dilution headspace gas chromatography/mass spectrometry. *J. AOAC Inter.* 2007; 90 (2): 479-484. – 9. FDA's Center for Food Safety and Applied Nutrition/Office of Food Additive Safety: Data on Benzene in Soft Drinks and other beverages. Data from November 2005 through April 20, 2006. May 25, 2006. – 10. *Nyman P.J., Diachenko G.W., Perfetti G.A., McNeal T.P., Hiatt M.H., Morehouse K.M.*: Survey results of benzene in soft drinks and other beverages by headspace gas chromatography/mass spectrometry. *J. Agric. Food Chem.* Published on Web 12/12/2007.

11. *McNeal T.P., Nyman P.J., Dioachenko G.W., Hollifield H.C.* Survey of benzene in foods by using headspace concentration techniques and capillary gas chromatography. *J.AOAC Int.* 1993; 76(6): 1213-1219. – 12. *Claydon M., Evans M., Gennart J.P., Roythorne C., Simpson B.*: Environmental exposure to benzene. CONCAWE report no. 2/99.

Adres: 00-791 Warszawa, ul. Chocimska 24.