

Joanna Gajda-Wyrębek¹⁾, Jolanta Jarecka¹⁾, Katarzyna Kuźma¹⁾,
Martyna Beresińska²⁾

ZAWARTOŚĆ BARWNIKÓW MAJĄCYCH SZKODLIWY WPŁYW NA AKTYWNOŚĆ I SKUPIENIE UWAGI U DZIECI W WYBRANYCH ŚRODKACH SPOŻYWCZYCH*

¹⁾ Zakład Badania Żywności i Przedmiotów Użytku Narodowego Instytutu
Zdrowia Publicznego Państwowego Zakładu Higieny w Warszawie
Kierownik: dr J. Postupolski

²⁾ Zakład Toksykologii Środowiskowej NIZP-PZH
Kierownik: prof. dr hab. J. K. Ludwicki

Mając na uwadze ochronę zdrowia konsumenta, zawartość określonych barwników, dla których wyznaczono wartość akceptowanego dziennego pobrania (ADI), jest limitowana w żywności. Celem przeprowadzonych badań była ocena zawartości tych substancji, które według ostatnich doniesień naukowych mogą mieć szkodliwy wpływ na aktywność i skupienie uwagi u dzieci. Materiał do badań stanowiły napoje bezalkoholowe oraz wyroby cukiernicze. Zawartość barwników we wszystkich próbkach odpowiadała wymaganiom aktualnie obowiązującego ustawodawstwa.

Hasła kluczowe: barwniki spożywcze, ocena bezpieczeństwa, napoje bezalkoholowe, wyroby cukiernicze.

Key words: food colours, safety assessment, soft drinks, confectionery.

Barwniki stanowią jedną z grup substancji dodatkowych do żywności. Są dodawane do środków spożywczych w celu nadania lub przywrócenia im barwy (1). Stosowanie substancji dodatkowych, w tym barwników spożywczych, jest aktualnie uregulowane przez następujące akty prawne:

- rozporządzenie Parlamentu Europejskiego i Rady (WE) nr 1333/2008 z dnia 16 grudnia 2008r. w sprawie dodatków do żywności - w zakresie przepisów ogólnych dotyczących stosowania substancji dodatkowych do żywności (1),
- rozporządzenie Ministra Zdrowia z dnia 22 listopada 2010r. w sprawie dozwolonych substancji dodatkowych - w zakresie szczegółowych warunków stosowania substancji dodatkowych, zgodnych z zapisami dyrektyw Unii Europejskiej w tym zakresie (2).

Sześć barwników, które były przedmiotem niniejszych badań w wybranych środkach spożywczych, należy do grupy barwników o określonym liczbowo, akceptowanym dziennym pobraniu (ADI). ADI jest to ilość substancji (wyrażona w mg/kg masy ciała człowieka/dzień), która może być pobierana przez człowieka ze

* Praca naukowa finansowana ze środków budżetowych na naukę w latach 2010-2013 jako projekt badawczy Nr N N404 110239.

wszystkich źródeł przez całe życie bez szkody dla zdrowia. Przy ustalaniu limitów danej substancji w żywności bierze się pod uwagę ADI jak również przewidywaną wielkość pobrania danej substancji. W związku z powyższym, mając na uwadze ochronę zdrowia konsumenta, zawartość barwników posiadających wyznaczone ADI podlega limitowaniu w żywności.

W 2007 r. w Wielkiej Brytanii zostały wykonane badania w celu stwierdzenia wpływu spożycia 6 barwników dopuszczonych do żywności na zachowanie dzieci (tzw. „badania z Southampton”) (3). Przedmiotem badań były: tartrazyna (E 102), żółcień chinolinowa (E 104), żółcień pomarańczowa FCF (E 110), azorubina (E 122), czerwień koszenilowa A (E 124) oraz czerwień Allura AC (E 129). Badania przeprowadzono w grupie 153 dzieci 3-letnich oraz 144 dzieci 8- i 9-letnich, którym w całym cyklu badań trwającym 6 tygodni podawano, naprzemiennie z dietą bez substancji dodatkowych, napój zawierający mieszaninę 4 z 6 wymienionych barwników (przygotowano 2 różne mieszaniny: Mix A i Mix B). Napój był konserwowany chemicznie przy użyciu benzoianu sodu. Wyniki badań wykazały, że spożycie napoju zawierającego mieszaninę barwników było związane z wystąpieniem nadaktywności w obu grupach wiekowych dzieci. Zaobserwowano następujące objawy: przerywanie cudzych wypowiedzi lub gadatliwość, „wiercenie się”, wzburzenie z błahej przyczyny (impulsywność), niepokój, nadpobudliwość ruchową, problemy z koncentracją.

Powyższe badania były następnie analizowane przez dwie niezależne organizacje naukowe: Komitet Toksykologiczny Wielkiej Brytanii (4) oraz Europejski Urząd ds. Bezpieczeństwa Żywności (EFSA) (5). Obie organizacje nie stwierdziły nieprawidłowości w przeprowadzonych badaniach.

Rezultatem tych badań było wprowadzenie w krajach Unii Europejskiej obowiązku umieszczania ostrzeżenia na etykietach środków spożywczych zawierających którykolwiek z 6 barwników. Ostrzeżenie jest podawane bezpośrednio po nazwie lub numerze E ... barwnika, w postaci następującego sformułowania: „może mieć szkodliwy wpływ na aktywność i skupienie uwagi u dzieci”. Przepis ten jest zawarty w rozporządzeniu Parlamentu Europejskiego i Rady (WE) nr 1333/2008 (1) i obowiązuje od dnia 20 lipca 2010 roku.

Rozporządzenie wspólnotowe nr 1333/2008 (1) zawiera również wymóg ustanowienia programu ponownej oceny dopuszczonych obecnie substancji dodatkowych przez EFSA. Szczegóły tego programu zostały następnie ujęte w rozporządzeniu Komisji (UE) nr 257/2010 z dnia 25 marca 2010r. (6). W opracowanym programie, jako priorytet wskazano ocenę bezpieczeństwa 6 barwników będących przedmiotem badań brytyjskich. Wyniki ponownej oceny dokonanej przez EFSA ukazały się w listopadzie 2009 roku (7-12). Akceptowane dzienne pobranie (ADI) dla trzech barwników: żółcień chinolinowej (E 104), żółcień pomarańczowej FCF (E 110) oraz czerwieni koszenilowej A (E 124) zostało obniżone. Jednocześnie EFSA stwierdził, że narażenie konsumentów na te barwniki, zarówno dorosłych jak i dzieci, może przekraczać nowo wyznaczone ADI. W przypadku pozostałych barwników ADI nie uległo zmianie, jednak EFSA zaznaczył, że ADI dla azorubiny (E 122) lub czerwieni Allura AC (E 129) może

być przekroczone przez dzieci, które spożywają duże ilości produktów zawierających te barwniki. Dodatkowo EFSA stwierdził, że nieduża część populacji może nie tolerować tartrazyny (E 102); objawami może być np. zaczerwienienie skóry. Jednocześnie stwierdzono, że nie można wskazać ciągu przyczynowo-skutkowego pomiędzy indywidualnymi barwnikami a wynikami badań dotyczącymi zachowania dzieci (dzieciom podawano napój zawierający mieszaninę barwników).

W tabeli I przedstawiono poprzednie oraz aktualne wartości ADI dla barwników będących przedmiotem ponownej oceny.

Tabela I. Wartości akceptowanego dziennego pobrania (ADI) barwników przed i po ponownej ocenie

Table I. Values of Acceptable Daily Intake (ADI) for colours before and after new evaluation

Nazwa barwnika i numer wg systemu oznaczeń Unii Europejskiej	Poprzednia wartość ADI [mg/kg masy ciała człowieka/dzień]	Obecna wartość ADI [mg/kg masy ciała człowieka/dzień]
Tartrazyna (E 102)	7,5	7,5
Żółcień chinolinowa (E 104)	10	0,5
Żółcień pomarańczowa FCF (E 110)	2,5	1
Azorubina (E 122)	4	4
Czerwień koszenilowa A (E 124)	4	0,7
Czerwień Allura AC (E 129)	7	7

W związku z wynikami najnowszej oceny barwników będących przedmiotem badań brytyjskich, w Komisji Europejskiej trwają aktualnie prace nad obniżeniem dopuszczalnych dawek tych barwników w żywności lub nawet wycofaniem ich dopuszczenia do niektórych środków spożywczych. Zmiany w przepisach dotyczących warunków stosowania ww. barwników powinny ukazać się do końca 2011 roku.

Aktualne wymagania zawarte w obowiązującym rozporządzeniu Ministra Zdrowia (2), dotyczące dopuszczalnych limitów ww. barwników w wybranych do badań produktach – napojach bezalkoholowych oraz wyrobach cukierniczych - podano w tabeli II.

Tabela II. Dopuszczalna zawartość barwników w aromatyzowanych napojach bezalkoholowych i wyrobach cukierniczych

Table II. Content limits of colours in aromatized soft drinks and confectionery

Środek spożywczy	Suma barwników: E 102, E 104, E 129, E 110, E 122, E 124	Maksymalny poziom każdego z barwników: E 110, E 122, E 124
Aromatyzowane napoje bezalkoholowe	100 mg/litr	50 mg/litr
Wyroby cukiernicze	300 mg/kg	50 mg/kg

Celem niniejszej pracy była ocena zawartości w wybranych środkach spożywczych barwników będących przedmiotem badań z Southampton. Barwniki te są stosowane w wielu produktach, które chętnie spożywają dzieci, np. napoje bezalkoholowe, wyroby cukiernicze, pieczywo cukiernicze, wyroby ciastkarskie, lody, desery, przekąski typu snack.

MATERIAŁ I METODY

Podstawą do zakwalifikowania produktów do badań był ich skład i deklarowana przez producenta obecność jednego lub kilku z następujących barwników: E 102, E 104, E 110, E 122, E 124, E 129. Wszystkie produkty pochodziły z obrotu handlowego i były zakupione w Warszawie na początku listopada 2010r. Analizie poddano łącznie 20 produktów, w tym 12 napojów bezalkoholowych i 8 wyrobów cukierniczych. Wśród zakupionych napojów bezalkoholowych znalazło się 8 napojów gazowanych i 4 napoje niegazowane. W składzie 7 napojów był wymieniony sok owocowy, 8 z nich było konserwowanych chemicznie, dodatek substancji słodzących był zadeklarowany w 10 napojach. Trzy napoje zawierały substancje wzbogacające. W przypadku wyrobów cukierniczych – 8 rodzajów – przeważały karmelki; ponadto wśród badanych produktów znalazły się cukierki pudrowe prasowane.

W odniesieniu do wyrobów cukierniczych metoda polegała na wyekstrahowaniu barwników z próbki wodą w temperaturze 60°C, a następnie oczyszczeniu na kolumnie SPE z wypełnieniem poliamidowym (CHROMABOND SPE PA F 6ml/1000mg, Macherey-Nagel). Na kolumnę SPE nanoszono od 10-30 ml roztworów barwników. W celu uniknięcia substancji niepożądanych, kolumny po naniesieniu roztworów próbek, przepłukiwano odpowiednimi rozpuszczalnikami (woda dla cukrów, aceton dla produktów zawierających tłuszcze). Barwniki wymywano za pomocą metanolu amoniakalnego (3 krople amoniaku/ 20 ml metanolu). Otrzymane metanolowe roztwory barwników odparowywano do sucha pod azotem, w temperaturze 60°C. Następnie barwniki rozpuszczono w 1 ml wody dejonizowanej. Roztwory wodne barwników przenoszono do fiolek przy zastosowaniu filtrów strzykawkowych Millex –LCR 25mm (średnica porów 0,45µm, Millipore).

W przypadku napojów bezalkoholowych 5 ml płynu nanoszono bezpośrednio na kolumnę SPE. W razie potrzeby próbki były uprzednio odgazowywane za pomocą łaźni ultradźwiękowej. Dalsze postępowanie przy przygotowywaniu próbki było identyczne jak dla wyrobów cukierniczych.

Zatężony ekstrakt rozdzielano na kolumnie HPLC w odwróconym układzie faz, a poszczególne barwniki identyfikowano oraz oznaczano ilościowo wykorzystując widma UV/VIS wykonane przy pomocy detektora fotodiodowego DAD (praca w zakresie długości fali 400-650 nm). Do badań wykorzystano system chromatograficzny Waters Alliance 2695 z detektorem DAD fotodiodowym –

absorpcyjnym 2996, wyposażony w automatyczny dozownik próbek oraz pompę, pozwalającą uzyskać elucję gradientową.

Do rozdzielania barwników zastosowano kolumnę ODS2 (250 mm/4,6mm/5µm, Waters) wraz z przedkolumną ODS2 (10 mm/4,6 mm, Waters). Zakres przepływu wynosił od 50 µl/min do 5 ml/min. Objętość nastrzyku - 10 µl. Fazę ruchomą stanowiły: Składnik A – metanol (Merck), składnik B – bufor: wodorofosforan diamonowy (Fluka) (1,32g w 1000 ml H₂O). Maksymalna absorpcja każdego barwnika wynosiła odpowiednio: E 102 – 426 nm, E 104 – 411 nm, E 110 – 485 nm, E 122 – 516 nm, E 124 – 505 nm, E 129 – 504 nm, E 133 – 630 nm. Do badań użyto wzorców barwników spożywczych wyprodukowanych w Instytucie Barwników i Produktów Organicznych w Zgierzu. W trakcie badań, jeżeli nie podano inaczej, stosowano odczynniki o czystości do analiz oraz wodę oczyszczoną w procesie dejonizacji i odwróconej osmozy.

WYNIKI I ICH OMÓWIENIE

Badane próbki napojów bezalkoholowych odznaczały się zróżnicowanym poziomem barwników, tj. w zakresie od 0,5 mg/l do 64,6 mg/l. W przypadku wyrobów cukierniczych zawartość poszczególnych barwników wynosiła od 1,6 mg/kg – 119,8 mg/kg (tab. III). Zawartości barwników w badanych produktach przedstawiono w tabelach IV i V.

Zawartość barwników we wszystkich próbkach odpowiadała wymaganiom ustawodawstwa. W badanej populacji napojów mediana wynosiła 8,6 mg/l; a 90-ty percentyl - 44,83 mg/l. W przypadku cukierków wartość mediany to 17,1 mg/kg; a 90-ty percentyl - 110,78 mg/kg. Uzyskane wyniki wskazują, że poziomy barwników w produktach spożywczych dostępnych na rynku są znacznie niższe od obowiązujących limitów.

Zaobserwowano, że wielu producentów zrezygnowało z użycia barwników będących przedmiotem badań, na rzecz innych barwników jak również soków owocowych lub wyciągów roślinnych, co może być spowodowane koniecznością umieszczania na etykietach środków spożywczych ostrzeżenia o możliwości szkodliwego wpływu na aktywność i skupienie uwagi u dzieci.

Tabela III. Zakres oznaczonych poziomów barwników

Table III. The range of determined colours levels

Barwniki	Napoje bezalkoholowe [mg/l]	Cukierki [mg/kg]
E 102	1,4 - 8,3	3,9 - 119,8
E 104	0,5	9,0 - 36,1
E 110	0,9 - 7,8	1,6 - 26,0
E 122	11,3 - 40,1	21,8
E 124	2,3 - 19,9	1,6 - 12,7
E 129	64,6	3,4 - 35,9

Tabela IV. Zawartość barwników w napojach bezalkoholowych

Table IV. The coloures' content in soft drinks

Napoje	Barwniki	Zawartość [mg/l]	Uwagi
1	E 122 E 124 E 133	60,7	w tym E 122 - 40,1 mg/l E 124 - 19,9 mg/l
2	E 102	4,6	-
3	E 102 E 122	27,4	w tym E 122 -19,1 mg/l
4	E 102 E 110	8,5	w tym E 110 - 5,8 mg/l
5	E 104	0,5	-
6	E 124	2,3	-
7	E 129	64,6	-
8	E 122 E 124	44,8	w tym: E 122 - 34,7 mg/l E 124 - 10,1 mg/l
9	E 102 E 133	5,7	-
10	E 102 E 110	4,0	w tym E 110 - 0,9 mg/l
11	E 102 E 110	9,2	w tym E 110 - 7,8 mg/l
12	E 122	11,3	-

Tabela V. Zawartość barwników w wyrobach cukierniczych

Table V. The coloures' content in confectionery

Cukierki	Barwniki	Zawartość [mg/kg]	Uwagi
1	E 102 E 110 E 129	16,1	w tym: E 110 - 8,7 mg/kg
2	E 104 E 110 E 124	12,3	w tym: E 110 - 1,6 mg/kg E 124 - 1,7 mg/kg
3	E 104 E 110 E 124	16,7	w tym: E 110 - 1,6 mg/kg E 124 - 1,6 mg/kg
4	E 124	12,7	-
5	E 104 E 110	17,5	w tym: E 110 - 4,7 mg/kg
6	E 104 E 129 E 133	63,3	-
7	E 102 E 110 E 129 E 133	196,9	w tym: E 110 - 8,9 mg/kg
8	E 104 E 110 E 122 E 133	73,9	w tym: E 110 - 26,0 mg/kg E 122 - 47,8 mg/kg

WNIOSKI

1. Wyniki badań wskazują, że w wielu przypadkach barwniki są stosowane w napojach bezalkoholowych i cukierkach na poziomach znacznie niższych niż obowiązujące limity.

2. Wielu producentów napojów bezalkoholowych i wyrobów cukierniczych wycofało się z użycia barwników będących przedmiotem badań, na rzecz innych barwników a także soków owocowych lub wyciągów roślinnych.

3. Obniżenie dopuszczalnych poziomów badanych barwników w żywności, nad czym pracuje obecnie Komisja Europejska, wydaje się zasadne i realne do spełnienia przez producentów żywności.

4. Celowa jest kontrola zawartości badanych barwników w napojach bezalkoholowych i wyrobach cukierniczych, po wprowadzeniu obniżonych poziomów przez ustawodawstwo Unii Europejskiej.

J. Gajda-Wyrębek, J. Jarecka, K. Kuźma, M. Beresińska

THE CONTENT OF COLOURS WHICH MAY HAVE AN ADVERSE EFFECT ON ACTIVITY
AND ATTENTION IN CHILDREN IN SOME FOODSTUFFS

Summary

Having regard to a high level of protection of human life and health, the levels of some food additives, including colours, are limited in foodstuffs. These are food additives for which the Acceptable Daily Intake have been established. The results of study carried out in United Kingdom pointed out that the 6 colours: Tartrazine E 102, Quinoline Yellow E 104, Sunset Yellow FCF E 110, Azorubine E 122, Ponceau 4R E 124 and Allura Red AC E 129 may have an adverse effect on activity and attention in children. In 2009, the ADI values for three of these colours were lowered and there were stated that consumer exposure to five of them may exceeded ADI. The objective of this work was to determine the levels of 6 colours mentioned above in some soft drinks and confectionery products. In all samples the contents of colours were below the limits set up in the legislation.

PIŚMIENNICTWO

1. Rozporządzenie Parlamentu Europejskiego i Rady (WE) nr 1333/2008 z dnia 16 grudnia 2008r. w sprawie dodatków do żywności. Dz. Urz. L 354, 31.12.2008, str. 16. - 2. Rozporządzenie Ministra Zdrowia z dnia 22 listopada 2010r. w sprawie dozwolonych substancji dodatkowych. Dz. U. RP Nr 232, poz. 1525. - 3. *McCann D., Barrett A., Cooper A., Crumpler D., Dalen L., Grimshaw K., Kitchin E., Lok K., Porteous L., Prince E.*, et al.: Food additives and hyperactive behaviour in 3-years-old and 8/9-year-old children in the community: a randomised, double-blinded, placebo-controlled trial. *Lancet*, 2007; 370 (9598): 1560-1567. - 4. Committee on Toxicity. 2007. Statement on research Project (T07040) investigating the effect of mixtures of certain food colours and a preservative on behaviour in children. Committee on Toxicity. Available from: <http://cot.food.gov.uk/pdfs/colpreschil.pdf> (accessed 13 July 2009). - 5. European Food Safety Authority (EFSA) 2008. Scientific Opinion of the Panel on Food Additives, Flavourings, Processing Aids and Food Contact Materials (AFC) on a request from the Commission on the results of the study by *McCann et al.* (2007) on the effect of some colours and sodium benzoate on children's behaviour. *EFSA J*660, 1-5. - 6. Rozporządzenie Komisji (UE) Nr 257/2010 z dnia 25 marca 2010r. ustanawiające program ponownej oceny dopuszczonych dodatków do

żywności zgodnie z rozporządzeniem Parlamentu Europejskiego i Rady (WE) nr 1333/2008 w sprawie dodatków do żywności. Dz. Urz. UE L 80, 26.03.2010, str. 19. - 7. European Food Safety Authority (EFSA). 2009. Scientific Opinion of the re-evaluation of Allura Red AC (E 129) as food additive. EFSA J., 2009; 7(11): 1327. - 8. European Food Safety Authority (EFSA). 2009. Scientific Opinion of the re-evaluation of Azorubine/Carmoisine (E 122) as a food additive. EFSA J., 2009; 7(11): 1332. - 9. European Food Safety Authority (EFSA). 2009. Scientific Opinion of the re-evaluation of Ponceau 4R (E 124) as a food additive. EFSA J., 2009; 7(11): 1328. - 10. European Food Safety Authority (EFSA). 2009. Scientific Opinion of the re-evaluation of Sunset Yellow FCF (E110) as a food additive. EFSA J. 2009; 7 (11): 1330.

11. European Food Safety Authority (EFSA). 2009. Scientific Opinion of the re-evaluation Tartrazine (E 102). EFSA J., 2009; 7 (11): 1331. - 12. European Food Safety Authority (EFSA). 2009. Scientific Opinion of the re-evaluation of Quinoline Yellow (E 104) as a food additive. EFSA J. 2009; 7 (11): 1329.

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