

苯甲酸鈉在模擬系統及果汁中形成苯之探討

張碧秋 *顧 絨

行政院衛生署藥物食品檢驗局 *美國食品藥物管理署

摘 要

利用氣相層析儀配合吹除冷凝捕捉裝置(Purge and Trap)進行探討飲料中影響苯形成的可能因素。發現抗壞血酸、苯甲酸鈉、檸檬酸、自由基清除劑(乙醇)、金屬螯合劑(Ethylenediamine tetraacetic acid及diethylenetriamine Pentaacetic acid)、金屬離子(鐵離子)、氫氧自由基等均對苯的形成具有影響,在抗壞血酸及苯甲酸鈉溶液中,固定一成份的濃度另一成份濃度逐漸增加,在第八天其苯的形成量成一曲線,起初隨濃度增加而增加,但於相當濃度達到最高峰後,隨即降低。檸檬酸、自由基清除劑、金屬螯合劑對苯的形成具有抑制作用,氫氧自由基及金屬離子起初濃度增加有促進苯形成的作用,但達相當濃度後,濃度增加反呈抑制作用。

應用於真檢體如橘子汁、蘋果汁及披薩醬,苯甲酸鈉並無明顯促進苯形成的作用,而檸檬酸亦無顯著抑制作用,此乃因檢體所含成份複雜,其影響因素之量與單一模擬溶液探討所得之量不盡相同。

前 言

苯在室溫下是澄清、無色、易燃有特殊味道的液體,苯對大鼠的口服半致死量(LD₅₀)是3.8 ml/kg,對人體的急性毒性是刺激黏膜,引起煩躁不安、痙攣、興奮、憂鬱,且可能因呼吸衰竭而致死,其慢性毒性是使骨髓機能受損,且極少量就會發生白血球過多症,已被列入致癌物⁽¹⁾。美國環境保護署規定飲用水中苯限量標準是5 ppb,估算終身飲用時致死率是 6×10^{-6} 。因而食品藥物管理署亦規定瓶裝水或食品加工用水須符合此標準⁽²⁾。

美國食品藥物管理署自去年沛綠雅礦泉水(Perrier mineral water)受苯污染事件發生後,對礦泉水進行檢驗,發現有一家公司出產的水果味礦泉水(Fruit flavored mineral water)檢出微量的苯(少於10 ppb),而廠商自動由市面將產品回收並進一步研究它們產品中苯存在的原因,發現其飲料產品中的苯並非原來存在,而是隨著貯存時間而產生。美國食品藥物管理署亦積極進行研究,目前已發現苯的形成是由於抗壞血酸(Ascorbic acid)及苯甲

酸鈉(Sodium benzoate)作用所致,而加溫、紫外光照射均會增加苯的形成^(8,10)。

本計畫乃使用氣相層析儀配合吹除冷凝捕捉裝置(Purge and trap)進行探討飲料中影響苯形成的因素,如抗壞血酸、苯甲酸鈉、金屬離子、自由基清除劑(Free radical scavenger)、金屬螯合劑(Metal chelator)、檸檬酸(Citric acid)等,以期瞭解苯形成的可能途徑。

材 料

一、儀器設備

(一)吹除冷凝捕捉裝置(Purge and trap): Tekmar Model 4000, Tekmar Company, Cincinnati, Ohio, U.S.A.

(二)氣相層析儀(Gas chromatography): Perkin-Elmer Sigma 2000 Gas Chromatography, Perkin-Elmer Company, Rockville, Md., U.S.A.

(1)檢出器:火焰離子化檢出器(Flame ionization detector)。

(2)層析管：內徑0.32mm長15m之HP-5毛細管柱(Capillary Column)。

二、試藥：

抗壞血酸、檸檬酸、氯化鐵、苯購自Fisher Scientific Co.。Ethylenediamine tetraacetic acid (EDTA)、Diethylenetriamine pentaacetic acid (DTPA)購自Sigma Chemical Co.。苯甲酸鈉、30%過氧化氫購自Aldrich Chemical Co.。乙醇購自USP 200 Proof, U.S. Industrial Chemical Corp., 均採試藥特級。

三、水：

經純水裝置(Milli-Q Water Purification System, Millipore Corporation, Bedford, MA, U.S. A.)處理過之水,其電阻係數達18 Mega Q/cm。

實驗方法

一、苯形成之不同影響因素探討

(一)抗壞血酸濃度

調製一系列0.005%、0.01%、0.025%、0.05%、0.075%及0.1%不同抗壞血酸濃度之0.04%苯甲酸鈉溶液,分別倒入40 ml之褐色玻璃瓶中,封蓋後密封,在室溫下置於黑暗的貯存櫃內,八天後測其苯含量。

(二)苯甲酸鈉濃度

調製一系列0.001%、0.005%、0.01%、0.04%、0.08%及0.16%不同苯甲酸鈉濃度之0.025%抗壞血酸溶液,分別倒入40 ml之褐色玻璃瓶中,封蓋後密封,在室溫下置於黑暗的貯存櫃內,八天後測其苯含量。

(三)檸檬酸濃度

調製一系列0.001%、0.05%、0.1%、0.2%及0.3%不同檸檬酸濃度之內含0.025%抗壞血酸的0.04%苯甲酸鈉溶液;同時調製含0.025%抗壞血酸的0.04%苯甲酸鈉溶液當作對照,分別倒入40 ml之褐色玻璃瓶中,封蓋後密封,製作三組,在室溫下置於黑暗的貯存櫃內,分別於第三、第六及第八天後測其苯含量。

(四)乙醇濃度

分別調製10 mM、50 mM及100 mM不同乙醇濃度之內含0.025%抗壞血酸的0.04%苯甲酸鈉溶液;同時調製內含0.025%抗壞血酸的0.04%苯甲酸鈉溶液當作對照,分別倒入40 ml褐色玻璃瓶中,

封蓋後密封,在室溫下置於黑暗的貯存櫃內,八天後測其苯含量。

(五)金屬螯合劑(Metal chelator)

分別調製不同濃度0.1 mM和0.5 mM EDTA及0.1 mM和0.5 mM DTPA之內含0.025%抗壞血酸的0.04%苯甲酸鈉溶液;同時調製含0.025%抗壞血酸的0.04%苯甲酸鈉溶液當作對照。分別倒入40 ml褐色玻璃瓶中,封蓋後密封,在室溫下置於黑暗的貯存櫃內,八天後測其苯含量。

(六)鐵離子濃度

1. 調製一系列0.2 μ M、0.4 μ M、0.6 μ M、0.8 μ M、1.0 μ M及20 μ M不同氯化鐵(FeCl_3)濃度之內含0.025%抗壞血酸的0.01%苯甲酸鈉溶液;同時調製含0.025%抗壞血酸0.01%的苯甲酸鈉溶液當作對照,分別倒入40 ml褐色玻璃瓶中,封蓋後密封,在室溫下置於黑暗的貯存櫃內,六天後測其苯含量。

2. 將純水裝置處理過的水再以Chelex 100樹脂處理過,調製一系列0.005%、0.025%、0.05%、0.075%、0.1%不同抗壞血酸濃度之0.04%苯甲酸鈉溶液,分別倒入40 ml褐色玻璃瓶中,封蓋後密封,在室溫下置於黑暗的貯存櫃內,八天後測其苯含量。

(七)過氧化氫濃度

調製一系列0.15%、0.3%、0.6%、1.2%、及2.4%不同濃度過氧化氫之內含0.025%抗壞血酸的0.04%苯甲酸鈉溶液;同時調製含0.025%抗壞血酸的0.04%苯甲酸鈉溶液當作對照,分別倒入40 ml褐色玻璃瓶中,封蓋後密封,在室溫下置於黑暗的貯存櫃內,八天後測其苯含量。

(八)過氧化氫及紫外線照射

調製下列溶液:含0.025%抗壞血酸之0.04%苯甲酸鈉溶液當作對照,含0.04%苯甲酸鈉之0.6%過氧化氫溶液,含0.04%苯甲酸鈉之1.2%過氧化氫溶液,0.6%過氧化氫之對照溶液,1.2%過氧化氫之對照溶液,及0.04%苯甲酸鈉溶液。分別倒入40 ml無色玻璃瓶中,封蓋後密封,製作二組,置於紫外線下照射,18小時及24小時後,各取出一組測其苯含量。

二、檢體中影響因素之探討

檢體來源:於超級市場購買橘子汁、蘋果汁,並自行依廠商提供配方調配披薩醬當作檢體。

(1)橘子汁之處理

分別配製內含0.04%苯甲酸鈉、0.08%苯甲酸鈉、0.04%苯甲酸鈉及0.1%檸檬酸和0.08%苯甲

酸鈉及0.1%檸檬酸之橘子汁,同時以原橘子汁作對照,分別倒入40 ml褐色玻璃瓶中,封蓋後密閉,在室溫下置於黑暗的貯存櫃內,八天後測其苯含量。

(2)蘋果汁之處理

分別配製內含0.04%苯甲酸鈉、0.08%苯甲酸鈉、0.04%苯甲酸鈉及0.1%檸檬酸和0.08%苯甲酸鈉及0.1%檸檬酸之蘋果汁,同時以原蘋果汁作對照,分別倒入40 ml褐色玻璃瓶中,封蓋後密閉,在室溫下置於黑暗貯存櫃內,八天後測其苯含量。

(3)披薩醬之處理

分別配製內含0.04%苯甲酸鈉和0.04%苯甲酸鈉及0.1%檸檬酸之披薩醬,同時以原披薩醬作對照,分別倒入40 ml褐色玻璃瓶中,封蓋後密閉,在室溫下置於黑暗貯存櫃內,八天後測其苯含量。

三、苯標準溶液之配製

以微量注射針筒量取50 μl苯注入玻璃瓶內,與封蓋同時精確秤重,以吸量管吸取20 ml甲醇移入玻璃瓶,立即密封,作為苯標準原液,濃度為2000 ppm左右。

以吸量管吸取20 ml水移入玻璃瓶內,再以微量注射針筒量取10 μl苯標準原液注入玻璃瓶內,立即密封,作為苯標準溶液,濃度為1 ppm左右。

四、氣相層析儀及吹除冷凝捕捉裝置測定條件

(1)吹除冷凝捕捉裝置測定條件(使用N₂)

	流速(ml/min)	時間(min)	溫度(°C)
Purge	30	Purge 9	Purge <30
Desorb	30	Desorb 3	Desorb 180
		Bake 10	Bake 225

(2)氣相層析測定條件

層析管溫度:45°C維持8分鐘,以4°C/min速率加熱至73°C維持1分鐘,再以20°C/min速率加熱至200°C維持2.6分鐘。

注入器溫度:225°C。

檢出器溫度:225°C。

Desorb進入火焰離子化檢出器流速約1.3 ml/min。

結果與討論

以一系列苯標準溶液2、4、6、8、10、20 ppb作成標準曲線,如圖一。線性方程式為 $Y = -0.3977 + 0.0016X$,線性係數為0.9977,線性良好,樣品以

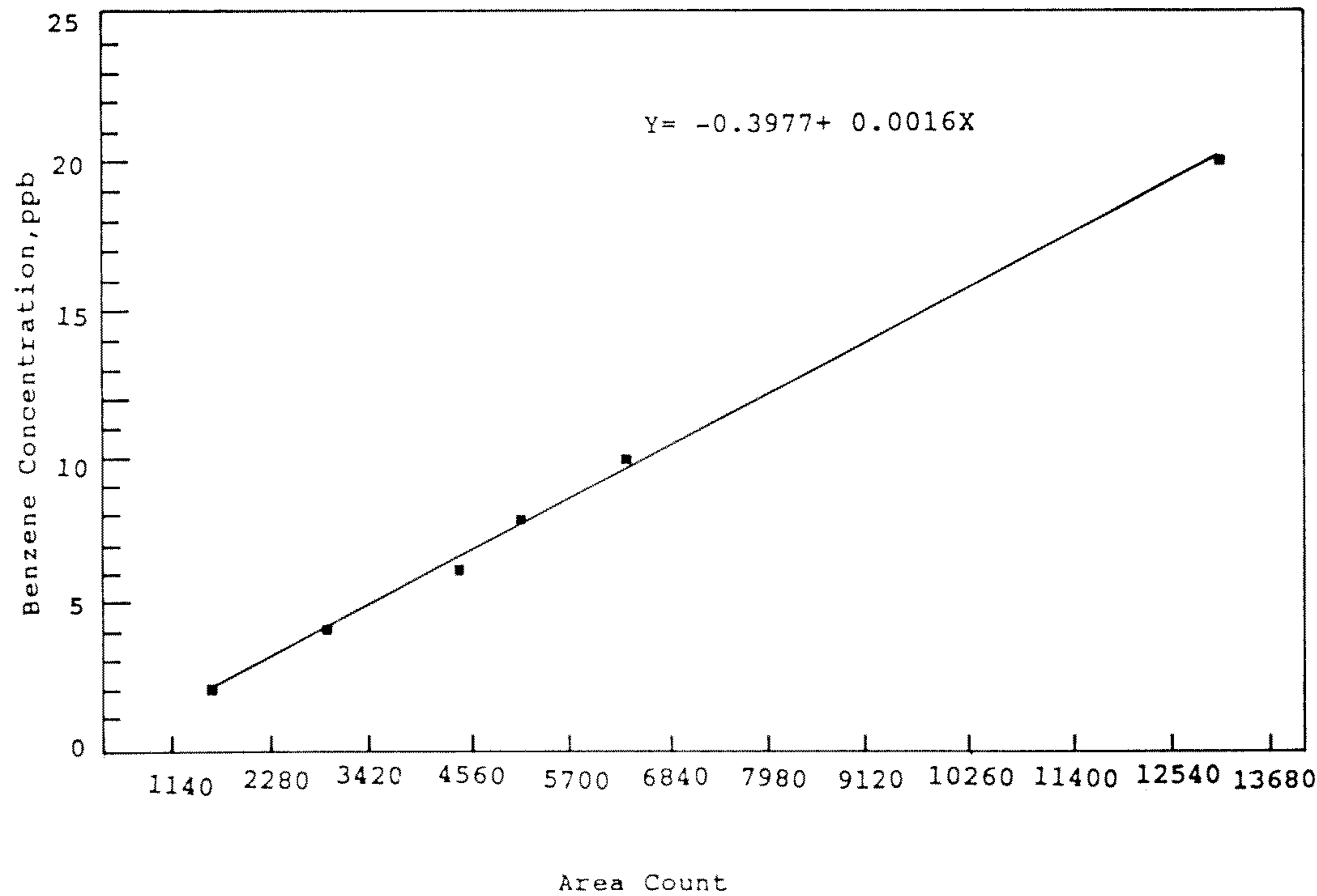


Figure 1. Standard curve for benzene

GC/Purge & Trap分析所得Area count直接代入直線方程式,便可算出苯含量。

一、苯形成因素之探討

固定苯甲酸鈉濃度為0.04%,調整抗壞血酸濃度為0.005%至0.1%時,在室溫下放置第八天時之苯形成量與抗壞血酸含量成一曲線關係(見圖二),最初隨著抗壞血酸濃度增加苯形成量增加,至抗壞血酸濃度0.025%時,苯形成量達到最高,約200 ppb左右,隨後逐漸降低。顯示在0.005%至0.025%濃度範圍內抗壞血酸會促進苯甲酸鈉轉化成苯。

固定抗壞血酸濃度為0.025%,調整苯甲酸鈉濃度為0.001%至0.16%,在室溫下放置第八天時之苯形成量與苯甲酸鈉含量成一曲線關係(見圖三),最初隨著苯甲酸鈉濃度增加苯形成量增加,至苯甲酸鈉濃度0.04%時,苯形成量達到最高,隨後逐漸降低。顯示在0.001%至0.04%濃度範圍內苯甲酸鈉濃度與苯形成量成正比。

圖四顯示固定抗壞血酸濃度為0.025%及苯甲酸鈉濃度為0.04%,調整檸檬酸濃度由對照溶液的0%至最高濃度的0.3%時,在室溫下第三天第六天第八天其苯形成量均隨檸檬酸濃度的增加而降低,於檸檬酸濃度0.1%時幾乎已完全抑制苯的形成。結果顯示檸檬酸對苯的形成具有抑制效果,因檸檬酸本身具有金屬螯合的功能。

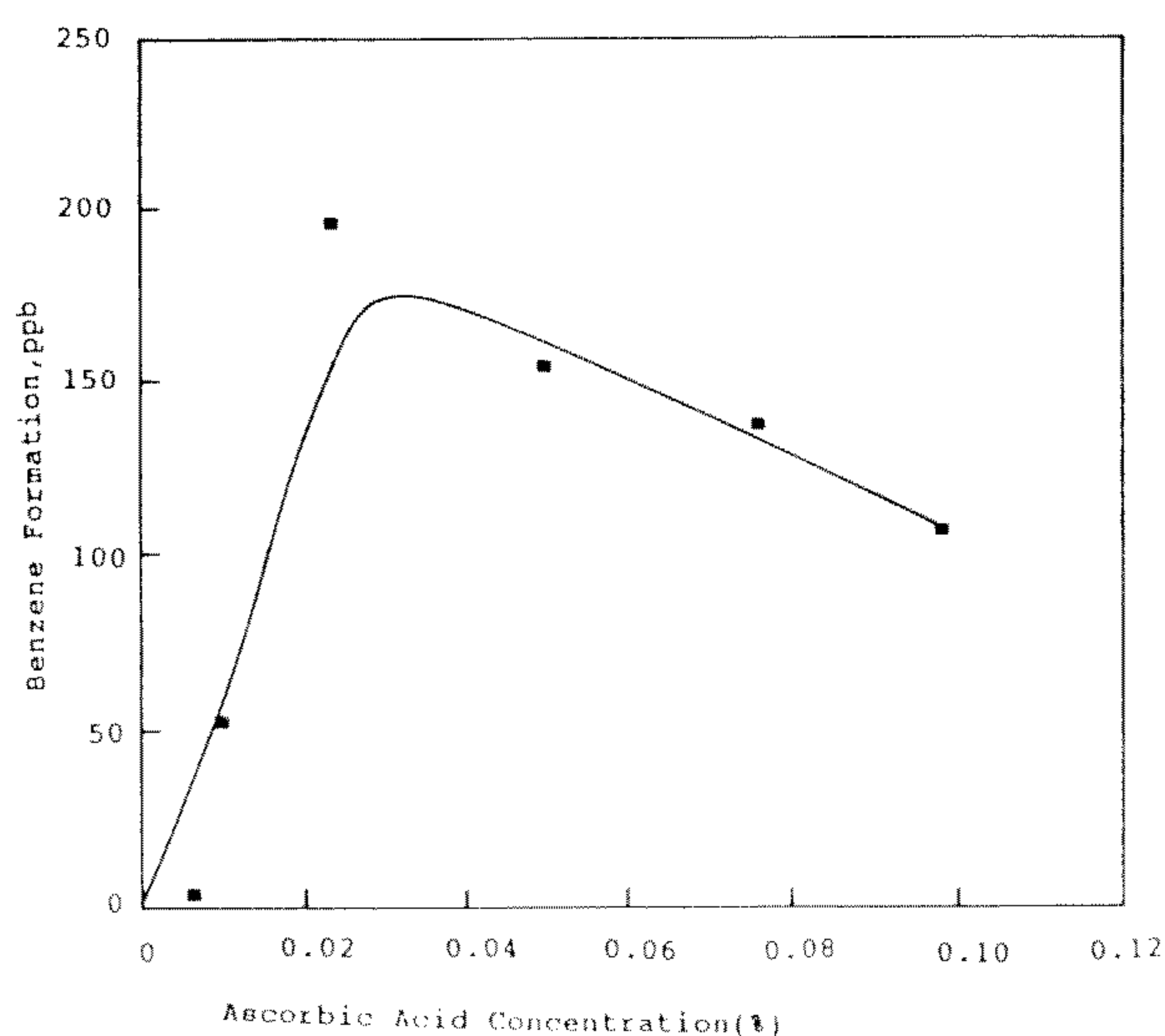


Figure 2. Effect of ascorbic acid on benzene formation at the 0.04% sodium benzoate aqueous solution after 8-day-storage.

Each point represents the means of three determinations.

圖五顯示固定抗壞血酸濃度為0.025%及苯甲酸鈉濃度為0.04%時,調整乙醇濃度由對照溶液的0 μM 至最高濃度100 μM 時,在室溫下第八天苯形成量隨濃度的增加而降低,可能因乙醇具有與 $\text{OH}\cdot$ 或 $\text{R}\cdot$ 作用的功能,而對苯的形成具有抑制的效果(3,4)。

表一列出EDTA及DTPA等兩種金屬螯合劑在0.1 μM 及0.5 μM 的微量濃度下,對抗壞血酸濃度為0.025%及苯甲酸鈉濃度為0.04%的溶液就具有完全抑制苯形成的功效。由此可知金屬離子在苯甲酸鈉轉化苯的過程中可能扮演重要的角色。

固定抗壞血酸濃度為0.025%及苯甲酸鈉濃度為0.04%,調整鐵離子濃度為0.2 μM 至最高濃度40 μM 時,在室溫下第六天其苯的形成量隨濃度增加而降低,濃度為1.0 μM 時幾已完全抑制苯的形成(見圖六)。但因微量金屬離子便具有催化作用,是否所用鐵濃度太高而反呈抑制作用,有待進一步探討。

圖七顯示利用經Chelex 100樹脂處理過的水所配製之含有不同抗壞血酸濃度之0.04%苯甲酸鈉溶液,在第八天之苯形成量比直接使用純水裝置處理過的水所配製者低很多,此乃因經純水裝置處理的水仍含微量金屬離子,如 Fe^{3+} 或 Cu^{2+} ,而抗壞血酸會使三價鐵或二價銅離子還原,由Fenton Rx. Fe^{2+} 或 Cu^{1+} 與過氧化氫作用而形成 $\text{OH}\cdot$ 自由基,因而促進苯的形成(5,6,7,8,9),但再經Chelex

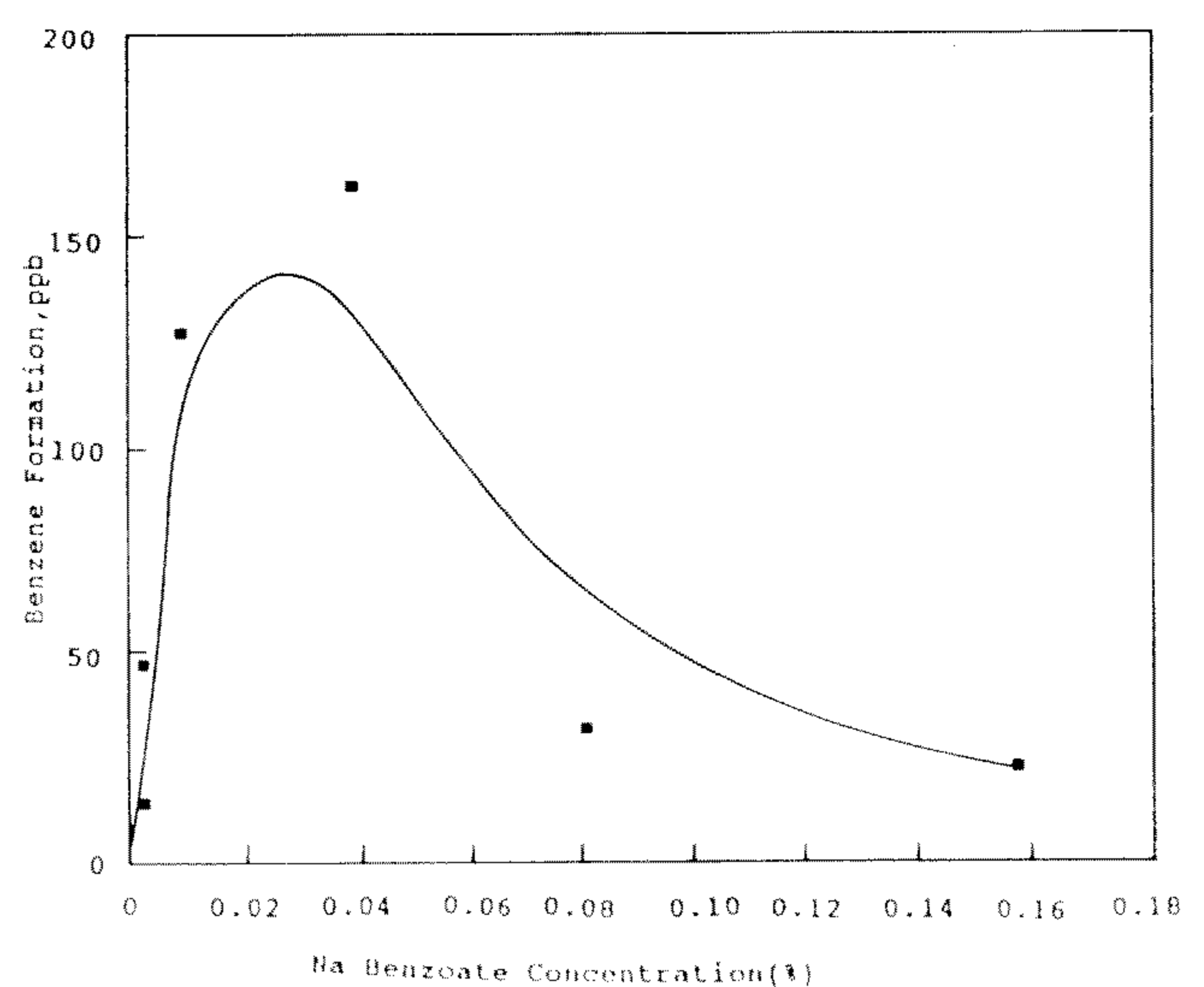


Figure 3. Effect of sodium benzoate on benzene formation at the 0.025% ascorbic acid aqueous solution after 8-day-storage.

Each point represents the means of three determinations.

Table 1. Effects of metal chelators on benzene formation

Chelator	Conc.	Benzene Formation, ppb			
		1	2	3	avg
NONE (CONTROL)	----	106	135	134	125
EDTA	0.1 mM	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
	0.5 mM	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
DTPA	0.1 mM	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
	0.5 mM	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.

Duration : 8 days
Control : 0.04% Sodium benzoate + 0.025% Ascorbic acid

Table 2. Effects of hydrogen peroxide and UV light on benzene formation

Treatment	Benzene Formation, ppb	
	UV 18hrs	UV 24hrs
Control	157.7	184.3
0.04%NaB +0.6%H ₂ O ₂	5.7	9.4
0.04%NaB +1.2%H ₂ O ₂	2.4	2.2
Control +0.6%H ₂ O ₂	921.3	389.6
Control +1.2%H ₂ O ₂	475.5	318.8
0.04%NaB	N.D.	2.4

Control : 0.04% Sodium benzoate + 0.025% Ascorbic acid

100樹脂處理過的水所含離子的量已減至極低,故苯形成量較低。

固定抗壞血酸濃度0.025%及苯甲酸鈉濃度0.04%,調整過氧化氫濃度由對照溶液的0%至最高的2.4%時,在室溫下放置第八天時之苯的形成量與過氧化氫含量成一曲線關係(見圖八),在過氧化氫濃度0.15%時,苯形成量達到最高,隨後濃度增加苯形成量逐漸減少。顯示過氧化氫濃度0.15%以下具有促進苯形成的作用。由表二所列結果顯示在苯甲酸鈉轉化成苯的過程中,抗壞血酸扮演的角色比氫氧自由基重要,在無抗壞血酸存在時雖有能產生氫氧自由基的過氧化氫存在,苯甲酸鈉轉化成苯的量極微約在10 ppb以下,但抗壞血酸存在時苯的形成量於0.6%過氧化氫濃度及UV 18 hrs照射下達到921 ppb,約為對照溶液苯形成量157.7 ppb的六倍,而為0.04%苯甲酸鈉及0.6%過氧化氫溶液苯形成量5.7 ppb的一百多倍。可見只在抗壞血酸存在的情況下,氫氧自由基才具有促進苯形成的作用。總之,苯形成的反應係由抗壞血酸所引發⁽⁹⁾。

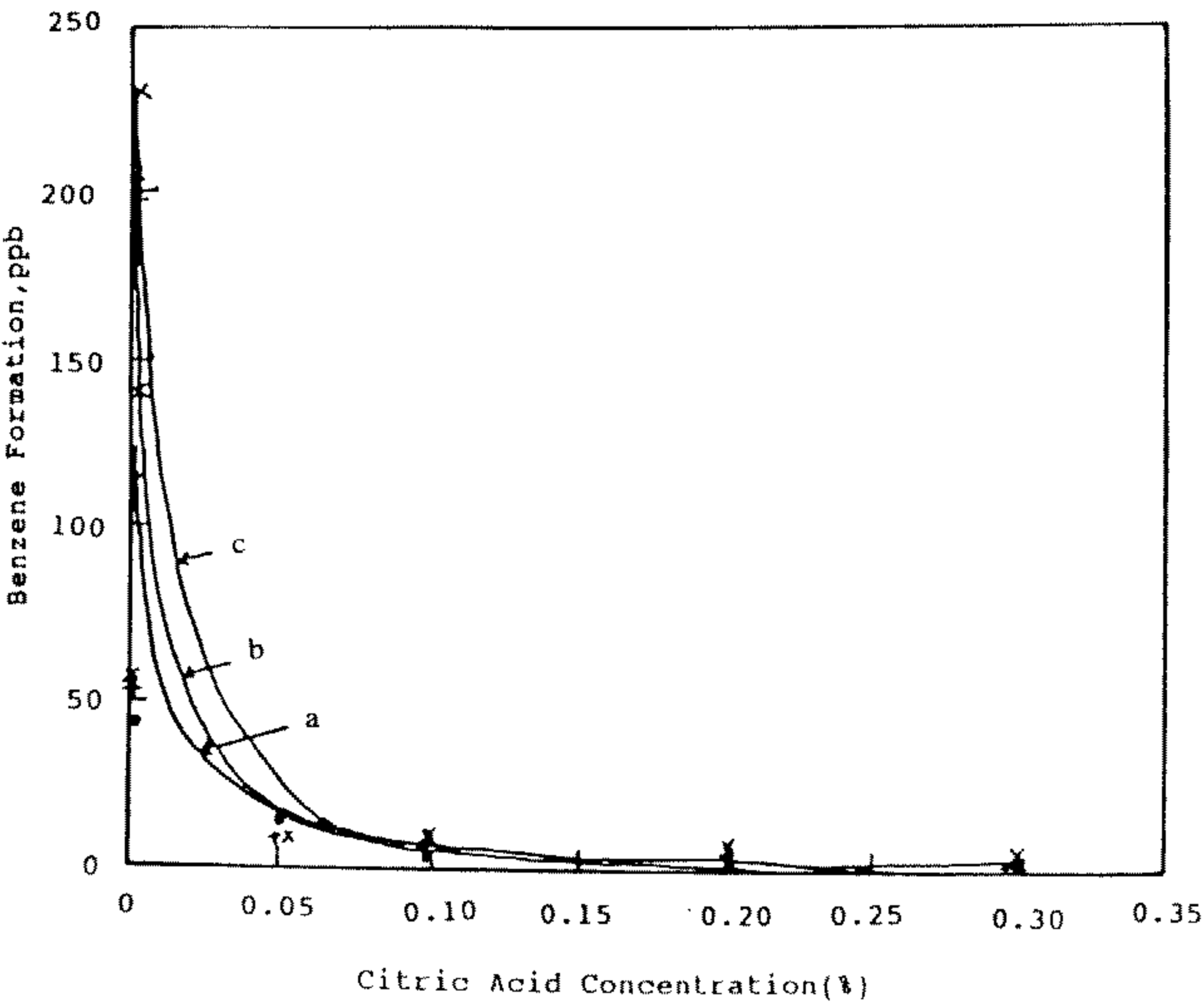


Figure 4. Effect of citric acid on benzene formation at the 0.025% ascorbic acid and 0.04% sodium benzoate mixed aqueous solution after three storage durations (a = 3 days, b = 6 days, c = 8 days). Each point represents the means of three determinations.

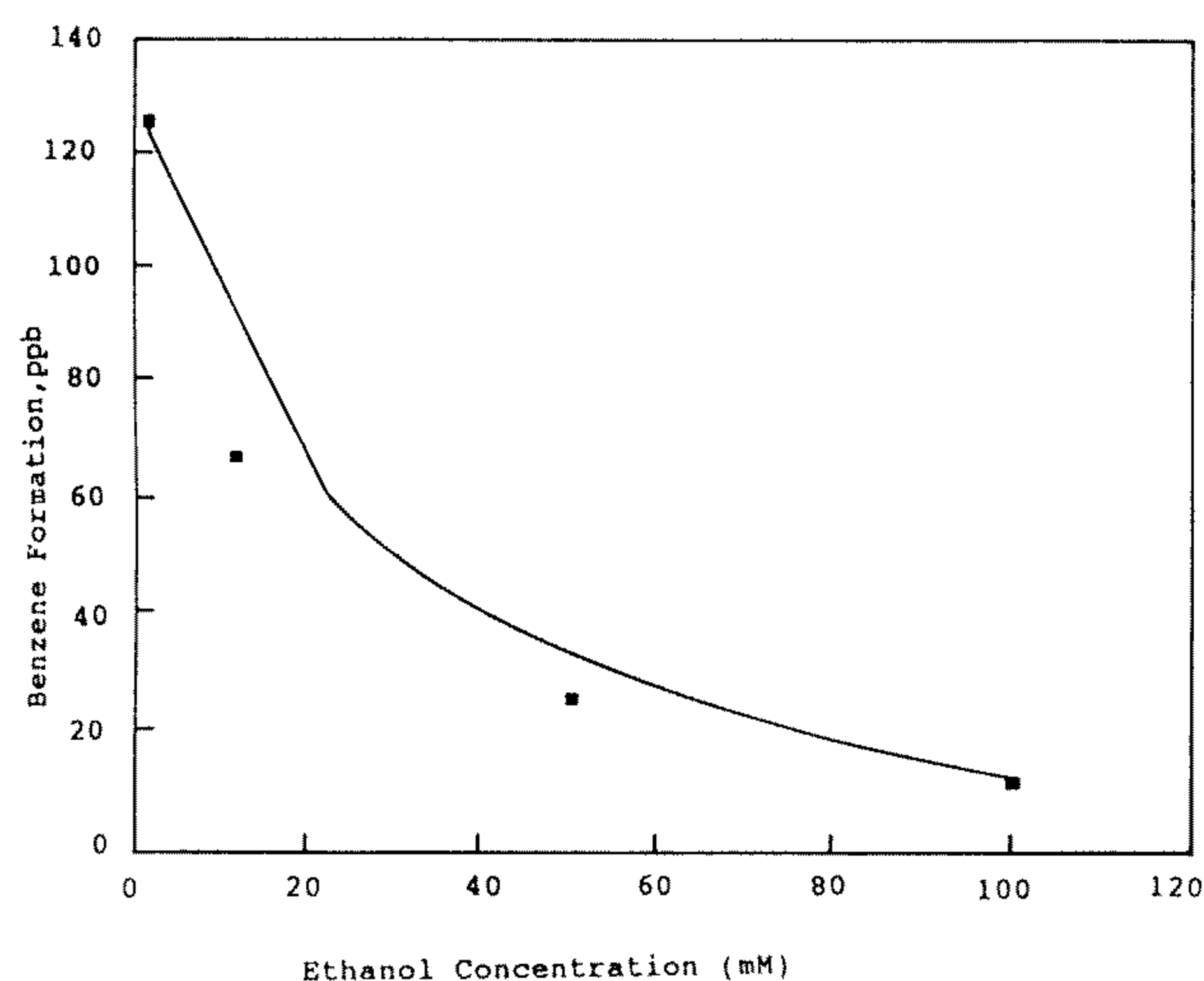


Figure 5. Effect of ethanol on benzene formation at the 0.025% ascorbic acid and 0.04% sodium benzoate mixed aqueous solution after 8-day-storage. Each point represents the means of three determinations.

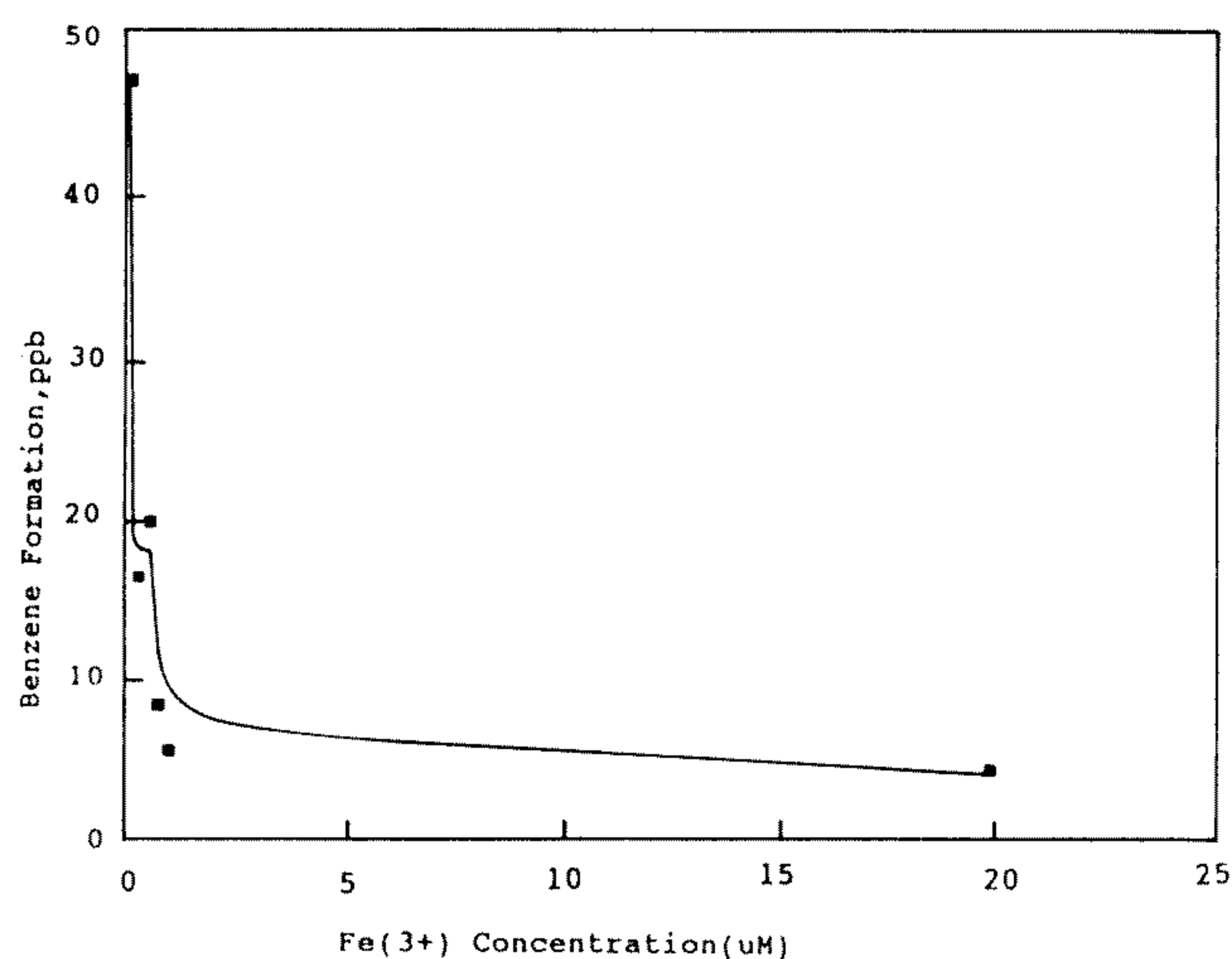


Figure 6. Effect of Fe^{3+} ion on benzene formation at the 0.025% ascorbic acid and 0.04% sodium benzoate mixed aqueous solution after 8-day-storage. Each point represents the means of three determinations.

Table 3. Influential factors (NaB and CA) in application to apple juice

Sample Treatment	Benzene Formation, ppb
Apple Juice	0.3
Apple Juice + 0.04%NaB	1.3
Apple Juice + 0.08%NaB	1.4
Apple Juice + 0.04%NaB + 0.1% CA	1.3
Apple Juice + 0.08%NaB + 0.1% CA	1.1

Duration : 8 days

NaB : Sodium benzoate CA : Citric Acid

10,11,12,13), 過氧化氫只能促進苯的形成^(14,15)。

二、影響因素應用於檢體之探討

對照的橘子汁及調配的四種橘子汁溶液:0.04% 苯甲酸鈉;0.08% 苯甲酸鈉;0.04% 苯甲酸鈉及0.1% 檸檬酸和0.08% 苯甲酸鈉及0.1% 檸檬酸橘子汁溶液,在第八天均未檢出苯的形成。這可能因橘子汁中含有其它太多影響苯形成的因素如檸檬酸、醇等,且其本身所含的抗壞血酸量亦屬未知,因此此處所加苯甲酸鈉及檸檬酸的量在橘子汁中無法顯出促進或抑制的作用。

由表三結果顯示對照的蘋果汁及調配的四種

蘋果汁溶液,在第八天其苯形成量沒有顯著差異,蘋果汁本身即天然含有微量苯,但加入苯甲酸鈉或檸檬酸並無明顯促進或抑制苯形成的效果。自行配製的披薩醬及外加0.04% 苯甲酸鈉和外加0.04% 苯甲酸鈉及0.1% 檸檬酸之披薩醬,在第八天苯的形成量分別為1.0 ppb、0.7 ppb、0.4 ppb,雖然加入檸檬酸及苯甲酸鈉之披薩醬苯含量0.4 ppb比只含苯甲酸鈉之披薩醬苯含量0.7 ppb低,但因披薩醬所含成份極複雜,此結果亦難推斷是由檸檬酸之作用所致。由上述結果知基質複雜的檢體其促進及抑制苯形成的影響因素與由單純模擬溶液探討所得之量不盡相同。

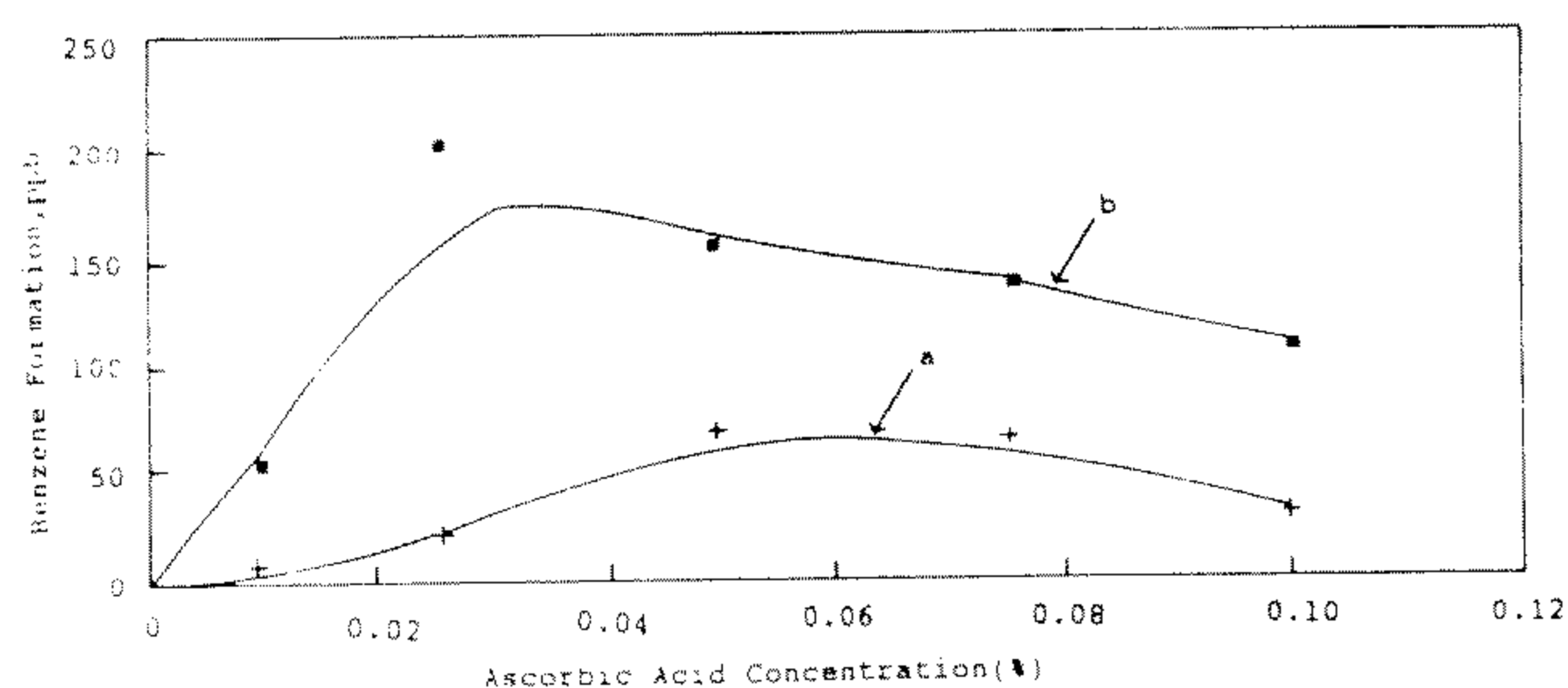


Figure 7. Effect of water treated with chelex 100 resin on benzene formation of ascorbic acid at the 0.04% sodium benzoate aqueous solution after 8-day-storage. (a = water was treated with chelex 100, b = water was not treated.)

Each point represents the means of three determinations.

謝 誌

感謝美國食品藥物管理署Gregory W. Diachenko, Ph. D., Kim M. Morehouse, Ph. D., Henry C. Hollifield, Ph. D. and George C. Yang, Ph. D.提供協助及諮商,使研究得以完成。

在美半年研究期間經費由人事行政局公教人員出國進修計畫下支助,一併在此誌謝。

參考文獻

1. The Merck Index. 1989. 11th edition. p.166. Merck Co., Inc. Rahway, N.Y., U.S.A.
2. Conference record of Division of Regulatory Guidance, (2/14/1991) Center for Food Safety and Applied Nutrition, FDA.
3. Bielski, B. H. J., Cabelli, D. E. and Arudi, R. L. 1985. Reactivity of H_2O/O_2^- radicals in aqueous solution. J. Phy. Chem. Data. 14 (4) : 1041-1100.
4. Dainton, F.S. and Rowbottom, J. 1953. The primary radical yield in water. Trans. Faraday Soc. 49 : 1160-1173.
5. Graf, E., Mahoney, J. R., Bryant, R. G. and Eaton, J. W. 1964. Iron-catalyzed hydroxyl radical formation The J. of Biological Chemistry. 260 (6) : 3620-3624.
6. Klein, G. W., Bhatia, K., Machavan, V. and

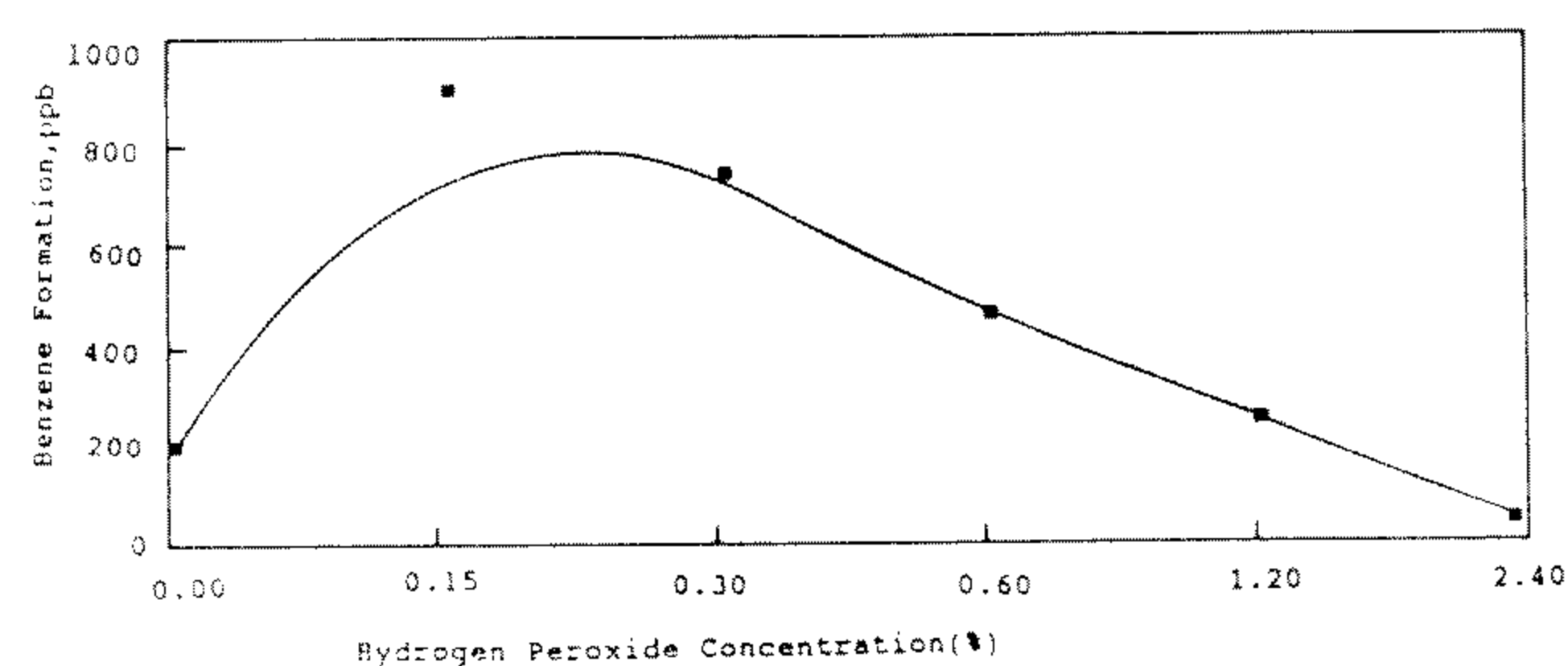


Figure 8. Effect of hydrogen peroxide on benzene formation at the 0.025% ascorbic acid and 0.04% sodium benzoate mixed aqueous solution after 8-day-storage.

Each point represents the means of three determinations.

Schuler, R. H. 1975. Reaction of OH with benzoid acid isomer distribution in the radical intermediates. The J. of Physical Chemistry . 79 (17) : 1769-1774.

7. Pelizzetti, E., Meisel, D., Mulac, W.A. and Neta, P. 1979. On the electron transfer from ascorbic acid to various phenothiazine radicals. The J. of the America Chemical Society. 101 : 6954-6959.
8. Maskos, Z., Rush, J.D. and Koppenol, W. H . 1990. The hydroxylation of the salicylate anion by a fenton reaction and r-radiolysis : a consideration of the respective mechanisms. Free Radical Biology and Medicine. 8: 153-162.
9. Winston, G. W. and Cederbaum, A. I. 1985. Decarboxylation of 7-c-benzoic acid. p.169-175 CRC Handbook of Methods for Oxygen Radical Research, CRC Press, Inc. Florida, U.S.A.
10. Kumagai, Y., Lin, L. Y., Schmitz, D. A. and Cho, A. K. 1991. Hydroxyl radical mediated demethylenation of (methylene dioxy) phenyl compounds. Chem. Res. Toxicol. 4 (3) : 330-333.
11. Winston, G. W. and Cederbaum, A. I. 1983. The generation of hydroxy and alkoxyl radicals from the interaction of ferrous bipyridyl with peroxides : differential oxidation of typ-

- ical hydroxyl radical scavengers. *Biochem. J.* 216 : 415-421.
12. Cabelli, D. E. and Bielski, B. H. J. 1983. Kinetics and mechanism for the oxidation of ascorbic acid / ascorbate by H_2O_2 / O_2 -radicals. A pulse radiolysis and stopped flow photolysis study. *J. Phys. Chem.* 87 : 1609-1812.
13. Schuler, R. H. 1977. Oxidation of ascorbate anion by electron transfer to phenoxyl radicals. *Radiation Research.* 69 : 417-433.
14. Winston, G. W. and Cederbaum A. I. 1982. Oxidative decarboxylation of benzoate to CO_2 by rat liver microsomes : a probe for oxygen radical production during microsomal electron transfer. *Biochemistry* 21 : 4265-4278.
15. Kalyanaraman, B. Morehouse, K. M. and mason, R. P. 1991. An electron paramagnetic resonance study of the interactions between the adriamycin semiquinone, hydrogen peroxide, iron chelators and radical scavengers. *Archives of Biochemistry and Biophysics.* 285 (1) : 164-170.

Studies on Benzene Formation in Beverages

PI-CHIOU CHANG AND *KEN KU

National Laboratories of Foods and Drugs, Department of Health, Executive Yuan

**U.S. Food and Drug Administration*

ABSTRACT

Gas chromatography with a purge and trap apparatus was used to study the effects of benzene formation in mixtures of ascorbic acid and sodium benzoate. Ascorbic acid, sodium benzoate, citric acid, free radical scavenger, metal chelator, metal ion and hydroxyl radical were found to have inductive or inhibitive effects on benzene formation individually. On the eighth storage day, with one component's concentration constant, the benzene content in the mixture increased as the concentration of the other component increased but, after reaching a certain concentration, the benzene content decreased gradually. The results showed that citric

acid, free radical scavenger and metal chelator had inhibitory effects on benzene formation. However, at the beginning, the hydroxy radical and metal ion had an inductive effect on benzene formation as their concentrations increased but, after concentration levels reached to a certain point, the effect on benzene formation reversed.

Samples of orange juice, apple juice and pizza sauce mixed with sodium benzoate all showed no significant effect on benzene formation, and the sample of apple juice plus citric acid also showed no significant effect on benzene formation.

Key words : Benzene formation, Sodium benzoate, Ascorbic acid, Beverage.