

The MAK Collection for Occupational Health and Safety

Benzoessäure und Alkalibenzoate

MAK-Begründung, Nachtrag

A. Hartwig^{1,*}, MAK Commission^{2,*}

¹ Vorsitz der Ständigen Senatskommission zur Prüfung gesundheitsschädlicher Arbeitsstoffe, Deutsche Forschungsgemeinschaft, Institut für Angewandte Biowissenschaften, Abteilung Lebensmittelchemie und Toxikologie, Karlsruher Institut für Technologie (KIT), Adenauerring 20a, Geb. 50.41, 76131 Karlsruhe

² Ständige Senatskommission zur Prüfung gesundheitsschädlicher Arbeitsstoffe, Deutsche Forschungsgemeinschaft, Kennedyallee 40, 53175 Bonn

* E-Mail: A. Hartwig (andrea.hartwig@kit.edu), MAK Commission (arbeitsstoffkommission@dfg.de)

Keywords: Benzoessäure; Alkalibenzoate; MAK-Wert; maximale Arbeitsplatzkonzentration; Spitzenbegrenzung; Entwicklungstoxizität; Hautresorption; Reizwirkung; Toxizität

Citation Note: Hartwig A, MAK Commission. Benzoessäure und Alkalibenzoate. MAK-Begründung, 2017. MAK Collect Occup Health Saf [Original-Ausgabe. Weinheim: Wiley-VCH; 2017 Jul;2(3):1268-1334]. Korrigierte Neuveröffentlichung ohne inhaltliche Bearbeitung. Düsseldorf: German Medical Science; 2026. https://doi.org/10.34865/mb6585d0063_w

Neuveröffentlichung (Online): 07 Aug 2026

Vormals erschienen bei Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA; <https://doi.org/10.1002/3527600418.mb6585d0063>

Addendum abgeschlossen: 24 Feb 2016

Erstveröffentlichung (Online): 26 Jul 2017

Zur Vermeidung von Interessenkonflikten hat die Kommission *Regelungen und Maßnahmen* etabliert.



Dieses Werk ist lizenziert unter einer
Creative Commons Namensnennung 4.0 International Lizenz.

Benzoic acid¹⁾²⁾ and alkali benzoates²⁾

[Benzoessäure und Alkalibenzoate]

1 MAK Value Documentation in German language

A. Hartwig^{1,*}, MAK Commission^{2,*}

DOI: 10.1002/3527600418.mb6585d0063

Abstract

The German Commission for the Investigation of Health Hazards of Chemical Compounds in the Work Area has re-evaluated benzoic acid and alkali benzoates [65-85-0; 532-32-1; 582-25-2] to derive a maximum concentration at the workplace (MAK value), considering all toxicity endpoints. Available study reports and publications are described in detail.

Based on the NOAEC for lung toxicity of 12.6 mg/m³ in a 4-week inhalation study in rats, a MAK value of 0.5 mg/m³ for the strongly irritating benzoic acid has been derived. Alkali benzoates are only slightly irritating. In consideration of the systemic NOAEC of 250 mg/m³ in another 4-week inhalation study in rats exposed to benzoic acid, a MAK value for alkali benzoates of 10 mg/m³ (inhalable fraction), calculated as benzoate, has been derived. Benzoic acid and alkali benzoates are assigned to Peak Limitation Category II, because systemic effects are critical, and excursion factors of 2 for alkali benzoates and of 4 for benzoic acid are set.

In a developmental toxicity study with sodium benzoate in rats, foetotoxic effects were observed at 1850 mg/kg body weight and day. The NOAEL was 1340 mg/kg body weight and day. In mice, rabbits and hamsters, no developmental toxicity from sodium benzoate was detected in the foetuses of dams treated with up to 175, 250 or 300 mg/kg body weight and day, respectively. The differences between the NOAEL for rats, mice, rabbits and hamsters scaled to an inhalation concentration at the workplace and the MAK value are considered so large that damage to the embryo or foetus is unlikely when the MAK value is observed. Therefore, benzoic acid and alkali benzoates are classified in Pregnancy Risk Group C.

Benzoic acid and alkali benzoates are not regarded as genotoxic. Long-term studies with sodium benzoate in rats and mice were of limited validity and do not point to a carcinogenic potential. Sensitization is not expected as benzoic acid and alkali benzoates are not contact sensitizers in animal studies. Immediate contact reactions observed in animals and humans are based on a non-immunologic mechanism. Skin contact is expected to contribute significantly to the systemic toxicity. Therefore, benzoic acid and alkali benzoates are designated with an "H".

Keywords

Benzoessäure; Natriumbenzoat; Kaliumbenzoat; Benzolcarbonsäure; Phenylcarboxylsäure; Wirkungsmechanismus; Toxikokinetik; Metabolismus; (sub)akute Toxizität; (sub)chronische Toxizität; Reizwirkung; allergene Wirkung; Reproduktionstoxizität; Fertilität; Entwicklungstoxizität; Genotoxizität; Kanzerogenität; Spitzenbegrenzung; fruchtschädigende Wirkung; krebserzeugende Wirkung; keimzellmutagene Wirkung; Hautresorption; sensibilisierende Wirkung; Arbeitsstoff; maximale Arbeitsplatzkonzentration; MAK-Wert; Toxizität; Gefahrstoff

Author Information

¹ Vorsitzende der Ständigen Senatskommission zur Prüfung gesundheitsschädlicher Arbeitsstoffe, Deutsche Forschungsgemeinschaft, Institut für angewandte Biowissenschaften, Abteilung Lebensmittelchemie und Toxikologie, Karlsruher Institut für Technologie (KIT), Adenauerring 20a, Geb. 50.41, 76131 Karlsruhe

² Ständige Senatskommission zur Prüfung gesundheitsschädlicher Arbeitsstoffe, Deutsche Forschungsgemeinschaft, Kennedyallee 40, 53175 Bonn

* Email: A. Hartwig (andrea.hartwig@kit.edu), MAK Commission (arbeitsstoffkommission@dfg.de)

1) The substance can occur simultaneously as vapour and aerosol.

2) causes pseudoallergic reactions, see Toxikologisch-arbeitsmedizinische Begründung von MAK-Werten (21st issue 1995).

Benzoessäure^{1),2)} und Alkalibenzoate²⁾

[65-85-0]

[532-32-1]

[582-25-2]

Nachtrag 2017

MAK-Wert (2016)

Benzoessäure
Alkalibenzoate

0,1 ml/m³ (ppm) $\triangleq$ 0,5 mg/m³ A
10 mg/m³ E (als Benzoat)

Spitzenbegrenzung (2016)

Benzoessäure
Alkalibenzoate

Kategorie II, Überschreitungsfaktor 4
Kategorie II, Überschreitungsfaktor 2

Hautresorption (2016)

H

Sensibilisierende Wirkung

–

Krebserzeugende Wirkung

–

Fruchtschädigende Wirkung (2016)

Gruppe C

Keimzellmutagene Wirkung

–

BAT-Wert

–

Synonyma

Benzolcarbonsäure
Phenylcarboxylsäure

Chemische Bezeichnung

Benzoessäure

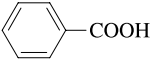
CAS-Nr.

65-85-0 (Benzoessäure)
532-32-1 (Natriumbenzoat)
582-25-2 (Kaliumbenzoat)

1) Der Stoff kann gleichzeitig als Dampf und Aerosol vorliegen.

2) Löst pseudoallergische Reaktionen aus, s. „Toxikologisch-arbeitsmedizinische Begründung von MAK-Werten“ (21. Lieferung 1995).

1270 MAK Value Documentations

Formel	 $C_7H_6O_2$ (Benzoessäure) $C_7H_5O_2Na$ (Natriumbenzoat) $C_7H_5O_2K$ (Kaliumbenzoat)
Molmasse	122,12 g/mol (Benzoessäure) 144,11 g/mol (Natriumbenzoat) 160,21 g/mol (Kaliumbenzoat)
Schmelzpunkt	122,4 °C (Benzoessäure) (OECD 2004) 330,6 °C (Natriumbenzoat) (OECD 2004) k. A. (Kaliumbenzoat)
Siedepunkt bei 1013 hPa	249,2 °C (Benzoessäure) (OECD 2004) 464,9 °C (Natriumbenzoat) (OECD 2004) k. A. (Kaliumbenzoat)
Dampfdruck bei 25 °C	0,0009 hPa (Benzoessäure) (SRC 2014 a) (Dampfsättigungskonzentration 4,4 mg/m ³) < 0,001 hPa (Natriumbenzoat) (SRC 2014 b) k. A. (Kaliumbenzoat)
log K _{ow}	1,87 (Benzoessäure) (SRC 2014 a) – 2,27 (ber.) (Natriumbenzoat) (SRC 2014 b) k. A. (Kaliumbenzoat)
Löslichkeit bei 25 °C	3,4 g/l Wasser (Benzoessäure) (SRC 2014 a) 556 g/l Wasser (Natriumbenzoat) (SRC 2014 b) k. A. (Kaliumbenzoat)
pKs-Wert	4,19 (Benzoessäure) (OECD 2004)
1 ml/m³ (ppm) ≙ 5,067 mg/m³	1 mg/m³ ≙ 0,197 ml/m³ (ppm)
Stabilität	Benzoessäure: Anhydridbildung bei ca. 150 °C, Decarboxylierung bei ca. 370 °C (ECHA 2011); Natrium- und Kaliumbenzoat: k. A.
Herstellung	Benzoessäure: fast ausschließlich durch Cobalt-katalysierte Luftoxidation von Toluol in der Flüssigphase (NLM 2016); Natriumbenzoat: Neutralisation von Ben- zoesäure mit Natriumhydrogencarbonat, -carbonat oder -hydroxid (CIR 2011); Kaliumbenzoat: Reaktion von Methylben- zoat mit Kaliumthioacetat (CIR 2011)

Reinheit	Benzoessäure: > 990 g/kg (pharmazeutische Qualität) (ECHA 2011); Natrium- und Kaliumbenzoat: k. A.
Verunreinigungen	Benzoessäure: nach dem deutschen Arzneibuch: Zimtsäure max. 0,1 %, Schwermetalle max. 0,001 %, Asche max. 0,1 %, organische und anorganische Chloride nicht nachweisbar (ECHA 2011); Natrium- und Kaliumbenzoat: k. A.
Verwendung	Benzoessäure: Herstellung von Phenol, Natriumbenzoat und zur Synthese weiterer Stoffe (OECD 2004), Verwendung als Bakterizid, Fungizid und Viruzid sowie Desinfektion von Materialien (ECHA 2011); Natrium- und Kaliumbenzoat: als Konservierungsstoff (OECD 2004)

Zu Benzoessäure liegt eine Begründung aus dem Jahr 1986 sowie ein Nachtrag aus dem Jahr 1995 zur allergenen Wirkung vor. Auf Grund von neuen Daten wurde dieser Nachtrag erstellt.

Die Alkalibenzoate werden mit in den Nachtrag aufgenommen, da in wässriger Lösung die Benzoate mit der Benzoessäure in Abhängigkeit vom pH-Wert in einem Gleichgewicht stehen.

1 Allgemeiner Wirkungscharakter

Benzoessäure wirkt stark reizend an den Augen mit zum Teil irreversiblen Schädigungen der Cornea, während sie nur minimale hautreizende Wirkung besitzt. Natriumbenzoat wirkt am Auge allenfalls leicht reizend und an der Haut nicht reizend. Benzoessäure und ihre Salze können nicht-immunologische erythematöse oder urtikarielle Sofortreaktionen auslösen. Die urtikarielle Schwellung tritt meist innerhalb von 15 bis 30 Minuten nach Exposition auf und bildet sich in der Regel nach 2 bis 3 Stunden zurück. Bei Probanden verursacht Benzoessäure nach oraler Verabreichung von insgesamt 35 g in 20 Tagen Symptome wie Übelkeit, Kopfschmerzen, Schwäche, Brennen und Reizung des Ösophagus und Verdauungsstörungen. Bei Ratten treten nach wiederholter oraler Gabe von Benzoessäure bzw. Natriumbenzoat bei Dosierungen von mehr als 2000 mg/kg KG und Tag u. a. verminderte Körpergewichtszunahme, erhöhtes Leber- und Nierengewicht, Ataxie, Tremor, Erregung, aggressives Verhalten, Krämpfe und Mortalität auf. In Gehirn, Leber und Nieren werden histopathologische Veränderungen diagnostiziert. In einer 4-Wochen-Inhalationsstudie an Ratten verursacht Benzoessäure ab 25 mg/m³ interstitielle Entzündungen der Lunge mit nachfolgenden Fibrosen.

Bei Wistar-Ratten kommt es in einer pränatalen Entwicklungstoxizitätsstudie ab ca. 1850 mg Natriumbenzoat/kg KG und Tag zu fetotoxischen Effekten wie erniedrigter Anzahl lebender Feten, erniedrigten Fetengewichte, verminderten Ossifikationen und erhöhten Inzidenzen von skelettalen, äußeren und inneren Variationen und Missbildungen bei gleichzeitiger Maternaltoxizität. In pränatalen Entwicklungstoxizitätsstudien an Mäusen, Kaninchen und Hamstern treten jeweils bis zur höchsten Dosis von 175 mg/kg KG und Tag (Maus), 250 mg/kg KG und Tag (Kaninchen) und 300 mg/kg KG und Tag (Hamster) keine entwicklungstoxischen oder maternaltoxischen Effekte auf.

In-vitro-Studien zur Genotoxizität deuten auf eine klastogene Wirkung der Benzoesäure und ihrer Salze bei hohen Dosierungen hin, jedoch sind die In-vivo-Studien auf chromosomale Aberrationen an Ratten negativ.

Aus Langzeitstudien an Ratten und Mäusen ergeben sich keine Hinweise auf eine kanzerogene Wirkung von Benzoesäure bzw. Natriumbenzoat.

2 Wirkungsmechanismus

Die Wirkung der Benzoesäure auf Auge und Schleimhaut beruht auf ihrer Azidität. Die systemisch-toxischen Wirkungen der Benzoesäure ähneln denen einer Vergiftung mit Salicylsäure (o-Hydroxybenzoesäure). Bei beiden Substanzen wird ein ähnlicher Mechanismus, die Hemmung der mitochondrialen Atmung nach Sättigung der Glycin- und Glucuronsäure-Konjugation, angenommen (ECHA 2011).

In vitro verursacht Benzoesäure (1 mM) in isolierten Rattenhepatozyten eine Hemmung der Harnstoffsynthese um etwa 50 % und um 80 % verringerte zelluläre Asparatkonzentrationen. In isolierten Mitochondrien konnte eine Hemmung der Pyruvatcarboxylase durch Benzoesäure (1 mM) gezeigt werden (Cyr und Tremblay 1989).

Benzoesäure und ihre Salze können nicht-immunologische Sofortreaktionen oder eine nicht-immunologische Kontakturtikaria, für die keine spezifischen IgE-Antikörper nachweisbar sind, auslösen. Diese als irritativ einzustufenden Reaktionen treten bereits bei Erstkontakt auf, erfordern also keine vorherige Sensibilisierungsphase. Die Reaktionen sind in der Regel auf die Kontaktstelle begrenzt und weisen eine deutliche Abhängigkeit von der Menge bzw. Konzentration der einwirkenden Substanz auf (siehe auch Nachtrag 1995). Möglicherweise sind Prostaglandine oder auch Histamin Mediatoren für die Reaktionen. Hinsichtlich der Sensitivität gegen Benzoesäure finden sich am Tier ausgeprägte Speziesunterschiede (Lahti 1987; Lahti und Maibach 1985; Lahti et al. 1983, 1987).

3 Toxikokinetik und Metabolismus

3.1 Aufnahme, Verteilung, Ausscheidung

Daten zur Aufnahme nach inhalativer Exposition liegen nicht vor.

Nach oraler Verabreichung erfolgt eine schnelle und praktisch vollständige Aufnahme von Benzoessäure bzw. Natriumbenzoat bei Menschen, Ratten, Hunden und Hamstern (ECHA 2011).

Beim Menschen werden die höchsten Plasmakonzentrationen innerhalb von 1 bis 2 Stunden nach oraler Aufnahme erreicht (ECHA 2011).

Die Schnelligkeit der Aufnahme von Benzoessäure wurde in Perfusionsuntersuchungen am Rattencolon bestätigt. Dabei zeigte sich, dass die Resorption durch Diffusion des nicht dissoziierten Moleküls erfolgt und abhängig vom pH-Wert ist (ECHA 2011).

Es liegen einige Studien zur perkutanen Resorption bei verschiedenen Spezies wie Ratte, Rhesusaffe, Hund, Schwein, Meerschweinchen und dem Menschen sowie In-vitro-Untersuchungen an der Haut von Mensch und Ratte vor. Die einzelnen Studien sind in Tabelle 1 dargestellt. Zusammengefasst liegt die perkutane Resorption beim Menschen in vivo in den meisten Untersuchungen bei etwa 40 % (Einzelergebnisse liegen im Bereich von 14 bis 42,6 %) und mit menschlicher Haut in vitro im Bereich von 30 bis 70 %.

In-vitro-Untersuchungen mit Benzoessäure in wässrigen Lösungen oder Ethanol/Wasser-Lösungen an menschlicher Haut und an Rattenhaut weisen auf maximale Fluxraten von 10 bis 20 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ und Stunde für niedrige Benzoessäure-Konzentrationen (z. B. 4 mg/ml) und von bis zu $166 \pm 59 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ und Stunde bei höheren Konzentrationen (40 mg/ml) hin (Nielsen et al. 2009; Nielsen und Nielsen 2006; Nielsen und Sørensen 2012; van de Sandt et al. 2004).

Ähnliche Fluxraten lassen sich aus einer humanexperimentellen In-vivo-Untersuchung abschätzen, in der eine höhere Stoffmenge appliziert wurde: Es wurde eine Gesamtaufnahme von 13,6 % Benzoessäure nach 24-stündiger, nicht-okklusiver Exposition mit 2000 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ beobachtet. Daraus ergibt sich eine Aufnahme von 272 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ für das 24-Stunden-Beobachtungsintervall. Unter der vereinfachenden Annahme einer gleichmäßigen Penetrationsrate beträgt der durchschnittliche Flux 11 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ und Stunde (Wester und Maibach 1976). Einschränkend gilt, wie für andere in Tabelle 1 aufgeführte Humanstudien, dass der zeitliche Verlauf der dermalen Penetration nicht untersucht wurde. Daher lassen sich die Stoff-Fluxe nur als gemittelte Werte über längere Zeitintervalle angeben und sind mit einer entsprechenden Unsicherheit behaftet, die möglicherweise zu einer Unterschätzung der Fluxe führt.

Die Ausscheidung von Benzoessäure bzw. Natriumbenzoat (siehe Abschnitt 3.2) mit dem Urin erfolgt bei Menschen, Ratten, Hamstern und Hunden schnell und praktisch vollständig (94–100 % in 24 Stunden; Bridges et al. 1970) vor allem als Metaboliten. Bei anderen Spezies wie Frettchen und nicht-menschlichen Primaten scheint sie hingegen weniger effektiv zu sein. Die Ausscheidung mit den Fäzes oder mit der Atemluft spielt nur eine untergeordnete Rolle (ECHA 2011).

Wegen der guten Elimination bei den meisten der untersuchten Spezies ist nicht mit einer Akkumulation zu rechnen (ECHA 2011).

Tab. 1 Studien zur dermalen Resorption von Benzoesäure

Spezies, Stamm, Geschlecht, Anzahl pro Gruppe	Dosierung, Fläche, Expositionsdauer	Ergebnis	Anmerkungen	Literatur
in vivo				
Mensch, 6, k. w.A.	4 µg/cm ² , 13 cm ² , 24 h, nicht okklusiv	perkutane Resorption: 42,6 ± 16,5 %, anhand Menge im Urin (5 Tage); maximale Resorptionsrate 3 % der Dosis pro Stunde; Rückstände auf/in der Haut: praktisch keine (nach 24 h)	¹⁴ C-markierte Benzoesäure, gelöst in Aceton	Feldmann und Maibach 1970; Hunziker et al. 1978
Mensch, ♂ u. ♀, 7 (Alter: 22–40), 8 (Alter: 65–86)	4 µg/cm ² , 2,5 cm ² , 24 h, nicht okklusiv	perkutane Resorption anhand Menge im Urin (7 Tage): 36,2 ± 4,6 % (Alter 22–40); 19,5 ± 1,6 % (Alter 65–86); Wiederfindung an der Oberfläche (nach 24 h): 45,6 ± 2,8 % (Alter 22–40); 61,4 ± 2,0 % (Alter 65–86)	¹⁴ C-markierte Benzoesäure, gelöst in Aceton	Roskos et al. 1989
Mensch, 6–7 ♂	3, 400, 2000 µg/cm ² , 13 cm ² , 24 h, nicht okklusiv	perkutane Resorption anhand Menge im Urin (5 Tage): 37,0 ± 16,3 %, 25,7 ± 9,9 %, 14,4 ± 3,8 %	¹⁴ C-markierte Benzoesäure, gelöst in Methanol	Wester und Maibach 1976
Ratte, Osborne-Mendel, ♀, k. w.A.	4 µg/cm ² , 2 cm ² , 5 d, nicht okklusiv	perkutane Resorption anhand Menge im Urin (5 Tage): 37,1 %	¹⁴ C-markierte Benzoesäure in Vaseline	Bronaugh et al. 1982
Ratte, Sprague Dawley, haarlos, 12 ♀	200, 450 nmol/cm ² (24,4; 55,0 µg/cm ²), 1 cm ² , 30 min, nicht okklusiv	perkutane Resorption (nach 96 h): 26,6 ± 0,7 % bzw. 79,3 ± 3,6 %; Menge in Stratum Corneum nach 30 min: 17,6 ± 1,5 % bzw. 48,1 ± 5,1 %	¹⁴ C-markierte Benzoesäure, gelöst in Ethanol/Wasser (95/5)	Rougier et al. 1983

Tab. 1 (Fortsetzung)

Spezies, Stamm, Geschlecht, Anzahl pro Gruppe	Dosierung, Fläche, Expositionsdauer	Ergebnis	Anmerkungen	Literatur
Hund, mexikanisch haarlos, 2, k. w. A.	4 µg/cm ² , k. A. zur Fläche, 24 h, nicht okklusiv	perkutane Resorption anhand Menge im Urin (10 Tage): maximale Resorptionsrate: 0,25 % pro h; Rückstände auf/in der Haut: 30 % (nach 90 h)	¹⁴ C-markierte Benzoessäure, gelöst in Aceton	Hunziker et al. 1978
Rhesusaffe, 3 ♀	40 (400) ^{a)} , 2000 µg/cm ² , 6 cm ² , 24 h, nicht okklusiv	perkutane Resorption anhand Menge im Urin (5 Tage): 33,6 ± 5,1 %, 17,4 ± 1,2 %	¹⁴ C-markierte Benzoessäure, gelöst in Methanol	Wester und Maibach 1976
Rhesusaffe, 4 ♀	4 mg/cm ² , k. A. zur Fläche, 24 h, nicht okklusiv, mit Abwaschen nach 24 h	perkutane Resorption anhand Menge im Urin (7 Tage): 66 ± 19 %	¹⁴ C-markierte Benzoessäure, gelöst in Aceton	Bucks et al. 1990
Rhesusaffe, 4 ♀	4 µg/cm ² , k. A. zur Fläche, 14 × 24 h, nicht okklusiv, ohne Abwaschen	perkutane Resorption anhand Menge im Urin (7 Tage): 85 ± 19 % (wiederholte Dosierung, 1. Gabe); 89 ± 19 % (wiederholte Dosierung, 8. Gabe)	¹⁴ C-markierte Benzoessäure, gelöst in Aceton (nur 1. u. 8. Applikation, sonst nicht markierte Substanz)	Bucks et al. 1990
Meerschweinchen, haarlos, 3–5 ♀	4 µg/cm ² , 1 cm ² , 24 h, nicht okklusiv	perkutane Resorption (anhand Ausscheidung mit dem Urin in 5 d im Vergleich zu i.p. Gabe): 34,2 ± 9,4 % (normale Haut); 71,1 ± 19,8 % (tape-stripped Haut); 73,4 ± 14,6 % (gereizte Haut, 2 % SDS); 94,1 ± 4,8 % (entfettete Haut)	¹⁴ C-markierte Benzoessäure, gelöst in Aceton	Moon et al. 1990

Tab. 1 (Fortsetzung)

Spezies, Stamm, Geschlecht, Anzahl pro Gruppe	Dosierung, Fläche, Expositionsdauer	Ergebnis	Anmerkungen	Literatur
Meerschweinchen, Hartley, 3, k. w. A.	4 µg/cm ² , 1,75 cm ² , 24 h, nicht okklusiv	perkutane Resorption (anhand Ausscheidung mit dem Urin in 5 d im Vergleich zu i.p. Gabe): 31,4 ± 9,1 %	¹⁴ C-markierte Benzooesäure, gelöst in Aceton	Andersen et al. 1980
Schwein, Yorkshire, 3 ♀	40 µg/cm ² , 5 cm ² , 6 d, nicht okklusiv	perkutane Resorption (anhand Ausscheidung mit dem Urin u. den Fäzes in 6 d im Vergleich zu i. v. Gabe): 25,7 ± 2,4 %	¹⁴ C-markierte Benzooesäure, gelöst in Ethanol	Carver und Riviere 1989
Schwein, Yorkshire, ♀, k. w. A.	4 µg/cm ² , bis zu 32 cm ² , 24 h, nicht okklusiv	perkutane Penetration: 9,2 % (im Urin); Wiederfindung: 78 ± 8 %	¹⁴ C-markierte Benzooesäure, gelöst in Ethanol	Reifenrath et al. 1991
in vitro				
menschliche Haut	4 od. 40 µg/cm ² , 1 od. 2,5 cm ² , 2 d	perkutane Penetration: 44,9 %	¹⁴ C-markierte Benzooesäure, gelöst in Aceton	Franz 1975
menschliche Haut	0,2; 0,3 µg/cm ² , 0,32 cm ² , 72 h, okklusiv	gesamte Resorption: 60,5 ± 1,8 bzw. 65,5 ± 7,1 % (72 h); Wiederfindung: 85,7–90,3 %	¹⁴ C-markierte Benzooesäure, gelöst in Ethanol	Hotchkiss et al. 1992
menschliche Haut	0,2; 0,3 µg/cm ² , 0,32 cm ² , 72 h, nicht okklusiv	gesamte Resorption: 30,9 ± 1,2 bzw. 37,8 ± 6,9 % (72 h); Wiederfindung: 80,2–84,5 %	¹⁴ C-markierte Benzooesäure, gelöst in Ethanol	Hotchkiss et al. 1992

Tab. 1 (Fortsetzung)

Spezies, Stamm, Geschlecht, Anzahl pro Gruppe	Dosierung, Fläche, Expositionsdauer	Ergebnis	Anmerkungen	Literatur
menschliche Haut	100 µg/cm ² , 0,32–3,14 cm ² , 24 h	mittlere maximale Resorptionsrate: 16,54 ± 11,87 µg/cm ² /h; gesamte Resorption: 70,6 ± 17,2 % (24 h, 8 Laboratorien); Wiederfindung: 53,6–98,5 % (7 Laboratorien)	Benzoessäure (z. T. ¹⁴ C-markierte), gelöst in Ethanol/Wasser (1/1); multizentrische Studie (9 Laboratorien), nach OECD-Prüfrichtlinie 428	van de Sandt et al. 2004
menschliche Haut	k. A. zur Dosierung, 2,12 cm ² , 48 h	maximaler Flux: 12,8 ± 1,4 µg/cm ² /h; Wiederfindung: 98,2 %	¹⁴ C-markierte Benzoessäure, gelöst in Wasser (0,9 % NaCl, 1 % Tween)	Nielsen und Nielsen 2006
menschliche Haut	4 mg/ml (424 µg) 2,12 cm ² , 48 h	maximaler Flux: 20 µg/cm ² /h; Wiederfindung: 99,0 ± 0,6 %	¹⁴ C-markierte Benzoessäure, gelöst in Wasser (0,9 % NaCl, 2 % Ethanol)	Nielsen et al. 2009
menschliche Haut	4, 40 mg/ml (424, 4240 µg) 2,12 cm ² , 48 h	maximaler Flux: 13,1 ± 1,8 bzw. 166,4 ± 58,5 µg/cm ² /h	¹⁴ C-markierte Benzoessäure, gelöst in 45 % Ethanol in Wasser	Nielsen und Sørensen 2012
Rattenhaut, Osborne-Mendel, ♀	4,2 µg/cm ² , 1,1 cm ² , 5 d	perkutane Resorption: 49,1 %; Permeabilitätskonstante: 3,5 × 10 ⁻⁴ cm/h	¹⁴ C-markierte Benzoessäure in Vaseline	Bronaugh et al. 1982
Rattenhaut, F344, ♂	4,6 µg/cm ² , 2 cm ² , 6 h	perkutane Penetration: 53,0 ± 4,6 %; Wiederfindung: 73,9 %	¹⁴ C-markierte Benzoessäure, gelöst in Aceton	Frantz et al. 1990
Rattenhaut, F344, ♂	0,2; 2,2 µg/cm ² , 0,32 cm ² , 72 h, okklusiv	maximaler Flux: 3,4 bzw. 36,5 ng/cm ² /h; gesamte Resorption: 51,8 ± 3,3 bzw. 51,1 ± 6,6 % (72 h); Wiederfindung: 92–108 %	¹⁴ C-markierte Benzoessäure, gelöst in Ethanol	Hotchkiss et al. 1992

Tab. 1 (Fortsetzung)

Spezies, Stamm, Geschlecht, Anzahl pro Gruppe	Dosierung, Fläche, Expositionsdauer	Ergebnis	Anmerkungen	Literatur
Rattenhaut, F344, ♂	0,2; 2,2 µg/cm ² , 0,32 cm ² , 72 h, nicht okklusiv	maximaler Flux: 3,4 bzw. 36,5 ng/cm ² /h; gesamte Resorption: 48,3 ± 1,2 bzw. 53,3 ± 7,6 % (72 h); Wiederfindung: 69–88,5 %	¹⁴ C-markierte Benzoessäure, gelöst in Ethanol	Hotchkiss et al. 1992
Rattenhaut, Sprague Dawley, ♂	100 µg/cm ² , 1,76 cm ² , 24 h	mittlere maximale Resorptionsrate: 21,21 µg/cm ² /h; gesamte Resorption: 89,8 ± 4,3 % (24 h); Wiederfindung: 98,5 ± 1,1 %	¹⁴ C-markierte Benzoessäure, gelöst in Ethanol/Wasser (1/1); nach OECD-Prüfrichtlinie 428	van de Sandt et al. 2004
Mäusehaut, HRS/J haarlos, ♂	4,6 µg/cm ² , 2 cm ² , 6 h	perkutane Penetration: 73,6–75,5 %; Wiederfindung: 78,6–81,6 %	¹⁴ C-markierte Benzoessäure, gelöst in Aceton	Frantz et al. 1990
Meerschweinchenhaut, haarlos, ♀	2 µg/cm ² , Abwaschen nach 24 h, Messung nach weiteren 24 h	perkutane Resorption: 49,5 ± 2,3 % (Rezeptorflüssigkeit isotonischer Puffer), 60,1 ± 5,5 % (Rezeptorflüssigkeit Wasser)	¹⁴ C-markierte Benzoessäure, gelöst in Ethanol	Nathan et al. 1990
Meerschweinchenhaut, haarlos, ♀	12, 40, 120 µg/cm ² , 0,64 cm ² , 24 h	maximale perkutane Resorption: 1,5; 2,25 bzw. 5,5 % nach 3–6 h	¹⁴ C-markierte Benzoessäure, gelöst in Aceton	MacPherson et al. 1996
Schweinehaut, Yorkshire, ♀	4 µg/cm ² , 0,8 cm ² , bis zu 24 h	perkutane Penetration: 5 ± 2 % (nach 24 h); Wiederfindung: 65–83 %	¹⁴ C-markierte Benzoessäure, gelöst in Ethanol	Reifenrath et al. 1991
Phenion [®] FT model (nachgebildete menschliche Haut), Franz-Diffusions-Zelle	284,1 µg/cm ² , 0,358 cm ² , bis zu 26 h	Permeation (6 h): 127,1 ± 6,14 µg/cm ² , 44,8 ± 2,16 %, P _{app} : 6,93 ± 0,39 × 10 ⁻⁶ cm/s	¹⁴ C-markierte Benzoessäure in phosphatgepufferter physiologischer Kochsalzlösung	Ackermann et al. 2010

^{a)} widersprüchliche Angaben in Publikation; P_{app}: scheinbarer Permeabilitätskoeffizient (cm/s); SDS: Natriumdodecylsulfat

3.2 Metabolismus

Die Hauptmetaboliten der Benzoessäure bei Säugetieren sind die aus der Konjugation mit Glycin entstehende Hippursäure bzw. das aus der Glucuronidierung entstehende Benzoylglucuronid (siehe Abbildung 1; ECHA 2011).

Aus der maximalen Ausscheidungsrate wurde die Eliminationskapazität als Glucuronsäure- oder Glycin-Konjugat beim Menschen auf etwa 20 g Benzoessäure pro Tag berechnet (ECHA 2011).

Die maximale Umsatzrate der Benzoessäure zur Hippursäure liegt beim Menschen im Mittel bei 23 mg/kg KG und Stunde und damit nahe an der maximalen täglichen Dosis von 500 mg/kg KG (21 mg/kg KG und Stunde), die für die Behandlung der Hyperammonämie (siehe Abschnitt 4.2) empfohlen wird (ECHA 2011).

Bei Menschen, Kaninchen, Ratten und Schweinen wird Benzoessäure fast vollständig als Hippursäure ausgeschieden, während bei anderen Spezies auch größere Anteile an Benzoylglucuronid ausgeschieden werden, so bei Marmosetten bis zu 38 %, bei Hunden 75 % und bei Frettchen 20 % (ECHA 2011).

Bei neonatalen Ratten und Ratten mit Proteinmangel war der als Hippursäure ausgeschiedene Anteil vermindert, und etwa 20 % der radioaktiven Markierung im Urin wurde als Benzoylglucuronid identifiziert (ECHA 2011).

Da Katzen zur Glucuronidierung nur eingeschränkt fähig sind, reagieren sie ab der Konzentration, die zur Sättigung der Glycin-Konjugation zur Hippursäure führt, besonders empfindlich (ECHA 2011).

Die wichtigsten Organe beim Menschen, in denen die Metabolisierung von Benzoessäure erfolgt, sind Leber und Nieren. Obwohl die Konjugationsrate in der Nierenrinde höher ist als in der Leber, wird die Leber wegen ihrer größeren Masse

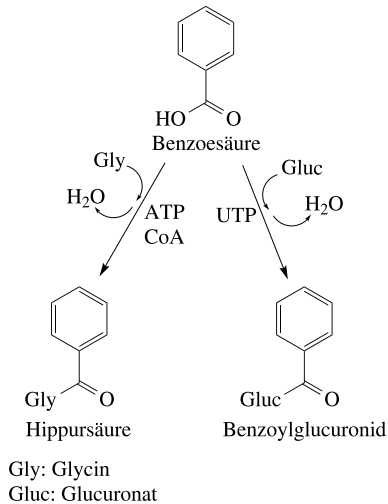


Abb. 1 Metabolismus der Benzoessäure bei Ratte und Mensch (nach ECHA 2011)

und der zentralen anatomischen Lage als das quantitativ wichtigste Organ der Glycin-Konjugation angesehen (ECHA 2011).

In-vitro-Experimente deuten nach perkutaner Aufnahme von Benzoesäure auch auf eine geringe Umsetzung zur Hippursäure in der Haut hin (ECHA 2011).

4 Erfahrungen beim Menschen

4.1 Einmalige Exposition

Eine einmalige orale Aufnahme von 1 bis 1,5 g **Benzoesäure** erzeugte Magenbeschwerden, Übelkeit und Erbrechen (Begründung 1986).

Die einmalige Verabreichung von 2000 bis 3000 mg **Natriumbenzoat** führte zu Übelkeit, Kopfschmerzen, Schwäche, Brennen und Reizung des Ösophagus (WHO 2000).

Die einmalige orale Aufnahme von 33 g **Natriumbenzoat** verursachte bei einer 60 kg schweren Person Blässe, schwachen und unregelmäßigen Puls, allgemeines Unwohlsein, Kopfschmerzen und Übelkeit. Ähnliche Effekte wurden auch nach Aufnahme von 50 g Natriumbenzoat über einen Zeitraum von fünf Stunden beschrieben (Nair 2001).

Auch die durch orale Provokation mit **Natriumbenzoat** induzierte Auslösung asthmatischer Reaktionen ist beschrieben (z. B. Petrus et al. 1996). Die orale Provokation mit einer nicht dokumentierten Menge Benzoesäure führte bei 47 von 100 Asthma-Patienten zu asthmatischen Reaktionen, Rhinitis oder Urtikaria (Rosenhall und Zetterström 1975; siehe auch Begründung 1986). Auf Acetylsalicylsäure reagierten 86 dieser 100 Patienten.

4.2 Wiederholte Exposition

Nach einer täglichen Aufnahme von 300 bis 400 mg Benzoesäure mit der Nahrung über einen Zeitraum von bis zu 62 Tagen zeigte sich bei sechs Männern keine Veränderung in Blutbild, Urinwerten, Stickstoffbilanz oder Befinden (WHO 2000).

Beim Menschen führten tägliche orale Dosen von weniger als 500 mg Benzoesäure nicht zum Auftreten von Symptomen (Begründung 1986).

In einer älteren Arbeit wird berichtet, dass die tägliche Aufnahme von bis zu 1000 mg Benzoesäure über einen Zeitraum von bis zu 92 Tagen keine adversen Wirkungen hervorrief (WHO 2000).

In einer Probandenstudie erhielten die Teilnehmer oral fünf Tage lang 1000 mg Benzoesäure pro Tag. Alle fünf Tage wurde die Dosis auf 1500, 2000 und 2500 mg/Tag erhöht. Drei der 12 Teilnehmer erhielten die vollständige Dosis von 35 g innerhalb von 20 Tagen. Bei diesen Probanden traten deutliche Symptome auf, wie Übelkeit, Kopfschmerzen, Schwäche, Brennen und Reizung des Ösophagus und Verdauungsstörungen (Nair 2001).

Bei neun Patienten unter Penicillin-Behandlung verursachte eine Gesamtdosis von 12 000 mg Benzoessäure, verabreicht in acht Dosen verteilt auf fünf bzw. 14 Tage, keine adversen Effekte bezüglich Blutharnstoff-Stickstoff oder Kreatinin-Clearance (WHO 2000).

Natriumbenzoat wird beim Menschen als Therapeutikum bei der Hyperammonämie (angeborene Stoffwechselstörung der Harnstoffsynthese) eingesetzt und führt zum Verbrauch von Ammoniak bei der Neubildung von Glycin, welches als Hippursäure ausgeschieden wird (BUA 1995). Therapeutische Dosen liegen im Bereich von 250 bis 500 mg/kg KG und Tag, und führen nur selten zu klinischen Anzeichen von Toxizität, welche sich meist auf Appetitlosigkeit und Erbrechen beschränken und vor allem nach intravenöser Bolusgabe auftreten (WHO 2000).

Hautreaktionen nach oraler Aufnahme

Im Fall eines Patienten mit langjährig rezidivierenden urtikariellen Hautreaktionen und einer vermuteten außerberuflichen und beruflichen Exposition gegen Benzoessäure führte die orale Provokation mit 500 mg Natriumbenzoat zu einer sehr stark ausgeprägten, von den Autoren als allergischer anaphylaktischer Schock gewerteten Reaktion (Pevny et al. 1981). Trotz der umfangreichen Dokumentation sind die tatsächliche Genese dieser Reaktion sowie die vorherige berufliche Exposition unklar.

Außerdem wurde vor allem bei Personen mit chronischer oder rezidivierender Urtikaria/Prurigo und Verdacht auf Intoleranz von Lebensmittelzusatzstoffen über urtikarielle oder pruriginöse Reaktionen nach oraler Provokation mit Natriumbenzoat berichtet (Asero 2006; Juhlin 1981; Malanin und Kalimo 1989; Michils et al. 1991; Nettis et al. 2004; Supramaniam und Warner 1986). Auch das durch orale Provokation mit Natriumbenzoat induzierte (Wieder-)Auftreten von nasalen Symptomen bei Patienten mit chronischer oder rezidivierender Rhinitis infolge einer entsprechenden Intoleranz (Asero 2001, 2002; Pacor et al. 2004) ist beschrieben.

Schließlich wurde auch über eine „fixe Arzneimittelreaktion“ auf Natriumbenzoat berichtet. Bei einer 64-jährigen Patientin trat einige Tage nach einer Halsinfektion Juckreiz am Ringfinger auf. Zwei Tage später zeigte sich an dem Finger ein infiltriertes Erythem, das nach weiteren vier Tagen zu einer blasigen Reaktion exazerbierte. In den beiden Folgejahren traten wiederholt ähnliche Episoden auf, die die Patientin auf die Einnahme eines Natriumbenzoat-haltigen Sirups zur Behandlung von Atemwegsinfektionen zurückführte. Im Epikutantest reagierte die Patientin nach zwei und vier Tagen einfach positiv auf 5 % Natriumbenzoat in Vaseline. Etwa 15 Stunden nach oraler Provokation mit 750 mg Benzoessäure in 100 ml Wasser bemerkte die Patientin Hautveränderungen am Ringfinger und im Interdigitalbereich. Zwei Tage später hatte sich im ursprünglich betroffenen Hautareal eine Blase gebildet (Vilaplana und Romaguera 2003).

Rezidivierende, Erythema multiforme-ähnliche Symptome der Mundschleimhaut (z. B. Krustenbildung oder Ulcera an Lippen, Zunge oder Mundschleimhaut) und der Haut (papulo-makulöse Veränderungen an Händen und Unterarmen) bei sieben bzw. fünf von sieben Patienten wurden auf eine Unverträglichkeit von Benzoessäure als Lebensmittelzusatzstoff zurückgeführt. Vier der sieben Patienten waren während einer zwischen 6 und 30 Monaten eingehaltenen Benzoessäure- und Benzoat-freien Diät Rezidiv-frei, während bei drei Patienten, die die entsprechende Diät nicht voll-

ständig einhielten, während 12–29 Monaten ein oder zwei Rezidive der Schleimhaut- oder Hautveränderungen auftraten. Alle sieben Patienten reagierten im Epikutantest auf 5 % Benzoesäure in Vaseline (k. A. zum Zeitpunkt der Reaktionen), je drei auch auf Nickel oder Zimt und je einer auf Lokalanästhetika („Cain-Mix“) bzw. Gummi (k. w. A.). Im Zuge der Epikutantestung trat bei einigen ein unterschiedlich stark ausgeprägtes Aufflammen der oralen Symptome auf (k. w. A.). Herpes-simplex-Viren oder ein erhöhter Antikörper-Titer fand sich bei keinem der Patienten und es gab den Autoren zufolge keine Hinweise auf eine mögliche Ursächlichkeit von Arzneimitteln, aktuellen Infektionen oder systemischen Erkrankungen (Lewis et al. 1989).

4.3 Wirkung auf Haut und Schleimhäute

(Nicht-immunologische) Sofortreaktionen

Benzoesäure und ihre Salze können nicht-immunologische erythematöse oder urtikarielle Sofortreaktionen auslösen. Das klinische Bild mit Ödem oder Infiltrat der oberen Dermis ist häufig verbunden mit Juckreiz oder Brennen. Es sind jedoch auch rein erythematöse Reaktionen möglich.

Bei drei Beschäftigten, die mit dem Dispensieren oder Mischen von Natriumbenzoat betraut waren, traten mit einer Latenzzeit von Monaten bis mehreren Jahren, etwa 15 bis 45 Minuten nach jeweiligem Kontakt mit Natriumbenzoat Brennen und Jucken oder erythematöse Hautreaktionen an den Kontaktstellen auf, insbesondere in Phasen stärkeren Schwitzens. Die Hautveränderungen waren innerhalb von 15 bis 30 Minuten bis „einigen Stunden“ nach Ende der Exposition reversibel. Die Beschäftigten wurden epikutan mit 0,5 % Natriumbenzoat in Wasser (offen), 0,5 % Natriumbenzoat in physiologischer Kochsalzlösung (20 Minuten okklusiv) und 10 % Natriumbenzoat in Vaseline (offen) sowie mit 0,25 % Benzoesäure in Wasser (offen) und 5 % Benzoesäure in Vaseline (20 Minuten okklusiv) getestet. Nur einer der drei reagierte auf die okklusive Testung mit 0,5 % Natriumbenzoat, alle drei aber auf beide Benzoesäure-Zubereitungen. Von drei Kontrollpersonen reagierten zwei auf 0,5 % Natriumbenzoat (okklusiv) und ein weiterer auf 10 % Natriumbenzoat sowie alle drei auf 0,25 % Benzoesäure, nicht aber auf 5 % Benzoesäure (Nethercott et al. 1984).

Über nicht-immunologische Sofortreaktionen an der Haut auf Benzoesäure wurde häufiger in Fallbeschreibungen über Patienten mit außerberuflicher Exposition berichtet. Diese Berichte betreffen beispielsweise Patienten mit perioralen urtikariellen Reaktionen oder Cheilitis infolge einer vermutlichen Unverträglichkeit von Natriumbenzoat in Zahnpasta (Aguirre et al. 1993; Munoz et al. 1996) sowie Kinder mit perioralen Sofortreaktionen auf Benzoesäure-haltiges Salat-Dressing (Clemmensen und Hjorth 1982). Zum Teil wurden in den genannten Fällen jedoch auch als positiv gewertete Spätreaktionen im Epikutantest beschrieben.

Urtikarielle Reaktionen auf Benzoesäure traten im 20- oder 30-minütigen Epikutantest auch im Rahmen einer Untersuchung an 14 von 40 getesteten Kindern (Rademaker und Forsyth 1989) sowie bei einigen der hinsichtlich einer Unverträglichkeit von Perubalsam ausführlicher getesteten Patienten auf (Forsbeck und Skog

1977) und waren in zwei Fällen durch die vorherige Gabe eines Antihistaminikums unterdrückbar (Forsbeck und Skog 1977).

Untersuchungen zu urtikariellen Reaktionen an verschiedenen Kollektiven von Freiwilligen oder Patienten sind in Tabelle 2 zusammengefasst.

4.4 Allergene Wirkung

Hautsensibilisierende Wirkung

In der Begründung von 1986 wurde lediglich ein Fallbericht aufgeführt, in dem Benzoessäure als Ursache einer allergischen Reaktion vermutet wurde. Daten aus klinisch-epidemiologischen Studien wurden nicht dargestellt.

Neuere klinische Befunde

Wegen der relativ häufigen unspezifischen urtikariellen Reaktionen auf freie Benzoessäure wird von der Deutschen Kontaktallergie-Gruppe (DKG) eine 5 %ige Zubereitung von Natriumbenzoat in Vaseline zur Testung empfohlen. Der Reaktionsindex (RI)³⁾ von $-0,23$ und die Positivity Ratio (PR)⁴⁾ von etwa 91 bis 92 % (Brasch und Uter 2011; Schnuch et al. 2008, 2011) weisen sie aber dennoch als eher problematisch zu testende Testzubereitung aus.

In einer vergleichenden Auswertung trat bei 441 Patienten mit einer Reaktion auf das in den Kliniken des Informationsverbundes Dermatologischer Kliniken (IVDK) als Irritans-Kontrolle getestete Natriumdodecylsulfat (SLS) mit 0,2 % nur eine geringe Quote fraglich erythematöser Reaktionen auf Natriumbenzoat auf. Bei den 641 Patienten ohne SLS-Reaktion fanden sich keine erythematösen Reaktionen, aber 0,2 % als einfach positiv gewertete Reaktionen (Geier et al. 2003 b).

In den vorliegenden Untersuchungen fanden sich bei Verwendung 5 %iger Testzubereitungen von Benzoessäure oder Natriumbenzoat in Kollektiven von bis zu 79 046 Patienten positive Reaktionen bei zumeist weniger als 1 % der Getesteten.

Eine höhere Quote wurde von Januar bis April 1985 mit etwa 1,3 % in einer niederländischen Untersuchung bei einem Kollektiv von 627 konsekutiv mit 5 % Benzoessäure (in Vaseline) getesteten Patienten beobachtet (De Groot et al. 1986).

Auch auf 5 % Natriumbenzoat fand sich in einer älteren multizentrischen Untersuchung bei 465 Patienten aus 7 französischen Hautkliniken mit 1,9 % eine höhere Reaktionsquote. Benzoessäure führte bei 2,1 % der Getesteten zu einer als positiv bewerteten Reaktion. Eine positive Reaktion trat vor allem bei älteren Patienten auf und war in etwa der Hälfte der Fälle mit einer (chronischen) Beindermatitis assoziiert (Meynadier et al. 1982).

3) Der Reaktionsindex ist definiert als der Quotient: $(a - d - i) / (a + d + i)$; mit: a = Anzahl allergischer Reaktionen, d = Anzahl fraglicher Reaktionen, i = Anzahl irritativer Reaktionen (Brasch und Henseler 1992).

4) Die Positivity Ratio ist definiert als der Prozentsatz einfach positiver Reaktionen an der Gesamtheit der positiven Reaktionen (Geier et al. 2003 a).

Tab. 2 Untersuchungen zu urtikariellen Reaktionen beim Menschen auf Benzoesäure

Untersuchungsmethode, Applikation, Dauer	Kollektiv, Konzentration, Vehikel, applizierte Menge	Ablesung, Bewertungsskala, Resultat	Literatur
Test auf nicht-immunologische Sofortreaktion, okklusiv (doppelblind, 11 mm Finn Chamber® (FC)), 20 Minuten	45 ♂ und 155 ♀, 125 und 500 mM, Vaseline, 20 µl	Ablesung nach 30 Min, Skala für Erythem und Ödem: 0 und 1 (marginales Erythem bzw. Ödem) bis 8 (starkes, streuendes Erythem bzw. starkes Ödem mit Bläschen, ggfs. streuend), 125 mM: Erythem bei 147/200 (mittlerer Score 1,81), Ödem bei 25/200 (0,16); 500 mM: Erythem bei 157/200 (2,12), Ödem bei 36/200 (0,22)	Basketter und Wilhelm 1996
Chamber Scarification Test	5–10 Freiwillige, 7,5 %; 15 % und 30 %, Ethanol	30 %: Schwellenkonzentration für Irritation auf intakter Haut, 15 %: deutliche Irritation mit Erosionen auf skarifizierter Haut, 7,5 %: Schwellenkonzentration für Irritation auf skarifizierter Haut	Frosch und Kligman 1976
Chamber Test, okklusiv, 20 Minuten	85 Freiwillige (36× Atopie, 23× Urticaria, 26× nicht-atopische dermatologische Patienten) und 25 hautgesunde Kontrollpersonen, 5 % Vaseline	Reaktionen bei 10/36 Atopikern, 9/23 Patienten mit Urticaria, 14/26 nicht-atopischen dermatologischen Patienten und 10/25 Kontrollpersonen (insgesamt: 43/110, 39 %)	Lahti 1980
Chamber Test, okklusiv (FC on Scanpor®), 20 Minuten	23 hautgesunde Freiwillige (8 „Stinger“, 15 „Non-Stinger“), 0,5 % und 1 %, Isopropanol/Wasser (1:1), 15 µl	Ablesung nach 10 Minuten, Skala für Erythem: 0 und 1 bis 5 (ausgeprägtes Erythem mit Bläschen oder Blasen), Skala für Ödem: 0 und 1 bis 4 (deutlich erkennbares Ödem), durchschnittlicher Score für Erythem bei „Stingers“ (Stechen/Brennen der Haut bei Testung mit 5 % Milchsäure in Wasser) 1,5 bzw. 2,4 und bei „Non-Stingers“ 0,7 bzw. 0,9 (Ödem: 0,3 bzw. 0,5 und 0 bzw. 0,1)	Lammintausta et al. 1988
Chamber Test, okklusiv, 10 Minuten	12 Freiwillige 0,5 % und 5 %, Isopropanol/Wasser (1:1) bzw. Wasser, 10 µl	Ablesungen nach 5 und 15 Minuten, durchschnittlicher Score für Quaddelbildung 1,3 (0,5 %) bzw. 2,3 (5 %); Score von 0,5 für 5 % Natriumbenzoat in Isopropanol/Wasser (1:1)	Gollhausen und Kligman 1985

Tab.2 (Fortsetzung)

Untersuchungsmethode, Applikation, Dauer	Kollektiv, Konzentration, Vehikel, applizierte Menge	Ablesung, Bewertungsskala, Resultat	Literatur
Chamber Test, okklusiv (AL-test on Scanpor [®] , 1 cm ²), 45 Minuten	7 Patienten (♂ und ♀) mit Birkenpollen-Sensibilisierung, 5 %, Vaseline, 10 µl	bei allen 7 Getesteten Erytheme, bei 1/7 mit Infiltrat	Wallengren und Larsson 2001
Chamber Test, okklusiv (FC on Scanpor [®]), 20 Minuten	86 hautgesunde Freiwillige (♂ und ♀; 44 „Stinger“, 42 „Non-Stinger“), 1 M, Vaseline	Ablesung nach 10 Minuten, Skala für Erythem: 0 und + (marginale Erythem) bis 6+ (intensive, streuendes Erythem), durchschnittlicher Score für Erythem bei „Stingers“ (Stechen/Brennen der Haut bei Testung mit 10 % Milchsäure in Wasser) 3,1 und bei „Non-Stingers“ 2,4	Coverly et al. 1998
Chamber Test, okklusiv (FC on Scanpor [®]), 20 Minuten	41 hautgesunde Freiwillige (♂ und ♀), 0,1 %; 1 %; 5 % und 10 %, Vaseline	Ablesung nach 20 Minuten, 0,1 %: Erythem (flare) bei 14/41, Quaddel bei 0/41; 1 % und 5 %: Erythem bei 26/41, Quaddel bei 2/41; 10 %: Erythem bei 26/41, Quaddel bei 3/41	Clemmensen und Hjorth 1982
Chamber Test, okklusiv (12 mm FC on tape), 20 Minuten	58 gesunde Freiwillige, 1 M, Vaseline, 50 µl	Ablesung nach 10 Minuten und nach 1, 2 sowie 4 Stunden, erythematöse Reaktion bei 39/58	Marriott et al. 2005
Open Application Test, offen	13 gesunde Freiwillige, 4, 8 und 16 mM, Vaseline, 10 µl	Ablesung nach 40 Minuten, 16 mM: Erythem bei 12/13 (Wange), 6/13 (Stirn, Nacken, oberer Rücken)	Larmi et al. 1989 a
Open Application Test, offen	12 gesunde Freiwillige, 0, 15, 31, 62, 125 und 250 mM, Isopropylalkohol/Propylen glykol (75/25)	Ablesung nach 40 Minuten, Skala für Erythem und Ödem: 0 und 1+ bis 3+, (gering ausgeprägte) Reaktionen bei allen Getesteten ab 62 mM (k. w. A.); vorangehendes, 2x tägliches Waschen des Testareals verstärkt die Reaktionsausprägung auf alle Konzentrationen	Lahti et al. 1995

Tab. 2 (Fortsetzung)

Untersuchungsmethode, Applikation, Dauer	Kollektiv, Konzentration, Vehikel, applizierte Menge	Ablesung, Bewertungsskala, Resultat	Literatur
Open Application Test, offen	5 ♂ und 11 ♀ gesunde Freiwillige, 125 und 500 mM, unterschiedliche Vehikel, 10 µl	Ablesung nach 20, 40 und 60 Minuten, Skala für Erythem und Ödem: 0 und 1+ bis 3+, Zusatz von Wasser zu Propylenglykol (PG)-, Ethanol- oder Isoprop- anol-Vehikeln sowie Zusatz von 25 % PG zu Ethanol- oder Isopropa- nol-Vehikeln verstärkt die Reaktionen; Zusatz von 50 % PG verringert das Ausmaß der Reaktionen	Lahti et al. 1993
Open Application Test, offen	12 gesunde Freiwillige, 31, 62, 125, 250 od. 500 mM, Vaseline, 10 µl	Ablesung nach 40 Minuten, gering ausgeprägte Reaktionen ab 31 mM; 2-tägige, dreimal tägliche Vorbehandlung mit 20 % Sorbitansesquioleat in Vaseline verstärkt die Reaktionen auf 125 und 250 mM, nicht aber auf 31, 62 und 500 mM	Larmi et al. 1988
Open Application Test, offen	15 gesunde Freiwillige, 31, 62, 125 od. 250 mM, Isopropanol, 10 µl	Ablesungen nach 20, 40 und 60 Minuten, (Laser Doppler Flow (LDF), Chromameter), gering ausgeprägte Reaktionen ab 31 mM; Zusatz von 1 %, 2 %, 5 %, 10 % oder 25 % PG verstärkt die Reaktionen auf 125 und 250 mM, nicht aber auf 31 und 62 mM	Lahti und Noponen 1998
Open Application Test, offen	10–12 Freiwillige, 31, 62, 125 und 250 mM, Vaseline, 10 µl	Ablesung nach 40 Minuten, (LDF), IR-Bestrahlung verstärkt, UVA- und UVB-Bestrahlung verringern das Ausmaß der artikariellen Reaktionen auf Benzoesäure	Larmi 1989; Larmi et al. 1989 b
Open Application Test, offen	insgesamt 17 dermatologi- sche Patienten od. gesunde Freiwillige, 50, 100, 250 od. 500 mM, Ethanol, 10 µl	Ablesungen nach 10, 20, 30, 40, 50, 60, 75, 90, 105 und 120 Minuten, 0 (keine Reaktion oder nur schwach erkennbares Erythem/Ödem) und + (mäßig bis stark ausgeprägtes Erythem/Ödem), Reaktion bei 0/17, 2/17, 4/17 bzw. 14/17 Freiwilligen; Acetylsalicylsäure mindert die Reaktionen deutlich	Lahti et al. 1987

Tab.2 (Fortsetzung)

Untersuchungsmethode, Applikation, Dauer	Kollektiv, Konzentration, Vehikel, applizierte Menge	Ablesung, Bewertungsskala, Resultat	Literatur
Open Application Test, offen	insgesamt 20 dermatologische Patienten od. gesunde Freiwillige, 50, 100, 250 od. 500 mM, Vaseline, 10 µl	Ablesungen nach 20, 40 und 60 Minuten, 0 (keine Reaktion oder nur schwach erkennbares Erythem/Ödem) und + (mäßig bis stark ausgeprägtes Erythem/Ödem), Reaktion bei 8/20, 12/20, 16/20 bzw. 19/20 Freiwilligen; keine Beeinflussung durch vorherige (4 Stunden) perorale Gabe von 120 mg Terfinadin	Lahti 1987
Open Application Test, offen, 15 Minuten	11 gesunde Freiwillige und 3 Patienten mit Hauterkrankungen, 50, 100, 250, 500 und 1000 mM, unterschiedliche Vehikel, 10 µl	ausgeprägtere Reaktionen bei Verwendung von Unguentum, Vaseline oder Isopropanol/Wasser (1:2) als bei Verwendung von Ethanol oder einem „synthetischen Lanolin-Ersatz“	Ylipieti und Lahti 1989

FC: Finn Chamber®; LDF: Laser Doppler Flow; PG: Propylenglycol

Im Rahmen einer Untersuchung zur Häufigkeit einer Kosmetika-Unverträglichkeit wurden die anamnestischen Daten und Epikutantest-Befunde von 5202 Patienten ausgewertet. Bei 2567 Patienten wurde eine allergische und bei 1529 eine irritative Kontaktdermatitis diagnostiziert. Eine Unverträglichkeit von Kosmetika, zum Teil assoziiert mit anderen Ursachen der Hauterscheinungen und unabhängig von der Genese, fand sich bei 606 Patienten (davon bei 420 mit allergischer Genese), bei 309 von ihnen (davon 156 mit allergischer Genese) allein durch Kosmetika verursacht. In der Gruppe mit allergischer Reaktion auf Kosmetika (wahrscheinlich 63 Patienten) fand sich bei einem der Getesteten eine positive Reaktion auf Benzoesäure und in der Gesamtheit der getesteten Patienten waren dies 34 Reaktionen, wobei die Zahl der tatsächlich getesteten Patienten unklar ist (Broeckx et al. 1987).

In einer belgischen Untersuchung traten bei den 8521 in den Jahren 1985 bis 1997 getesteten Patienten 25 (0,3 %) positive Reaktionen auf (Goossens et al. 1998).

Die Auswertung der mit den Komponenten einer vorläufigen Konservierungsmittelreihe erhaltenen Epikutantest-Befunde von 2059 Patienten aus 8 Kliniken des IVDK ergab unter den 2045 auch mit Natriumbenzoat getesteten Patienten 4 einfach und eine zweifach positive Reaktion sowie 22 fragliche Reaktionen (insgesamt 0,25 % bzw. 1,1 %). Der Reaktionsindex für die Testzubereitung betrug in dieser Untersuchung lediglich -0,66 (Brasch et al. 1993).

Im Folgezeitraum von 1990 bis 1994 wurden in den damals 24 Kliniken des IVDK 11 349 von 11 485 Patienten im Rahmen der Testung mit einer Konservierungsmittelreihe auch mit Natriumbenzoat getestet, wobei 45 positive Reaktionen und 127 fragliche oder irritative Reaktionen auftraten. Der Reaktionsindex betrug -0,5 (Schnuch et al. 1998).

Zwischen 1995 und 2008 wurden in 34 Kliniken des IVDK 34 631 Patienten epikutan mit 11 Konservierungsstoffen, darunter auch Natriumbenzoat, getestet. Eine positive Reaktion trat bei 0,8 % und eine fragliche, follikuläre oder irritative Reaktion bei etwa 1,3 % der Patienten auf. Der Reaktionsindex (RI) und die Positivity Ratio (PR) betrugen -0,23 bzw. 91,7 % (Brasch und Uter 2011).

Die spätere Auswertung der in den Jahren von 1996 bis 2009 in 51 Kliniken des IVDK erfassten Epikutantest-Befunde zeigte bei den 79 046 getesteten Patienten in 512 Fällen (0,65 %) eine positive Reaktion. Der Reaktionsindex betrug -0,23 und die Positivity Ratio 92,2 %. Die Reaktionsquote war bei Männern mit 0,89 % etwas höher als bei Frauen (0,58 %, beides Alters- und Geschlechts-standardisiert). Die Autoren führen den Unterschied auf die bei Männern höhere Sensitivität gegen Irritantien zurück (Schnuch et al. 2011).

Im Zeitraum von 1995 bis 1998 wurden im Dermatologischen Zentrum Buxtehude 2273 Patienten mit der in der Standardreihe enthaltenen Perubalsam-Testzubereitung getestet. Hierauf zeigten sich 445 positive Reaktionen. Von diesen Patienten wurden anschließend 102 mit 20 potenziellen Inhaltsstoffen von Perubalsam getestet, darunter auch mit 5 % Benzoesäure in Vaseline, worauf 20 positive Reaktionen (14× 1+, 5× 2+, 1× 3+) auftraten. Angaben zu irritativen Reaktionen fehlen (Hausen 2001).

In einer multizentrischen Untersuchung der Epikutantest-Befunde aus 7 Kliniken der Finnish Contact Dermatitis Group wurden die zwischen 1994 und 1998 erhobenen Epikutantest-Befunde mit einer erweiterten Dentalmaterial-Reihe ausgewertet.

In einer der Kliniken wurde auch Benzoessäure getestet (keine Angabe zur Testkonzentration) und führte bei 18 und 21 von 417 Getesteten zu einer als allergisch bzw. irritativ gewerteten Reaktion. Die Autoren folgern aber, dass bei den als allergisch eingestuften Reaktionen tatsächlich eine irritative Genese vorgelegen haben könnte (Kanerva et al. 2001).

Die Epikutantestung mit 5 % Benzoessäure in Vaseline führte bei 3 von 285 Patienten mit Verdacht auf allergisch bedingte periorale Symptome zu einer positiven Reaktion, die von den Autoren als relevant erachtet wurde. Auf 5 % Natriumbenzoat wurden jedoch keine Reaktionen beobachtet (Torgerson et al. 2007).

Eine Auswertung der in den Kliniken des IVDK zwischen 1995 und 1999 dokumentierten Epikutantest-Befunde bei 5226 Patienten mit und 14 818 Patienten ohne atopische Diathese zeigte in diesen Kollektiven mit Reaktionsquoten von 0,36 % bzw. 0,25 % nur geringe Unterschiede. Patienten mit Ulcus cruris oder chronischem Beineczem waren in dieser Untersuchung nicht eingeschlossen (Jappe et al. 2003).

Ein 48-stündiger Epikutantest mit 5 % Natriumbenzoat führte bei 45 Bäckern mit anamnestischen Hinweisen auf ein Handekzem weder zu Spät- noch zu Sofortreaktionen und nur in einem Fall zu einem gering ausgeprägten Erythem (Meding et al. 2003).

Experimentelle Befunde

Ein Maximierungstest mit fünf im Abstand von jeweils einem Tag (während dieser Zeit jeweils okklusive Applikation von 2,5 % Natriumdodecylsulfat) durchgeführten, 48-stündigen Applikationen einer 2 %igen Benzoessäure-Zubereitung in Vaseline führte bei keinem der 25 Probanden zu einer Sensibilisierung. Die Auslösebehandlung erfolgte mit der gleichen Testzubereitung nach einer 10-tägigen Behandlungspause und einer einstündigen Vorbehandlung mit 5 bis 10 % Natriumdodecylsulfat (Nair 2001; Opdyke 1979).

Zehn Probanden, die in einem Maximierungstest mit 5 % und 10 % Dibenzoylperoxid zur Induktion vorbehandelt wurden und bei der Auslösung auf diese Zubereitungen reagierten, zeigten keine Reaktion auf eine Auslösebehandlung mit 5 % Benzoessäure in Vaseline (Leyden und Kligman 1977).

4.5 Reproduktionstoxizität

Hierzu liegen keine Daten vor.

4.6 Genotoxizität

Hierzu liegen keine Daten vor.

4.7 Kanzerogenität

Hierzu liegen keine Daten vor.

5 Tierexperimentelle Befunde und In-vitro-Untersuchungen

5.1 Akute Toxizität

5.1.1 Inhalative Aufnahme

Nach einstündiger inhalativer Exposition von Ratten gegen Benzoesäure (als Dampf) wurde eine LC_{50} von mehr als 26 mg/m³ berichtet, Mortalität trat nicht auf (BUA 1995).

Bei Ratten wurde eine LC_{50} von Benzoesäure (als Staub) nach vierstündiger Exposition von mehr als 12 200 mg/m³ festgestellt, Mortalität trat nicht auf (OECD 2004).

Die sechsstündige inhalative Exposition von Sprague-Dawley-Ratten gegen Benzoesäure (als Staub) ergab eine LC_{50} von mehr als 1200 mg/m³ (ECHA 2011).

5.1.2 Orale Aufnahme

Mit Benzoesäure wird bei Ratten eine orale LD_{50} von 2565 mg/kg KG und bei Mäusen von 2250 mg/kg KG angegeben (OECD 2004).

In einer weiteren Studie ergab sich nach oraler Verabreichung bei männlichen und weiblichen Sprague-Dawley-Ratten eine LD_{50} von 3790 mg Benzoesäure/kg KG. Symptome waren Erschöpfung und Krämpfe (Monsanto 1981 c).

Bei Katzen wurden 630 mg Benzoesäure/kg KG als niedrigste letale Dosis bestimmt, es traten neurotoxische Wirkungen (Aggressivität, Hyperästhesie), verringerte Körpertemperatur und Veränderungen von Lunge, Leber und Nieren auf (ECHA 2011).

Mit Natriumbenzoat lag die orale LD_{50} für Ratten bei 3140 mg/kg KG und in einer weiteren Studie bei 4070 mg/kg KG (OECD 2004).

Die LD_{50} von Kaliumbenzoat war bei Ratten, Mäusen und Meerschweinchen nach oraler Aufnahme größer als 10 000 mg/kg KG (OECD 2004).

5.1.3 Dermale Aufnahme

Bei Kaninchen wurde für Benzoesäure eine dermale LD_{50} von mehr als 2000 mg/kg KG berichtet (OECD 2004).

Bei Gruppen von je fünf männlichen und weiblichen Neuseeländer-Kaninchen führte die 24-stündige okklusive Verabreichung von 5000 mg Benzoesäure/kg KG (angefeuchtet mit Kochsalzlösung) auf die abradierte Rückenhaut weder zu Mortalität noch zu klinischen Auffälligkeiten. Die LD_{50} liegt somit höher als 5000 mg/kg KG. Bei der Nekropsie wurden bei einem Tier blasse Nieren festgestellt (Monsanto 1981 d).

In einer weiteren Studie wurde bei Kaninchen eine dermale LD_{50} von mehr als 10 000 mg Benzoesäure/kg KG ermittelt (ECHA 2011).

5.1.4 Intraperitoneale und intravenöse Aufnahme

Nach intraperitonealer Gabe lag die LD_{50} von Benzoessäure bei Mäusen bei 1460 mg/kg KG und nach intravenöser Verabreichung von Natriumbenzoat bei Ratten bei 1714 mg/kg KG (ECHA 2011).

5.2 Subakute, subchronische und chronische Toxizität

5.2.1 Inhalative Aufnahme

In einer 4-Wochen-Inhalationsstudie an Ratten (siehe Tabelle 3) verursachte Benzoessäure ab der niedrigsten untersuchten Konzentration von 25 mg/m³ interstitielle Entzündung und Fibrose der Lunge mit konzentrationsabhängig zunehmender Intensität (siehe Tabelle 4). Ab 250 mg/m³ wurde roter Nasenausfluss bei den exponierten Tieren beobachtet, diese Konzentration war die systemische NOAEC (Velsicol Chemical Company 1981).

In einer nach OECD-Prüfrichtlinie 412 durchgeführten Studie wurde eine NOAEC bei 12,6 mg Benzoessäure/m³ erhalten. Am Atemtrakt waren bei dieser Konzentration nur in geringen, statistisch nicht signifikanten Inzidenzen und in nur minimalen bis leichten Schweregraden Befunde aufgetreten (siehe Tabelle 3) (The Personal Care Products Council 2010). Bei dieser Studie fehlen genaue Angaben zur Aerosolcharakterisierung. Dennoch kann sie zur Bewertung herangezogen werden, da die Ergebnisse in der Zusammenschau beider Inhalationsstudien plausibel erscheinen.

Aus den beiden 4-Wochen-Inhalationsstudien mit Benzoessäure an Ratten ergibt sich eine NOAEC für lokale Wirkungen von 12,6 mg/m³. Ab 25 mg/m³ treten an der Lunge interstitielle Entzündung und Fibrose auf. Die systemische NOAEC liegt bei 250 mg/m³.

5.2.2 Orale Aufnahme

Die Studien zur Toxizität von Benzoessäure und Natriumbenzoat nach oraler Verabreichung sind in Tabelle 5 dargestellt. Viele der älteren Studien besitzen nur einen eingeschränkten Untersuchungs- und Dokumentationsumfang und können daher nur begrenzt zur Bewertung herangezogen werden.

Bei Ratten liegen die NOAEL nach oraler Verabreichung von Benzoessäure oder Natriumbenzoat für die Dauer von 10 Tagen bis zu 2 Jahren im Bereich von etwa 500 bis 1000 mg/kg KG und Tag. Bei den LOAEL traten u. a. verminderte Körpergewichtszunahme, erhöhtes Leber- und Nierengewicht, Ataxie, Tremor, Erregung, aggressives Verhalten, Krämpfe und Mortalität auf. Im Gehirn, der Leber und den Nieren wurden histopathologische Veränderungen diagnostiziert (siehe Tabelle 5).

Aus einer Studie liegen Hinweise auf erhöhte Ängstlichkeit und motorische Beeinträchtigung bei Ratten nach vierwöchiger oraler Gabe von 200 mg Natriumbenzoat/kg KG und Tag vor (Noorafshan et al. 2014). Da nur eine Dosis untersucht wurde, kann nicht beurteilt werden, ob es sich um tatsächliche Substanzeffekte handelt.

Tab.3 Untersuchungen zur Toxizität nach wiederholter inhalativer Verabreichung von Benzoesäure

Spezies, Stamm, Anzahl pro Gruppe	Exposition	Befunde	Literatur
Ratte, CD (SD), 10 ♂, 10 ♀	4 Wochen, 0, 25, 250, 1200 mg/m ³ , 6 h/Tag; 5 Tage/Wo., Ganzkörper, MMAD: 4,4–5,2 µm, GSD: 2,1–3,1, Reinheit: technisch (k. w. A.)	ab 25 mg/m³: Lunge: interstitielle Entzündung (multifokale bis generalisierte Infiltrationen von Entzündungszellen), interstitielle Fibrose; Inzidenzen und Schweregrade mit konzentrationsabhängiger Zunahme (siehe Tabelle 4); nur Lunge histopathologisch untersucht; ab 250 mg/m³: roter Nasenausfluss (ab Tag 4); ♀: abs. Nierengew. ↓ (8 %); nur Lunge histopathologisch untersucht; 1200 mg/m³: Mortalität (1/10 ♂, 1/10 ♀); KG-Zunahme ↓; Thrombozytenzahl ↓; ♂: abs. u. rel. ^{a)} Lebergew. ↓; ♀: abs. u. rel. ^{a)} Nierengew. ↓, abs. u. rel. ^{a)} Trachea/Lungengew. ↓;	Velsicol Chemical Company 1981
Ratte, CD (SD), 10 ♂, 10 ♀	4 Wochen, 0; 2,5; 12,6 mg/m ³ , 6 h/Tag; 5 Tage/Wo., nur über die Nase, MMAD: 2,1–2,5 µm, GSD: 3,03–3,66, Reinheit: 99,6 %	2,5 mg/m³: keine Befunde, keine histopathologische Untersuchung; 12,6 mg/m³: statistische NOAEC; Larynx: Infiltration mononukleäre Zellen (1/10 ♂, leicht; Kontrolle 0/10); Lymphknoten, mandibular: Hyperplasie (2/10 ♂, minimal; Kontrolle 0/10); Lunge: Infiltration mononukleäre Zellen (2/10 ♂, 2/10 ♀, minimal; Kontrolle 0/10), eosinophile (2/10 ♀, leicht; Kontrolle 0/10); Pharynx: Infiltration mononukleäre Zellen (1/10 ♂, minimal; Kontrolle 0/10); Untersuchungsumfang: klinische Beobachtung, Körpergewichte, Hämatologie, klinische Chemie, Organengewichte (Herz, Niere, Lunge/Trachea, Gehirn, Leber, Milz), makroskopische und histopathologische Untersuchungen (Nebennieren, Nasenmuschel, Gehirn, Pankreas, Colon, Hypophyse, Ösophagus, Prostata/Uterus, Augen mit Sehnerv, Unterkieferspeicheldrüse, Hoden, Ovarien, Jejunum, Harnblase, Drüsen, Milz, Herz, Sternum, Nieren, Magen, Leber, Thymus, Lunge, Schilddrüse, bronchiale Lymphknoten, Harnblase, Brustdrüse)	The Personal Care Products Council 2010

^{a)} Organgewicht relativ zum Gehirngewicht; GSD: geometrische Standardabweichung; MMAD: massenmedianer aerodynamischer Durchmesser

Tab. 4 Histopathologische Befunde an der Lunge nach vierwöchiger Exposition von Ratten gegen Benzoessäure (Velsicol Chemical Company 1981)

Konzentration (mg/m ³)	0		25		250		1200	
untersuchte Tiere	10 ♂	10 ♀	10 ♂	10 ♀	10 ♂	10 ♀	10 ♂	10 ♀
interstitielle Infiltration von Entzündungszellen								
fokal								
sehr gering	5	8		1				
gering	3			1				
multifokal								
sehr gering	1	2	1	1				
gering	1		6	7	6	5	2	1
generalisiert								
sehr gering			1			1		2
gering			2		4	4	8	7
interstitielle Fibrose								
fokal								
sehr gering	1	1						
gering					1	2	1	2
multifokal								
sehr gering		1	1					
gering			4	5	2	3	1	
generalisiert								
sehr gering								
gering					2	1	3	1

Tab. 5 Wirkung von Benzoesäure/Natriumbenzoat nach wiederholter oraler Verabreichung

Spezies, Stamm, Anzahl pro Gruppe	Exposition	Befunde	Literatur
Ratte, Wistar, 5–15 ♂	1–5 Tage, 0, 30 000 mg Benzoesäure /kg Futter (ca. 0, 3600 mg/kg KG u. Tag ^{a)}), Nachbeobachtung 19–30 Tage bei 15 Tieren	ca. 3600 mg/kg KG: ab 4. Tag: Ataxie, Tremor; Erregung, aggressives Verhalten, Krämpfe; Mortalität ca. 50 % nach 5 Tagen; Darm: Hämorrhagien; Gehirn: Nekrose des piriformen Cortex u. des Stratum granulosum der Fascia dentata; keine behandlungsbedingten histologischen Veränderungen von Herz, Leber, Nieren	Kreis et al. 1967
Ratte, F344, 6 ♂, 6 ♀	10 Tage, 0, 18 100, 20 900, 24 000 mg Natriumbenzoat /kg Futter (ca. 0, 2170, 2500, 2880 mg/kg KG u. Tag ^{a)})	ca. 2170 mg/kg KG: ♀: Serum: Cholesterin ↓; ca. 2500 mg/kg KG: ♂: rel. Lebergew. ↑, Serum: Albumin, Gesamtprotein u. Albumin/Globulin-Verh. ↑; ca. 2880 mg/kg KG: KG ↓; rel. Lebergew. ↑; rel. Nierengew. ↑; Serum: Albumin ↑; ♂: Krämpfe u. Mortalität (1/6), abs. Milz- u. Thymusgew. ↓, Serum: Gesamtprotein u. Albumin/Globulin-Verh. ↑, Cholesterin ↓, GGT ↑; Leber: eosinophile Foci u. vergrößerte Hepatozyten mit glasigem Zytoplasma; ♀: abs. u. rel. Thymusgew. ↓; Serum: Cholinesterase ↓	Fujitani 1993
Ratte, k. A., 28	3 Wochen, 0, 50 000 mg Natriumbenzoat /kg Futter (ca. 0, 6000 mg/kg KG u. Tag ^{a)})	ca. 6000 mg/kg KG: Mortalität (19/28 innerhalb 2 Wochen; restliche 9/28 in 3. Woche), Futteraufnahme ↓, Diarrhö, Blutungen im Darm u. Blutkrusten an der Nase	Kieckebusch und Lang 1960
Ratte, Sherman, 6 ♂, 6 ♀	28 Tage, 0, 20 000, 50 000 mg Natriumbenzoat /kg Futter (♂: 0, 2357, 5686; ♀: 0, 2396, 7780 mg/kg KG u. Tag)	2357 mg/kg KG: ♂: KG ↓; 5686/7780 mg/kg KG: Mortalität 100 % nach 13 Tagen	Fanelli und Halliday 1963
Ratte, Sherman, 5 ♂, 5 ♀	30 Tage, 0, 16 bis 1090 mg Natriumbenzoat /kg KG u. Tag, im Futter	ca. 1090 mg/kg KG: NOAEL (KG, Futteraufnahme, Überleben, Darm, Nieren, Nebennieren, Leber, Milz); Studie von 1948	ECHA 2011; Nair 2001

Tab.5 (Fortsetzung)

Spezies, Stamm, Anzahl pro Gruppe	Exposition	Befunde	Literatur
Ratte, Sprague Dawley, 10 ♂	4 Wochen, 0, 200 mg Natriumbenzoat /kg KG u. Tag, Schlundsonde	200 mg/kg KG: Elevated plus maze: Zeit in offenen Bereichen ↓, Betreten der offenen Bereiche ↓; Rotarod: Zeit bis zum Herunterfallen ↓; die Autoren sehen die Effekte als Hinweise auf erhöhte Ängstlichkeit und auf motorische Beeinträchtigung; nur Verhaltenstests (Elevated plus maze, Rotarod)	Noorafshan et al. 2014
Ratte, k.A., 8 ♂	4–5 Wochen, 0, 10 000, 30 000 mg Natriumbenzoat / kg Futter (ca. 0, 1200, 3600 mg/kg KG u. Tag ^{a)})	ca. 1200 mg/kg KG: NOAEL (nur klinische Beobachtungen u. KG); ca. 3600 mg/kg KG: Reizbarkeit, Aggressivität, unkoordinierte Bewegungen, Krämpfe, KG ↓, Mortalität (2/8); nur klinische Beobachtungen u. KG, Studie von 1942	ECHA 2011
Ratte, Wistar, 5–10 ♂	7, 14 od. 35 Tage, 0, 11 000 mg Benzoessäure /kg Futter (ca. 0, 1320 mg/kg KG u. Tag ^{a)})	ca. 1320 mg/kg KG: KG-Zunahme ↓ (nach 35 Tagen); keine Anzeichen von Neurotoxizität u. keine pathologischen Veränderungen im Gehirn	Kreis et al. 1967
Ratte, k.A., 10–30 ♂	35 Tage, 0, 15 000, 20 000, 25 000, 30 000, 32 500, 35 000, 37 500 mg Natrium- benzoat /kg Futter (ca. 0, 1350, 1800, 2250, 2700, 2925, 3150, 3375 mg/kg KG u. Tag ^{b)})	ca. 1350 mg/kg KG: NOAEL; ab ca. 1800 mg/kg KG: KG ↓; ab ca. 2250 mg/kg KG: Mortalität, Tremor, Krämpfe, Unruhe; nur klinische Beobachtungen u. KG, Studie von 1929	ECHA 2011

Tab. 5 (Fortsetzung)

Spezies, Stamm, Anzahl pro Gruppe	Exposition	Befunde	Literatur
Ratte, F344, 10 ♂, 10 ♀	6 Wochen, 0, 5000, 10 000, 20 000, 40 000, 80 000 mg Natriumbenzoat /kg Futter (ca. 0, 450, 900, 1800, 3600, 7200 mg/kg KG u. Tag ^{b)})	ca. 450 mg/kg KG: Mortalität (3/10 ♂, 0/10 ♀), Ursache Pneumonie mit Abszess, evtl. infektionsbedingt; ca. 900 mg/kg KG: Mortalität (2/10 ♂, 0/10 ♀), Ursache Pneumonie mit Abszess, evtl. infektionsbedingt; ca. 1800 mg/kg KG: Mortalität (1/10 ♂, 0/10 ♀), Ursache Pneumonie mit Abszess, evtl. infektionsbedingt; ca. 3600 mg/kg KG: KG ↓; Mortalität (9/10 ♂, 10/10 ♀), Milz: Atrophie; Lymphknoten: Atrophie; ca. 7200 mg/kg KG: KG ↓; Mortalität (20/20); Milz: Atrophie; Lymphknoten: Atrophie; Untersuchungsumfang: Überlebensrate, Wachstum, Futteraufnahme, klinische Beobachtungen, morphologische und mikroskopische Untersuchungen	Sodemoto und Enomoto 1980
Ratte, Sherman, 5 ♂, 5 ♀	90 Tage, 0, 10 000, 20 000, 40 000, 80 000 mg Natriumbenzoat /kg Futter (0, 640, 1320, 2620, 6290 mg/kg KG u. Tag)	2620 mg/kg KG: NOAEL; 6290 mg/kg KG: rel. Lebergew. ↑, rel. Nierengew. ↑, KG-Zunahme ↓, Mortalität (4/8), pathologische Nieren- u. Leberläsionen; eingeschränkter Untersuchungs- und Dokumentationsumfang	Deuel et al. 1954
Ratte, k. A., 20 ♂, 20 ♀	16 Wochen, 0, 5000, 10 000 mg Benzoesäure /kg Futter (ca. 0, 450, 900 mg/kg KG u. Tag ^{b)})	ca. 900 mg/kg KG: NOAEL (KG, Futterverwertung, Organgewichte, Überleben, Histologie); eingeschränkter Untersuchungs- und Dokumentationsumfang	Kieckebusch und Lang 1960
Ratte, Sprague Dawley, 20 ♂, 20 ♀	1 Jahr, 0, 5000, 20 000 mg Benzoesäure /kg Futter (ca. 0, 250, 1000 mg/kg KG u. Tag ^{c)})	ca. 250 mg/kg KG: NOAEL; ca. 1000 mg/kg KG: KG-Zunahme ↓; Studie nur unzureichend beschrieben, japanisches Original von 1978 nicht erhältlich	Nair 2001

Tab.5 (Fortsetzung)

Spezies, Stamm, Anzahl pro Gruppe	Exposition	Befunde	Literatur
Ratte, k. A.	3. 8 od. 18 Monate, 0, 40, 80 mg Benzoessäure /kg KG u. Tag, im Futter	80 mg/kg KG: KG und Überleben unbeeinflusst, keine Veränderungen parenchymaler Organe, Toleranz gegen letale Dosierungen von Benzoessäure erhöht; Studie nur unzureichend beschrieben, russisches Original von 1965	Nair 2001
Ratte, Wistar, 30 ♂, 20 ♀; Kontrolle: 13 ♂, 12 ♀	18 Monate, 0 bis 15 000 mg Benzoessäure /kg Futter (ca. 0 bis 750 mg/kg KG u. Tag ^{d)})	ca. 750 mg/kg KG: Mortalität ↑ (30 %, Kontrolle: 12 %), KG u. KG-Zunahme ↓, Futteraufnahme ↓, keine Verhaltensänderungen; eingeschränkter Untersuchungs- und Dokumentationsumfang	Marquardt 1960
Ratte, Wistar, 10 ♂, 10 ♀	18 Monate, 0, 40 mg Benzoessäure /kg KG u. Tag, im Futter, gefolgt von 13-tägiger Schlundsondengabe bei Futterentzug	40 mg/kg KG: ♂: Futter- u. Wasseraufnahme ↓; eingeschränkter Untersuchungs- und Dokumentationsumfang; Studiendesign invalide	Shtenberg und Ignatev 1970
Ratte, F344, 50 ♂, 52 ♀, Kontrolle: 25 ♂, 43 ♀	18–24 Monate, 0, 10 000, 20 000 mg Natriumbenzoat /kg Futter (ca. 0, 500, 1000 mg/kg KG u. Tag ^{d)} ; Zwischenzüchtung einiger Tiere (k. w. A.) nach halber Versuchszeit	ca. 1000 mg/kg KG: NOAEL (siehe auch Abschnitt 5.7.2); Mortalität nach 16 Monaten ↑ in allen Gruppen wg. Infektion (Mykoplasmen und Sialodacryoadenitis-Virus); Untersuchungsumfang: KG, Futteraufnahme, klinische Beobachtungen, morphologische und histologische Untersuchungen aller Tiere u. verschiedener (k. w. A.) Organe; Studie wegen aufgetretener Infektion und eingeschränktem Umfang der Dokumentation nur begrenzt zur Bewertung geeignet	Sodemoto und Enomoto 1980
Maus, B6C3F ₁ , 5 ♂, 4–5 ♀	10 Tage, 0, 20 800, 25 000, 30 000 mg Natriumbenzoat /kg Futter (ca. 0, 4160, 5000, 6000 mg/kg KG u. Tag ^{d)})	ca. 4160 mg/kg KG: NOAEL; ca. 5000 mg/kg KG: ♂: Serum: Cholinesterase ↑; ♀: Serum: GGT ↑; ca. 6000 mg/kg KG: Reizbarkeit, Krämpfe (1/5 ♂, 2/5 ♀), abs. u. rel. Lebergew. ↑; ♂: Serum: Cholinesterase, Cholesterin u. Phospholipide ↑, Hepatozyten: Vergrößerung, Nekrose, Vakuolisierung (5/5); ♀: Mortalität (2/5), rel. Nierengew. ↑	Fujitani 1993

Tab.5 (Fortsetzung)

Spezies, Stamm, Anzahl pro Gruppe	Exposition	Befunde	Literatur
Maus, Bulb/C, 3 ♂	10 Tage, 0, 25, 30, 40, 50 g Natriumbenzoat /l Trinkwasser (ca. 0, 4500, 5400, 7200, 9000 mg/kg KG u. Tag ^{e)})	ca. 4500 mg/kg KG: KG unverändert; Leber: keine degenerativen Veränderungen; ab ca. 5400 mg/kg KG: KG sign. ↓; Leber: nekrotische u. zirrhotische Veränderungen; bis 7200 mg/kg KG: Leber: Gew. u. Aktivitäten von Katalase, SOD u. GPX unverändert; ca. 9000 mg/kg KG: Mortalität 100 % (8. Tag); nur Leber untersucht	Kaboglu und Aktac 2002
Maus, Bulb/C, 3 ♂	10 Tage, 0, 100, 200 mg Benzoesäure /l Trinkwasser (ca. 0, 18, 36 mg/kg KG u. Tag ^{e)})	ab ca. 18 mg/kg KG: Leber: Uricase-Aktivität ↑, vergrößerte Hepatozyten mit eosinophilem Zytoplasma, gelegentliche Einzelzell-Nekrosen und Vakuolisierung, Chromatin im Zellkern ↓, Kollagenfasern ↑; nur Leber untersucht	Aktac et al. 2003
Maus, Swiss, 4 ♂, 4 ♀	35 Tage, 0, 5000, 10 000, 20 000, 40 000, 80 000 mg Natriumbenzoat /l Trinkwasser (ca. 750, 1500, 3000, 6000, 12 000 mg/kg KG u. Tag ^{e)}), Reinheit: 99 %	ca. 3000 mg/kg KG: NOAEL; ca. 6000 mg/kg KG: KG ↓, Mortalität (6/8); ca. 12 000 mg/kg KG: Mortalität (8/8 innerhalb 3 Wochen); Untersuchungsumfang: Überlebensrate, KG, Futteraufnahme, histologische Veränderungen	Toth 1984
Maus, k.A., 50 ♂, 50 ♀	3 Monate, 0, 80 mg Benzoesäure /kg KG u. Tag, Schlundsonde, gefolgt von 5-tägiger Schlundsondengabe unter Futterentzug	80 mg/kg KG: KG-Zunahme ↓; Untersuchungsumfang: klinische Beobachtungen, Futteraufnahme, KG-Zunahme; eingeschränkter Untersuchungsumfang, Mängel in Dokumentation	Shtenberg und Ignatev 1970
Maus, k.A., 50 ♂, 50 ♀	17 Monate, 0, 40 mg Benzoesäure /kg KG u. Tag, im Futter, gefolgt von 5-tägiger Schlundsondengabe unter Futterentzug	40 mg/kg KG: Mortalität nach Futterentzug ↑; eingeschränkter Untersuchungsumfang, Mängel in Dokumentation; Studiendesign invalide	Shtenberg und Ignatev 1970

Tab. 5 (Fortsetzung)

Spezies, Stamm, Anzahl pro Gruppe	Exposition	Befunde	Literatur
Maus, k. A.	3, 8 od. 18 Monate, 0, 40, 80 mg Benzoessäure /kg KG u. Tag, im Futter	ab 40 mg/kg KG: KG ↓, Mortalität ↑, Lebergew. ↑, Milz, Ovarien, Lunge vergrößert; Studie nur unzureichend beschrieben, russisches Original von 1965	Nair 2001
Maus, Swiss, 50 ♂, 50 ♀, Kontrolle: 100 ♂, 100 ♀	ca. 2,5 Jahre, 0, 20 000 mg Natriumbenzoat /l Trinkwasser (ca. 0, 1800 mg/kg KG u. Tag ^{b)}), Reinheit: 99 %	ca. 1800 mg/kg KG: NOAEL (siehe auch Abschnitt 5.7.2); Untersuchungsumfang: klinische Beobachtungen, KG, pathologische u. histopathologische Untersuchungen (Leber, Milz, Nieren, Harnblase, Schilddrüse, Herz, Pankreas, Hoden, Ovarien, Gehirn, Nasenmuscheln, mind. vier Lungenlappen u. alle auffälligen Organe)	Toth 1984
Hund, Foxterrier, 4	ca. 25 Tage, aufsteigende Dosierung von ca. 40 bis 1700 mg Natriumbenzoat /kg KG u. Tag, im Futter	ca. 600 mg/kg KG: NOAEL; ab ca. 860 mg/kg KG: Tremor, Krämpfe, Ataxie, Mortalität; nur klinische Beobachtungen berichtet, Studie von 1913	ECHA 2011
Katze, 4 ♂	3–23 Tage, 0, 100, 200 (15 Tage) od. 0, 130–160 (23 Tage) od. 0, 300–420 (3–4 Tage) mg Benzoessäure /kg KG u. Tag, im Futter	bis zu 160 mg/kg KG (23 Tage): NOAEL; 200 mg/kg KG (15 Tage): NOAEL; 300–420 mg/kg KG (3–4 Tage): Mortalität (2/4), Hyperästhesie, Speichelfluss, Schwäche; Leber: Infiltration von Makrophagen u. Fibroblasten; Hepatozyten: schaumig körniges Zytoplasma; Nierentubuli: geschwollen; Magen: Ulzeration; Gehirn u. Rückenmark ohne Befund	Bedford und Clarke 1972

^{a)} Umrechnungsfaktor 0,12 nach EFSA (2012); ^{b)} Umrechnungsfaktor 0,09 nach EFSA (2012); ^{c)} Umrechnungsfaktor 0,05 nach EFSA (2012); ^{d)} Umrechnungsfaktor 0,2 nach EFSA (2012); ^{e)} Umrechnungsfaktor 0,18 nach EFSA (2012); ^{f)} Umrechnungsfaktor 0,15 nach EFSA (2012); GGT: γ-Glutamyltransferase; GPX: Glutathionperoxidase; SOD: Superoxiddismutase

Bei Mäusen wurden nach oraler Gabe von Natriumbenzoat NOAEL von ca. 4160 oder ca. 3000 mg/kg KG und Tag nach einer Behandlungsdauer von 10 bzw. 35 Tagen festgestellt. In der 10-Tage-Studie wurden ab ca. 5000 mg/kg KG und Tag erhöhte Enzymaktivitäten im Serum und ab ca. 6000 mg/kg KG und Tag Reizbarkeit, Krämpfe, erhöhtes Lebergewicht, bei männlichen Tieren vergrößerte, vakuolisierte und nekrotische Hepatozyten sowie bei weiblichen Tieren Mortalität beobachtet (Fujitani 1993). Vermindertes Körpergewicht und erhöhte Mortalität trat auch in der 35-Tage-Studie ab ca. 6000 mg/kg KG und Tag auf (Toth 1984). In einer Lebenszeitstudie lag der NOAEL bei Mäusen nach ca. 2,5 Jahren Aufnahme von Natriumbenzoat mit dem Trinkwasser bei ca. 2400 mg/kg KG und Tag (Toth 1984). Weitere Studien an Mäusen mit Gabe von Benzoesäure für die Dauer von 3 oder 17 Monaten können wegen eingeschränktem Untersuchungsumfang und Mängeln in der Dokumentation nicht zur Bewertung herangezogen werden.

Katzen waren die empfindlichste Spezies mit einem NOAEL von 200 mg Benzoesäure/kg KG und Tag. Ab 340 mg/kg KG und Tag trat bereits Mortalität auf (Bedford und Clarke 1972). Wegen deren metabolisch bedingter Empfindlichkeit (siehe Abschnitt 3.2) werden Studien mit Katzen nicht zur Bewertung herangezogen.

5.2.3 Dermale Aufnahme

Gruppen von je acht Neuseeländer-Kaninchen erhielten Benzoesäure drei Wochen lang an fünf Tagen pro Woche dermal in Dosierungen von 0, 100, 500 oder 2500 mg/kg KG und Tag verabreicht. Bis zur höchsten eingesetzten Dosis wurden keine Wirkungen beobachtet, somit liegt der NOAEL in dieser Studie bei 2500 mg/kg KG und Tag. Genaue Angaben zur Art der Applikation und zur Formulierung der Testsubstanz liegen nicht vor (ECHA 2011).

5.3 Wirkung auf Haut und Schleimhäute

5.3.1 Haut

Die vorliegenden Studien zur Reizwirkung von Benzoesäure und Natriumbenzoat an der Haut sind in Tabelle 6 zusammengefasst.

In mehreren Studien erwies sich Benzoesäure als nicht reizend bzw. nur minimal reizend an der Haut von Kaninchen (BUA 1995; ECHA 2011; Monsanto 1981 b).

Natriumbenzoat war in zwei Studien nicht reizend an der Haut von Kaninchen (ECHA 2011). Weitere Angaben zu den Studien liegen nicht vor.

In einem Test auf nicht-immunologische Reaktionen traten in einem Ohrschwellungs-Test an Meerschweinchen etwa 30 bis 40 Minuten nach offener Applikation von 20 % Benzoesäure in Ethanol deutliche Reaktionen an den Ohren auf, nicht aber bei der Testung am Rücken, dem Abdomen oder den Flanken der Tiere. Zubereitungen mit 0,2 %; 1 % und 5 % Benzoesäure führten konzentrationsabhängig zu geringeren Effekten (Lahti und Maibach 1984). Ratten und Mäuse zeigten im Unterschied zum Meerschweinchen keine oder nur eine sehr geringe Sensitivität gegen 20 % Benzoesäure (Lahti und Maibach 1985).

Tab. 6 Studien zur hautreizenden Wirkung von Benzoessäure und Natriumbenzoat

Substanz	Spezies	Testbedingungen	Befunde	Literatur
Benzoessäure	Kaninchen, Neuseeländer, 3 ♀	500 mg, angefeuchtet mit Wasser, 4 h semiokklusiv	primärer Score: 0,5 von 8; leichte Erytheme u. leichte Ödeme (bei 1/3); Bewertung als minimal reizend	BUA 1995; ECHA 2011
Benzoessäure	Kaninchen, k. w. A.	k. A.	Bewertung als nicht reizend	ECHA 2011
Benzoessäure	Kaninchen, k. w. A.	500 mg, trockenes Pulver, Untersuchung nach 24 u. 72 h, k. w. A.	Score 1,66 von 8; Bewertung als nicht reizend	BUA 1995; ECHA 2011
Benzoessäure	Kaninchen, 2	Ohr-Innenseite, 500 mg, 24 h, k. w. A.	Bewertung als nicht reizend	BUA 1995
Benzoessäure	Kaninchen, Neuseeländer, 3 ♂, 3 ♀	500 mg, angefeuchtet mit Kochsalzlösung, 24 h okklusiv, Untersuchung nach 24 u. 72 h	primärer Irritationsindex: 0,1 von 8 (intakte und ab-radierte Haut); maximale Scores: intakte Haut 0, ab-radierte Haut 1, reversibel nach 7 Tagen	Monsanto 1981 b
Natriumbenzoat	Kaninchen, k. w. A.	nach OECD-Prüf-richtlinie 404; k. A.	Bewertung als nicht reizend	BUA 1995; ECHA 2011
Natriumbenzoat	Kaninchen, k. w. A.	500 mg, trockenes Pulver für 24 h, Untersuchung nach 24 u. 48 h, k. w. A.	Bewertung als nicht reizend	BUA 1995; ECHA 2011

5.3.2 Auge

Die vorliegenden Studien zur Reizwirkung von Benzoessäure und Natriumbenzoat am Auge sind in Tabelle 7 zusammengefasst.

Benzoessäure erwies sich in den meisten Studien als stark reizend am Kaninchenauge (ECHA 2011). In mehreren Untersuchungen ergaben sich zum Teil irreversible Schädigungen an der Cornea (BUA 1995; ECHA 2011; Monsanto 1981 a, 1983).

Natriumbenzoat war in einer Studie am Kaninchenauge nicht reizend (ECHA 2011), während in einer weiteren Studie von einer leichten Reizwirkung berichtet wurde (ECHA 2011).

Tab. 7 Studien zur augenreizenden Wirkung von Benzoesäure und Natriumbenzoat

Substanz	Spezies	Testbedingungen	Befunde	Literatur
Benzoesäure	Kaninchen, Neuseeländer, 3 ♀	ähnlich OECD-Prüfrichtlinie 405; 77 mg feines Pulver	Gesamtscore 35 von 110; Trübung der Cornea (stark bei 1/3; nicht reversibel bei 2/3); keine Reaktion auf Licht innerhalb von 21 Tagen (bei 1/3); mäßige Chemosis (nicht reversibel bei 2/3); leichte Rötung der Konjunktiven, nach 2 Tagen stark mit weiß-grauer Verfärbung, Iris: Vaskularisation („iridial injection“)	BUA 1995; ECHA 2011
Benzoesäure	Kaninchen, Neuseeländer, 3 ♂	nach OECD-Prüfrichtlinie 405; 0,1 ml Benzoesäure, mit Wasser angeteigt, Untersuchung nach 1, 24, 48, 72 h, Nachbeobachtung bis 21 Tage	Einzelierscores (24–72 h): Cornea-Trübung 1,0–1,3 von 4; Iris 0,0–0,7 von 2; Erythem Konjunktiven 1,7–2,0 von 3; Chemosis 1,0–2,0 von 4; Effekte bei 2/3 nach 7 Tagen reversibel, bei 1/3 bis zum 21. Tag Cornea-Trübung (Grad 1 von 4) mit Vaskularisation; Bewertung als leicht reizend	Bayer AG 1986
Benzoesäure	Kaninchen, k. w. A.	100 mg feines Pulver	Gesamtscore 65,0 von 110; Bewertung als stark reizend	ECHA 2011
Benzoesäure	Kaninchen, Neuseeländer, 3 ♂, 3 ♀	ähnlich OECD-Prüfrichtlinie 405; 42 mg als Pulver, Untersuchung nach 24, 48, 72 h, Nachbeobachtung 21 Tage	Gesamtscore 26,7 von 110; irreversible Wirkung an Cornea bei 2/6 nach 21 Tagen	Monsanto 1981 a
Benzoesäure (Reinheit 99,73 %)	Kaninchen, Neuseeländer, 3 ♂, 3 ♀	ähnlich OECD-Prüfrichtlinie 405; 36 mg als Pulver, Untersuchung nach 24, 48, 72 h, Nachbeobachtung bis zu 35 Tage	durchschn. Scores von 28 bzw. 32 bei 2/6 nach 24–72 h; Schädigungen reversibel nach bis zu 29 Tagen; kein Gesamtscore berechnet wegen anhaltender Schädigung der Cornea nach 35 Tagen bei 3/6; max. Score 50 von 110 nach 1 h; Bläschenbildung am Bindehautgewebe bis 4. Tag bei 6/6; Neovaskularisierung der Cornea bei 5/6	Monsanto 1983

Tab. 7 (Fortsetzung)

Substanz	Spezies	Testbedingungen	Befunde	Literatur
Benzoessäure (Reinheit 99,73 %)	Kaninchen, Neuseeländer, 3 ♀	ähnlich OECD-Prüfrichtlinie 405; 36 mg als Pulver, mit Auswaschen nach 25 Sekunden, Untersuchung nach 24, 48, 72 h, Nachbeobachtung bis zu 28 Tage	durchschn. Scores von 13,7 bzw. 8,3 bei 2/3 nach 24–72 h; Schädigungen reversibel nach 4 Tagen; kein Gesamtscore berechnet wegen anhaltender Schädigung bei 1/3 nach 24 Tagen	Monsanto 1983
Benzoessäure	Kaninchen, k. w. A.	k. A.	Bewertung als stark reizend	ECHA 2011
Natrium- benzoat	Kaninchen, k. w. A.	ähnlich OECD-Prüfrichtlinie 405; 50 mg für 24 h, Untersuchung nach 24, 48, 72 h, Nachbeobachtung: 7 Tage	Bewertung als nicht reizend	BUA 1995; ECHA 2011
Natrium- benzoat	Kaninchen, k. w. A.	nach OECD-Prüfrichtlinie 405; k. w. A.	Gesamtscore 9,3 von 110, reversibel innerhalb 14 Tagen; Bewertung als leicht reizend	ECHA 2011

5.4 Allergene Wirkung

Experimentelle Untersuchungen mit Benzoesäure lieferten sowohl im Local Lymph Node Assay an CBA/J-Mäusen mit 5 %, 10 % oder 20 % Benzoesäure in Aceton (Gerberick et al. 1992) als auch im Buehler-Test mit 20 % Benzoesäure in Wasser (Gad et al. 1986) sowie mit unverdünnter Benzoesäure (ECHA 2011) und im Draize-Test (k. w. A.; OECD 2004) negative Ergebnisse. Ebenfalls ein negatives Resultat ergaben ein Maximierungstest an Hartley-Meerschweinchen mit 10 % (intradermale Induktion) und 20 % (topische Induktion und Auslösebehandlung) (Gad et al. 1986) und ein Mouse Ear Swelling Test an CF-1-Mäusen mit 20 % Benzoesäure (Induktion und Auslösebehandlung) (Gad et al. 1986).

Benzoesäure wurde auch in vitro in einem Screening-Test an Kulturen von Hepa1C1C7-Hepatomzellen der Maus mittels Bestimmung der Luciferase-Aktivität nach Aktivierung des „Antioxidant Response Element“ ohne metabolische Aktivierung („KeratinSens Assay“) sowie in einem modifizierten Verfahren zur Erkennung von potentiellen Prohaptenen mittels Zusatz einer S9-Fraktion aus Aroclor-induzierter Rattenleber untersucht. Beide Tests lieferten ein negatives Resultat (Natsch und Emter 2008; Natsch und Haupt 2013). Auch in einem ähnlichen In-vitro-Experiment mit einer humanen Hautzelllinie (HaCaT) sowie in Untersuchungen zur chemischen Reaktivität mittels Messung der GSH-Depletion lieferte Benzoesäure negative Befunde (McKim et al. 2010).

5.5 Reproduktionstoxizität

5.5.1 Fertilität

In einer 4-Generationen-Studie an Ratten erhielten je 20 männliche und weibliche Tiere 5000 oder 10 000 mg Benzoesäure/kg Futter (ca. 450 oder 900 mg/kg KG und Tag, Umrechnungsfaktor 0,09 nach EFSA (2012); siehe auch Abschnitt 5.2.2). Es wurden keine adversen Wirkungen auf die Fortpflanzung (Sterilität, verzögerte Geschlechtsreife, Wurfgröße, Gesamtzahl der Nachkommen, Überleben der Nachkommen) und keine toxischen Wirkungen bei den Elterntieren oder den Nachkommen (klinische Beobachtungen, Körpergewicht, Organgewichte, histopathologische Untersuchung) nachgewiesen (Kieckebusch und Lang 1960). Die Studie kann auf Grund des begrenzten Umfangs von Untersuchungen und Dokumentation nur eingeschränkt zur Bewertung herangezogen werden.

In einem Dominant-Letal-Test wurden männliche Ratten einmalig oder an fünf Tagen oral mit bis zu 5000 mg Natriumbenzoat/kg KG behandelt. Es wurde ein negatives Ergebnis erhalten (FDA 1974).

Mit Benzoesäure ergaben sich in einem Test auf östrogene Wirkung an rekombinanten Hefen (Expression von ER α) und bei der Untersuchung der uterotrophen Wirkung an Ratten und Mäusen negative Ergebnisse (Ashby et al. 1997).

Tab. 8 Studien zur Entwicklungstoxizität von Benzoessäure und Natriumbenzoat

Spezies, Stamm, Anzahl pro Gruppe	Exposition	Befunde	Literatur
präinatale Entwicklungstoxizität			
Ratte, Wistar, 12–18 ♀	GD 1–20, 0, 10 000, 20 000, 40 000, 80 000 mg Natriumbenzoat /kg Futter (nach BUA (1995): ca. 0, 670, 1340, 1850, 870 mg/ kg KG u. Tag); in höchster Dosisgrup- pe beträchtlich erniedrigte Futterauf- nahme von ca. 75 %, daher niedrige Dosis von nur 870 mg/kg KG u. Tag; Untersuchung: GD 20	ca. 1340 mg/kg KG: NOAEL präinatale Entwicklungstoxizität, Maternaltoxizität; ca. 1850 mg/kg KG: Muttertiere: Futteraufnahme ↓, KG-Zunahme ↓ (GD 0–GD 5 KG-Ver- lust, anschließend sehr geringe KG-Zunahme von insgesamt ca. 30 g bis GD 20, Kontrolle: ca. 100 g von GD 0–GD 20); Überleben ↓; Feten: Anzahl lebende Feten ↓, Fetengew. ↓, Resorptionen ↑ (k. A., ob frühe od. späte), Skelett: Ossifikation ↓, skelettale Variationen u. Fehl- bildungen ↑ (z. B. Missbildungen: Fehlen des zervikalen Zentrums: 1, fusionierte Rippen: 1); äußere u. innere Variationen u. Fehlbildungen ↑ (12/36 Feten, unilaterale Mikrophthalmie: 5, bilaterale Mikrophthalmie: 1, unilaterale Anophthalmie: 2, Hydrozephalus: 3, bilaterale Pyelektase: 2, unilaterale renale Hypoplasie: 1); ca. 870 mg/kg KG: Muttertiere: Futteraufnahme ↓ (ca. 75 %); KG-Verlust (von ca. 260 g am GD 0 auf ca. 210 g am GD 20); Feten: Anzahl lebende Feten ↓, Fetengew. ↓, Resorptionen ↑, Skelett: Ossifikation ↓, Variationen u. Fehlbildungen ↑; äußere u. innere Fehl- bildungen ↑ (11/26 Feten, unilaterale Mikrophthalmie: 6, unilaterale Anophthalmie: 1, Hydrozephalus: 3, zerebrale Hypoplasie: 1, bilaterale Pyelektase: 2)	BUA 1995; Onodera et al. 1978
Ratte, Wistar, 7 ♀, Kontrolle 6 ♀	GD 9, 0, 510 mg Benzoessäure /kg KG, Schlundsonde, Untersuchung: GD 20	510 mg/kg KG: Muttertiere: keine klinischen Symptome; Feten: keine Fetotoxizität, keine erhöhten Inzidenzen von Fehlbildun- gen od. Resorptionen	Kimmel et al. 1971

Tab. 8 (Fortsetzung)

Spezies, Stamm, Anzahl pro Gruppe	Exposition	Befunde	Literatur
Ratte, Sprague Dawley, ♀	GD 9–11, 0, 100, 315, 1000 mg Natriumbenzoat /kg KG u. Tag, Kontrolle: 90 od. 600 mg Natriumchlorid/kg KG u. Tag, i.p., Untersuchung: k. A.	100 mg/kg KG: <u>Muttertiere:</u> k. A.; <u>Feten:</u> keine signifikanten Effekte; 315 mg/kg KG: <u>Muttertiere:</u> k. A.; <u>Feten:</u> keine signifikanten Effekte; 1000 mg/kg KG: <u>Muttertiere:</u> k. A.; <u>Feten:</u> Fetengew. ↓, Mortalität in utero ↑, Anomalien („gross anomalies“) ↑	Minor und Becker 1971
Ratte, Sprague Dawley, ♀	GD 12–14, 0, 100, 315, 1000 mg Natriumbenzoat /kg KG u. Tag, Kontrolle: 90 od. 600 mg Natriumchlorid/kg KG u. Tag, i.p., Untersuchung: k. A.	100 mg/kg KG: <u>Muttertiere:</u> k. A.; <u>Feten:</u> keine signifikanten Effekte; 315 mg/kg KG: <u>Muttertiere:</u> k. A.; <u>Feten:</u> keine signifikanten Effekte; 1000 mg/kg KG: <u>Muttertiere:</u> k. A.; <u>Feten:</u> Fetengew. ↓, Mortalität in utero ↑	Minor und Becker 1971
Ratte, Wistar, 20 ♀	GD 6–15, 0, 5, 25, 50, 500 mg Benzoesäure /kg KG u. Tag, Schlundsonde, Untersuchung: GD 21	ab 25 mg/kg KG: <u>Muttertiere:</u> keine signifikanten Effekte; <u>Feten:</u> Resorptionen ↑ (k. A., ob frühe od. späte Resorptionen)	Nair 2001

Tab. 8 (Fortsetzung)

Spezies, Stamm, Anzahl pro Gruppe	Exposition	Befunde	Literatur
Ratte, Wistar, 23–24 ♀	GD 6–15, 0; 1,75; 8; 38; 175 mg Natriumbenzo- at/kg KG u. Tag, Schlundsonde, Untersuchung: GD 20	175 mg/kg KG: NOAEL Maternaltox., Entwicklungstox.; bis 175 mg/kg KG: <u>Muttertiere:</u> keine signifikanten Effekte; <u>Feten:</u> keine signifikanten Effekte	FDA 1972
Maus, CD 1, 20–21 ♀	GD 6–15, 0; 1,75; 8; 38; 175 mg Natriumbenzo- at/kg KG u. Tag, Schlundsonde, Untersuchung: GD 17	175 mg/kg KG: NOAEL Maternaltox., Entwicklungstox.; bis 175 mg/kg KG: <u>Muttertiere:</u> keine signifikanten Effekte; <u>Feten:</u> keine signifikanten Effekte	FDA 1972
Kaninchen, Dutch-belted, 10–12 ♀	GD 6–18, 0; 2,5; 12; 54; 250 mg Natriumbenzo- at/kg KG u. Tag, Schlundsonde, Untersuchung: GD 29	250 mg/kg KG: NOAEL Maternaltox., Entwicklungstox.; bis 250 mg/kg KG: <u>Muttertiere:</u> keine signifikanten Effekte; <u>Feten:</u> keine signifikanten Effekte	FDA 1972
Hamster, Goldhamster, 21–22 ♀	GD 6–10, 0, 3, 14, 65, 300 mg Natriumbenzoat/ kg KG u. Tag, Schlundsonde, Untersuchung: GD 14	300 mg/kg KG: NOAEL Maternaltox., Entwicklungstox.; bis 300 mg/kg KG: <u>Muttertiere:</u> keine signifikanten Effekte; <u>Feten:</u> keine signifikanten Effekte	FDA 1972
Hamster, Goldhamster, 21–24 ♀	GD 6–10, 0, 6, 30, 60, 600 mg Benzoessäure/kg KG u. Tag, Schlundsonde, Untersuchung: GD 16	ab 30 mg/kg KG: <u>Muttertiere:</u> keine signifikanten Effekte; <u>Feten:</u> Resorptionen ↑ (k. A., ob frühe od. späte Resorptionen); 600 mg/kg KG: <u>Muttertiere:</u> keine signifikanten Effekte; <u>Feten:</u> Fehlbildungen ↑ (k. w. A.)	Nair 2001

Tab. 8 (Fortsetzung)

Spezies, Stamm, Anzahl pro Gruppe	Exposition	Befunde	Literatur
prä- und postnatale Entwicklungstoxizität			
Ratte, Wistar, 4–5 ♀	GD 1–20, 0, 10 000, 20 000, 40 000, 80 000 mg Natriumbenzoat /kg Futter (nach BUA (1995): ca. 0, 670, 1340, 1850, 870 mg/ kg KG u. Tag); Untersuchung: bis PND 56	ca. 670 mg/kg KG: NOEL für postnatale Entwicklungstox. ; ca. 1340 mg/kg KG: NOAEL Maternaltoxizität; <u>Nachkommen:</u> Überleben nach 8 Wo.: 95,5 % (Kontrolle 100 %), verzögerte Augenöffnung bei 4 Tieren aus 2 Würfen; ca. 1850 mg/kg KG: <u>Muttertiere:</u> Futteraufnahme ↓, KG-Zunahme ↓, Überleben ↓; <u>Nachkommen:</u> perinatale Mortalität 100 %, Index an lebenden Nachkommen bei der Geburt 50 % (Kontrolle 75 %); ca. 870 mg/kg KG: <u>Muttertiere:</u> Futteraufnahme ↓, KG ↓; <u>Nachkommen:</u> perinatale Mortalität 100 %, Index an lebenden Nachkommen bei der Geburt 8 % (Kontrolle 75 %)	BUA 1995; Onodera et al. 1978
Ratte, Wistar, 10 ♀	GD 5–PND 45, 0, 1000, 5000, 10 000 mg Natriumben- zoat /kg Futter (ca. 0, 90, 450, 900 mg/ kg KG u. Tag ^{a)}); Untersuchung: PND 6–21	bis ca. 900 mg/kg KG: <u>Muttertiere:</u> NOAEL (Mortalität, Körpergewicht u. Futteraufnahme unverändert); <u>Nachkommen:</u> NOAEL (Mortalität, Körpergewicht, Futteraufnahme, motorische Aktivität unverändert, Gehirn: Monoamine (Serotonin, Do- pamin, Noradrenalin) u. Gewichte der Gehirnbereiche unbeeinflusst)	Crane und Lachance 1985
Ratte, Sprague Dawley, 10 ♀	12 Wochen (nach Entwöhnung bis Verpaarung u. gesamte Trächtigkeit), 0, 1000; 5000 mg Natriumbenzoat / kg Futter (ca. 0, 90, 450 mg/kg KG u. Tag ^{a)}); Untersuchung: 1. Lebenstag	ab ca. 90 mg/kg KG: <u>Muttertiere:</u> Serum: Harnstoff u. Harnsäure ↑, AP ↑; <u>Nachkommen:</u> KG ↓ (13,6 %, nicht bei ca. 450 mg/kg KG); ca. 450 mg/kg KG: NOAEL Entwicklungstox.; <u>Muttertiere:</u> Futteraufnahme ↓, Serum: AST u. ALT ↑; <u>Nachkommen:</u> keine signifikanten Effekte	Mowafy et al. 2001

^{a)} Umrechnungsfaktor 0,09 nach EFSA (2012); ALT: Alaninaminotransferase; AP: alkalische Phosphatase; AST: Aspartataminotransferase; GD: Gestationstag; Hb: Hämoglobin; Hk: Hämatokrit; PND: Postnaltag

5.5.2 Entwicklungstoxizität

Studien zur Entwicklungstoxizität von Benzoessäure und Natriumbenzoat sind in Tabelle 8 dargestellt.

An Wistar-Ratten führte die Gabe von 510 mg Benzoessäure/kg KG am 9. Gestationstag weder zu Effekten an den Muttertieren noch an den Feten (Kimmel et al. 1971). Am gleichen Rattenstamm hatte die Schlundsondengabe vom 6. bis zum 15. Gestationstag ab 25 mg/kg KG und Tag erhöhte Resorptionen zur Folge (Nair 2001). Eine Angabe, ob es sich um frühe oder späte Resorptionen handelte, fehlt. Das Gleiche gilt für eine Studie von der gleichen Arbeitsgruppe an Hamstern, bei denen ab 30 mg/kg KG und Tag erhöhte Resorptionen beobachtet wurden (Nair 2001).

In einer pränatalen Entwicklungstoxizitätsstudie an Wistar-Ratten mit Fütterung vom 1. bis zum 20. Gestationstag wurden ab ca. 1850 mg Natriumbenzoat/kg KG und Tag fetotoxische Effekte wie eine erniedrigte Anzahl lebender Feten, erniedrigte Fetengewichte, verminderte Ossifikationen und erhöhte Inzidenzen von skelettalen, äußeren und inneren Variationen und Missbildungen festgestellt. Gleichzeitig waren bei den Muttertieren die Futteraufnahme und die Körpergewichtszunahme reduziert. Der NOAEL für Entwicklungs- und Maternaltoxizität lag bei ca. 1340 mg Natriumbenzoat/kg KG und Tag (BUA 1995; Onodera et al. 1978).

In pränatalen Entwicklungstoxizitätsstudien an Ratten, Mäusen, Kaninchen und Hamstern traten jeweils bis zur höchsten Dosis von 175 mg/kg KG (Ratte, Maus), 250 mg/kg KG (Kaninchen) und 300 mg/kg KG (Hamster) keine entwicklungstoxischen oder maternaltoxischen Effekte auf (FDA 1972).

Zwei Studien mit intraperitonealer Gabe (Minor und Becker 1971) werden nicht zur Bewertung herangezogen, da aufgrund des Applikationsweges direkte Effekte auf die Frucht nicht auszuschließen sind.

Eine Untersuchung an Wistar-Ratten mit Fütterung vom 1. bis zum 20. Gestationstag und Untersuchung der Tiere bis zum 56. Postnataltag ergab eine verzögerte Augenöffnung der Nachkommen ab ca. 1340 mg/kg KG und Tag. Der NOAEL für postnatale Entwicklung lag bei ca. 670 mg/kg KG und Tag. Ab ca. 1850 mg/kg KG und Tag waren bei den Muttertieren Futteraufnahme, Körpergewichtszunahme und Überleben vermindert. Der NOAEL für Maternaltoxizität betrug ca. 1340 mg/kg KG und Tag (BUA 1995; Onodera et al. 1978).

In einer Studie mit prä- und postnataler Gabe an Wistar-Ratten wurden bis zur höchsten Dosis von ca. 900 mg/kg KG und Tag keine maternal- oder fetotoxischen Effekte beobachtet (Crane und Lachance 1985).

Bei Sprague-Dawley-Ratten führte die Fütterungsgabe von der Entwöhnung bis zur Verpaarung und während der gesamten Trächtigkeit ab ca. 450 mg/kg KG und Tag bei den Muttertieren zu erniedrigter Futteraufnahme und erhöhten Leberenzymaktivitäten. Der NOAEL betrug ca. 90 mg/kg KG und Tag. Die Körpergewichte der Nachkommen waren nicht dosisabhängig verändert. Daher ergab sich ein NOAEL für postnatale Entwicklungstoxizität von ca. 450 mg/kg KG und Tag (Mowafy et al. 2001).

5.6 Genotoxizität

5.6.1 In vitro

Die Daten zur In-vitro-Genotoxizität von Benzoesäure und Alkalibenzoaten sind in Tabelle 9 dargestellt.

In mehreren Tests auf differenzielle Abtötung mit *Bacillus subtilis* wurden mit Benzoesäure bzw. den Alkalisalzen positive und negative Ergebnisse erhalten. Angaben zur Zytotoxizität fehlen bei allen Studien, eine Studie liegt nur als Zusammenfassung vor bzw. einige sind nur unzureichend dokumentiert.

In mehreren Tests auf Induktion der SOS-Antwort in *E. coli* und *S. typhimurium* sowie in zahlreichen bakteriellen Mutagenitätstests wurden hingegen mit und ohne Zusatz metabolischer Aktivierung ausschließlich negative Ergebnisse erzielt (siehe Tabelle 9).

Im Comet-Assay an Humanlymphozyten wurden in einer Studie mit Benzoesäure nur bei der höchsten Konzentration von 5 mM und in einer anderen Arbeit ab 0,4 mM DNA-Strangbrüche induziert (Demir et al. 2010; Yilmaz et al. 2014). Angaben zur Zytotoxizität liegen in beiden Fällen nicht vor.

In einer weiteren Studie wurde im Comet-Assay mit Natriumbenzoat ab der niedrigsten Konzentration von 6,25 µg/ml (0,04 mM) ein positives Ergebnis erhalten, während Kaliumbenzoat bis zur höchsten Konzentration von 1000 µg/ml negativ war (Zengin et al. 2011). Angaben zur Zytotoxizität liegen nicht vor.

Schwesterchromatidaustausche waren in mehreren Studien mit Benzoesäure bzw. Natriumbenzoat an menschlichen und an Hamsterzellen nicht signifikant erhöht, während in einer Studie mit Natriumbenzoat an Hamsterzellen ab 2 mM erhöhte Häufigkeiten von Schwesterchromatidaustauschen auftraten (Abe und Sasaki 1977) und in einer Studie an Humanlymphozyten ab 0,4 mM Benzoesäure eine Erhöhung beobachtet wurde (Yilmaz et al. 2009). In Untersuchungen an Humanlymphozyten wurde nur bei hohen Konzentrationen von 8 bzw. 10 mM Natriumbenzoat eine Zunahme an Schwesterchromatidaustauschen hervorgerufen (Mpountoukas et al. 2008; Xing und Zhang 1990). In weiteren Untersuchungen mit Natrium- und Kaliumbenzoat wurden ab 6,25 bzw. 62,5 µg/ml (0,04 bzw. 0,4 mM) erhöhte Häufigkeiten von Schwesterchromatidaustauschen festgestellt, jedoch war die Erhöhung im Vergleich zur Positivkontrolle (0,2 µg Mitomycin C/ml: 10,2-fache Erhöhung im Vergleich zur Kontrolle) nur gering (Natriumbenzoat: 2,6-fache Erhöhung bei 100 µg/ml im Vergleich zur Kontrolle; Kaliumbenzoat: 2,2-fache Erhöhung bei 1000 µg/ml im Vergleich zur Kontrolle) (Zengin et al. 2011).

Benzoesäure führte im Konzentrationsbereich bis 0,1 mg/ml (0,8 mM) nicht zu einer Induktion von chromosomalen Aberrationen in CHL-Zellen (ECHA 2011), während im höheren Konzentrationsbereich ab 1 mg/ml (8,2 mM) kein eindeutiges Ergebnis erhalten (Ishidate 1988; Ishidate et al. 1984, 1988) und in einer Studie an Humanlymphozyten ab 0,4 mM Benzoesäure eine Erhöhung beobachtet wurde (Yilmaz et al. 2009).

Mit Natriumbenzoat wurde in einer Studie mit einer humanen embryonalen Lungenzelllinie (WI-38) in Konzentrationen von bis zu 0,2 mg/ml (1,4 mM) ein negatives Ergebnis im Chromosomenaberrationstest berichtet (FDA 1974).

Tab. 9 Genotoxizität von Benzoessäure und Alkalibenzoaten in vitro

Endpunkt	Testsystem	Substanz	Konzentration	wirksame Konzentration	Ergebnis	Anmerkungen	Literatur
					-m. A.	+m. A.	
Bakterien							
DNA-Reparatur Rec-Assay	B. subtilis M45(rec-), H17(rec+)	Benzoessäure	1 %	k. A.	-	-	Zytotoxizität: k. A. ECHA 2011
	B. subtilis M45(rec-), H17(rec+)	Benzoessäure	k. A.	k. A.	+	n. u.	Zytotoxizität: k. A.; Studie nur unzureichend dokumentiert Nonaka 1989
	B. subtilis (k. w. A.)	Natriumbenzoat	k. A.	k. A.	+	n. u.	Zytotoxizität: k. A.; Studie nur unzureichend dokumentiert Kawachi et al. 1980
	B. subtilis (k. w. A.)	Natriumbenzoat	k. A.	-	-	n. u.	Zytotoxizität: k. A. ECHA 2011
	B. subtilis M45(rec-), H17(rec+)	Natriumbenzoat	k. A.	k. A.	+	n. u.	Zytotoxizität: k. A.; Studie nur unzureichend dokumentiert Nonaka 1989
	B. subtilis M45(rec-), H17(rec+)	Natriumbenzoat	-m. A.: 20 mg/Platte; +m. A.: 16 mg/Platte	-m. A.: 20 mg/Platte; +m. A.: 16 mg/Platte	+	+	Zytotoxizität: k. A. Ishizaki und Ueno 1989
	B. subtilis M45(rec-), H17(rec+)	Kaliumbenzoat	-m. A.: 20 mg/Platte; +m. A.: 15 mg/Platte	-m. A.: 20 mg/Platte; +m. A.: 15 mg/Platte	+	+	Zytotoxizität: k. A. Ishizaki und Ueno 1989
DNA-Schäden SOS-Chromotest	E. coli PQ37	Benzoessäure	bis 400 µg/ml	-	-	n. u.	Zytotoxizität: k. A. Adams et al. 2005

Tab. 9 (Fortsetzung)

Endpunkt	Testsystem	Substanz	Konzentration	wirksame Konzentration	Ergebnis		Anmerkungen	Literatur
					-m. A.	+m. A.		
DNA-Schäden SOS-Antwort (Umu-Test)	S. typhimurium TA1535/pSK 1002	Benzoessäure	bis zu 1,67 mg/ml	-	-	-	Zytotoxizität: k. A.	ECHA 2011
DNA-Schäden SOS-Antwort (Lambda Prophagen Induktion)	E. coli WP2s	Benzoessäure	bis zu 0,106 mg/Ka- vität	-	-	n. u.	Zytotoxizität: k. A.	ECHA 2011
Genmutation	S. typhimurium TA98, TA100, TA1535, TA1537	Benzoessäure	0,01–1 mg/ Platte	-	-	-	Zytotoxizität: k. A.	ECHA 2011
	S. typhimurium TA1535, TA1537, TA1538	Benzoessäure	0,5 %	-	-	-	Zytotoxizität: k. A.	Adams et al. 2005
	S. typhimurium TA98, TA100, TA1535, TA1537, TA1538	Benzoessäure und Hippur- säure	0,1 mg/Platte	-	-	-	Zytotoxizität: k. A.	Milvy und Garro 1976
	S. typhimurium TA1535, TA1536, TA1537, TA1538	Benzoessäure (in DMSO)	0,001–0,1 mg/ Platte	-	-	-	Zytotoxizität: k. A.	ECHA 2011
	S. typhimurium TA98, TA100, TA1535, TA1536	Benzoessäure	bis zu 3,6 µg/ Platte	-	-	-	Zytotoxizität: k. A.	Adams et al. 2005

Tab. 9 (Fortsetzung)

Endpunkt	Testsystem	Substanz	Konzentration	wirksame Konzentration	Ergebnis	Anmerkungen	Literatur
					–m. A.	+ m. A.	
	k. A.	Benzoessäure (99,5 %)	k. A.	–	–	Zytotoxizität: k. A.	OECD 2004
	S. typhimurium TA1535	Benzoessäure	20–2000 µg/Platte	–	–	Zytotoxizität: k. A.	ECHA 2011
	S. typhimurium TA98, TA100, TA1535, TA1538	Benzoessäure	0,004–2,5 mg/Platte	–	–	Zytotoxizität: k. A.	Anderson und Styles 1978
	S. typhimurium TA100	Benzoessäure	0,0001–1 mg/Platte	–	n. u.	Zytotoxizität: k. A.	ECHA 2011
	S. typhimurium (k. w. A.)	Benzoessäure	k. A.	–	n. u.	Zytotoxizität: k. A.	ECHA 2011
	S. typhimurium TA98, TA1535	Hippursäure	0,1–5 µmol/Platte	–	–	Zytotoxizität: k. A.	ECHA 2011
	S. typhimurium TA92, TA94, TA98, TA100, TA1535, TA1537	Benzoessäure (in DMSO; Reinheit: 99,6 %)	bis zu 10 mg/Platte	–	–	Zytotoxizität: k. A.	Ishidate et al. 1984
	S. typhimurium TA97, TA102	Benzoessäure	0,1–10 mg/Platte	–	–	Zytotoxizität: k. A.	NLM 2014
	S. typhimurium TA97, TA98, TA100, TA1535, TA1537	Benzoessäure (Reinheit >99 %, in DMSO)	0,033–10 mg/Platte	–	–	Zytotoxizität: k. A.	Zeiger et al. 1988

Tab. 9 (Fortsetzung)

Endpunkt	Testsystem	Substanz	Konzentration	wirksame Konzentration		Ergebnis		Anmerkungen	Literatur
						-m. A.	+m. A.		
	S. typhimurium TA98, TA100	Benzoessäure (in DMSO)	0,1–10 mg/Platte	–	–	–	–	Zytotoxizität: k. A.	NLM 2014
	S. typhimurium TA98, TA100	Benzoessäure (in DMSO)	0,1–5 mg/Platte	–	–	–	–	Zytotoxizität: k. A.	Fall et al. 2007
	S. typhimurium TA98, TA100, TA1537	Natriumbenzoat	k. A.	–	–	–	–	Zytotoxizität: k. A.; Studie nur unzureichend dokumentiert	Ishidate und Yoshikawa 1980
	S. typhimurium TA98, TA100	Natriumbenzoat	k. A.	–	–	–	–	Zytotoxizität: k. A.; Studie nur unzureichend dokumentiert	Kawachi et al. 1980
	S. typhimurium TA92, TA94, TA98, TA100, TA1535, TA1537	Natriumbenzoat (in Wasser; Reinheit: 99,0 %)	bis zu 3 mg/Platte	–	–	–	–	Zytotoxizität: k. A.	Ishidate et al. 1984
	S. typhimurium TA98, TA100, TA1535, TA1537, TA1538; E. coli WP2	Natriumbenzoat	0,033–10 mg/Platte	–	–	–	–	Zytotoxizität: k. A.	ECHA 2011

Tab. 9 (Fortsetzung)

Endpunkt	Testsystem	Substanz	Konzentration	wirksame Konzentration	Ergebnis -m. A. +m. A.	Anmerkungen	Literatur
Säugerzellen							
DNA-Strangbrüche (alkalischer Comet-Assay)	Humanlymphozyten	Benzoessäure	0,005; 0,1; 0,5; 1; 5 mM	5 mM	+ (bei 5 mM)	Zytotoxizität: k. A.; keine Angabe zum pH-Wert	Demir et al. 2010
	Humanlymphozyten	Benzoessäure	50, 100, 200, 500 µg/ml (1 h)	ab 50 µg/ml (0,4 mM)	+	Zytotoxizität: k. A.; keine Angabe zum pH-Wert	Yilmaz et al. 2014
	Humanlymphozyten	Natriumbenzoat	6,25–100 µg/ml (1 h)	ab 6,25 µg/ml (0,04 mM)	+	Zytotoxizität: k. A.	Zengin et al. 2011
	Humanlymphozyten	Kaliumbenzoat	62,5–1000 µg/ml (1 h)	–	–	Zytotoxizität: k. A.	Zengin et al. 2011
SCE	humane lymphoblastoide Zellen (Epstein-Barr-Virus transformiert)	Benzoessäure	1–30 mmol/l (0,1–3,7 mg/ml)	–	–	Zytotoxizität: k. A.	ECHA 2011
	CHO-Zellen	Benzoessäure	1–10 mmol/l (0,1–1 mg/ml)	–	–	Zytotoxizität: k. A.	ECHA 2011
	Humanlymphozyten	Benzoessäure	bis zu 2 mmol/l (0,2 mg/ml)	–	–	Zytotoxizität: k. A.	ECHA 2011

Tab. 9 (Fortsetzung)

Endpunkt	Testsystem	Substanz	Konzentration	wirksame Konzentration	Ergebnis		Anmerkungen	Literatur
					-m. A.	+m. A.		
	Humanlymphozyten	Benzoessäure	50, 100, 200, 500 µg/ml (24 h/48 h)	ab 50 µg/ml (0,4 mM)	(+) maximal 3-fache Erhöhung bei 500 µg/ml im Vergleich zur Kontrolle	n. u.	Zytotoxizität: ab 100 µg/ml (48 h) bzw. 500 µg/ml (24 h) (MI); pH-Wert im Medium unverändert	Yilmaz et al. 2009
	Zellen des Chinesischen Hamsters (Don)	Natriumbenzoat	1, 2, 5, 10 mmol/l	ab 2 mM	+ (ab 2 mM)	n. u.	Zytotoxizität: > 10 mM (MI); keine Angabe zum pH-Wert	Abe und Sasaki 1977
	CHL-Zellen	Natriumbenzoat	k. A.	-	-	n. u.	Zytotoxizität: k. A.; Studie nur unzureichend dokumentiert	Kawachi et al. 1980
	Humanlymphozyten	Natriumbenzoat	10 mmol/l	10 mM	+	n. u.	Zytotoxizität: k. A.; keine Angabe zum pH-Wert	Xing und Zhang 1990
	Humanlymphozyten	Natriumbenzoat	0,02; 0,2; 2; 4; 8 mM	8 mM	+ (bei 8 mM)	n. u.	Zytotoxizität: > 8 mM (MI), ab 4 mM (PRI); keine Angabe zum pH-Wert	Mpountoukas et al. 2008

Tab. 9 (Fortsetzung)

Endpunkt	Testsystem	Substanz	Konzentration	wirksame Konzentration	Ergebnis –m. A. +m. A.	Anmerkungen	Literatur
CA	Humanlymphozyten	Natriumbenzoat	6,25–100 µg/ml (24 h/48 h)	ab 6,25 µg/ml (0,04 mM)	(+) 2,6-fache Erhöhung bei 100 µg/ml im Vergleich zur Kontrolle	Zytotoxizität: ab 12,5 µg/ml (24 h); ab 6,25 µg/ml (48 h) (MI); pH-Wert im Medium unverändert	Zengin et al. 2011
			62,5–1000 µg/ml (24 h/48 h)	ab 62,5 µg/ml (0,4 mM)	(+) 2,2-fache Erhöhung bei 1000 µg/ml im Vergleich zur Kontrolle	Zytotoxizität: ab 250 µg/ml (24 h); ab 62,5 µg/ml (48 h) (MI); pH-Wert im Medium unverändert	Zengin et al. 2011
	CHL-Zellen	Benzoessäure (in DMSO; Reinheit: 99,6 %)	0,001–0,1 mg/ml (bis 0,8 mM)	–	–	Zytotoxizität: k. A.	ECHA 2011
			0,5; 1,0; 1,5 mg/ml	1,5 mg/ml (12,3 mM; 24 h); ab 1,0 mg/ml (8,2 mM; 48 h)	+/-	Zytotoxizität: k. A.; keine Angabe zum pH-Wert	Isidate 1988; Isidate et al. 1984, 1988
	Humanlymphozyten	Benzoessäure	50, 100, 200, 500 µg/ml (24 h/48 h)	ab 50 µg/ml (0,4 mM)	+	Zytotoxizität: ab 100 µg/ml (48 h) bzw. 500 µg/ml (24 h) (MI); pH-Wert im Medium unverändert	Yilmaz et al. 2009

Tab. 9 (Fortsetzung)

Endpunkt	Testsystem	Substanz	Konzentration	wirksame Konzentration	Ergebnis -m. A. +m. A.	Anmerkungen	Literatur
	humane embryonale Lungenzellen (WI-38)	Natriumbenzoat	0,002–0,2 mg/ml	–	n. u.	Zytotoxizität: ab 1 mg/ml (M1); ab 0,5 mg/ml (CPE)	FDA 1974
	Zellen des Chinesischen Hamsters (Don)	Natriumbenzoat	1, 2, 5, 10 mM	ab 2 mM (0,3 mg/ml)	+ (ab 2 mM)	Zytotoxizität: > 10 mM (M1); keine Angabe zum pH-Wert	Abe und Sasaki 1977; Ishidate et al. 1988
	CHL-Zellen	Natriumbenzoat	k. A.	k. A.	+	Zytotoxizität: k. A.; Studie nur unzureichend dokumentiert	Kawachi et al. 1980
	CHL-Zellen	Natriumbenzoat	10 mg/ml (69/4 mM)	k. A.	+	Zytotoxizität: k. A.; Studie nur unzureichend dokumentiert	Ishidate und Yoshikawa 1980
	CHL-Zellen	Natriumbenzoat (in Kochsalzlösung; Reinheit: 99,0 %)	0,5; 1,0; 2,0 mg/ml	2,0 mg/ml (13,9 mM; 24 h/48 h)	+ (bei 13,9 mM)	Zytotoxizität: k. A.; keine Angabe zum pH-Wert	Ishidate 1988 Ishidate und Odashima 1977; Ishidate et al. 1984, 1988
	Humanlymphozyten	Natriumbenzoat	6,25–100 µg/ml (24 h/48 h)	ab 6,25 µg/ml (0,04 mM)	+	Zytotoxizität: ab 12,5 µg/ml (24 h); ab 6,25 µg/ml (48 h) (M1); pH-Wert im Medium unverändert	Zengin et al. 2011

Tab. 9 (Fortsetzung)

Endpunkt	Testsystem	Substanz	Konzentration	wirksame Konzentration	Ergebnis -m. A. +m. A.	Anmerkungen	Literatur
MN	Humanlymphozyten	Kaliumbenzoat	62,5–1000 µg/ml (24 h/48 h)	ab 62,5 µg/ml (0,4 mM)	+	n. u. Zytotoxizität: ab 250 µg/ml (24 h); ab 62,5 µg/ml (48 h) (MI); pH-Wert im Medium unverändert	Zengin et al. 2011
	Mauslymphomzellen (L5178Y TK ^{+/+})	Benzoessäure (in DMSO, Reinheit: >99 %)	0, 250, 500, 1000, 2000 µg/ml (+m. A.: 4 h; -m. A.: 24 h)	–	–	Zytotoxizität: ab 1000 µg/ml (24 h, MTT-Test); Präzipitation bei 2000 µg/ml	Nesslany und Marzin 1999
	Humanlymphozyten	Benzoessäure	50, 100, 200, 500 µg/ml (48 h)	ab 200 µg/ml (1,6 mM)	+	n. u. Zytotoxizität: ab 100 µg/ml (48 h) (MI); pH-Wert im Medium unverändert	Yilmaz et al. 2009
	Humanlymphozyten	Natriumbenzoat	6,25–100 µg/ml (48 h)	ab 25 µg/ml (0,17 mM)	+	n. u. Zytotoxizität: ab 6,25 µg/ml (48 h) (MI); pH-Wert im Medium unverändert	Zengin et al. 2011
	Humanlymphozyten	Kaliumbenzoat	62,5–1000 µg/ml (48 h)	ab 125 µg/ml (0,8 mM)	+	n. u. Zytotoxizität: ab 62,5 µg/ml (48 h) (MI); pH-Wert im Medium unverändert	Zengin et al. 2011

+; positiv; –; negativ; +/–; nicht eindeutig;

CA: Test auf Chromosomenaberrationen; CPE: zytopathischer Effekt; k. A.: keine Angabe; MI: Mitoseindex; MN: Mikronukleustest;

n. u.: nicht untersucht; PRI: Proliferationsrate; SCE: Schwesterchromatidaustausch

In vier weiteren Studien wurde durch Natriumbenzoat an Hamsterzellen eine Zunahme an Chromosomenaberrationen hervorgerufen, in einer Studie ab 2 mM. Ein verminderter Mitoseindex wurde bis 10 mM nicht beobachtet (Abe und Sasaki 1977; Ishidate et al. 1988). In einer weiteren Untersuchung trat ein positives Ergebnis nur bei der höchsten Konzentration von 2 mg/ml (13,9 mM) Natriumbenzoat auf, Angaben zur Zytotoxizität liegen nicht vor (Ishidate 1988; Ishidate und Odashima 1977; Ishidate et al. 1984, 1988). Die beiden anderen als positiv berichteten Studien sind nur unzureichend dokumentiert, es fehlen u. a. Angaben zu den untersuchten Konzentrationen und zur Zytotoxizität (Ishidate und Yoshikawa 1980; Kawachi et al. 1980).

Die Häufigkeit von Chromosomenaberrationen nahm in Humanlymphozyten mit Natriumbenzoat ab 6,25 µg/ml (0,04 mM) und mit Kaliumbenzoat ab 62,5 µg/ml (0,4 mM) zu (Zengin et al. 2011). Die Autoren geben an, dass der pH-Wert im Medium unverändert war.

In einem Mikronukleustest an Humanlymphozyten ohne metabolische Aktivierung induzierten Benzoesäure ab 1,6 mM (Yilmaz et al. 2009) sowie Natrium- und Kaliumbenzoat in Konzentrationen ab 25 µg/ml (0,17 mM) bzw. ab 125 µg/ml (0,8 mM) Mikronuklei (Zengin et al. 2011). Diese Konzentrationen führten bereits zu einem signifikant verminderten Mitoseindex. Die Autoren geben an, dass der pH-Wert im Medium unverändert war.

5.6.2 In vivo

Die Daten zur In-vivo-Genotoxizität sind in Tabelle 10 dargestellt.

In einem Flügelmosaik-Test an *Drosophila melanogaster* ergab Benzoesäure nur in der höchsten getesteten Konzentration von 50 mM ein positives Ergebnis. Die geringeren Konzentrationen ergaben negative oder keine eindeutigen Ergebnisse. Im Vergleich zur Positivkontrolle (1 mM EMS) war die Wirkung der Testsubstanz deutlich geringer (Demir et al. 2008).

Mit Natriumbenzoat liegen Host-mediated-Assays vor, in denen männliche ICR-Mäuse einmalig oder an fünf Tagen oral mit bis zu 5000 mg/kg KG behandelt worden sind. Es wurde keine Zunahme der Mutationshäufigkeit hervorgerufen (FDA 1974).

Männliche ddY-Mäuse wurden einmalig oral mit Benzoesäure oder mit Natriumbenzoat behandelt. Nach drei und nach 24 Stunden wurden Zellen aus acht verschiedenen Organen im Comet-Assay untersucht. In allen Fällen wurden keine DNA-Strangbrüche induziert (Sasaki et al. 2002).

Im Chromosomenaberrationstest am Knochenmark von männlichen Ratten ergab Natriumbenzoat nach einmaliger oder fünfmaliger täglicher oraler Gabe in Dosierungen von bis zu 5000 mg/kg KG ein negatives Ergebnis (FDA 1974).

In einer lediglich als Tabelleneintrag vorliegenden, und daher unzureichend dokumentierten Studie wird ein negatives Ergebnis im Chromosomenaberrationstest mit Natriumbenzoat an Ratten berichtet (Kawachi et al. 1980).

In einem Dominant-Letal-Test wurden männliche Ratten einmalig oder an fünf Tagen oral mit bis zu 5000 mg Natriumbenzoat/kg KG behandelt. Es wurden im

Tab. 10 Genotoxizität von Benzoessäure und Natriumbenzoat in vivo

Testsystem	Dosis	Resultat	Anmerkung	Literatur
Flügelmosaik-Test	<i>Drosophila melanogaster</i> 0,1; 0,5; 1; 10; 25; 50 mM Benzoessäure (Reinheit 99,5 %); Positivkontrolle: 1 mM EMS	+ (bei 50 mM)		Demir et al. 2008
Host mediated assay (<i>S. typhimurium</i> TA1530)	Maus, ICR, 8–10 ♂ 0, 50, 500, 5000 mg Natriumbenzoat/kg KG, einmalig, Gavage	–	bei 500 mg/kg KG erhöhte Mutationshäufigkeit	FDA 1974
	Maus, ICR, 8–10 ♂ 0, 50, 500, 5000 mg Natriumbenzoat/kg KG, 5 Tage, 1×/Tag, Gavage	–		FDA 1974
Host mediated assay (<i>S. typhimurium</i> G46; <i>S. cerevisiae</i> D3)	Maus, ICR, 8–10 ♂ 0, 50, 500, 5000 mg Natriumbenzoat/kg KG, einmalig, Gavage	–		FDA 1974
	Maus, ICR, 8–10 ♂ 0, 50, 500, 5000 mg Natriumbenzoat/kg KG, 5 Tage, 1×/Tag, Gavage	–		FDA 1974
Comet-Assay (Drüsenma- gen, Colon, Leber, Nieren, Harnblase, Lunge, Gehirn, Knochenmark)	Maus, ddY, 4 ♂ 0, 1000 mg Benzoessäure/kg KG (in Olivenöl, Reinheit 99,5 %), einmalig, oral, Untersuchung nach 3 u. 24 h	–		Sasaki et al. 2002
	Maus, ddY, 4 ♂ 0, 1000 mg Natriumbenzoat/kg KG (in Kochsalzlösung, Reinheit >98 %), einmalig, oral, Untersuchung nach 3 u. 24 h	–		Sasaki et al. 2002

Tab. 10 (Fortsetzung)

Testsystem	Dosis	Resultat	Anmerkung	Literatur
CA, Knochenmark	Ratte, Sprague Dawley (CD), 3–5 ♂ 0, 50, 500, 5000 mg Natriumbenzoat/kg KG, einmalig, Gavage, Untersuchung nach 6, 24, 48 h	–	Mitoseindex unverändert	FDA 1974
	Ratte, Sprague Dawley (CD), 3–5 ♂ 0, 50, 500, 5000 mg Natriumbenzoat/kg KG, 5 Tage, 1×/Tag, Gavage, Untersuchung nach 6 h	–	Mitoseindex unverändert	FDA 1974
	Ratte, k. w. A. Natriumbenzoat (k. w. A.)	–	Studie nur unzureichend berichtet	Kawachi et al. 1980
DLT	Ratte, k. w. A., 5 ♂ 0, 50, 500, 5000 mg Natriumbenzoat/kg KG, einmalig, Gavage	–		FDA 1974
	Ratte, k. w. A., 5 ♂ 0, 50, 500, 5000 mg Natriumbenzoat/kg KG, 5 Tage, 1×/Tag, Gavage	–		FDA 1974

CA: Test auf strukturelle Chromosomenaberrationen; DLT: Dominant-Letal-Test

Vergleich zur mitlaufenden und zur historischen Kontrolle keine Dominant-Letal-Mutationen hervorgerufen (FDA 1974).

Fazit:

Benzoessäure bzw. Natriumbenzoat wirken *in vitro* im Salmonella-Mutagenitätstest nicht mutagen. Die *in vitro* beobachtete klastogene Wirkung in Säugerzellen bestätigt sich *in vivo* in Tests auf chromosomale Aberrationen an Ratten nicht. Auch im Host-mediated-Assay und im Comet-Assay an Mäusen sowie im Dominant-Letal-Test an Ratten sind Benzoessäure bzw. Natriumbenzoat nicht genotoxisch.

5.7 Kanzerogenität

In einer Kanzerogenitäts-Studie (siehe auch Abschnitt 5.2.2) erhielten Gruppen von 50 männlichen bzw. 52 weiblichen F344-Ratten **Natriumbenzoat** (Reinheit: k. A.) für die Dauer von 18 bis 24 Monaten im Futter in Konzentrationen von 0, 1 oder 2 % (ca. 0, 500 oder 1000 mg/kg KG und Tag, Umrechnungsfaktor 0,05 nach EFSA 2012). Die Kontrollgruppen bestanden aus 25 männlichen bzw. 43 weiblichen Tieren. Die Futteraufnahme wurde kontrolliert, um ein Übermaß zu verhindern; das Trinkwasser war *ad libitum* verfügbar. Auf Grund von zwischenzeitlich aufgetretenen Infektionen (Mykoplasmen und Sialodacryoadenitis-Virus) war das Überleben in einigen Gruppen sehr gering. Alle überlebenden Tiere wurden nach 18 bis 25 Monaten getötet und untersucht. Es traten keine auffälligen klinischen Effekte auf, und es zeigten sich nur geringe Unterschiede bei den mittleren Körpergewichten und den Mortalitätsraten der behandelten Tiere im Vergleich zu den Kontrollgruppen. Die bei den behandelten Tieren aufgetretenen Tumoren unterschieden sich in Art, Häufigkeit und Zeit bis zu deren Auftreten nicht signifikant von denen der Kontrolltiere (Sodemoto und Enomoto 1980). Wegen der infektionsbedingt geringen Überlebensraten in einigen Gruppen und eingeschränktem Umfang der Dokumentation kann die Studie nur begrenzt zur Bewertung herangezogen werden.

In einer Lebenszeitstudie erhielten Gruppen von je 50 männlichen und weiblichen Swiss-Mäusen 2 % **Natriumbenzoat** (Reinheit: 99 %) im Trinkwasser (siehe auch Abschnitt 5.2.2). Die Kontrollgruppe bestand aus je 100 männlichen und weiblichen Tieren. Klinische Beobachtungen und Messungen der Körpergewichte sowie pathologische und histopathologische Untersuchungen (Leber, Milz, Nieren, Harnblase, Schilddrüse, Herz, Pankreas, Hoden, Ovarien, Gehirn, Nasenmuscheln, mindestens vier Lungenlappen und alle auffälligen Organe) aller Tiere wurden durchgeführt. Die durchschnittliche tägliche Aufnahme von Natriumbenzoat betrug 1800 mg/kg KG und Tag (Umrechnungsfaktor 0,09 nach EFSA 2012). Es konnte kein behandlungsbedingter Einfluss auf das Überleben oder die Tumorinzidenzen festgestellt werden (Toth 1984). Auf Grund der ausreichend hohen Tierzahlen und der detaillierten histopathologischen Untersuchungen wird diese Studie als ausreichend belastbar angesehen (OECD 2004). Allerdings ist zu bemängeln, dass nur eine Dosis untersucht wurde.

5.8 Sonstige Wirkungen

Bei Kaninchen führte die tägliche intravenöse Injektion von **Natriumbenzoat** (40 mg/kg KG) innerhalb von drei Tagen zur Schädigung der Retina. Bei der histopathologischen Untersuchung wurde eine exsudative Ablösung des retinalen Neuroepithels vom Pigmentepithel festgestellt, die toxische Wirkung trat vor allem in der Schicht der Stäbchen und Zapfen auf (Grant und Schuman 1993).

6 Bewertung

Kritische Effekte sind für Benzoesäure die stark reizende Wirkung am Auge und die Lungentoxizität nach inhalativer Exposition. Für Alkalibenzoate steht die systemisch-toxische Wirkung im Vordergrund, da Natriumbenzoat nur leicht augenreizend wirkt.

MAK-Wert. Zur MAK-Wert-Ableitung geeignete Daten beim Menschen liegen nicht vor.

Für die am Auge allenfalls leicht reizenden **Alkalibenzoate** steht die systemische Wirkung im Vordergrund, so dass aus dieser der MAK-Wert abgeleitet werden kann. Nach wiederholter oraler Aufnahme von Benzoesäure bzw. Natriumbenzoat werden bei Ratten relativ hohe NOAEL im Bereich von 500 bis 1000 mg/kg KG erhalten. Zur Übertragung des NOAEL von 500 mg/kg KG in eine Konzentration in der Luft am Arbeitsplatz werden berücksichtigt: die tägliche Exposition der Tiere im Vergleich zur fünftägigen Exposition pro Woche am Arbeitsplatz (7:5), der den toxikokinetischen Unterschieden zwischen der Ratte und dem Menschen entsprechende speziesspezifische Korrekturwert (1:4), die orale Resorption (100 %, siehe Abschnitt 3.1), das Körpergewicht (70 kg) und das Atemvolumen (10 m³) des Menschen sowie die angenommene 100 %ige inhalative Resorption. Damit errechnet sich eine entsprechende Konzentration von 1225 mg/m³. Jedoch ist die aus dem 4-Wochen-Inhalationsversuch an Ratten (Velsicol Chemical Company 1981) resultierende systemische NOAEC von 250 mg Benzoesäure/m³ niedriger, so dass aus dieser der MAK-Wert abgeleitet wird. Unter Annahme einer Wirkungsverstärkung mit der Zeit aus dem subakutem Versuch (1:6), dem erhöhten Atemvolumen am Arbeitsplatz (1:2) und der Übertragung der Tierversuchsdaten auf den Menschen (1:2) wird ein MAK-Wert von 10 mg/m³ E, bezogen auf Benzoat, für Alkalibenzoate festgesetzt.

Für die stark reizend wirkende **Benzoesäure** wird der MAK-Wert auf Basis der lokalen Effekte abgeleitet. In der 4-Wochen-Inhalationsstudie mit Ratten (Velsicol Chemical Company 1981) verursacht Benzoesäure ab 25 mg/m³ eine lokale Lungentoxizität in Form von interstitieller Entzündung und Fibrose. Aus einer weiteren 4-Wochen-Inhalationsstudie mit Benzoesäure bei Ratten ergibt sich eine statistische NOAEC von 12,6 mg/m³ für die lokale Lungentoxizität (The Personal Care Products Council 2010). Unter Annahme einer Wirkungsverstärkung mit der Zeit aus dem subakutem Versuch (1:6), dem erhöhten Atemvolumen am Arbeitsplatz (1:2) und der Übertragung der Tierversuchsdaten auf den Menschen (1:2) wird aus der

NOAEC von $12,6 \text{ mg/m}^3$ ein MAK-Wert abgeleitet. Da die Dampfsättigungskonzentration für Benzoessäure ca. $4,4 \text{ mg/m}^3$ beträgt, kann der Stoff bei diesem MAK-Wert als Dampf vorliegen, und der MAK-Wert wird in ml/m^3 festgesetzt. Somit wird für Benzoessäure ein MAK-Wert von $0,1 \text{ ml/m}^3$ festgelegt. Dieser Wert entspricht $0,5 \text{ mg/m}^3$ bezogen auf die A-Fraktion, weil die Lunge Zielorgan ist.

Spitzenbegrenzung. Bei den **Alkalibenzoaten** steht die systemische Wirkung im Vordergrund. Daher erfolgt eine Zuordnung zu Kategorie II mit dem Standardüberschreitungsfaktor 2, da keine Daten zur Halbwertszeit vorliegen.

Weil eine interstitielle Entzündung an der Lunge mit Fibrose grenzwertbestimmend ist und es sich um einen Effekt handelt, der nicht unmittelbar auftritt, sondern eine längere Exposition benötigt bis er sich manifestiert, wird **Benzoessäure** der Kategorie II zugeordnet. Da in der 4-Wochen-Inhalationsstudie an Ratten bis $12,6 \text{ mg Benzoessäure/m}^3$ keine Reizwirkung aufgetreten ist, kann ein Überschreitungsfaktor von 4 festgelegt werden.

Fruchtschädigende Wirkung. In einer pränatalen Entwicklungstoxizitätsstudie an Wistar-Ratten werden ab ca. $1850 \text{ mg Natriumbenzoat/kg KG}$ und Tag fetotoxische Effekte wie eine erniedrigte Anzahl lebender Feten, erniedrigte Fetengewichte, verminderte Ossifikationen und erhöhte Inzidenzen von skelettalen, äußeren und inneren Variationen und Missbildungen festgestellt. Gleichzeitig sind bei den Muttertieren Futteraufnahme und Körpergewichtszunahme reduziert. Der NOAEL für Entwicklungs- und Maternaltoxizität liegt bei ca. $1340 \text{ mg Natriumbenzoat/kg KG}$ und Tag (BUA 1995; Onodera et al. 1978). In pränatalen Entwicklungstoxizitätsstudien an Mäusen, Kaninchen und Hamstern treten jeweils bis zur höchsten Dosis von 175 mg/kg KG (Maus), 250 mg/kg KG (Kaninchen) und 300 mg/kg KG (Hamster) keine entwicklungstoxischen oder maternaltoxischen Effekte auf (FDA 1972). Da dies jeweils die höchste Dosis ist, liegt der wahre NAEL höher. In einer Studie mit prä- und postnataler Gabe an Wistar-Ratten werden bis zur höchsten Dosis von ca. 900 mg/kg KG und Tag keine maternal- oder fetotoxischen Effekte beobachtet (Crane und Lachance 1985). Zur toxikokinetischen Übertragung der NOAEL von ca. 1340 mg/kg KG und Tag für Ratten, von 175 mg/kg KG und Tag für Mäuse, von 250 mg/kg KG und Tag für Kaninchen bzw. von 300 mg/kg KG und Tag für Hamster in eine Konzentration in der Luft am Arbeitsplatz werden berücksichtigt: die den toxikokinetischen Unterschieden zwischen Ratte, Maus, Kaninchen bzw. Hamster und dem Menschen entsprechenden speziesspezifischen Korrekturwerte (1:4; 1:7; 1:2,4; 1:5,5), die nachgewiesene orale Resorption (100 %), das Körpergewicht (70 kg) und das Atemvolumen (10 m^3) des Menschen sowie die angenommene 100 %ige inhalative Resorption. Damit errechnen sich entsprechende Luftkonzentrationen von 2345, 175, 730 bzw. 382 mg/m^3 (entspricht für das Benzoat 1970, 147, 613 bzw. 321 mg/m^3). Die Abstände zum MAK-Wert von 10 mg/m^3 betragen damit das 197- (Ratte), 14- (Maus), 61- (Kaninchen) bzw. 32-Fache (Hamster). Da diese Abstände zum MAK-Wert von 10 mg/m^3 ausreichend groß sind, wird Natriumbenzoat der Schwangerschaftsgruppe C zugeordnet. Dies gilt auch für andere Alkalibenzoate, da der Effekt nicht durch den Alkalianteil vermittelt wird.

Für **Benzoessäure** liegen nur drei Studien vor (Kimmel et al. 1971; Nair 2001), die nicht nach gültigen Prüfrichtlinien durchgeführt sind und erhebliche Mängel wie die Verwendung nur einer Dosis mit Behandlung an einem einzigen Gestationstag bzw. fehlende Information über frühe oder späte Resorptionen aufweisen. Die systemischen Effekte der Benzoessäure dürften jedoch ähnlich denen des Salzes sein, da diese Effekte über das sich im Organismus bildende Benzoat vermittelt werden dürften. Die Benzoessäure besitzt zudem mit $0,5 \text{ mg/m}^3$ einen niedrigeren MAK-Wert als die Benzoate, so dass der Abstand zum NOAEL für Entwicklungstoxizität des Benzoats um das 20-Fache größer wird. Aufgrund des größeren Abstands wird die Benzoessäure ebenfalls der Schwangerschaftsgruppe C zugeordnet.

Krebserzeugende Wirkung. Benzoessäure und ihre Alkalisalze wirken nicht genotoxisch. Die vorliegenden Langzeitstudien mit Natriumbenzoat an Ratten und Mäusen können wegen verschiedener Mängel nur eingeschränkt zur Bewertung herangezogen werden. Dennoch haben sich in den Studien keine Hinweise auf eine kanzerogene Wirkung ergeben. Somit werden Benzoessäure und ihre Alkalisalze nicht in eine der Kategorien für Kanzerogene eingestuft.

Keimzellmutagene Wirkung. Benzoessäure wirkt in vitro im Salmonella-Mutagenitätstest nicht mutagen. Die in vitro beobachtete klastogene Wirkung bestätigt sich in vivo in Tests auf chromosomale Aberrationen an Ratten nicht. Im Dominant-Letal-Test an Ratten ist Benzoessäure an Keimzellen nicht genotoxisch. Somit ergibt sich kein Verdacht auf eine keimzellmutagene Wirkung, und Benzoessäure und ihre Alkalisalze werden nicht in eine Kategorie für Keimzellmutagene eingestuft.

Hautresorption. Untersuchungen zur Hautresorption liegen nur für Benzoesäure vor. Da in wässrigen Medien gelöste Benzoesäure im Gleichgewicht mit ihrer dissoziierten Form (Benzoat) vorliegt, kann bezüglich der Hautresorption nicht zwischen den beiden Verbindungen differenziert werden; die dermale Aufnahme erfolgt über die undissoziierte Form. Unter der Annahme einer maximalen Resorptionsrate von $166 \mu\text{g/cm}^2$ und Stunde (Nielsen und Sørensen 2012) würden unter Standardbedingungen (2000 cm^2 , 1 Stunde Exposition) etwa 332 mg Benzoesäure dermal resorbiert werden. Die systemische subakute NOAEC nach Inhalation bei Ratten beträgt 250 mg/m^3 , so dass sich bei Extrapolation auf eine chronische Exposition (1:6), Übertragung auf den Menschen ($250 \text{ mg/m}^3 \times 10 \text{ m}^3$ Atemvolumen pro 8-Stunden-Exposition) sowie nach Halbierung der Dosis aufgrund der tierexperimentellen Basis der Ergebnisse (siehe Abschnitt I der MAK- und BAT-Werte Liste) und Korrektur bezüglich des erhöhten Atemvolumens am Arbeitsplatz (1:2) eine systemisch tolerable Menge von 104 mg ergibt. Demnach ist der mögliche Beitrag einer dermalen Aufnahme zur systemischen Toxizität nicht vernachlässigbar, und Benzoesäure sowie Alkalibenzoate werden mit „H“ markiert.

Sensibilisierende Wirkung. Obwohl in zahlreichen klinisch-epidemiologischen Untersuchungen über positive Epikutantest-Reaktionen auf Natriumbenzoat berichtet wurde, sind diese fast stets nur schwach positiven Reaktionen möglicherweise als irritativ und somit als falsch-positiv zu werten. Die tierexperimentellen Befunde zur kontaktsensibilisierenden Wirkung sind ausschließlich negativ, und die

beim Menschen und am Meerschweinchen auf Benzoessäure und Natriumbenzoat beobachteten Sofortreaktionen sind als nicht-immunologisch bedingt zu werten. Daher ergibt sich auch aus den in diesem Nachtrag aufgeführten Befunden insgesamt weiterhin keine Notwendigkeit einer Markierung mit „Sh“. Da keine Befunde zur atemwegssensibilisierenden Wirkung vorliegen, werden Benzoessäure und Alkalibenzoate weiterhin auch nicht mit „Sa“ markiert.

7 Literatur

- Abe S, Sasaki M (1977) Chromosome Aberrations and Sister Chromatid Exchanges in Chinese Hamster Cells Exposed to Various Chemicals. *J Natl Cancer Inst* 58: 1635–1641
- Ackermann K, Lombardi Borgia S, Korting HC, Mewes KR, Schäfer-Korting M (2010) The Phenion® full-thickness skin model for percutaneous absorption testing. *Skin Pharmacol Physiol* 23: 105–112
- Adams TB, Cohen SM, Doull J, Feron VJ, Goodman JL, Marnett LJ, Munro IC, Portoghese PS, Smith RL, Waddell WJ, Wagner BM (2005) The FEMA GRAS assessment of benzyl derivatives used as flavor ingredients. *Food Chem Toxicol* 43: 1207–1240
- Aguirre A, Izu R, Gardeazabal J, Díaz-Pérez JL (1993) Edematous allergic contact cheilitis from a toothpaste. *Contact Dermatitis* 28: 42
- Aktac T, Kaboglu A, Ertan F, Ekinçi F, Huseyinova G (2003) The effects of citric acid (antioxidant) and benzoic acid (antimicrobial agent) on the mouse liver: biochemical and histopathological study. *Biologia* 58: 343–347
- Andersen KE, Maibach HI, Anjo MD (1980) The guinea-pig: an animal model for human skin absorption of hydrocortisone, testosterone and benzoic acid. *Br J Dermatol* 102: 447–453
- Anderson D, Styles JA (1978) The bacterial mutation test. Appendix II. *Br J Cancer* 37: 924–930
- Asero R (2001) Perennial rhinitis induced by benzoate intolerance. *J Allergy Clin Immunol* 107: 197
- Asero R (2002) Food additives intolerance: a possible cause of perennial rhinitis. *J Allergy Clin Immunol* 110: 937–938
- Asero R (2006) Sodium benzoate-induced pruritus. *Allergy* 61: 1240–1241
- Ashby J, Lefevre PA, Odum J, Tinwell H, Kennedy SJ, Beresford N, Sumpter JP (1997) Failure to confirm estrogenic activity for benzoic acid and clofibrate: implications for lists of endocrine-disrupting agents. *Regul Toxicol Pharmacol* 26: 96–101
- Basketter DA, Wilhelm KP (1996) Studies on non-immune immediate contact reactions in an unselected population. *Contact Dermatitis* 35: 237–240
- Bayer AG (1986) Benzoessäure DAB 8, Prüfung auf reizende/ätzende Wirkung am Kaninchenaugen, Studiennummer: T 9021448, Bayer AG, Wuppertal, unveröffentlicht
- Bedford B, Clarke MA (1972) Experimental benzoic acid poisoning in the cat. *Vet Rec* 90: 53–58
- Brasch J, Henseler T (1992) The reaction index: a parameter to assess the quality of patch test preparations. *Contact Dermatitis* 27: 203–204
- Brasch J, Uter W (2011) Characteristics of patch test reactions to common preservatives incorporated in petrolatum and water, respectively. *Contact Dermatitis* 64: 43–48
- Brasch J, Henseler T, Frosch PJ (1993) Patch test reactions to a preliminary preservative series – a retrospective study based on data collected by the Information Network of Dermatological Clinics (IVDK) in Germany. *Derm Beruf Umwelt* 41: 71–76

- Bridges JW, French MR, Smith RL, Williams RT (1970) The fate of benzoic acid in various species. *Biochem J* 118: 47–51
- Broeckx W, Blondeel A, Doods-Gossens A, Achten G (1987) Cosmetic intolerance. *Contact Dermatitis* 16: 189–194
- Bronaugh RL, Stewart RE, Congdon ER, Giles Jr AL (1982) Methods for in vitro percutaneous absorption studies. I. Comparison with in vivo results. *Toxicol Appl Pharmacol* 62: 474–480
- BUA (Beratergremium für umweltrelevante Altstoffe der Gesellschaft Deutscher Chemiker) (1995) Benzoessäure, Natriumbenzoat, BUA-Stoffbericht 145, Hirzel, Stuttgart
- Bucks DAW, Hinz RS, Sarason R, Maibach HI, Guy RH (1990) In vivo percutaneous absorption of chemicals: a multiple dose study in rhesus monkeys. *Food Chem Toxicol* 28: 129–132
- Carver MP, Riviere JE (1989) Percutaneous absorption and excretion of xenobiotics after topical and intravenous administration to pigs. *Fundam Appl Toxicol* 13: 714–722
- CIR (Cosmetic Ingredient Review) (2011) Benzyl alcohol, and benzoic acid and its salts and benzyl ester, amended final safety assessment, Washington, DC, USA, <http://www.cir-safety.org/ingredients>
- Clemmensen O, Hjorth N (1982) Perioral contact urticaria from sorbic acid and benzoic acid in a salad dressing. *Contact Dermatitis* 8: 1–6
- Coverly J, Peters L, Whittle E, Basketter DA (1998) Susceptibility to skin stinging, non-immunologic contact urticaria and acute skin irritation; is there a relationship? *Contact Dermatitis* 38: 90–95
- Crane SC, Lachance PA (1985) The effect of chronic sodium benzoate consumption on brain monamines and spontaneous activity in rats. *Nutr Rep Int* 32: 169–177
- Cyr DM, Tremblay GC (1989) Potentiation of benzoate toxicity by glyoxylate: Inhibition of pyruvate carboxylase and the urea cycle. *Biochem Pharmacol* 38: 2919–2923
- De Groot AC, Weyland JW, Bos JD, Jagtman BA (1986) Contact allergy to preservatives (I). *Contact Dermatitis* 14: 120–122
- Demir E, Kocaogku S, Kaya B (2008) Genotoxicity testing of four benzyl derivatives in the *Drosophila* wing spot test. *Food Chem Toxicol* 46: 1034–1441
- Demir E, Kocaogku S, Kaya B (2010) Assessment of genotoxic effects of benzyl derivatives by the comet assay. *Food Chem Toxicol* 48: 1239–1242
- Deuel Jr HJ, Alfin-Slater R, Weil CS, Smyth Jr HF (1954) Sorbic acid as a fungistatic agent for foods. I. Harmlessness of sorbic acid as a dietary component. *Food Res* 19: 1–12
- ECHA (European Chemicals Agency) (2011) Annex VI report, proposal for harmonised classification and labelling, benzoic acid, European Chemicals Agency, Helsinki, Finland, http://echa.europa.eu/documents/10162/13626/clh_benzoic_acid_en.pdf
- EFSA (European Food Safety Authority) (2012) Scientific opinion: Guidance on selected default values to be used by the EFSA scientific committee, scientific panels and units in the absence of actual measured data. *EFSA J* 10: 2579, <http://www.efsa.europa.eu/de/efsajournal/doc/2579.pdf>
- Fall M, Haddouk H, Morin J-P, Forster R (2007) Mutagenicity of benzyl chloride in the *Salmonella*/microsome mutagenesis assay depends on exposure conditions. *Mutat Res* 633: 13–20
- Fanelli GM, Halliday SL (1963) Relative toxicity of chlortetracycline and sodium benzoate after oral administration to rats. *Arch Int Pharmacodyn* 114: 120–125
- FDA (Food and Drug Administration) (1972) Teratologic evaluation of FDA 71-37 (sodium benzoate). PB 221777, NTIS, Alexandria, VA, USA

- FDA (1974) Summary of mutagenicity screening studies, host-mediated assay, cytogenetics, dominant lethal assay, contract FDA 71-268, compound FDA 71-37, sodium benzoate. PB 245453, NTIS, Alexandria, VA, USA
- Feldmann RJ, Maibach HI (1970) Absorption of some organic compounds through the skin in man. *J Invest Dermatol* 54: 399–404
- Forsbeck M, Skog E (1977) Immediate reactions to patch tests with balsam of Peru. *Contact Dermatitis* 3: 201–205
- Frantz SW, Dittenber DA, Eisenbrandt DL, Watanabe PG (1990) Evaluation of a flow-through in vitro skin penetration chamber method using acetone-deposited organic solids. *J Toxicol Cut Ocular Toxicol* 9: 277–299
- Franz TJ (1975) Percutaneous absorption. On the relevance of in vitro data. *J Invest Dermatol* 64: 190–195
- Frosch PJ, Kligman AM (1976) The chamber-scarification test for irritancy. *Contact Dermatitis* 2: 314–324
- Fujitani T (1993) Short-term effect of sodium benzoate in F344 rats and B6C3F1 mice. *Toxicol Lett* 69: 171–179
- Gad SC, Dunn BJ, Dobbs DW, Reilly C, Walsh RD (1986) Development and validation of an alternative dermal sensitization test: The mouse ear swelling test (MEST). *Toxicol Appl Pharmacol* 84: 93–114
- Geier J, Uter W, Lessmann H, Schnuch A (2003 a) The positivity ratio – another parameter to assess the diagnostic quality of a patch test preparation. *Contact Dermatitis* 48: 280–282
- Geier J, Uter W, Pirker C, Frosch PF (2003 b) Patch testing with the irritant sodium lauryl sulfate (SLS) is useful in interpreting weak reactions to contact allergens as allergic or irritant. *Contact Dermatitis* 48: 99–107
- Gerberick GF, House RV, Fletcher ER, Ryan CA (1992) Examination of the local lymph node assay for use in contact sensitization risk assessment. *Fundam Appl Toxicol* 19: 438–445
- Gollhausen R, Kligman AM (1985) Human assay for identifying substances which induce non-allergic contact urticaria: the NICU-test. *Contact Dermatitis* 13: 98–106
- Goossens A, Claes L, Drieghe J, Put E (1998) Antimicrobials: preservatives, antiseptics and disinfectants. *Contact Dermatitis* 39: 133–134
- Grant WM, Schuman JS (1993) Toxicology of the eye, Charles C Thomas Ltd, Springfield, Illinois, USA, 215
- Hausen BM (2001) Contact allergy to Balsam of Peru. II. Patch test results in 102 patients. *Am J Contact Dermatitis* 12: 93–102
- Hotchkiss SAM, Hewitt P, Caldwell J, Chen WL, Rowe RR (1992) Percutaneous absorption of nicotinic acid, phenol, benzoic acid and triclop pyr butoxyethyl ester through rat and human skin in vitro: further validation of an in vitro model by comparison with in vivo data. *Food Chem Toxicol* 30: 891–899
- Hunziker N, Feldmann RJ, Maibach HI (1978) Animal models of percutaneous penetration: Comparison between Mexican hairless dogs and man. *Dermatologica* 156: 79–88
- Ishidate Jr M (1988) Data book of chromosomal aberration test in vitro. Amsterdam Elsevier, 9–20 und 23, 40, 373
- Ishidate Jr M, Odashima S (1977) Chromosome tests with 134 compounds on Chinese hamster cells in vitro – a screening for chemical carcinogens. *Mutat Res* 48: 337–354
- Ishidate M, Yoshikawa K (1980) Chromosome aberration tests with Chinese hamster cells in vitro with and without metabolic activation – a comparative study on mutagens and carcinogens. *Arch Toxicol, Suppl* 4: 41–44

- Ishidate Jr M, Sofuni T, Yoshikawa K, Hayashi M, Nohmi T, Sawada M, Matsuoka A (1984) Primary mutagenicity screening of food additives currently used in Japan. *Food Chem Toxicol* 22: 623–636
- Ishidate Jr M, Harnois MC, Sofuni T (1988) A comparative analysis of data on the clastogenicity of 951 chemical substances tested in mammalian cell cultures. *Mutat Res* 195: 151–213
- Ishizaki M, Ueno S (1989) The DNA-damaging activity of natural and synthetic food additives (V). *J Food Hyg Soc Jpn* 30: 447–451
- Jappe U, Schnuch A, Uter W (2003) Frequency of sensitization to antimicrobials in patients with atopic eczema compared with non-atopic individuals: analysis of multicentre surveillance data, 1995-1999. *Br J Dermatol* 149: 87–93
- Juhlin L (1981) Recurrent urticaria: clinical investigations of 330 patients. *Br J Dermatol* 104: 369–381
- Kaboglu und Aktac (2002) A study of the effects of sodium benzoate on the mouse liver. *Biologia* 57: 375–382
- Kanerva L, Rantanen T, Aalto-Korte K, Estlander T, Hannuksela M, Harvima RJ, Hasan T, Horsmanheimo M, Jolanki R, Kalimo K, Lahti A, Lammintausta K, Lauerman A, Niinimäki A, Turjanmaa K, Vuorela AM (2001) A multicenter study of patch test reactions with dental screening series. *Am J Contact Dermatitis* 12: 83–87
- Kawachi T, Komatsu T, Kada T, Ishidate M, Sasaki M, Sugiyama T, Tazima Y (1980) Results of recent studies on the relevance of various short-term screening tests in Japan. The predictive value of short-term screening tests in carcinogenicity evaluation. In: Williams GM, Kroes R, Waaijers HW, van de Poll KW (Hrsg), Elsevier/North-Holland Biomedical Press, Amsterdam, 253–267
- Kieckebusch W, Lang K (1960) Die Verträglichkeit der Benzoesäure im chronischen Fütterungsversuch. *Arzneimittelforschung* 10: 1001–1003
- Kimmel CA, Wilson JG, Schumacher HJ (1971) Studies on metabolism and identification of the causative agent in aspirin teratogenesis in rats. *Teratology* 4: 15–24
- Kreis H, Frese K, Wilmes G (1967) Physiologische und morphologische Veränderungen an Ratten nach peroraler Verabreichung von Benzoesäure. *Food Cosmet Toxicol* 5: 505–511
- Lahti A (1980) Non-immunologic contact urticaria. *Acta Derm Venereol* 60, Suppl 91: 1–49
- Lahti A (1987) Terfenadine does not inhibit non-immunologic contact urticaria. *Contact Dermatitis* 16: 220–223
- Lahti A, Maibach HI (1984) An animal model for nonimmunologic contact urticaria. *Toxicol Appl Pharmacol* 76: 219–224
- Lahti A, Maibach HI (1985) Species specificity of nonimmunologic contact urticaria: Guinea pig, rat, and mouse. *J Am Acad Dermatol* 13: 66–69
- Lahti A, Noponen SL (1998) Propylene glycol in an isopropanol vehicle enhances immediate irritant reactions to benzoic acid. *Contact Dermatitis* 39: 150–151
- Lahti A, Oikarinen A, Viinikka L, Ylikorkala O, Hannuksela M (1983) Prostaglandins in contact urticaria induced by benzoic acid. *Acta Derm Venereol* 63: 425–427
- Lahti A, Väänänen A, Kokkonen EL, Hannuksela M (1987) Acetylsalicylic acid inhibits non-immunologic contact urticaria. *Contact Dermatitis* 16: 133–135
- Lahti A, Poutainen AM, Hannuksela M (1993) Alcohol vehicles in tests for non-immunologic immediate contact reactions. *Contact Dermatitis* 29: 22–25
- Lahti A, Pylvänen V, Hannuksela M (1995) Immediate irritant reactions to benzoic acid are enhanced in washed skin areas. *Contact Dermatitis* 33: 177–182

- Lammintausta K, Maibach HI, Wilson D (1988) Mechanisms of subjective (sensory) irritation. Propensity to non-immunologic contact urticaria and objective irritation in stingers. *Derm Beruf Umwelt* 36: 45–49
- Larmi E (1989) Systemic effect of ultraviolet irradiation on non-immunologic immediate contact reactions to benzoic acid and methyl nicotinate. *Acta Derm Venereol* 69: 296–301
- Larmi E, Lahti A, Hannuksela M (1988) Effects of sorbitan sesquioleate on non-immunologic immediate contact reactions to benzoic acid. *Contact Dermatitis* 19: 368–371
- Larmi E, Lahti A, Hannuksela M (1989 a) Effects of infra-red and neodymium yttrium aluminium garnet laser irradiation on non-immunologic immediate contact reactions to benzoic acid and methyl nicotinate. *Derm Beruf Umwelt* 37: 210–214
- Larmi E, Lahti A, Hannuksela M (1989 b) Immediate contact reactions to benzoic acid and the sodium salt of pyrrolidone carboxylic acid. *Contact Dermatitis* 20: 38–40
- Lewis MA, Lamey PJ, Forsyth A, Gall J (1989) Recurrent erythema multiforme: a possible role of foodstuffs. *Br Dent J* 166: 371–373
- Leyden JJ, Kligman AM (1977) Contact sensitization to benzoyl peroxide. *Contact Dermatitis* 3: 273–275
- MacPherson SE, Barton CN, Bronaugh RL (1996) Use of in vitro skin penetration data and a physiologically based model to predict in vivo blood levels of benzoic acid. *Toxicol Appl Pharmacol* 140: 436–443
- Malanin G, Kalimo K (1989) The results of skin testing with food additives and the effect of an elimination diet in chronic and recurrent urticaria and recurrent angioedema. *Clin Exp Allergy* 19: 539–543
- Marquardt P (1960) Zur Verträglichkeit der Benzoessäure (Abstract). *Arzneimittelforschung* 10: 1033
- Marriott M, Holmes J, Peters L, Cooper K, Rowson M, Basketter DA (2005) The complex problem of sensitive skin. *Contact Dermatitis* 53: 93–99
- McKim JM, Jr, Keller DJ, III, Gorski JR (2010) A new in vitro method for identifying chemical sensitizers combining peptide binding with ARE/EpRE-mediated gene expression in human skin cells. *Cutan Ocul Toxicol* 29: 171–192
- Meding B, Wrangsjö K, Brisman J, Järnholm B (2003) Hand eczema in 45 bakers – a clinical study. *Contact Dermatitis* 48: 7–11
- Meynadier JM, Meynadier J, Colmas A, Castelain P-Y, Ducombs G, Chabeau G, Lacroix M, Martin P, Ngangu Z (1982) Allergie aux conservateurs. *Ann Dermatol Venereol* 109: 1017–1023
- Michils A, Vandermoten G, Duchateau J, Yernault JC (1991) Anaphylaxis with sodium benzoate. *Lancet* 337: 1424–1425
- Milvy P, Garro AJ (1976) Mutagenic activity of styrene oxide (1,2-epoxyethylbenzene), a presumed styrene metabolite. *Mutat Res* 40: 15–18
- Minor JL, Becker BA (1971) A comparison of the teratogenic properties of sodium salicylate, sodium benzoate, and phenol (Abstract). *Toxicol Appl Pharmacol* 19: 373
- Monsanto (1981 a) Primary eye irritation of benzoic acid, U.S.P. to rabbits. In: Monsanto Company (1992) Initial submission: letter from Monsanto Co to USEPA regarding benzoic acid with attachments and cover letter dated 072392. OTS 0538627, NTIS, Alexandria, VA, USA, 18–24
- Monsanto (1981 b) Primary skin irritation of benzoic acid, U.S.P. to rabbits. In: Monsanto Company (1992) Initial submission: letter from Monsanto Co to USEPA regarding benzoic acid with attachments and cover letter dated 072392. OTS 0538627, NTIS, Alexandria, VA, USA, 25–30

1332 MAK Value Documentations

- Monsanto (1981 c) Acute oral toxicity of benzoic acid, U.S.P. to rats. In: Monsanto Company (1992) Initial submission: letter from Monsanto Co to USEPA regarding benzoic acid with attachments and cover letter dated 072392. OTS 0538627, NTIS, Alexandria, VA, USA, 4–12
- Monsanto (1981 d) Acute dermal toxicity of benzoic acid, U.S.P. to rabbits. In: Monsanto Company (1992) Initial submission: letter from Monsanto Co to USEPA regarding benzoic acid with attachments and cover letter dated 072392. OTS 0538627, NTIS, Alexandria, VA, USA, 13–17
- Monsanto (1983) Primary eye irritation of benzoic acid to rabbits. In: Monsanto Company (1992) Initial submission: primary eye irritation of benzoic acid to rabbits with cover letter dated 082892. OTS 0546102, NTIS, Alexandria, VA, USA, 4–19
- Moon KC, Wester RC, Maibach HI (1990) Diseased skin models in the hairless guinea pig: in vivo percutaneous absorption. *Dermatologia* 180: 8–12
- Mowafy AR, Darwish A-MH, El-Kholy SA, Abdel-Mohsen SH (2001) Effect of food preservatives on mother rats and survival of their offspring. *J Egypt Public Health Assoc* 76: 281–295
- Mpountoukas P, Vantarakis A, Sivridis E, Lialiaris T (2008) Cytogenetic study in cultured human lymphocytes treated with three commonly used preservatives. *Food Chem Toxicol* 46: 2390–2393
- Munoz FJ, Bellido J, Moyano JC, Alvarez M, Fonseca JL (1996) Perioral contact urticaria from sodium benzoate in a toothpaste. *Contact Dermatitis* 35: 51
- Nair B (2001) Final report on the safety assessment of benzyl alcohol, benzoic acid, and sodium benzoate. *Int J Toxicol* 20, Suppl 3: 23–50
- Nathan D, Sakr A, Lichtin JL, Bronaugh RL (1990) In vitro skin absorption and metabolism of benzoic acid, p-aminobenzoic acid, and benzocaine in the hairless guinea pig. *Pharm Res* 7: 1147–1151
- Natsch A, Emter R (2008) Skin sensitizers induce antioxidant response element dependent genes: Application to the in vitro testing of the sensitization potential of chemicals. *Toxicol Sci* 102: 110–119
- Natsch A, Haupt T (2013) Utility of rat liver S9 fractions to study skin-sensitizing prohapten in a modified KeratinoSens assay. *Toxicol Sci* 135: 356–368
- Nesslany F, Marzin D (1999) A micromethod for the in vitro micronucleus assay. *Mutagenesis* 14: 403–410
- Nethercott JR, Lawrence MJ, Roy AM, Gibson BL (1984) Airborne contact urticaria due to sodium benzoate in a pharmaceutical manufacturing plant. *J Occup Med* 26: 734–736
- Nettis E, Colanardi MC, Ferrannini A, Tursi A (2004) Sodium benzoate-induced repeated episodes of acute urticaria/angio-oedema: randomized controlled trial. *Br J Dermatol* 151: 898–902
- Nielsen JB, Nielsen F (2006) Topical use of tea tree oil reduces the dermal absorption of benzoic acid and methiocarb. *Arch Dermatol Res* 297: 395–402
- Nielsen JB, Sørensen JA (2012) Glove material, reservoir formation, and dose affect glove permeation and subsequent skin penetration. *Sci Total Environ* 417–418: 87–91
- Nielsen JB, Sørensen JA, Nielsen F (2009) The usual suspects—influence of physicochemical properties on lag time, skin deposition, and percutaneous penetration of nine model compounds. *J Toxicol Environ Health A* 72: 315–323
- NLM (National Library of Medicine) (2014) Benzoic acid. Chemical Carcinogenesis Research Information System (CCRIS), <http://toxnet.nlm.nih.gov/newtoxnet/ccris.htm>
- NLM (2016) Benzoic acid. Hazardous Substances Data Bank, <http://toxnet.nlm.nih.gov/cgi-bin/sis/htmlgen?HSDB>

- Nonaka M (1989) DNA repair tests on food additives (Abstract). *Environ Mol Mutagen* 14, Suppl 15: 143
- Noorafshan A, Erfanizadeh M, Karbalay-Doust S (2014) Sodium benzoate, a food preservative, induces anxiety and motor impairment in rats. *Neurosciences* 19: 24–28
- OECD (Organisation of Economic Co-operation and Development) (2004) Benzoates, OECD SIDS Initial Assessment Report, UNEP (United Nations Environment Programme), Genf, <http://www.inchem.org/documents/sids/sids/benzoates.pdf>
- Onodera H, Ogiu T, Matsuoka C, Furuta K, Takeuchi M, Oono Y, Kubota T, Miyahara M, Maekawa A, Odashima S (1978) Studies on effects of sodium benzoate on fetuses and offspring of Wistar rats. *Eisei Shikenjo Hokoku* 96: 47–54
- Opdyke DLJ (1979) Monographs on fragrance raw materials. Benzoic acid. *Food Cosmet Toxicol* 17: 715–722
- Pacor ML, Lorenzo G Di, Martinelli N, Mansueto P, Rini GB, Corrocher R (2004) Monosodium benzoate hypersensitivity in subjects with persistent rhinitis. *Allergy* 59: 192–197
- Petrus M, Bonaz S, Causse E, Rhabbour M, Moulie N, Netter JC, Bildstein G (1996) Asthme et intolérance aux benzoates. *Arch Pediatr* 3: 984–987
- Pevny I, Rauscher E, Lechner W, Metz J (1981) Exzessive Allergie gegen Benzoessäure mit anaphylaktischem Schock nach Expositionstest. *Derm Beruf Umwelt* 29: 123–130
- Rademaker M, Forsyth A (1989) Contact dermatitis in children. *Contact Dermatitis* 20: 104–107
- Reifenrath WG, Hawkins GS, Kurtz MS (1991) Percutaneous penetration and skin retention of topically applied compounds: an in vitro-in vivo study. *J Pharm Sci* 80: 526–532
- Rosenhall L, Zetterström O (1975) Asthmatic patients with hypersensitivity to aspirin, benzoic acid and tartrazine. *Tubercle* 56: 219
- Roskos KV, Maibach HI, Guy RH (1989) The effect of aging on percutaneous absorption in man. *J Pharmacokinet Biopharm* 17: 617–630
- Rougier A, Dupuis D, Lotte C, Roguet R, Schaefer H (1983) In vivo correlation between stratum corneum reservoir function and percutaneous absorption. *J Invest Dermatol* 81: 275–278
- van de Sandt JJM, van Burgsteden JA, Cage S, Carmichael PL, Dick I, Kenyon S, Korinith G, Laresse F, Limasset JC, Maas WJM, Montomoli L, Nielsen JB, Payan J-P, Robinson E, Sartorelli P, Schaller KH, Wilkinson SC, Williams FM (2004) In vitro predictions of skin absorption of caffeine, testosterone, and benzoic acid: a multi-centre comparison study. *Regul Toxicol Pharmacol* 39: 271–281
- Sasaki YF, Kawaguchi S, Kamaya A, Ohshita M, Kabasawa K, Iwama K, Taniguchi K, Tsuda S (2002) The comet assay with 8 mouse organs: results with 39 currently used food additives. *Mutat Res* 519: 103–119
- Schnuch A, Geier J, Uter W, Frosch PJ (1998) Patch testing with preservatives, antimicrobials and industrial biocides. Results from a multicenter study (IVDK). *Br J Dermatol* 138: 467–476
- Schnuch A, Uter W, Lessmann H, Geier J (2008) Kontaktallergien gegen Konservierungsmittel. Ergebnisse des Informationsverbundes Dermatologischer Kliniken (IVDK) 1996 bis 2007. *Allergo J* 17: 631–638
- Schnuch A, Lessmann H, Geier J, Uter W (2011) Contact allergy to preservatives. Analysis of IVDK data 1996 - 2009. *Br J Dermatol* 164: 1316–1325
- Shtenberg AJ, Ignatev AD (1970) Toxicological evaluation of some combinations of food preservatives. *Food Cosmet Toxicol* 8: 369–380
- Sodamoto Y, Enomoto M (1980) Report of carcinogenesis bioassay of sodium benzoate in rats: Absence of carcinogenicity of sodium benzoate in rats. *J Environ Pathol Toxicol* 4: 87–95

- SRC (Syracuse Research Corporation) (2014 a) Benzoic acid, PhysProp database, <http://esc.srcinc.com/fatepointer/search.asp>
- SRC (2014 b) Benzoic acid, sodium salt, PhysProp database, <http://esc.srcinc.com/fatepointer/search.asp>
- Supramaniam G, Warner JO (1986) Artificial food additives intolerance in patients with angioedema and urticaria. *Lancet* 328: 907–909
- The Personal Care Products Council (2010) A 4-week inhalation toxicity study of aerosolized benzyl alcohol and benzoic acid in Sprague-Dawley rats. Study number WIL-703002, The Personal Care Products Council, Washington, D.C., USA, unveröffentlicht
- Torgerson RR, Davis MDP, Bruce AJ, Farmer SA, Rogers RS (2007) Contact allergy in oral disease. *J Am Acad Dermatol* 57: 315–321
- Toth B (1984) Lack of tumorigenicity of sodium benzoate in mice. *Fundam Appl Toxicol* 4: 494–496
- Velsicol Chemical Company (1981) Four week subacute inhalation study of benzoic acid in rats. International Research and Development Corporation, Project No 163-676, Velsicol Chemical Company, Chicago, IL, USA, unveröffentlicht
- Vilaplana J, Romaguera C (2003) Fixed drug eruption from sodium benzoate. *Contact Dermatitis* 49: 290–291
- Wallengren J, Larsson B (2001) Nitric oxide participates in prick test and irritant patch test reactions in human skin. *Arch Dermatol Res* 293: 121–125
- Wester RC, Maibach HI (1976) Relationship of topical dose and percutaneous absorption in rhesus monkey and man. *J Invest Dermatol* 67: 518–520
- WHO (World Health Organization) (2000) Benzoic acid and sodium benzoate. IPCS – Concise international chemical assessment document 26, WHO, Genf, Schweiz, http://www.who.int/ipcs/publications/cicad/cicad26_rev_1.pdf?ua=1
- Xing W, Zhang Z (1990) A comparison of SCE test in human lymphocytes and vicia faba: a hopeful technique using plants to detect mutagens and carcinogens. *Mutat Res* 241: 109–113
- Yilmaz S, Ünal F, Yüzbaşıoğlu D (2009) The in vitro genotoxicity of benzoic acid in human peripheral blood lymphocytes. *Cytotechnology* 60: 55–61
- Yilmaz S, Ünal F, Yüzbaşıoğlu D, Celik M (2014) DNA damage in human lymphocytes exposed to four food additives in vitro. *Toxicol Ind Health* 30: 926–937
- Ylipietä S, Lahti A (1989) Effect of the vehicle on non-immunologic immediate contact reactions. *Contact Dermatitis* 21: 105–106
- Zeiger E, Anderson B, Haworth S, Lawlor T, Mortelmans K (1988) Salmonella mutagenicity tests: IV. Results from the testing of 300 chemicals. *Environ Mol Mutagen* 11, Suppl 12: 1–158
- Zengin N, Yüzbaşıoğlu D, Ünal F, Yilmaz S, Aksoy H (2011) The evaluation of the genotoxicity of two food preservatives: Sodium benzoate and potassium benzoate. *Food Chem Toxicol* 49: 763–769

abgeschlossen am 24.02.2016