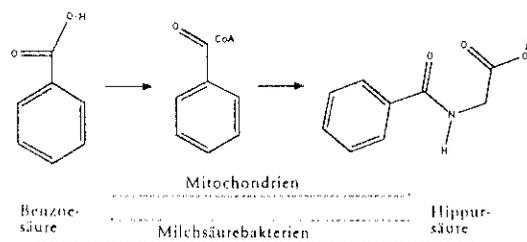


November 1989/185/P/W

Forschungsanstalt
für Milchwirtschaft
CH-3097 Liebefeld

Benzoessäure als natürlicher Bestandteil von Lebensmitteln - eine Übersicht

R. Sieber, U. Bütikofer,
J. O. Bosset und M. Rüegg



Mitt. Gebiete Lebensm. Hyg. 80 345-362 (1989)

Einleitung

Benzoessäure (C_6H_5COOH) ist eine Carbonsäure, die als eine der ältesten Konservierungsstoffe in der Kosmetik-, Arzneimittel- und Lebensmittelindustrie verwendet wird (1). Die Zusatzstoffverordnung (2) erlaubt die Anwendung der Benzoessäure (E 210) wie auch ihrer Salze (Na, K, Ca) als Konservierungsmittel in verschiedenen Lebensmitteln. Sie sind in dieser Verordnung unter der Nummer 3.4 aufgeführt. Dieses Konservierungsmittel kann, meist mit den Substanzen Nr. 3.5 (p-Hydroxybenzoessäuremethylester) und 3.6 (Sorbinsäure), bei der Herstellung verschiedener Nahrungsmittel wie beispielsweise Speisemargarine, Minarine, Fischerzeugnisse, Halbkonserven, Sojasaucen, hartgesottene Eier, Essigkonserven, Senffrüchte und anderen Produkten in Mengen von bis zu 3 g/kg eingesetzt werden. So wurden in je 3 Proben von Mayonnaisen 18–61 mg/kg und von Salatsaucen 97–240 mg Benzoessäure/kg festgestellt (3).

Verschiedene Arbeiten weisen darauf hin, dass Benzoessäure wie auch p-Hydroxybenzoessäure natürlicherweise in Lebensmitteln vorkommen.

Stoffwechsel von Benzoessäure und Hippursäure

Die Benzoessäure kommt natürlicherweise in Pflanzen, vor allem in Früchten und Beeren, aber auch in Gemüse vor (4, 5). Sie wird von den Herbivoren und Omnivoren über die Nahrung aufgenommen. An der inneren Mitochondrienmembran der Säugetierleberzellen verbindet sich die Benzoessäure mit dem Glyzin zur Hippursäure (Abb. 1), wobei die Verfügbarkeit von Glyzin die Synthese der Hippursäure limitiert (6). So scheidet beispielsweise der Mensch täglich bis zu 1 g Hippursäure aus (7, 8), und es wird vermutet, dass die Preiselbeere aufgrund ihres Hippursäuregehaltes den Urin ansäuert und damit bei der Prophylaxe von Infektionen der Harnorgane eingesetzt werden kann (9). Diese Substanz

(N-Benzoylaminoöthansäure, Benzoylglycin) wurde erstmals 1829 von Liebig aus Pferdeharn isoliert (10).

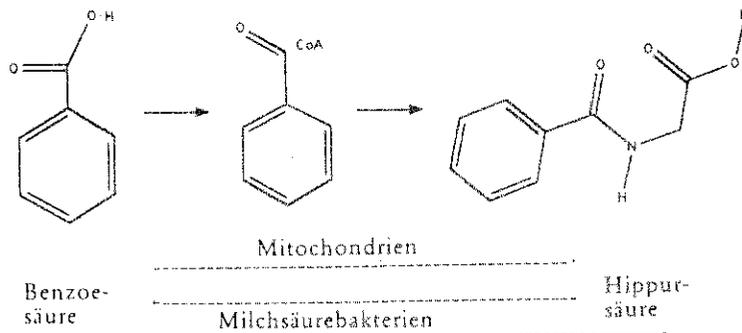


Abb. 1. Stoffwechsel der Benzoesäure und der Hippursäure

Die Anwesenheit der Hippursäure in der NPN-Fraktion der Milch hat 1932 *Fleischmann* (11) erwähnt. *Karabinos* und *Dittiner* (12) haben aus 1160 kg Milch beim Konzentrieren der biotinhaltigen Fraktion 11 g Hippursäure gewonnen und diese Substanz charakterisiert. Die Milch kann bis zu 60 mg/kg Hippursäure enthalten; doch geben *Hatanaka* und *Kaneda* (13) in Magermilch bis zu 196 mg/kg an (Tabelle 1). Hippursäure wurde auch in Kondensmilch, Vollmilchpulver, Rahm und in mit Milchsäure getrockneter Trockenmilch gefunden (14).

Tabelle 1. Hippursäuregehalt der Milch (in mg/kg)

Produkt	Anzahl Proben	Gehalt	Schwankungsbreite	Ref.
frische Milch		36		(14)
past. Milch		33		(14)
gekochte Milch		25		(14)
entrahmte Milch	14	51,4	31-64	(15)
Milch	60	23,0 ^a	13,0-45,9	(16)
Vollmilch		15,4 ± 0,9		(17)
Abendmilch	19	49,7	38,4-62,4	(10)
Einzelgemelksproben	38	57,5		(18)
Milch	2		11,2 12,3	(13)
Magermilch	2		119,0 196,1	(13)
Milch		39,6		(19)

^a Mittelwert über ein Jahr

Innerhalb ihrer eingehenden Untersuchungen über die NPN-Fraktion der Milch haben sich *Wolfschoon-Pombo* und *Klostermeyer* (18, 20-23) auch mit der Hippursäure befasst. Nach ihren Untersuchungen (21) bestanden zwischen den

beiden Rassen Schwarzbunt- und Fleckvieh keine Unterschiede im Hippursäuregehalt. In der Kolostralmilch wurden im Vergleich zur normalen Milch regelmäßig höhere Gehalte festgestellt. Die Laktationsnummer beeinflusste mit einer Ausnahme (6. Laktation) den Hippursäuregehalt nicht (22). In den Monaten Oktober bis Dezember veränderte sich der Hippursäuregehalt praktisch nicht (2). *Svensen* (16) stellte einen deutlichen jahreszeitlichen Einfluss fest. Milch aus fünf Molkereien enthielt in den Monaten Oktober bis Mai einen Hippursäuregehalt von durchschnittlich 15 mg/kg (13,0–21,6). In den Sommermonaten stieg die Hippursäurekonzentration der Milch von 33,0 im Juni auf 36,9 im Juli und 41,6 im August an, um dann im September wieder auf 35,9 mg/kg abzufallen; in diesen Monaten wurden Werte zwischen 27,5 und 45,9 mg/kg gefunden. Diese Unterschiede sind auf die unterschiedliche Fütterung zurückzuführen: so lag der Hippursäuregehalt während der Stallhaltung bei 11,8, stieg während der Übergangszeit auf 21,2 an und betrug während der Weidezeit 38,0 mg/kg.

In Joghurt (13, 14), Buttermilch, biologisch gesäuerter Trockenmilch, Muttermilch (14) sowie in je einer Cheddar- und Blauschimmelkäseprobe (17) konnte analytisch keine Hippursäure festgestellt werden.

In Magermilch, die mit *L. casei* inkubiert wurde, verschwand die Hippursäure im Verlaufe der Inkubation, und es konnte Benzoesäure nachgewiesen werden (24); diese Substanz war bereits in früheren Versuchen, bei denen Magermilch mit *L. bulgaricus* und *acidophilus* inkubiert wurde, festgestellt worden (25, 26). Eine Hippursäurespaltung konnte auch in anderen *Lactobacillus*- sowie in *Streptococcus*- und *Leuconostoc*-Arten beobachtet werden (24). Nach *Svensen* (16) wird nach 9stündiger Bebrütung der Milch mit einer Säureweckerkultur die gesamte Hippursäuremenge in Benzoesäure umgewandelt, was dagegen nach Beimpfung mit Propionsäurebakterien nicht gelang. Die Inkubation der Milch mit einem Käseisäurewecker ergab bis zu 16 mg/kg Benzoesäure (27).

Aufarbeitung und analytische Bestimmung

Hippursäure

Patton (15) gewann aus 6 l einer 3:1 konzentrierten Magermilch 130 mg eines Rohproduktes, aus dem er die Hippursäure kristallisierte und identifizierte. Für den analytischen Nachweis ging *Patton* (15) von 1,6 l Magermilch aus, die er mit Trypsin behandelte. Aus der angesäuerten Lösung wurde durch kontinuierliche Etherextraktion eine stickstoffhaltige Fraktion gewonnen, die mit Hilfe des Kjeldahl-Verfahrens bestimmt wurde. Diese Bestimmung der Hippursäure benötigte 3 Tage.

Svensen (16) extrahierte die Hippursäure aus Milch mit Acetonitril, Petrolether und Ethylether und bestimmte sie gaschromatographisch nach Diazomethanmethylierung.

Wolfschoon-Pombo und *Klostermeyer* (10) haben die Hippursäure aus 15 g Milch mit Ethylacetat und Diethylether extrahiert. Der Rückstand des eingedampften Extraktes wurde mit Acetanhydrid und p-Dimethylaminobenzaldehyd in Pyridin umgesetzt und kolorimetrisch bei 458 nm gemessen; sie benötigten dafür etwa 5 Stunden.

Marsili et al. (17) haben dagegen Milch und Milchprodukte mit Acetonitril vermischt. Im zentrifugierten Überstand wurde die Hippursäure neben anderen organischen Säuren mit Hilfe der HPLC (UV-Detektion bei 220 und 275 nm) bestimmt.

Hatanaka und *Kaneda* (13) haben ein analytisches Verfahren entwickelt, bei dem sowohl die Hippursäure wie auch die Benzoesäure in Rohmilch und gesäuerter Milch bestimmt werden können. Die beiden organischen Säuren werden mit Aceton extrahiert, der Extrakt mit Natriumkarbonat alkalisch gemacht und konzentriert. Die HPLC-Bestimmung erfolgt mit einer 2%igen Essigsäure-Acetonitril-Lösung (78:22) als mobiler Phase und mit o-Methylhippursäure als internem Standard.

Benzoessäure

Neben der Methode von *Hatanaka* und *Kaneda* (13) existieren zur Bestimmung der Benzoesäure in Lebensmitteln verschiedene weitere Verfahren, bei denen in vielen Fällen gleichzeitig auch die Sorbinsäure wie auch Ester der p-Hydroxybenzoessäure erfasst werden (Tabelle 2); daneben kann die Benzoesäure sowohl spektrophotometrisch (45) wie auch mit Hilfe der Isotachophorese (46) bestimmt werden.

Besondere Beachtung wird in mehreren Arbeiten der Probenaufbereitung geschenkt. Grundsätzlich werden vier verschiedene Verfahren verwendet (47):

- a) Wasserdampfdestillation: Die Probe wird direkt mit Schwefelsäure angesäuert und die Benzoesäure mit Wasserdampf quantitativ destilliert.
- b) Wasserdampfdestillation nach alkalischer Vordestillation: Die Probe wird zuerst mit Natronlauge stark alkalisch gestellt. Mit Wasserdampf werden zur Entfernung von unerwünschten Matrixkomponenten ungefähr 100 ml destilliert (clean-up). Die Probelösung wird sodann stark angesäuert und die Benzoesäure wiederum mit Wasserdampf quantitativ destilliert.
- c) Flüssig/flüssig-Extraktion bei fettarmen Lebensmitteln: Die Benzoesäure wird mit einer Ammoniumacetat/Essigsäure/Methanol-Pufferlösung oder einer Natriumcarbonat/Methanol-Pufferlösung im Ultraschallbad oder während der gleichen Zeit in einem Wasserbad bei 70 °C gelöst. Nach Behandlung mit Carrez-I- oder Carrez-II-Lösung und Filtration durch Milliporefilter kann die Lösung für die Analyse verwendet werden.
- d) Flüssig/flüssig-Extraktion bei fettreichen Lebensmitteln: Die Probe wird mit verdünnter Schwefelsäure suspendiert. Durch Extraktion über eine Extrelutsäule wird die Benzoesäure zurückgehalten. Das Eluieren erfolgt mit Dichlormethan/Diethylether. Nach Einengen wird der Rückstand in Diisopropyl-ether/n-Heptan gelöst und für die Bestimmung eingesetzt.

Meistens wird die Flüssig/flüssig-Extraktion verwendet, da der Zeitaufwand gegenüber der Wasserdampfdestillation bedeutend geringer ist. Die verschiedenen Probenaufbereitungsarten ergaben nach der HPLC-Analyse übereinstimmende Messwerte.

Tabelle 2. Methoden zur Bestimmung von Konservierungsmitteln

Produkt ^a	Methode	Wiederfindungsrate %	VK ^b %	Nachweisgrenze	Komponente ^a	Ref.
Milch	HPLC/UV	95,2–98,7	5		B	(28)
Milch, Joghurt	Polarogr.				B	(23)
Milch, Sauermilch	HPLC	> 98		1 ng	B, H	(13)
Milch, Milchp. flüssige LM	GC/MS				B	(29)
Joghurt	HPLC/UV	95,101,5		5 mg/kg	B, S, E	(30)
Joghurt	HPLC/UV	91,2	2,04		B, S	(31)
Joghurt	HPLC/UV	93,3–96,7		0,2 mg/kg	B, S	(32)
Joghurt	LC	71–74		20 mg/kg	B	(33)
Joghurt	HPLC/UV			5 mg/kg	B, H, S	(34)
Joghurt, Käse	HPLC/UV	98,5			B, S, E	(35)
Frischkäse	LC	95		1 mg/kg	B, S	(36)
Käse	GC				S, B	(37)
Käse	GC	96			B	(38)
Milchprodukte	HPLC/UV	98,8–100,8		10 ng	B, S, E	(39)
Milchprodukte	GC/MS	95,2	10	0,2 mg/kg	B	(40)
Milchprodukte	HPLC/UV			3 mg/kg	B, S	(41)
Milchprodukte	HPLC/UV			5 mg/kg	B, S	(42)
Lebensmittel	LC	90–105		20 mg/kg	B, S	(43)
LM fetthaltig	HPLC/UV				B, S, E	(44)

^a Abkürzungen: LM = Lebensmittel; B = Benzoesäure; H = Hippursäure;
S = Sorbinsäure; E = p-Hydroxybenzoesäure-Ester

^b Variationskoeffizient

Binder und *Brandl* (47) verglichen verschiedene Wasserdampfdestillationen und einige Extraktionsverfahren mit Diethylether. Dabei zeigte die Wasserdampfdestillation bei den nachfolgenden Bestimmungen besser übereinstimmende Resultate als die Extraktionsverfahren. Zur Bestimmung der Benzoesäure wurden verschiedene photometrische Methoden mit und ohne Derivatisierung sowie eine dünn-schicht- und eine gaschromatographische Methode verglichen. Die für tiefe Nachweisgrenzen am besten geeignete Methode war die gaschromatographische Bestimmung nach einer Wasserdampfdestillation.

Schwedt und *Schwadorf* (48) haben HPLC-, GC-, DC- und photometrische Methoden für verschiedene Konservierungsstoffe in Lebensmitteln verglichen. Die

Übereinstimmung zwischen den HPLC- und den GC-Analysen war gut, wobei die HPLC-Analyse wegen des geringeren Aufwandes bei der Probenvorbereitung und der kürzeren Chromatographiezeit Vorteile aufwies. Auch die DC-Analyse lieferte für einige der untersuchten Lebensmittel mit den HPLC- und GC-Analysen gut übereinstimmende Werte. Die Wiederfindung von Benzoesäure lag bei dem HPLC-Verfahren zwischen 95 und 102%, die Detektion der Benzoesäure erfolgte im UV-Bereich bei 226 nm.

Herkunft und Gehalt natürlicher Benzoesäure in verschiedenen Lebensmitteln

Milch

Über das Vorkommen der Benzoesäure in der Milch wurde bereits verschiedentlich berichtet. Es kann davon ausgegangen werden, dass frisch ermolzene Milch weniger als 1 mg/kg Benzoesäure enthält. Jedoch kann der Gehalt der Milch erheblich schwanken (Tabelle 3). Diese Variabilität ist auf verschiedene Faktoren zurückzuführen: der originäre Gehalt der Milch an Hippursäure, der Grad der mikrobiellen Hydrolyse dieser Substanz und die Stabilität der Benzoesäure als Endprodukt.

Tabelle 3. Benzoesäuregehalt der Milch (in mg/kg)

Produkt	n	Gehalt	Bereich	Ref.
Milch	3	3,4		(23)
Milch	2		0,1 0,2	(13)
Milch	1	0,2		(5)
rohe Vollmilch		Spuren		(49)
Rohmilch	2	5,1		(29)
rohe Vollmilch	2	0,7		(40)
rohe Magermilch		Spuren		(49)
Rohmilch	10	1,0	0-2,2	(50)
Frischmilch	2	0,3		(29)
Frischmilch handgemolken	2	0,2		(29)
past. Milch	1	2,5		(23)
past. Vollmilch	2	0,6		(29)
Magermilch	2		1,6 2,0	(13)
past. Magermilch	2	0,4		(40)
past. Magermilch ^a		4,5-6,0		(49)
Stapelmilch	4	5,4		(29)

^a 12%ige Magermilchpulversuspension

Es liegen wenige Angaben über den Einfluss von Lagerungstemperatur und -zeit auf den Benzoessäuregehalt der Milch vor. In Magermilch, die während 5 Tagen bei 37 °C gehalten wurde, bildeten *L. bulgaricus* und *acidophilus* bereits nach ungefähr 12 bzw. 24 Stunden – parallel zur logarithmischen Wachstumsphase – eine Benzoessäuremenge von ca. 30 mg/kg, die sich während der weiteren Inkubation nicht veränderte (25). Nach *Hatanaka* und *Kaneda* (13) wandelten *L. bulgaricus* und *Str. thermophilus* die Hippursäure in Magermilch bereits nach einer zehnstündigen Inkubation bei 40 ± 3 °C vollständig in Benzoessäure um. Während einer 40stündigen Lagerung bei 4 °C erhöhte sich der Benzoessäuregehalt nur um 1,8 (0–3,7) mg/kg, während dieser nach einer solchen bei 18 °C während 16 Stunden auf 2,3 (0–4,3) und während 40 Stunden auf 10,1 (3,2–20,4) mg/kg anstieg. *Str. lactis* erhöhte den Benzoessäuregehalt nach einer Inkubation bei 18 °C während 24 Stunden stärker als *E. coli* und *Ps. fluorescens*, während letzterer bei 4 °C aktiver war (50).

Sauermilchprodukte

Neben dem Befund, dass in der Milch die Mikroorganismen für das Entstehen der Benzoessäure aus der Hippursäure verantwortlich zu machen sind, haben *Nishimoto et al.* (24) auch die Bildung der Benzoessäure in fermentierter Milch nachgewiesen. Wurde eine benzoessäurefreie Milch mit frischer Buttermilch bei 21 °C oder Joghurt bei 43,5 °C inkubiert, entstanden nach 18 Stunden im ersten Falle 20 und im zweiten 22 mg/kg Benzoessäure (51). Bei der Joghurtherstellung erhöhte sich der Benzoessäuregehalt nach einer 2½stündigen Inkubation bei 42 °C auf 10 mg/kg. Dabei liess sich nach *Renterghem* (52) die Beziehung zwischen dem Gehalt an dieser Substanz (y) und dem Säuregrad (x) durch folgende Gleichung beschreiben:

$$y = -2,69 + 0,20 x.$$

Alle untersuchten Joghurtkulturen ($n = 40$) wandelten die Hippursäure der Milch in Benzoessäure um (52).

Eine Lagerung von Joghurt, *Acidophilus*-Milch und Kefir bei 5 °C während 24 Stunden veränderte den Benzoessäuregehalt praktisch nicht, in Kefir dagegen sank er nach 72 Stunden leicht ab (53). Auch *Obentraut* (54, 55) stellte in stichfestem Joghurt und in Heidelbeerjoghurt nach einer Lagerung bei 6 °C bis zum Ablaufdatum keine Veränderung fest.

In Joghurt (Tabelle 4) wie auch in anderen Sauermilchprodukten (Tabelle 5) schwankt der Benzoessäuregehalt in einem relativ weiten Bereich. So fanden *Chandan et al.* (49) in Vollmilchjoghurt zwischen 16 und 25, in Joghurt aus Magermilch dagegen zwischen 53 und 56 mg/kg. *Vogel* und *Desbusses* (23) wiesen in vier Joghurtproben zwischen 27 und 47,2 mg/kg nach. Nach *Obentraut* (54) enthielten Fruchtmassen, die für die Herstellung von Fruchtjoghurt verwendet wurden, 2–5 mg/kg Benzoessäure; in einer Fruchtmasse, die Preiselbeeren enthielt, wurden dagegen 29–33 mg/kg gefunden.

Tabelle 4. Benzoesäuregehalt von Joghurt (in mg/kg)

Produkt	n	Gehalt	Bereich	Ref.
Vollmilchjoghurt			16–25	(49)
Vollmilchjoghurt	4		21,1–24,7	(39)
Joghurt aus Rahm	3		10,0–16,8	(39)
Joghurt mit 3,6% Fett	40	14,3 ± 4,0		(55)
Joghurt mit 1% Fett	32	14,8 ± 3,4		(55)
Joghurt, Fettgehalt erniedrigt			31–35	(49)
Joghurt mager	4	25	13–34	(34)
Joghurt mager			53–56	(49)
Joghurt mager	6		24,4–30,0	(39)
Joghurt	4	33,9	27–47,2	(23)
Joghurt	2	11,6	12,1 11,0	(29)
Joghurt	1		29,5–30,7	(56)
Joghurt			16	(57)
Joghurt	11	25	13–39	(52)
Joghurt	3	20,1		(53)
Joghurt	8	26	18–37	(34)
Joghurt	2		11,8 14,1	(13)
Joghurt			28,8	(16)
Joghurt diverse	30		1–20	(58)
Fruchtjoghurt			18–26	(49)
Fruchtjoghurt	10	25	19–33	(52)
Fruchtjoghurt diverse	18		15–39	(34)
Fruchtjoghurt diverse	99	16 ± 4,6	5–26	(59)
Fruchtjoghurt diverse	92	17,8 ± 4,0		(55)
Joghurt trocken	2	190 ± 4,6	282 ± 5,4	(31)

Tabelle 5. Benzoesäuregehalt von diversen Sauermilchprodukten (in mg/kg)

Produkt	n	Gehalt	Bereich	Ref.
Sauerrahm	2		11–18	(49)
Sauerrahm, 10% Fett	4		10,0–15,8	(39)
Sauerrahm, 30% Fett	1	8,5		(39)
Sauermilch		28,9		(16)
Dickmilch	3		22,8–23,5	(39)
Acidophilus-Milch	3	14,3		(53)
Kefir	3	10,9		(53)
Kefir	3		17,6–23,3	(39)
Buttermilch			11–16	(49)
Buttermilch	4		10,0–19,1	(39)
Molke	6	3,9		(29)
Sauermilchgetränk	2		4,1 5,0	(13)
Butter			Spuren	(49)

Käse

Auch in Käse wurde bereits mehrfach Benzoesäure nachgewiesen (Tabelle 6). *Överström* et al. (61) stellten mit 18 bzw. 11 mg/kg in der Randschicht von Gouda (6 und 12 Wochen) höhere Konzentrationen fest als im gesamten Käse mit 11 bzw. 7 mg/kg. Schwedische Molkenkäse enthielten zwischen 25 und 64 mg/kg, in zwei Fällen jedoch über 100 mg/kg (16). Noch höhere Werte in Molkenkäse fanden *Toyoda* et al. (63).

Tabelle 6. Benzoesäuregehalt von Käse und anderen Milchprodukten (in mg/kg)

Produkt	n	Gehalt	Bereich	Bemerkungen ^a	Ref.
Frischkäse, körnig	3		5,3–7,9		(39)
Frischkäse	82	26		1 mit Früchten: 68	(60)
Cottage	4		9–18		(49)
Quark, mager	18	39,1 ± 2,5			(55)
Quark, mager	4		16,7–29,2		(39)
Quark, 20% FiT	9	23,9 ± 2,2			(55)
Quark, 40% FiT	12	14,0 ± 2,9			(55)
Quark, 40% FiT	2		11,2–13,0		(39)
Käse, verschiedene	7	11,3	4,0–24,2		(5)
Käse	25		1,6–40,6	inländische bzw. nach Japan importiert	(38)
Käse, verschiedene	14			nicht nachweisbar	(58)
Cheddar			35		(49)
Cheddar	1	17			(51)
Cheshire			15–25		(49)
Jarlsberg		12,8			(16)
Edamer			7		(49)
Gouda			7–11		(61)
Gouda		13,2			(16)
St. Paulin		14,0			(16)
Münster u. Livarot			5–15		(62)
Stilton			11–13,5		(49)
Stilton Blue			6–8		(49)
Blauschimmelkäse			Spuren		(49)
Gorgonzola			Spuren		(49)
Camembert			6–7		(49)
Brie			Spuren		(49)
Bel Paese			21		(49)
Mozzarella	1	26			(51)
Molkenkäse	4		195, 149, 219, 198		(63)
Molkenkäse			64–219		(64)
Schmelzkäse	22	9,4	3,7–16,6	ohne LM-Zusätze	(65)
Schmelzkäse	11	10,1	6,5–22,4	mit LM-Zusätzen	(65)

Fortsetzung *Tabelle 6.* Benzoesäuregehalt von Käse und anderen Milchprodukten (in mg/kg)

Produkt	n	Gehalt	Bereich	Bemerkungen ^a	Ref.
Schmelzkäse	24	9,2	4,9–18,6	ohne LM-Zusätze	(65)
Schmelzkäse	8	13,1	7,8–23,7	mit LM-Zusätzen	(65)
Schmelzkäse	2		23,6		(29)
Kasein	2	13,3	(14,9) ^b	aus gesäuerter MM	(40)
Molke	2	15,0	(261) ^b	aus gesäuerter MM	(40)
Molkenproteinkonz.	2	50,4	(53,7) ^b	aus gesäuerter MM	(40)
Kasein	2	0		labgefällt	(40)
Kasein	2	0		H ₂ SO ₄ -gefällt	(40)
Magermilchpulver	4	1,1	0,5–2,2		(5)

^a Abkürzungen: LM = Lebensmittel; MM = Magermilch

^b auf Trockenmasse bezogen

In Provolone (66) wie auch in gewissen Käsen in den USA (51) kann zum Bleichen Benzoylperoxid verwendet werden. Diese Substanz wird analytisch als Benzoesäure nachgewiesen (51, 66). In Italien ist diese Substanz in einer Menge von 60 mg/kg, bestimmt als Benzoesäure, zugelassen (67). In italienischen Provolone konnte während der Reifung bis zu 96 mg/kg Benzoylperoxid, gemessen als Benzoesäure, gefunden werden (67).

Nach *Kurisasi* et al. (38) entsteht am Anfang der Käsureifung der grösste Teil der Benzoesäure aus der Hippursäure. Ein kleiner Teil kann auch aus dem Phenylalanin gebildet werden, nicht aber aus dem Tyrosin. Über die Verteilung der Benzoesäure bei der Cottage cheese-Herstellung haben *Chandan* et al. (49) berichtet. Dabei stellten sie sowohl in der gesäuerten Magermilch wie auch im Bruch etwa die gleichen Konzentrationen fest (Abb. 2).

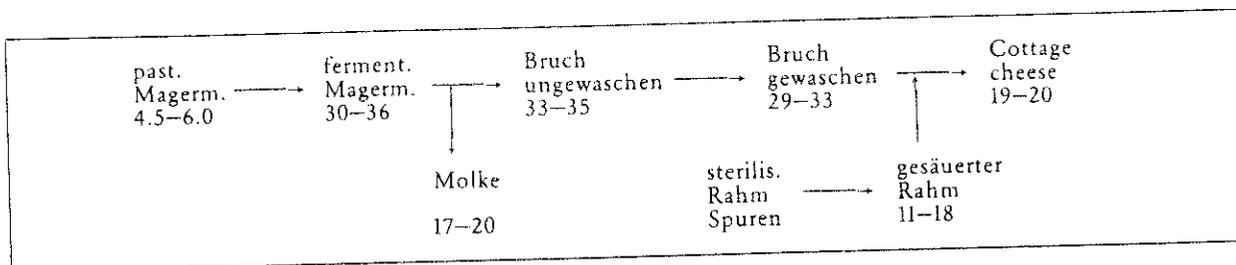


Abb. 2. Veränderung des Benzoesäuregehaltes (mg/kg) während der Cottage cheese-Herstellung (49)

Andere Lebensmittel

Benzoesäure kommt neben den Milchprodukten noch in anderen Lebensmitteln vor. Nach einer japanischen Arbeit enthielten Fleischprodukte, die ohne

Konservierungsmittel hergestellt wurden, 0,1–8,6 mg/kg Benzoesäure; diese stammte aus Gewürzen, dem Rauch oder aus wässrigen Rauchkondensaten (68).

Eingehende Untersuchungen über den Benzoesäuregehalt von Früchten und ihren Produkten ($n = 237$) haben *Nagayama et al.* (4) durchgeführt (Tabelle 7). Mehrheitlich liegt in Zitrus- und Steinfrüchten, in Kernobst und Beeren die Konzentration an Benzoesäure im Bereich bis zu etwa 3 mg/kg. Als Ausnahmen sind erwähnenswert die Erdbeeren mit einem mittleren Gehalt von 13,9 mg/kg. Aufgrund des hohen Gehaltes in der Konfitüre im Vergleich zur schwarzen Johannisbeeren- und der Blaubeeren-Konfitüre (Tabelle 7) wie auch im Fruchtsaft muss die Preiselbeere in bezug auf den Benzoesäuregehalt als Spitzenreiter unter den Früchten bezeichnet werden. In getrockneten Früchten können bis zu 30 mg/kg (Aprikose) vorhanden sein. In japanischen Aprikosenextrakten, bei deren Herstellung die Kerne in Kontakt mit dem Saft sind, wurden 263 bis 636 mg/kg Benzoesäure gefunden; diese hohe Menge stammte aus der enzymatischen Hydrolyse des Amygdalins in Benzaldehyd und deren anschließenden Oxidation (69).

Tabelle 7. Benzoesäuregehalt in Früchten (4), Gemüse und anderen Produkten (5) (in mg/kg)

Produkt	n	Gehalt	Bereich	Produkt	n	Gehalt	Bereich
Grapefruit	14	0,7	0,3–1,3	Pfirsich	6	2,7	1,7–4,2
Orange	8	0,6	0,7–0,8	Äpfel	5	Sp	
Zitrone	6	0,4	0,2–2,0	Trauben	10	Sp	
Banane	5	0,2	0,1–0,4	Ananas	3	0,1	0,1–0,2
Papaya	7	1,5	0,5–2,5	Avocado	3	1,7	1,4–1,9
Erdbeere	10	13,9	3,2–29,2	Kiwi	3	Sp	
Konfitüre:				Trockenfrüchte:			
Preiselbeere	2	140	99, 181	Äpfel	4	0,6	0,3–0,7
Blaubeere	2	3,5	2,4 4,4	Pfirsich	4	4,2	3,6–4,9
Cassis	2	0,4	0,4 0,4	Aprikose	1	30,4	
Erdbeere	2	2,5	2,0 3,0	Banane	4	1,2	0,7–2,0
Kartoffeln	5	Sp	Sp–0,3	Nüsse	41	1,2	Sp–5,1
Bohnen	63	1,6	0,2–4,6	Getreide	19	0,2	Sp–0,5
Sojab.-Mehl	2	11,0	9,4 12,5	Sojaextrakt	2	18,0	17,9 18,0
Gewürze	38	7,6	0,7–52,4	Saucen	31	4,4	Sp–10,3
Zimt	7	336	131–461	Muskatnuss	7	44,1	1,8–217
Nelken	4	28,1	19,2–39,2	Thymian	7	15,9	6,0–57,1

Abkürzung: Sp = Spuren

Die gleiche Arbeitsgruppe um *Nagayama* (5) hat auch den natürlich vorhandenen Benzoesäuregehalt in Gemüse und weiteren landwirtschaftlichen Produkten ($n = 674$) bestimmt (Tabelle 7). Gemüse wie Kohl, Lattich, Spinat, Radieschen, Karotten, Zwiebeln, Gurken und andere ($n = 150$) wiesen mehrheitlich eine Konzentration von weniger als 1 mg/kg auf; Ausnahmen waren Gemüsekonserven an Sojasauce mit 46,4 mg/kg ($n = 3$). Das gleiche lässt sich von Getreide und dem Mehl aussagen. In Bohnen wie auch in Nüssen war der Benzoesäuregehalt etwas erhöht; Ausnahmen bildeten Sojamehl und Sojaextrakt. Unter den Gewürzen enthalten vor allem Zimt, Muskatnuss, Cayenne-Extrakt, Sago, Gewürznelken, Thymian hohe Mengen an Benzoesäure, sind aber wegen ihrer geringen Verzehrsmengen nicht als bedeutende Lieferanten einzustufen.

Hydroxybenzoesäure in verschiedenen Lebensmitteln

In Käse wurde von *Jarczyński* und *Kiermeier* (70) papierchromatographisch Hydroxybenzoesäure nachgewiesen. In 100 Tage altem Tilsiter war diese Substanz kaum, in Camembert nur schwach und in Romadur gut nachweisbar. Spektralphotometrisch wurde in jungem Romadur 1 und in reifem 4 g/kg bestimmt (71).

Auch in verschiedenen pflanzlichen Lebensmitteln wie Beeren, Gemüse und Gewürzen können nach den Untersuchungen der Arbeitsgruppe um *Herrmann* (72–76) Hydroxybenzoesäure oder ihre Glukoside nachgewiesen werden.

Schlussdiskussion

Die Benzoesäure ist für verschiedene verarbeitete Nahrungsmittel ein erlaubter Zusatzstoff, für andere dagegen nicht. Da aber diese Substanz auch natürlicherweise vorkommt, kann sie auch in Lebensmitteln auftreten, bei denen sie nicht erlaubt ist, sofern bei deren Verarbeitung Zutaten mit natürlich vorhandenem Benzoesäuregehalt verwendet werden. Es hat deshalb nicht an Bestrebungen des Gesetzgebers gefehlt, beispielsweise für Milchprodukte Grenz- oder Toleranzwerte für natürlich vorhandenes Benzoat vorzuschreiben. In Japan wird seit 1971 in Käse bis zu 100 mg Benzoesäure pro kg als möglicher Gehalt an natürlichem Benzoat toleriert (63); dabei muss aber nach *Toyoda et al.* (63) für Molkenkäse ein höherer Wert akzeptiert werden, da bei diesen Käsen das Wasser verdunstet wird. Von *Obentraut et al.* (55) wurde für Österreich ein Wert von 40 mg/kg als vorläufiger Standard für den maximalen Wert der natürlichen Benzoesäure in Joghurt- und Fruchtjoghurtproben vorgeschlagen. Dieser Wert wird in Joghurt (Tabelle 4) praktisch nicht, in Käse (Tabelle 6) nur von einem Frischkäse mit Früchten (60) und, wie bereits erwähnt, von Molkenkäse (16, 63) überschritten.

Der ADI-Wert (acceptable daily intake) für Benzoesäure und Ester der p-Hydroxybenzoesäure beträgt nach der WHO bei einer 60 kg schweren Person 300

bzw. 600 mg (zit. nach 77). In den Niederlanden nimmt ein 16- bis 18jähriger männlicher Jugendlicher pro Tag im Durchschnitt 34 mg und maximal 66 mg Benzoesäure zu sich (78). Für Finnland (79) und die Schweiz (80) wurde mit 40 bzw. 42 mg ein vergleichbarer täglicher Verbrauch an Benzoesäure pro Person ermittelt. Dagegen wurde in Japan für die Jahre 1976–81 aufgrund von 3319 untersuchten Nahrungsmitteln nur eine tägliche Aufnahme von 10,9 mg Benzoesäure und 1,01 mg p-Hydroxybenzoesäure-Ester berechnet (77). In einer weiteren Studie, die im November 1982 durchgeführt wurde und die acht Gruppen von Nahrungsmitteln umfasste, wurde dagegen nur eine tägliche Pro-Kopf-Aufnahme von 1,44 mg Benzoesäure und 0,23 mg p-Hydroxybenzoesäure-Ester nachgewiesen (81).

Bei einer lebensmittelrechtlichen Beurteilung, vor allem im Zusammenhang mit dem Carry over, ist dem natürlichen Vorkommen der Benzoesäure, ihren Salzen und Estern in Früchten, fermentierten Milchprodukten und Käse Beachtung zu schenken.

Zusammenfassung

Die Benzoesäure ist in der Schweiz als Zusatzstoff zur Konservierung verschiedener Nahrungsmittel zugelassen, nicht aber für Milchprodukte. In letzteren Produkten wie auch in Früchten und Gemüsen existiert diese Säure jedoch auch natürlicherweise. In Sauermilchprodukten und Käse entsteht sie durch die Tätigkeit gewisser Mikroorganismen aus der in der Milch vorhandenen Hippursäure. Es wird ein Überblick über die in der Literatur aufgeführten Kenntnisse und Resultate gegeben.

Résumé

L'acide benzoïque est autorisé en Suisse comme additif pour la conservation de divers produits alimentaires, mais pas pour les produits laitiers. Dans des derniers comme d'ailleurs dans certains fruits et légumes, cet acide est néanmoins présent comme constituant naturel. Dans les produits laitiers fermentés et le fromage, il est produit à partir de l'acide hippurique par certains microorganismes. Le présent travail passe en revue les connaissances et résultats déjà publiés dans ce domaine.

Summary

In Switzerland, benzoic acid is approved as an additive for the preservation of different foodstuffs, but not for dairy products. However, it naturally occurs in milk products as well as in fruits and vegetables. In fermented milk products and cheese it is produced by certain microorganisms from hippuric acid present in milk. This paper reviews the literature on this topic and summarizes data on contents of benzoic acid in various foods.

Literatur

1. *Chiple, J. R.*: Sodium benzoate and benzoic acid. In: Branen, A. L. and Davidson, P. M. Antimicrobial in foods, p. 11–35. M. Dekker, New York – Basel 1983.
2. Verordnung über die in Lebensmitteln zulässigen Zusatzstoffe (Zusatzstoffverordnung) vom 20. Januar 1982 (SR 817.521)
3. *Schwab, H.*: Die Durchführung der Lebensmittelkontrolle der Schweiz im Jahre 1987. Mitt. Geb. Lebensm. Hyg. **79**, 227–326 (1988).
4. *Nagayama, T., Nishijima, M., Yasuda, K., Saito, K., Kamimura, H., Ibe, A., Ushiyama, H., Nagayama, M. and Naoi, Y.*: [Benzoic acid in fruits and fruit products]. J. Food Hyg. Soc. Japan **24**, 416–422 (1983).
5. *Nagayama, T., Nishijima, M., Yasuda, K., Saito, K., Kamimura, H., Ibe, A., Ushiyama, H., Naoi, Y. and Nishima, T.*: [Benzoic acid in agricultural food products and processed foods]. J. Food Hyg. Soc. Japan **27**, 316–325 (1986).
6. *Beliveau, G. P. and Brusilow, S. W.*: Glycine availability limits maximum hippurate synthesis in growing rats. J. Nutr. **117**, 36–41 (1987).
7. *Gatley, S. J. and Sherratt, H. S. A.*: The synthesis of hippurate from benzoate and glycine by rat liver mitochondria. Biochem. J. **166**, 39–47 (1977).
8. *Premel-Cabic, A., Cailleux, A. et Allain, P.*: Dosage du phénol et de l'acide hippurique urinaire chez des témoins et des sujets exposés au benzène et au toluène. Ann. Biol. Clin. **46**, 683–687 (1988).
9. *Soloway, M. S. and Smith, R. A.*: Cranberry juice as a urine acidifier. J. Am. Med. Ass. **260**, 1465 (1988).
10. *Wolfschoon-Pombo, A. und Klostermeyer, H.*: Vorkommen und Bestimmung von Hippursäure in der NPN-Fraktion der Milch. Z. Lebensm. Unters.-Forsch. **172**, 269–271 (1981).
11. *Fleischmann, W.*: Lehrbuch der Milchwirtschaft. 7. Auflage, S. 84. P. Parey, Berlin 1932.
12. *Karabinos, J. V. and Dittmer, K.*: Presence of hippuric acid in milk. Proc. Soc. Exptl. Biol. Med. **53**, 111–112 (1943).
13. *Hatanaka, H. and Kaneda, Y.*: [Rapid and simultaneous analysis of hippuric and benzoic acids in fermented milk or raw milk by high performance liquid chromatography.] J. Food Hyg. Soc. Japan **27**, 81–86 (1986).
14. *Kieffer, F., Solms, J. und Egli, R. H.*: Vorkommen von Nucleotiden und verwandten Verbindungen in Milch und Milchprodukten. Z. Lebensm. Unters.-Forsch. **125**, 346–350 (1964).
15. *Patton, S.*: The presence of hippuric acid in milk. J. Dairy Sci. **36**, 943–947 (1953).
16. *Svensen, A.*: Hippursyre og benzoesyre i melk og forskjellige meieriprodukter. Meieriposten **63**, 704–707, 731–734, 761–767, 789–792 (1974).
17. *Marsili, R. T., Ostapenko, H., Simmons, R. E. and Green, D. E.*: High performance liquid chromatographic determination of organic acids in dairy products. J. Food Sci. **46**, 52–57 (1981).
18. *Wolfschoon-Pombo, A. und Klostermeyer, H.*: Die NPN-Fraktion der Kuhmilch. I. Menge und Zusammensetzung. Milchwissenschaft **36**, 598–600 (1981).
19. *Lavanchy, P. and Steiger, G.*: Determination of orotic acid and of other carboxylic acids in milk and dairy products by HPLC. In: Challenges to contemporary dairy analytical techniques. Royal Society Chemistry, London. Special Publ. No. 49, 317–318 (1984).
20. *Wolfschoon-Pombo, A., Klostermeyer, H. und Buchberger, J.*: Die NPN-Fraktion der Kuhmilch. II. Rassenunterschiede. Milchwissenschaft **36**, 680–682 (1981).

21. *Wolfschoon-Pombo, A. und Klostermeyer, H.*: Die NPN-Fraktion der Kuhmilch. III. Einfluss der Laktationsnummer und des Laktationsstadiums. *Milchwissenschaft* **36**, 721–724 (1981).
22. *Wolfschoon-Pombo, A. und Klostermeyer, H.*: Die NPN-Fraktion der Kuhmilch. IV. Jahreszeitliche Schwankungen. *Milchwissenschaft* **37**, 10–12 (1982).
23. *Vogel, J. et Desbusses, J.*: Dosage polarographique de faibles quantités d'acide benzoïque; application de la méthode au dosage de l'acide benzoïque dans le lait normal et les yoghurts. *Trav. chim. aliment. hyg.* **56**, 63–67 (1965).
24. *Nishimoto, T., Uyeta, M. and Taue, S.*: [Precursor of benzoic acid in fermented milk]. *J. Food Hyg. Soc. Japan* **10**, 410–413 (1969).
25. *Nishimoto, T., Uyeta, M., Taue, S. and Takebayashi, I.*: [Bacterial formation of benzoic acid in milk]. *J. Food Hyg. Soc. Japan* **9**, 58–59 (1968).
26. *Nishimoto, T., Uyeta, M. and Taue, S.*: [Über Benzoessäure in fermentierten Milchprodukten]. *J. Food Hyg. Soc. Japan* **9**, 60–62 (1968).
27. *Leesment, H. and Reigo, J.*: zitiert nach Överström et al. (61).
28. *Wiench, L., Bierska, J., Lysakowski, K. and Smoczynski, S.*: [HPLC method for determining benzoic acid in milk]. *Roczniki Instytutu Przemysłu Mleczarskiego* **26**, 5–10 (1984).
29. *Drawert, F. und Leupold, G.*: Über das Vorkommen von Benzoessäure in Milch und Milcherzeugnissen. *Lebensm.-chem. gerichtl. Chem.* **32**, 76–77 (1978).
30. *Matsunaga, A., Yasmamoto, A. and Makino, M.*: [Simultaneous determination of saccharin, sorbic acid, benzoic acid and five esters of p-hydroxybenzoic acid in liquid foods by isocratic high-performance liquid chromatography]. *J. Hyg. Chem.* **31**, 269–273 (1985); zit. *Food Sci. Technol. Abstr.* **19**, 187 (10) (1987).
31. *Arimoto, M., Tsujisawa, H. and Yokoyama, T.*: [Rapid determination of benzoic acid and sorbic in yoghurt by HPLC]. *Ann. Rep. Wakayama Prefectural Res. Center Environm. Publ. Hlth.* 193–197 (29) (1983); zit. *Dairy Sci. Abstr.* **49**, 613 (1987).
32. *Ito, Y., Tonogai, Y., Ogawa, S., Yokoyama, T., Honda, T. and Iwaida, M.*: [Rapid simultaneous determination of benzoate and sorbate in yoghurt by use of high-performance liquid chromatography.] *Jap. J. Dairy Food Sci.* **32**, A 89-A 94 (1983).
33. *Puttemans, M. L., Branders, C., Dryon, L. and Massart, D. L.*: Extraction of organic acids by ion-pair formation with tri-n-octylamine. VI. Determination of sorbic acid, benzoic acid, and saccharin in yoghurt. *J. Ass. Off. Anal. Chem.* **68**, 80–82 (1985).
34. *Stijve, T. and Hirschenhuber, C.*: High performance liquid chromatographic determination of low levels of benzoic acid and sorbic acid in yoghurts. *Deut. Lebensm. Rdschau* **80**, 81–84 (1984).
35. *Leuenberger, U., Gauch, P. and Baumgartner, E.*: Determination of food preservatives and saccharin by high-performance liquid chromatography. *J. Chromatogr.* **173**, 343–348 (1979).
36. *Küppers, F. J. E. M. and Jans, J. A.*: Reverse-phase liquid chromatographic determination of benzoic and sorbic acids in fresh cheese. *J. Ass. Off. Anal. Chem.* **71**, 1068–1071 (1988).
37. *Stark, W., Urbach, G., Crow, J. W. and Young, B.*: Estimation of sorbic acid in cheese at the 1 ppm level. *Austr. J. Dairy Technol.* **31**, 88–91 (1976).
38. *Kurisasi J., Sasago K., Tsugo T. and Yamauchi K.*: [Formation of benzoic acid in cheese]. *J. Food Hyg. Soc. Japan* **14**, 25–30 (1973).
39. *Gieger, U.*: Benzoessäure in Sauermilcherzeugnissen und Frischkäse. HPLC-Analyse von Benzoessäure, Sorbinsäure und PHB-Estern in Lebensmitteln. *Lebensm.-chem. gerichtl. Chem.* **36**, 109–110 (1982).

40. *Richardson, R. K. and Gray, I. K.*: The levels of natural benzoic acid in casein and whey by-products. *New Zeal. J. Dairy Sci. Technol.* **16**, 179–186 (1981).
41. *Bütikofer, U., Baumann, E. und Bosset, J. O.*: Eine verbesserte HPLC-Methode zur Bestimmung von Sorbinsäure in Milchprodukten unter spezieller Berücksichtigung von Artefakten. *Mitt. Geb. Lebensm. Hyg.* **79**, 392–405 (1988).
42. *NN*: Milch, Milchpulver, Joghurt und andere gesäuerte Milch – Bestimmung des Gehalts an Benzoe- und Sorbinsäure. *Milchwissenschaft* **43**, 366–368 (1988).
43. *Bui, L. V. and Cooper, C.*: Reverse-phase liquid chromatographic determination of benzoic and sorbic acids in foods. *J. Ass. Off. Anal. Chem.* **70**, 892–896 (1987).
44. *Aitzetmüller, K. und Arzberger, E.*: Analyse von Konservierungsstoffen in fetthaltigen Lebensmitteln mittels HPLC. *Z. Lebensm. Unters.-Forsch.* **178**, 279–283 (1984).
45. *Zonneveld, H.*: Spectrophotometric estimation of benzoic and sorbic acid. *J. Sci. Food Agric.* **26**, 879–885 (1975).
46. *Ginzinger, W. und Hobenauer, W.*: Der Einsatz der Isotachophorese in der milchwirtschaftlichen Analytik. *Milchwirtsch. Ber.* 251–255 (80) (1984).
47. *Brandl, E. und Binder, E.*: Prüfung von Nachweismethoden für Zusatzstoffe unter besonderer Berücksichtigung des «Carry over effects» bei Benzoesäure in Milch und Milchprodukten. *Beiträge Umweltschutz Lebensm. Veterinärverw.* 217–275 (1) (1982).
48. *Schwendt, G. und Schwadorf, K.*: HPLC-Analytik von Konservierungsstoffen in Lebensmitteln mit Methodenvergleichen (Photometrie, GC, DC). *Deut. Lebensm. Rdsch.* **82**, 209–216 (1986).
49. *Chandan, R. C., Gordon, J. F. and Morrison, A.*: Natural benzoate content of dairy products. *Milchwissenschaft* **32**, 534–537 (1977).
50. *Sajko, W., Kisza, J. and Niedzięcki, J.*: [Benzoic acid in raw cow milk]. *Zesz. Nauk. Akad. Rolniczo-Techn. Olsztynie, Technol. Zywnosci* 61–68 (19) (1984).
51. *Karasz, A. B., Decocco, F. and Maxstadt, J.*: Gas chromatographic measurement of benzoyl peroxide (as benzoic acid) in cheese. *J. Ass. Off. Anal. Chem.* **57**, 706–709 (1974).
52. *Renterghem, R. van*: Het natuurlijke benzoezuurgehalte van yoghurt. *Belg. Arch. Soc. Geneesk. Hyg. Arbeidsgen. Ger. Geneesk.* **40**, 530–538 (1982).
53. *Kisza, J., Sajko, W., Sadowska, D. and Tyszkiewicz, K.*: [Benzoic acid in dairy starters and cultured milk beverages.] *Zesz. Nauk. Akad. Roln. Techn. Olsztynie Techn. Zywnosci* 69–77 (19) (1984).
54. *Obentraut, S.*: Der natürliche Benzoesäuregehalt in österreichischen Sauermilchprodukten. *Milchwirt. Ber.* 187–189 (72) (1982).
55. *Obentraut, S., Binder, E. und Brandl, E.*: Benzoesäure in fermentierten Milchprodukten. *Wien. tierärztl. Mschr.* **70**, 276–282 (1983).
56. *Ito, Y., Suzuki, H., Ogawa, S. and Iwaida, M.*: Separative determination of free and combined benzoates in cheese. *XXI Int. Dairy Congr.* **1**, 398–399 (1982).
57. *Barbosa, M.*: Determination of benzoic acid as a metabolic product in yoghurt. *XXI Int. Dairy Congr.* **1**, 277–278 (1982).
58. *Müller, U.*: Jahresbericht 1988, S. 34–37. Kantonales Laboratorium, Bern 1989.
59. *FAM*: unveröffentlichte Resultate (1989).
60. *Renterghem, R. van et Waes, G.*: Recherche relative à la teneur en acide sorbique et en acide benzoïque et à la présence de moisissures et de levures dans le fromage frais. *Revue l'Agricult.* **40**, 141–147 (1987).
61. *Överström, H., Reigo, J. and Borgström, S.*: Preliminary study concerning formation of benzoic acid in cheese. *Milchwissenschaft* **27**, 705–707 (1972).

62. *Kuzdzal-Savoie, S., Kuzdzal, W., Losi, G. e Goto, K.*: Riconoscimento degli acidi benzoico, fenilacetico (α -toluico) e fenil-propionico (idrocinnamico) presenti negli acidi grassi liberi del Munster e del Livarot. *Sci. Tecn. Alim.* **3**, 229–233 (1983).
63. *Toyoda, M., Ito, Y. und Iwaida, M.*: Inspektionssystem importierter Lebensmittel in Japan und das Problem der Benzoesäure im Käse. *Deut. Molk. Ztg.* **101**, 390–391 (1980).
64. *Ito, A., Tonogai Y., Toyoda M., Ogawa S., Yodoshi M., Iwaida M.*: Results of the chemical inspections of imported foods, utensils, container-packages and toys in Osaka branch from April in 1977 till March in 1978. *Bull. Nat. Inst. Hyg. Sci.* **97**, 166–169 (1979).
65. *Luf, W. und Brandl, E.*: Der originäre Gehalt an Benzoesäure in Schmelzkäse. *Öst. Milchwirt.* **41**, 43–46 (Wiss. Beilage 4) (1986).
66. *Toppino, P. M., Contarini, G., Degano, L., Battistotti, B. e Brambilla, E.*: Studio delle metodiche di determinazione dell'acido benzoico nei prodotti lattiero-caseari. *Sci. tecn. latt. cas.* **38**, 397–407 (1987).
67. *Toppino, P. M., Contarini, G. e Degano, L.*: Valutazione quantitativa di formalina, acido benzoico e lisozima nel Provolone. *Sci. tecn. latt. cas.* **38**, 538–546 (1987).
68. *Miyamoto, F. and Sacki, M.*: [Sorbic acid and benzoic acid in meat products made without preservatives]. *J. Jap. Soc. Food Sci. Technol.* **33**, 434–440 (1986); *zit. Food Sci. Technol. Abstr.* **19**, 138 (11) (1987).
69. *Hatanaka, H. and Kaneda, Y.*: [Food hygienic investigation on Japanese apricot extract.] *J. Food Hyg. Soc. Japan* **26**, 350–356 (1985).
70. *Jarczyński, R. und Kiermeier, F.*: Über das Vorkommen von Paraoxybenzoesäure als natürliches Reifungsprodukt in Käse. *Z. Lebensm. Unters. -Forsch.* **100**, 195–200 (1955).
71. *Kiermeier, F. und Jarczyński, R.*: Über die quantitative Bestimmung von p-Hydroxybenzoesäure in Käse. *Z. Lebensm. Unters. -Forsch.* **113**, 370–374 (1960).
72. *Schmidtlein, H. und Herrmann, K.*: Über die Phenolsäuren des Gemüses. IV. Hydroxizimtsäuren und Hydroxybenzoesäuren weiterer Gemüsearten und der Kartoffeln. *Z. Lebensm. Unters. -Forsch.* **159**, 255–263 (1975).
73. *Schulz, J. M. und Herrmann, K.*: Über das Vorkommen von Hydroxybenzoesäuren und Hydroxizimtsäuren in Gewürzen. IV. Über Gewürzphenole. *Z. Lebensm. Unters. -Forsch.* **171**, 193–199 (1980).
74. *Schulz, J. M. und Herrmann, K.*: Über das Vorkommen von Hydroxybenzoesäuren in Senfsaat. VI. Über Gewürzphenole. *Z. Lebensm. Unters. -Forsch.* **172**, 253–256 (1980).
75. *Schuster, B. und Herrmann, K.*: Bildung von Hydroxybenzoesäure aus Flavonoiden bei enzymatischen alkalischen Hydrolysen. *Z. Lebensm. Unters. -Forsch.* **181**, 467–469 (1985).
76. *Klick, S. und Herrmann, K.*: Bestimmung von Hydroxybenzoesäure-Verbindungen in Gewürzen und weiteren pflanzlichen Lebensmitteln. *Z. Lebensm. Unters. -Forsch.* **187**, 444–450 (1988).
77. *Toyoda, M., Ito, Y., Isshiki, K., Onishi, K., Kato, T., Kamikura, M., Shiroishi, Y., Harada, Y., Fukasawa, Y., Yokoyama, T., Yoneda, M., Hirayama, Y. und Iwaida, M.*: [Daily intake of preservatives, benzoic acid, dehydroacetic acid, propionic acid and their salts, and esters of p-hydroxybenzoic acid in Japan]. *J. Jap. Soc. Nutr. Food Sci.* **36**, 467–480 (1983).
78. *Dokkum, W. van, Vos, R. H. de, Cloughley, F. A., Hulshof, K. F. A. M., Dukel, F. und Wijsman, J. A.*: Food additives and food components in total diets in The Netherlands. *Br. J. Nutr.* **48**, 223–231 (1982).
79. *Penttilä, P.-L., Salminen, S. und Niemi, E.*: Estimation of the intake of food additives in Finland. *Z. Lebensm. Unters. -Forsch.* **186**, 11–15 (1988).

80. *Schubiger, G. F. et Avigdor, T.*: L'importance des additifs alimentaires. In: Aebi, H., Blumenthal, A., Bohren-Hoerni, M., Brubacher, G., Frey, U., Müller, H.-R., Ritzel, G. und Stransky, M.: Zweiter Schweizerischer Ernährungsbericht, S. 104—121. Verlag H. Huber, Bern 1984.
81. *Toyoda, M., Ito, Y., Isshiki, K., Onishi, K., Kato, T., Kamikura, M., Shiroishi, Y., Harada, Y., Fukasawa, Y., Yokoyama, T., Yoneda, M., Hirayama, Y., Yamamoto, Y., Fujii, M. and Iwida, M.*: [Estimation of daily intake of many kinds of food additives according to the market basket studies in Japan]. *J. Jap. Soc. Nutr. Food Sci.* **36**, 489—497 (1983).