

The MAK Collection for Occupational Health and Safety

Zitronensäure und ihre Alkalosalze

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: Zitronensäure; Alkalosalze; MAK-Wert; maximale Arbeitsplatzkonzentration; Spitzenbegrenzung; Reizwirkung; Toxizität; Entwicklungstoxizität

Citation Note: Hartwig A, MAK Commission. Zitronensäure und ihre Alkalosalze. MAK-Begründung, Nachtrag. MAK Collect Occup Health Saf [Original-Ausgabe. Weinheim: Wiley-VCH; 2018 Apr;3(2):846-859]. Korrigierte Neuveröffentlichung ohne inhaltliche Bearbeitung. Düsseldorf: German Medical Science; 2025. https://doi.org/10.34865/mb7792kskd0065_w

Neuveröffentlichung (Online): 12 Dez 2025

Vormals erschienen bei Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA; <https://doi.org/10.1002/3527600418.mb7792kskd0065>

Addendum abgeschlossen: 22 Mrz 2017

Erstveröffentlichung (Online): 24 Apr 2018

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



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

Citric acid and its alkali metal salts¹⁾ / 2-Hydroxypropane-1,2,3-tricarboxylic acid and its alkali metal salts

[Zitronensäure und ihre Alkalosalze]

MAK Value Documentation in German language

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

DOI: 10.1002/3527600418.mb7792kskd0065

Abstract

The German Commission for the Investigation of Health Hazards of Chemical Compounds in the Work Area has re-evaluated citric acid [77-92-9] and its alkali metal salts, considering all toxicological endpoints. The critical effect of citric acid is the irritation of the respiratory tract with an acute LOAEC of 225 mg/m³ in humans and 81 mg/m³ in guinea pigs. At this concentration coughing is induced due to the lowering of the pH value. The NOAEC in guinea pigs is 31 mg/m³, the corresponding NOAEC in humans is not known. Studies with repeated inhalation are not available. Therefore, the maximum concentration at the workplace (MAK value) has been set by analogy with the MAK value for phosphoric acid of 2 mg/m³ as inhalable fraction. Since a local effect is critical, Peak Limitation Category I is designated. The excursion factor of 2 is set by analogy with phosphoric acid. The alkali metal salts of citric acid are not irritating, which precludes setting the same MAK value for the salts as for citric acid. However, a higher MAK value cannot be established because the systemic NOAEL is unclear. Therefore, no MAK value can be set for the alkali metal salts of citric acid. The oral NOAEL for developmental toxicity in rats, mice, rabbits and hamsters is higher than 200 mg citric acid/kg body weight, which after toxicokinetic scaling corresponds to more than 200 mg/m³ at the workplace. Therefore, damage to the embryo or foetus is unlikely when the MAK value is observed and citric acid is assigned to Pregnancy Risk Group C. Citric acid does not possess a relevant genotoxic potential in vivo. The same is assumed for its alkali metal salts. There are no valid carcinogenicity studies with citric acid. A tumour promoting effect of sodium citrate but not citric acid in the rat urinary bladder is due to excessively high sodium concentration in the urine and is therefore not relevant for humans at the workplace. According to skin absorption models, percutaneous absorption of citric acid does not contribute significantly to systemic toxicity. The same is assumed for its alkali metal salts. Citric acid and its alkali metal salts are not sensitizing to skin or airways.

Keywords

Zitronensäure; Natriumdihydrogenzitrat; Dinatriumhydrogenzitrat; Trinatriumzitrat; Kaliumdihydrogenzitrat; Dikaliumhydrogenzitrat; Trikaliumzitrat; 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 MAK value of citric acid (2 mg/m³) protects from irritation, a higher value for alkali metal salts cannot be set.

Zitronensäure und ihre Alkalosalze

Zitronensäure [77-92-9]

Natriumdihydrogenzitrat [18996-35-5]

Dinatriumhydrogenzitrat [144-33-2]

Trinatriumzitrat [68-04-2]

Kaliumdihydrogenzitrat [866-83-1]

Dikaliumhydrogenzitrat [3609-96-9]

Trikaliumzitrat [866-84-2]

Nachtrag 2018

MAK-Wert (2017)

Zitronensäure: 2 mg/m³ E
Alkalosalze: nicht festgelegt, vgl.
Abschn. II b der MAK- und BAT-Werte-
Liste¹

Spitzenbegrenzung (2017)

Zitronensäure: Kategorie I,
Überschreitungsfaktor 2
Alkalosalze: –

Hautresorption

–

Sensibilisierende Wirkung

–

Krebserzeugende Wirkung

–

Fruchtschädigende Wirkung (2017)

Zitronensäure: Gruppe C
Alkalosalze: –

Keimzellmutagene Wirkung

–

BAT-Wert

–

Dampfdruck bei 25 °C

Zitronensäure: $7,3 \times 10^{-9}$ hPa (ber.; OECD 2001)
 Alkalosalze: k. A.

log K_{OW} bei 20 °C

– 1,72 bei 20 °C (OECD 2001)
 Alkalosalze: k. A.

1) Der MAK-Wert für Zitronensäure (2 mg/m³) schützt vor Reizwirkung, ein höherer Wert für Alkalosalze ist nicht zu begründen.

Löslichkeit	Zitronensäure: 600 g/l Wasser (Begründung 1998); 576–771 g/l Wasser (OECD 2001) Natriumdihydrogenzitrat: 135 g/l Wasser (ECHA 2016 b) Trinatriumzitrat: 425 g/l Wasser (ECHA 2016 c) Trikaliumzitrat: 606 g/l Wasser (ECHA 2016 d)
pKa-Werte bei 25 °C	3,13; 4,76 und 6,4 (ECHA 2016 a)
pH-Wert	Zitronensäure: 1,8 bei 50 g/l Wasser (OECD 2001) Natriumdihydrogenzitrat: 3,8 bei 1 % in Wasser (ECHA 2016 b) Trinatriumzitrat: 8,4 bei 5 % in Wasser (ECHA 2016 c) Trikaliumzitrat: 8,7 bei 5 % in Wasser (ECHA 2016 d)

Zu Zitronensäure liegt eine Begründung von 1998 vor, in der mangels Daten zur Toxizität nach wiederholter Inhalation kein MAK-Wert abgeleitet werden konnte. In Kühlschmierstoffkonzentraten werden maximal 2 % vor allem als Salze mit Alkali- und Erdalkalimetallen und Aminen eingesetzt („Komponenten von Kühlschmierstoffen, Hydraulikflüssigkeiten und anderen Schmierstoffen“ 2014).

Die Bewertung stützt sich zum Teil auf die Registrierungsdaten der Zitronensäure und ihrer Alkalosalze nach REACH (ECHA 2016 a, b, c, d). Für Dinatriumhydrogenzitrat, Kaliumdihydrogenzitrat und Dikaliumhydrogenzitrat gibt es Stand 2017 keine Registrierungsdaten. Mit Trikaliumzitrat wurden keine toxikologischen Untersuchungen durchgeführt.

1 Allgemeiner Wirkungscharakter

Unverdünnte Zitronensäure ist am Kaninchenauge ätzend und nur schwach hautreizend.

Bei Probanden führt eine einmalige Exposition gegen 225 mg Zitronensäure/m³ zur Auslösung von Hustenreiz. Bei Meerschweinchen ist die entsprechende LOAEC 81 mg/m³.

Die systemische Toxizität ist gering. Ab etwa 600 mg/kg KG und Tag werden hämatologische und klinisch-chemische Effekte bei verschiedenen Tierspezies beschrieben.

Zitronensäure ist nicht hautsensibilisierend beim Menschen.

In Studien zur Entwicklungstoxizität an Ratten, Kaninchen, Hamstern und Mäusen kommt es nur bei Ratten bei der höchsten Dosis von 295 mg Zitronensäure/kg KG und Tag zu inkomplettem Schädelschluss, einer reversiblen Retardierung.

Zitronensäure ist in einigen In-vitro-Untersuchungen bei zum Teil toxischen Konzentrationen klastogen, jedoch nicht *in vivo* im Chromosomenaberrationstest und im Dominant-Letal-Test an Ratten. Valide Studien zur Kanzerogenität liegen nicht vor.

Die Alkalosalze der Zitronensäure sind nicht reizend am Kaninchenauge und an der Kaninchenhaut. Die systemische Toxizität ist nicht untersucht, kann jedoch so wie bei Zitronensäure als gering angenommen werden. Eine tumorpromovierende Wirkung von Natriumzitrat an der Harnblase von Ratten ist auf die unphysiologisch hohe Konzentration von Natrium im Urin zurückgeführt worden. Natriumdihydrogenzitrat und Trinatriumzitrat sind nicht hautsensibilisierend.

2 Wirkungsmechanismus

Für die lokale Toxizität der Zitronensäure am Auge und an den Atemwegen ist die pH-Wert-Absenkung durch die Säurewirkung verantwortlich, da die weniger sauren bzw. neutralen Natriumsalze weder atemwegs- noch augenreizend sind. Zitronensäure kann die Metallothiostase durch Komplexierung beeinflussen (Begründung 1998).

3 Toxikokinetik und Metabolismus

Zitronensäure ist ein Zwischenprodukt im Zitronensäure- oder Krebs-Zyklus im Stoffwechsel beim Menschen (geschätzt ca. 100–2000 g/Tag). Sie ist ein natürlicher Nahrungsmittelbestandteil und einer der am meisten verwendeten Lebensmittelzusatzstoffe. Die durchschnittliche tägliche Aufnahme von Zitronensäure oder ihren Salzen aus natürlichen Quellen und als Lebensmittelzusatzstoff kann 400 mg/kg KG und Tag überschreiten. Die physiologische Konzentration von Zitrat beträgt bei Erwachsenen mittleren Alters 9–25 mg/l Plasma (Begründung 1998).

Zur inhalativen Resorption liegen keine Daten vor.

Nach 5 Stunden waren von Albino-Ratten etwa 90 % einer per Schlundsonde gegebenen Dosis von 1000 mg Zitronensäure/kg KG resorbiert (Kuether und Smith 1941). Damit kann auf eine vollständige orale Resorption innerhalb von 24 Stunden geschlossen werden.

Für eine gesättigte wässrige Lösung berechnen sich mit den Modellen von Fiserova-Bergerova et al. (1990), Guy und Potts (1993) sowie Wilschut et al. (1995) Fluxe von 76, 4 bzw. 15 µg/cm² und Stunde für die dermale Resorption von Zitronensäure. Unter der Annahme einer einstündigen Exposition von 2000 cm² Hautoberfläche würde dies Aufnahmemengen von 152, 8 bzw. 30 mg entsprechen.

Für die Alkalosalze gibt es keine eigenen $\log K_{\text{OW}}$ -Werte. Berechnungen mit den obigen Modellen sind daher nicht möglich. Es wird angenommen, dass die Hautpenetration ähnlich der von Zitronensäure ist.

Die Ausscheidung von Zitronensäure (k.w.A.) betrug bei 82 Erwachsenen 80–1690 mg pro Tag. Die Referenzwerte für die Ausscheidung von Zitronensäure mit dem 24-Stunden-Urin liegen zwischen 290 und 710 mg (OECD 2001).

4 Erfahrungen beim Menschen

Zitronensäureaerosole lösen Hustenreiz aus und werden verwendet, um Antitussiva auf ihre Wirksamkeit zu prüfen. Hierzu gibt es viele Studien, in denen aber zumeist nicht die Konzentration von Zitronensäure in der Luft gemessen, sondern lediglich die Konzentration in der wässrigen Phase angegeben wurde, aus der das Aerosol generiert wurde.

Probanden atmeten dreimal pro Konzentration ein Zitronensäureaerosol in aufsteigenden Konzentrationen mit Atemraten von 50, 100 oder 150 l/min ein. Die Probanden tolerierten bei 50 l/min eine Konzentration der Lösung von 21 mg/l und insgesamt eine kumulative Menge von 5,2 mg Zitronensäure, bis es zu Husten kam (Barros et al. 1990; Begründung 1998). Die Konzentration von Zitronensäure in der Luft ist nicht angegeben.

In einer anderen Studie an Probanden mit einem Aerosol aus 25%iger wässriger Zitronensäure löste eine Konzentration von 0,045 mg Zitronensäure in 200 ml Luft bei einmaliger Inhalation Hustenreiz aus. Dem entsprechen 225 mg/m³ (Bickerman et al. 1956; Begründung 1998).

Schwere Augenschäden entstanden, als einem Mann eine gesättigte Lösung von Zitronensäure in das Auge spritzte (OECD 2001).

Tägliche orale Dosen bis 15 g Kalium- und Natriumzitrat wurden bei der Behandlung von Patienten mit Nierensteinen ohne deutliche Nebenwirkungen eingesetzt (OECD 2001).

Bei Männern, die 4 Tage lang täglich 60 ml einer wässrigen Lösung, die 100 mg Natriumzitrat pro ml enthielt (86 mg Natriumzitrat/kg KG und Tag bei 70 kg KG), oral zu sich nahmen, war der Urin alkalischer, und es wurde mehr Natrium, aber weniger Magnesium und Kalium ausgeschieden (OECD 2001).

Bereits in der Begründung 1998 wurde aus den vorliegenden Untersuchungen am Menschen geschlossen, dass Zitronensäure nicht haut- oder atemwegssensibilisierend ist.

5 Tierexperimentelle Befunde und In-vitro-Untersuchungen

5.1 Akute Toxizität

5.1.1 Inhalative Aufnahme

Husten wurde bei Meerschweinchen ausgelöst, die 30 Minuten lang einem Zitronensäure-Aerosol in einer Konzentration von 81 mg Zitronensäure/m³ inhalativ ausgesetzt waren. Die NOAEC war 31 mg/m³ (Begründung 1998).

Die 10-minütige Exposition gegenüber Aerosolen einer 0,5 M Natriumzitrat-Lösung (pH-Wert 8,53) bewirkte im Gegensatz zu gleich hoch konzentrierter Zitronensäure (pH-Wert 1,07; massenmedianer aerodynamischer Durchmesser jeweils 0,9 µm) keinen Hustenreiz bei Meerschweinchen. Für die Reizwirkung ist somit die Säure und nicht das Anion maßgebend (Lalloo et al. 1995; Begründung 1998).

5.1.2 Orale Aufnahme

Hierzu liegen keine neuen Daten vor.

5.1.3 Dermale Aufnahme

Hierzu liegen weiterhin keine Daten vor.

5.2 Subakute, subchronische und chronische Toxizität

5.2.1 Inhalative Aufnahme

Hierzu liegen weiterhin keine Daten vor.

5.2.2 Orale Aufnahme

Die wesentlichen Studien sind bereits in der Begründung 1998 dargestellt. Sie entsprechen nicht dem Standard heutiger Prüfrichtlinien.

In einer 2-Jahre-Studie mit männlichen Ratten verursachte 5 % Zitronensäure im Futter (aus Angaben der Autoren berechnet: 2000 mg/kg KG und Tag) leicht verminderte Futteraufnahme und vermindertes Wachstum, aber keine Gewebeveränderungen der 11 untersuchten Organe. Eine Konzentration von 3 % Zitronensäure (1200 mg/kg KG) war der NOAEL (Horn et al. 1957).

Ab 670 mg/kg KG und Tag war bei 60-tägiger Applikation an Meerschweinchen der Hämatokritwert vermindert. In einer 29-wöchigen Ein-Generationenfutterungsstudie an Ratten waren bei 600 mg/kg KG und Tag die Natriumgehalte der Leber und die Phosphorgehalte des Muskels verringert. Bei höheren Dosen war auch die Homöostase von Calcium und Zink verändert (Begründung 1998).

Insgesamt wurde kein eindeutiger NOAEL erhalten. Der LOAEL für systemische Wirkung beträgt bei Ratten 600 mg/kg KG und Tag.

5.2.3 Dermale Aufnahme

Hierzu liegen weiterhin keine Daten vor.

5.3 Wirkung auf Haut und Schleimhäute

5.3.1 Haut

Zitronensäure ist an der Kaninchenhaut nicht oder schwach reizend (Begründung 1998; ECHA 2016 a).

Natriumdihydrogenzitrat war in einer Studie nach OECD-Prüfrichtlinie 404 an 3 Kaninchen mit einem Reizwert von 0 von maximal 8 nicht hautreizend (ECHA 2016 b).

In einer Studie nach OECD-Prüfrichtlinie 404 war Trinatriumzitrat an 3 Kaninchen mit einem Reizwert von 0,11 von maximal 8 nicht hautreizend (ECHA 2016 c).

Ein weiterer Test mit Trinatriumzitrat nach OECD-Prüfrichtlinie 404 an 6 Kaninchen ergab einen primären Reizindex von 0 (ECHA 2016 c).

Für Trikaliumzitrat gibt es keine eigenen Daten zur Hautreizwirkung (ECHA 2016 d).

Es wird angenommen, dass alle Alkalizitate nicht hautreizend sind.

5.3.2 Auge

Am ungespülten Kaninchenauge erzeugte die wasserfreie Zitronensäure in Kristallform schwere Irritationen oder Verätzungen (Begründung 1998).

Unverdünntes Natriumdihydrogenzitrat war in einer Studie nach OECD-Prüfrichtlinie 405 am Kaninchenauge nicht reizend (ECHA 2016 b).

Auch unverdünntes Trinatriumzitrat war in 2 Studien nach OECD-Prüfrichtlinie 405 am Kaninchenauge nicht reizend (ECHA 2016 c).

Für Trikaliumzitrat gibt es keine eigenen Daten zur Augenreizwirkung (ECHA 2016 d).

Es wird angenommen, dass alle Alkalizitate nicht augenreizend sind.

5.4 Allergene Wirkung

5.4.1 Hautsensibilisierende Wirkung

In einem Maximierungstest mit 20 männlichen Meerschweinchen nach OECD-Prüfrichtlinie 406 wurde Natriumdihydrogenzitrat in 5%iger Konzentration für die intradermale, in 75%iger Konzentration für die topische Induktionsbehandlung sowie in 25%--, 50%- und 75%iger Konzentration für die Auslösebehandlung getestet. Als Vehikel für alle Applikationen diente Wasser. Einen Tag vor der topischen Induktionsbehandlung erfolgte eine offene Behandlung mit einer 10%igen Zubereitung von Natriumdodecylsulfat in Vaseline. Bei der Auslösebehandlung zeigte keines der Tiere nach 24 oder 48 Stunden eine Reaktion auf eine der 3 Testzubereitungen (ECHA 2016 b).

In einem Maximierungstest mit 20 männlichen Meerschweinchen nach OECD-Prüfrichtlinie 406 wurde Trinatriumzitrat in 5%iger Konzentration für die intradermale, in 75%iger Konzentration für die topische Induktionsbehandlung sowie in 25%- 50%- und 75%iger Konzentration für die Auslösebehandlung getestet. Als Vehikel für alle Applikationen diente Wasser. Einen Tag vor der topischen Induktionsbehandlung erfolgte eine offene Behandlung mit einer 10%igen Zubereitung von Natriumdodecylsulfat in Vaseline. Bei der Auslösebehandlung zeigte keines der Tiere nach 24 oder 48 Stunden eine Reaktion auf eine der 3 Testzubereitungen (ECHA 2016 c).

5.4.2 Atemwegssensibilisierende Wirkung

Hierzu liegen keine Daten vor.

5.5 Reproduktionstoxizität

5.5.1 Fertilität

In Ein-Generationenstudien war nach Gabe im Futter bis zu den höchsten getesteten Dosen von 1200 mg Zitronensäure/kg KG und Tag bei Ratten und 600 mg/kg KG und Tag bei Mäusen keine Beeinflussung der Fertilität zu erkennen (Begründung 1998).

5.5.2 Entwicklungstoxizität

In Studienberichten aus dem Jahr 1973 werden Tests zur Entwicklungstoxizität von Zitronensäure an Hamstern, Mäusen, Ratten und Kaninchen beschrieben, die im Auftrag der US-amerikanischen Food and Drug Administration durchgeführt wurden. Maternaltoxizität wurde in Form des Futterverbrauchs, des Körpergewichts bzw. der Mortalität erfasst. Untersucht wurden die Zahl der Implantationsstellen, der Resorptionen, der lebenden und toten Feten. Die Feten wurden hinsichtlich Gewicht, Geschlecht, Mortalität sowie äußerlicher, skelettaler (2/3 der Feten) und viszeraler (1/3 der Feten) Anomalien untersucht. Bei den Kaninchen wurden alle Feten hinsichtlich äußerlicher sowie skelettaler und viszeraler Auffälligkeiten begutachtet. Die Negativkontrollen erhielten das Vehikel (k. A.). Die Kontroll-Mäuse wurden scheinbehandelt.

Je 22–25 verpaarte Wistar-Ratten erhielten täglich vom 6. bis zum 15. Tag der Gestation per Schlundsonde 0; 2,95; 13,7; 63,6 oder 295 mg Zitronensäure/kg KG. Am 20. Tag erfolgte die Schnittentbindung. In der Hochdosisgruppe zeigte sich bei den Feten eine erhöhte Inzidenz an inkomplettem Schädelschluss (Kontrolle: 27/153 (18 %); 295 mg/kg KG: 56/167 (34 %)).

Je 13–18 künstlich besamte Dutch-belted-Kaninchen erhielten täglich vom 6. bis zum 18. Tag der Gestation per Schlundsonde 0; 4,25; 19,75; 91,7 oder 425 mg Zitronensäure/kg KG. Die Schnittentbindung wurde am 29. Tag vorgenommen. In der Hochdosisgruppe trat bei den Feten eine erhöhte Inzidenz von inkompletter

Ossifikation des Brustbeins (Sternebrae) (Kontrolle: 1/43 (2 %), 425 mg/kg KG: 5/54 (9 %)) auf.

Je 24–28 verpaarte CD1-Mäuse erhielten täglich vom 6. bis zum 15. Tag der Gestation per Schlundsonde 0; 2,41; 11,2; 52 oder 241 mg Zitronensäure/kg KG. Am 17. Tag erfolgte die Schnittentbindung. In der Hochdosisgruppe war bei den Feten die Inzidenz an verkleinertem Zungenbein (Kontrolle: 18/154 (12 %), 241 mg/kg KG: 33/186 (18 %)) erhöht.

Je 25–29 verpaarte Goldhamster erhielten täglich vom 6. bis zum 10. Tag der Gestation per Schlundsonde 0; 2,72; 12,6; 58,7 oder 272 mg Zitronensäure/kg KG. Am 14. Tag erfolgte die Schnittentbindung. Es traten keine behandlungsbedingten Befunde bei den Feten auf.

Bei keiner der Studien traten Maternaltoxizität und Missbildungen auf. Die Daten wurden nicht statistisch ausgewertet (FDA 1973). Die nachträgliche statistische Auswertung mit dem Chi-Quadrat-Test auf dem Signifikanzniveau 0,05 (einseitig) ergab nur für den inkompletten Schädelchluss bei Wistar-Ratten eine statistische Signifikanz.

Der inkomplette Schädelchluss ohne weitere entwicklungstoxische Effekte ist als ein Indiz für eine generelle reversible Retardierung anzusehen, da am Ende der Gestation die Ossifikation des Schädels sehr variabel und rasch stattfindet, in wenigen Stunden in Abhängigkeit des genauen Präparationszeitpunktes zu unterschiedlichen Beurteilungen führen kann und in der weiteren postnatalen Entwicklung ohne Auswirkungen bleibt (Carney und Kimmel 2007). Die Kommission sieht den Befund bei der höchsten Dosis bei der Ratte als reversible Retardierung und nicht als advers an. Somit ergeben sich NOAEL für Entwicklungstoxizität für Ratte, Kaninchen, Maus und Hamster von 295, 425, 241 und 272 mg/kg KG und Tag.

5.6 Genotoxizität

5.6.1 In vitro

Zitronensäure war bis 5 mg/Platte nicht mutagen im Salmonella-Mutagenitätstest und bis 1 mg/ml nicht klastogen an Lungenfibroblasten des Chinesischen Hamsters (Ishidate et al. 1984 in Begründung 1998).

Im Comet-Assay an Humanlymphozyten wurden mit Zitronensäure bei der höchsten nicht toxischen Konzentration von 200 µg/ml DNA-Strangbrüche induziert. 3000 µg/ml waren zytotoxisch (Yilmaz et al. 2014).

Zitronensäure wurde in Tests auf Schwesterchromatidaustausche und Chromosomenaberrationen mit humanen peripheren Lymphozyten von zwei nichtrauchenden Spendern in Konzentrationen von 0, 50, 100, 200 oder 3000 µg/ml getestet. Nach 24 bzw. 48 Stunden Behandlung wurden ab 100 bzw. 50 µg/ml Schwesterchromatidaustausche induziert, die bei 200 µg/ml zweimal so hoch waren wie die der Kontrolle. Nach 24-stündiger Inkubation war der Prozentsatz an aberranten Lymphozyten konzentrationsabhängig und statistisch signifikant erhöht: Kontrolle $2,50 \pm 0,70\%$, 50 µg/ml $12,50 \pm 2,34\%$, 100 µg/ml $19,00 \pm 2,77\%$, 200 µg/ml $20,00 \pm 2,83\%$. Nach 48-stündiger Inkubation wurden bei jeder Konzentration ca. 19 % aberrante Lymphozyten gefunden, der Kontrollwert war 2 %. Es traten so-

wohl strukturelle als auch numerische Aberrationen auf. Der Mitose-Index war bei jeder Konzentration gleichzeitig signifikant reduziert. Die Konzentration von 3000 µg/ml wirkte toxisch, es waren bei beiden Zeitpunkten keine auswertbaren Metaphasen vorhanden (Yilmaz et al. 2008). Der Großteil der Aberrationen bestand aus Schwesterchromatid-Vereinigungen, die normalerweise nicht berichtet werden (ECHA 2016 a). Aber auch die Häufigkeit von anderen strukturellen Aberrationen war erhöht, wenngleich eine statistische Auswertung hierfür nicht erfolgte. Allerdings wurden SCE und chromosomal Aberrationen nur bei gleichzeitig signifikant reduzierten Mitose-Indices festgestellt, so dass klastogene Effekte nur bei zytotoxischen Dosierungen auftraten.

Mit den gleichen Spenderlymphozyten und Konzentrationen wurde Zitronensäure in einem Mikronukleustest ähnlich wie OECD-Prüfrichtlinie 487 getestet. Die Lymphozyten wurden insgesamt 72 Stunden kultiviert und 24 Stunden nach Beginn 48 Stunden lang im Medium gegen Zitronensäure exponiert, der Zytokinese-Hemmer Cytochalasin 44 Stunden nach Beginn zugesetzt und die Mikronuklei nach 72 Stunden ausgewertet. Konzentrationen ab 50 µg/ml führten zu einer konzentrationsabhängigen statistisch signifikanten Zunahme des Anteils an zweikernigen Lymphozyten mit Mikronuklei: Kontrolle $0,3 \pm 0,12\%$, 50 µg/ml $1,65 \pm 0,28\%$, 100 µg/ml $2,35 \pm 0,34\%$, 200 µg/ml $2,60 \pm 0,36\%$. Die höchste Konzentration von 3000 µg/ml wirkte toxisch. Der pH-Wert des Mediums war durch die verwendeten Zitronensäurekonzentrationen nicht verändert. Als Maß für die Zellproliferation wurde der CBPI (cytokinesis-block-proliferation-index) bestimmt. Der CBPI war nicht signifikant reduziert (Yilmaz et al. 2008).

5.6.2 In vivo

Zitronensäure wurde im Test auf Chromosomenaberrationen in Knochenmarkszellen an je 5 männlichen Sprague-Dawley-Ratten pro Dosis und Untersuchungszeitpunkt getestet. In diesem Test aus dem Jahr 1975 wurden abweichend von der OECD-Prüfrichtlinie 475 nur 50 Zellen ausgewertet. Die Ratten erhielten entweder eine einmalige Dosis von 0, 1,2; 12; 120; 500 oder 3500 mg/kg KG oder an 5 aufeinanderfolgenden Tagen 0, 1,2; 12 oder 120 mg/kg KG und Tag per Schlundsonde. Bei 3500 mg/kg KG enthielten 6 Stunden nach der Gabe 29 % der Zellen Chromosomenaberrationen, die der Negativkontrolle 0 %. Bei der Auswertung 24 und 48 Stunden nach der Substanzgabe waren keine aberranten Zellen zu sehen. Der Mitoseindex war im Vergleich zur Negativkontrolle nicht verändert. Die Positivkontrolle Triethylenmelamin war wirksam. Zitronensäure wurde von den Registranten nicht als klastogen bewertet (ECHA 2016 a). Bei der Beschreibung der Studie durch den Registranten fehlt die detaillierte Zahl der chromosomalen Aberrationen, aufgeschlüsselt nach den einzelnen Typen und pro Tier. Die Studie liegt nicht im Original vor. Eine Beurteilung des Tests kann nur auf der Grundlage der Daten, die bei ECHA durch den Registranten eingereicht wurden, erfolgen. Da es sich nach 6 Stunden bei dem prozentualen Anteil an Zellen mit chromosomal Aberrationen um ein singuläres Ergebnis ohne eine Bestätigung handelt, wird das Ergebnis als zufällig angesehen. Zudem überschreitet die Dosierung von 3500 mg/kg KG und Tag die

empfohlene maximale Dosis von 2000 mg/kg KG und Tag. Insgesamt wird der Test auf chromosomale Aberrationen als negativ gewertet.

Mit den gleichen Dosierungen wurde ein Dominant-Letal-Test an 10 männlichen Sprague-Dawley-Ratten pro Dosis durchgeführt. Die Ratten erhielten entweder eine einmalige Dosis von 0, 1,2; 12; 120; 500 oder 3500 mg/kg KG oder an 5 aufeinanderfolgenden Tagen 1,2; 12 oder 120 mg/kg KG und Tag per Schlundsonde. Der bei wiederholter Gabe von 1,2 und 12 mg/kg KG beobachtete erhöhte Präimplantationsverlust bei Verpaarung 4 Wochen p.a. war bei 120 mg/kg KG und den höheren einmalig gegebenen Dosen nicht zu sehen. Die Zahl an toten Implantaten war nicht erhöht, so dass das Ergebnis insgesamt von den Registranten als negativ gewertet wurde. Die Positiv-Kontrolle Triethylenmelamin war wirksam (ECHA 2016 a). Die Studie liegt nicht im Original vor. Eine Beurteilung des Tests kann nur auf der Grundlage der Daten, die bei ECHA durch den Registranten eingereicht wurden, erfolgen. Anhand der dort dargestellten Ergebnisse wird der Test als negativ bewertet.

5.7 Kanzerogenität

Insgesamt zeigen die vorliegenden Untersuchungen zur Wirkung von Natriumzitrat und Zitronensäure auf die Harnblase der Ratte, dass Natriumzitrat, wenn es in großen Mengen oral aufgenommen wird, eine tumorpromovierende Wirkung besitzt. Ursache ist offenbar eine Stimulierung der DNA-Synthese der Harnblasenepithelzellen, zu der es als Folge der Erhöhung der Natriumkonzentration bzw. des pH-Wertes des Urins der Tiere kommt (Begründung 1998).

6 Bewertung

Kritischer Effekt ist die lokale Reizwirkung von Zitronensäure am Atemtrakt. Für systemische Wirkungen wurde in einer 29-wöchigen Fütterungsstudie ein LOAEL von 600 mg/kg KG an Ratten erhalten.

MAK-Wert. Zitronensäure: Bei Probanden führte eine einmalige Exposition gegen Aerosole, die 225 mg Zitronensäure/m³ enthielten, zur Auslösung von Hustenreiz. Aus den beim Menschen erhobenen Hustenreizschwellen lässt sich jedoch kein MAK-Wert ableiten, da sie interindividuell und in Abhängigkeit von der Flussrate zu stark variieren (Begründung 1998). Bei Meerschweinchen war die LOAEC diesbezüglich 81 mg Zitronensäure/m³, die NOAEC war 31 mg/m³.

Aus dem LOAEL für systemische Wirkung von 600 mg/kg KG an Ratten wird ein NAEI von 200 mg/kg KG angenommen. Zur toxikokinetischen Übertragung dieses NAEI in eine Konzentration in der Luft am Arbeitsplatz werden berücksichtigt: der dem toxikokinetischen Unterschied zwischen der Ratte und dem Menschen entsprechende speziesspezifische Korrekturwert (1:4), die tägliche Exposition der Tiere im Vergleich zur fünftägigen Exposition pro Woche am Arbeitsplatz (7:5), die nachgewiesene orale Resorption von 100 %, das Körpergewicht (70 kg) und das Atemvo-

lumen (10 m^3) des Menschen sowie die angenommene 100%ige inhalative Resorption. Eine Zeitextrapolation ist nicht erforderlich, da der LOAEL aus einer 29-wöchigen Studie stammt. Damit errechnet sich nach Übertragung der Tierversuchsstudien auf den Menschen (1:2) eine Konzentration von 245 mg/m^3 . Die LOAEC für Hustenreiz beim Meerschweinchen ist geringer, daher ist die lokale Reizwirkung aufgrund der Säurefunktion maßgeblich für die Grenzwertsetzung. Es liegen jedoch keine geeigneten Studien zur wiederholten inhalativen Exposition vor. Zitronensäure ist am Kaninchenauge ätzend. Daher wird, wie für andere ätzende feste organische Säuren wie Weinsäure (Begründung „Weinsäure“ 2015), bei fehlenden Studien zur Inhalationstoxizität der MAK-Wert von 2 mg/m^3 E für die besser untersuchte Phosphorsäure in Analogie übernommen.

Alkalosalze: Mono- und Trinatriumzitrat sind am Kaninchenauge nicht reizend. Ähnliches dürfte auch für Dinatriumzitrat und die entsprechenden Kaliumzitate gelten. Die lokale Reizwirkung bei Inhalation dürfte damit deutlich geringer sein, als die für die Zitronensäure, so dass der MAK-Wert der Säure nicht übernommen werden kann. Da auch der systemische NOAEL unklar ist, bleiben die Alkalosalze weiterhin dem Abschnitt II b der MAK- und BAT-Werte-Liste zugeordnet.

Spitzenbegrenzung. Wegen der Reizwirkung als kritischem Effekt wird Zitronensäure der Spitzenbegrenzungs-Kategorie I zugeordnet. Da der MAK-Wert in Analogie zur Phosphorsäure abgeleitet wurde, wird dessen Überschreitungsfaktor von 2 auch für Zitronensäure übernommen.

Fruchtschädigende Wirkung. In einer pränatalen Entwicklungstoxizitätsstudie mit Zitronensäure an der Ratte, zeigten sich nach Schlundsondengabe reversible Retardierungen in Form von inkomplettem Schädelsschluss bei der Ratte bei 295 mg/kg KG und Tag, der höchsten Dosis. Maternaltoxizität trat nicht auf. Bei Kaninchen, Hamster und Mäusen traten bis zur höchsten Dosis von 425 , 272 bzw. 241 mg/kg KG und Tag keine Entwicklungstoxischen Effekte auf. Die Kommission sieht die reversiblen Retardierungen bei den Ratten als nicht advers an, da am Ende der Gestation die Ossifikation des Schädels sehr variabel und rasch stattfindet und in wenigen Stunden in Abhängigkeit des genauen Präparationszeitpunktes zu unterschiedlichen Beurteilungen führen kann (Carney und Kimmel 2007), zumal keine Missbildungen aufgetreten sind. Somit betragen die NOAEL für pränatale Entwicklungstoxizität bei Ratte, Kaninchen, Maus bzw. Hamster 295 , 425 , 241 und 272 mg/kg KG und Tag.

Zur toxikokinetischen Übertragung der NOAEL für Entwicklungstoxizität in eine Konzentration in der Luft am Arbeitsplatz werden berücksichtigt: die den toxikokinetischen Unterschieden zwischen Ratte, Kaninchen, Maus bzw. Hamster und dem Menschen entsprechenden speziesspezifischen Korrekturwerte (1:4; 1:2,4; 1:7; 1:5), die experimentelle orale Resorption von 100 % bei der Ratte, die auch für die anderen Spezies angenommen wird, das Körpergewicht (70 kg) und das Atemvolumen (10 m^3) des Menschen sowie die angenommene 100%ige inhalative Resorption. Damit errechnen sich Konzentrationen von 516 , 1240 , 241 bzw. 381 mg/m^3 , die 258 -, 620 -, 121 - bzw. 191 -fache Abstände zum MAK-Wert von 2 mg/m^3 bedeuten. Da diese Abstände ausreichend groß sind, wird Zitronensäure der Schwangerschaftsgruppe C zugeordnet.

Selbst wenn die Effekte in der höchsten Dosisgruppe bei den Ratten als advers anzusehen wären, würde der Abstand der zweithöchsten Dosierung von 63,6 mg/kg KG zum MAK-Wert noch ausreichend groß sein, um Schwangerschaftsgruppe C zu vergeben.

Krebszeugende Wirkung. Die mit Natriumzitrat, nicht aber mit Zitronensäure, beobachtete tumorpromovierende Wirkung an der Harnblase von Ratten beruht auf der Stimulation der DNA-Synthese der Blasenepithelzellen, zu der es als Folge der Erhöhung der Natriumkonzentration bzw. des pH-Wertes des Urins der Tiere kommt. Dazu sind große Mengen an Natriumzitrat notwendig, deren Aufnahme beim Menschen unwahrscheinlich ist (Begründung 1998). Da auch eine genotoxische Wirkung *in vivo* nicht wahrscheinlich ist, werden Zitronensäure und ihre Alkalosalze nicht in eine Kategorie für Kanzerogene eingestuft.

Keimzellmutagene Wirkung. Zitronensäure war nicht mutagen an Bakterien. In Humanlymphozyten induzierte sie DNA-Strangbrüche, Chromosomenaberrationen bei zytotoxischen Konzentrationen und eine leicht erhöhte Häufigkeit von Mikronuklei bei nicht toxischen Konzentrationen. Im Gegensatz dazu verliefen ein Chromosomenaberrationstest und ein Dominant-Letal-Test an Ratten mit negativem Ergebnis, so dass insgesamt keine relevante genotoxische Wirkung für Zitronensäure anzunehmen ist. Dies gilt auch für ihre Alkalosalze, da systemische Wirkungen vom Anion abhängen. Deshalb erfolgt keine Einstufung von Zitronensäure und ihren Alkalosalzen in eine Kategorie für Keimzellmutagene.

Hautresorption. Zur Aufnahme über die Haut liegen keine Daten vor. Für den Menschen lässt sich aus einer Modellrechnung eine maximale dermale Aufnahme von 152 mg bei Exposition gegen eine gesättigte wässrige Lösung unter Standardbedingungen (2000 cm² Hautoberfläche, eine Stunde Exposition) abschätzen. Der systemische chronische NAEEL bei Ratten aus Fütterungsstudien dürfte im Bereich von 200 mg/kg KG liegen. Wie oben gezeigt, berechnet sich aus dem NAEEL eine auf den Menschen extrapolierte Konzentration von 245 mg/m³. Bei einem Atemvolumen von 10 m³ pro Tag und einer inhalativen Resorption von 100 % entspricht dies einer systemisch tolerablen Menge von 2450 mg. Da die Aufnahme von Zitronensäure über die Haut somit unter 25 % der systemisch tolerablen Menge liegt, und Ähnliches für die Alkalosalze anzunehmen ist, bleiben Zitronensäure und ihre Alkalosalze weiterhin nicht mit „H“ markiert.

Sensibilisierende Wirkung. Bereits in der Begründung 1998 wurde aus den vorliegenden Untersuchungen am Menschen geschlossen, dass Zitronensäure nicht haut- oder atemwegsensibilisierend ist. Es liegen keine neuen positiven Befunde beim Menschen oder am Tier mit Zitronensäure oder deren Alkalosalzen vor. Zitronensäure und ihre Alkalosalze werden daher weiterhin weder mit „Sh“ noch mit „Sa“ markiert.

7 Literatur

- Barros MJ, Zammattio SJ, Rees PJ (1990) Importance of inspiratory flow rate in the cough response to citric acid inhalation in normal subjects. *Clin Sci* 78: 521–525
- Bickerman HA, Cohen BM, German E (1956) The cough response of normal human subjects stimulated experimentally by citric acid aerosol: alterations produced by antitussive agents. Part I: Methodology. *Am J Med Sci* 232: 57–66
- Carney EW, Kimmel CA (2007) Interpretation of skeletal variations for human risk assessment: delayed ossification and wavy ribs. *Birth Defects Res B Dev Reprod Toxicol* 80: 473–496
- ECHA (European Chemicals Agency) (2016 a) Information on registered substances. Dataset on citric acid (CAS-Number 77-92-9), joint submission, first publication 03.03.2011, last modification 16.10.2016,
<http://echa.europa.eu/de/information-on-chemicals>
- ECHA (2016 b) Information on registered substances. Dataset on sodium dihydrogen citrate (CAS-Number 18996-35-5), joint submission, first publication 18.03.2011, last modification 29.12.2015,
<http://echa.europa.eu/de/information-on-chemicals>
- ECHA (2016 c) Information on registered substances. Dataset on trisodium citrate (CAS-Number 68-04-2), joint submission, first publication 02.03.2011, last modification 25.10.2016,
<http://echa.europa.eu/de/information-on-chemicals>
- ECHA (2016 d) Information on registered substances. Dataset on tripotassium citrate (CAS-Number 866-84-2), joint submission, first publication 17.03.2011, last modification 15.12.2016,
<http://echa.europa.eu/de/information-on-chemicals>
- FDA (Food and Drug Administration) (1973) Teratologic evaluation of FDA 71-54 (citric acid). Food and Drug Research Laboratories, final report May 16, 1973. Food and Drug Administration, Rockville, MD, USA. NTIS PB223814, NTIS, Alexandria, VA, USA,
<https://ntrl.ntis.gov/NTRL/>
- Horn HJ, Holland EG, Hazleton LW (1957) Food additives, safety of adipic acid as compared with citric and tartaric acid. *J Agric Food Chem* 5: 759–762
- Kuether CA, Smith AH (1941) The absorption and fate of free citric acid in the rat. *J Biol Chem* 137: 647–657
- Lalloo UG, Fox AJ, Belvisi MG, Chung KF, Barnes PJ (1995) Capsazepine inhibits cough induced by capsaicin and citric acid but not by hypertonic saline in guinea pigs. *J Appl Physiol* 79: 1082–1087
- OECD (Organisation of Economic Co-operation and Development) (2001) Citric acid, CAS Nr. 77-92-9, OECD SIDS Initial Assessment Report, UNEP (United Nations Environment Programme), Genf,
<http://www.inchem.org/documents/sids/sids/77929.pdf>
- Yilmaz S, Ünal F, Yüzbasioglu D, Aksoy H (2008) Clastogenic effects of food additive citric acid in human peripheral lymphocytes. *Cytotechnology* 56: 137–144
- Yilmaz S, Ünal F, Yüzbasioglu D, Celik M (2014) DNA damage in human lymphocytes exposed to four food additives in vitro. *Toxicol Ind Health* 30: 926–937

abgeschlossen am 22.03.2017