

DOI 10.17590/20190926-084324

Diese Stellungnahme wird derzeit aufgrund neuer toxikologischer Daten aktualisiert.

Buntbedruckte Bäckertüten, Servietten & Co. können gesundheitsgefährdende Stoffe freisetzen

Stellungnahme Nr. 037/2019 des BfR vom 26. September 2019

Materialien, die unmittelbar und bestimmungsgemäß mit Lebensmitteln in Berührung kommen, heißen auch „Lebensmittelkontaktmaterialien“. Dazu zählen neben Kartonverpackungen, Bäckertüten und Servietten auch andere Utensilien wie Muffinformen und Trinkhalme. Bei ihrer Produktion werden zahlreiche Hilfs- und Veredelungsstoffe eingesetzt. Ein Beispiel sind (Azo-) Farbstoffe, mit denen manche dieser Produkte eingefärbt oder bedruckt werden.

Gelangen (Azo-) Farbstoffe in den menschlichen Körper, können sie durch den Stoffwechsel aufgespalten werden. Zu den Spaltprodukten gehören unter anderem primäre aromatische Amine (pAA). Einige Vertreter dieser Substanzgruppe sind krebserzeugend. pAA und weitere Stoffe können zudem als Verunreinigung in (Azo-) Farbstoffen vorkommen. In bunt bedruckten Papierservietten, Bäckertüten und anderen bedruckten Lebensmittelbedarfsgegenständen können sie ein Gesundheitsrisiko darstellen, wenn sie auf Lebensmittel übergehen und durch deren Verzehr in den menschlichen Stoffwechsel gelangen.

Das Bundesinstitut für Risikobewertung (BfR) hat sich mit den möglichen Gesundheitsrisiken erneut beschäftigt (siehe frühere BfR-Stellungnahme Nr. 021/2014). Ausgangspunkt sind neue Daten aus dem Jahr 2018. Im vorliegenden Fall bewertete das BfR das gesundheitliche Risiko, das aus den gemessenen Übergängen der vier Stoffe Naphthol AS, NAAX, NDPA und HNS aus papierhaltigen Lebensmittelkontaktmaterialien resultiert. Die Substanzen sind sehr wahrscheinlich Ausgangsstoffe, Verunreinigungen oder Abbauprodukte von (Azo-) Farbstoffen. Zur Bestimmung der Übergänge ins Lebensmittel kam die Kaltwasserextrakt-Methode zum Einsatz. Die Proben wurden 24 Stunden lang bei Raumtemperatur mit dem Lebensmittelsimulanz Wasser in Kontakt gebracht, und anschließend wurden die resultierenden Gehalte der vier Stoffe im Wasser bestimmt.

Für alle vier Verbindungen gibt es weder gesetzlich festgelegte Migrationsgrenzwerte noch abgeleitete gesundheitliche Richtwerte. Das BfR hat ausgehend von toxikologischen Daten zu den genannten Verbindungen sowie Stoffen mit ähnlicher chemischer Struktur und durch computergestützte Vorhersagemodelle gesundheitlich akzeptable Aufnahmewerte abgeleitet. Demnach sind bei einem 60 kg schweren Menschen für HNS bei einer Aufnahme von 360 µg (Mikrogramm) pro Tag gesundheitliche Beeinträchtigungen nicht zu erwarten.¹ Die aus den untersuchten Proben übergehenden Mengen an HNS stellen kein erhöhtes Gesundheitsrisiko dar.

Für die Substanzen Naphthol AS, NAAX und NDPA ist die derzeitige Datenlage deutlich schlechter als für HNS. Basierend auf den vorhandenen Daten sowie computergestützten Vorhersagen ist derzeit davon auszugehen, dass diese Stoffe bzw. ihre Spaltprodukte im menschlichen Organismus - anders als HNS - aufgrund ihrer chemischen Struktur sowohl erbgutverändernde als auch krebserzeugende Eigenschaften besitzen könnten.

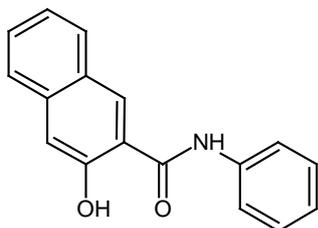
¹ Es wird bei den auf die Person bezogenen Werten immer ein Körpergewicht von 60 kg angenommen

Entsprechend dem TTC-Konzept („Thresholds of Toxicological Concern“) sind allerdings selbst für erbgutverändernde Substanzen bei einer täglichen Aufnahmemenge von maximal 0,15 µg pro Person (mit 60 kg Körpergewicht) gesundheitliche Beeinträchtigungen unwahrscheinlich. Die aus einigen der untersuchten Proben freigesetzten Mengen an Naphthol AS, NAAX bzw. NDPA könnten zu einer Überschreitung dieser täglichen gesundheitlich akzeptable Aufnahmemenge um ein Vielfaches führen. Besonders auffällig war Verpackungspapier für Backwaren, das häufig mehrere der Substanzen enthielt. Andere Probengruppen wie Trinkhalme, Muffinformen und Servietten waren insgesamt deutlich weniger belastet. Die hohen Freisetzungsmengen an Naphthol AS, NAAX und NDPA sind vor dem Hintergrund des Verdachts auf erbgutverändernde Eigenschaften dieser Substanzen gesundheitlich nicht akzeptabel. Das BfR rät daher, dass Materialien, die diese Substanzen beziehungsweise ihre Ausgangsstoffe freisetzen, nicht im Kontakt mit Lebensmitteln verwendet werden sollten, bis geeignete toxikologische Studien vorliegen, die die Sicherheit der genannten Verbindungen belegen.

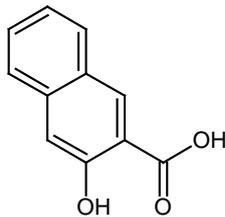
In jeder Probengruppe gab es zudem auch Proben, in denen keine Freisetzung von Naphthol AS, NAAX und NDPA nachgewiesen werden konnte. Die Hersteller sollten ihre Rohstoffe und Endprodukte auf Verunreinigungen mit diesen Substanzen bzw. deren Freisetzung prüfen und ggf. Alternativen zu den verwendeten Materialien suchen.

1. Gegenstand der Bewertung

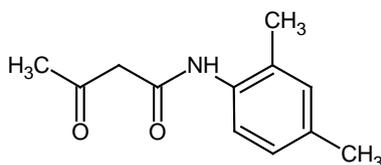
Im Folgenden bewertet das Bundesinstitut für Risikobewertung (BfR) die vorliegenden Daten der Lebensmittelüberwachung aus dem Jahr 2018 zur Freisetzung der Verbindungen Naphthol AS (CAS 92-77-3, auch 3-Hydroxy-2-naphthanilid), N-Acetoacetyl-m-xylydin (CAS 97-36-9, NAAX), N-(2,4-dimethylphenyl)acetamid (CAS 2050-43-3, NDPA) und 3-Hydroxy-2-naphthoesäure (CAS 92-70-6, HNS) aus verschiedenen Lebensmittelkontaktmaterialien (*Food Contact Materials*; FCM) aus Papier und Karton im Kaltwasserextrakt.



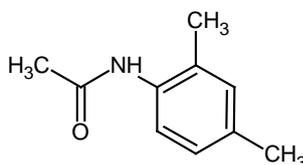
Naphthol AS (CAS 92-77-3)
3-Hydroxy-2-naphthanilid



3-Hydroxy-2-naphthoesäure
(CAS 92-70-6), **HNS**



N-Acetoacetyl-m-xylidin
(CAS 97-36-9), **NAAX**



N-(2,4-Dimethylphenyl)acetamid
(CAS 2050-43-3), **NDPA**

Abbildung 1: Strukturen und Bezeichnungen der quantitativ bestimmten Verbindungen

Bei der Überwachungsbehörde eines Bundeslandes wurden die Kaltwasserextrakte verschiedener FCM aus Papier und Karton wie Servietten, Kartonverpackungen und Trinkhalme auf Rückstände von Farbstoffen, deren Abbauprodukten und herstellungsbedingten Verunreinigungen hin untersucht. Der Kaltwasserextrakt wurde dabei entsprechend DIN EN 645 und die Analyse mittels LC-MS/MS durchgeführt. Dabei wurden in einigen Proben die genannten vier Verbindungen (Abbildung 1) quantitativ bestimmt.

2. Ergebnis

Es existieren keine gesetzlichen oder normativen Grenzwerte für die Freisetzung der in Abbildung 1 gezeigten Verbindungen aus Papier und Karton. Das BfR hat, ausgehend von toxikologischen Daten zu den genannten Verbindungen und chemisch/strukturell ähnlichen Verbindungen sowie *in silico*-Daten, gesundheitlich akzeptable Aufnahmewerte abgeleitet. Danach sind bei einer Aufnahme von 360 µg HNS bei einem 60 kg schweren Menschen pro Tag keine gesundheitlichen Beeinträchtigungen zu erwarten.

Für Naphthol AS, NAAX und NDPA hat das BfR aus den vorhandenen Daten abgeleitet, dass eine Freisetzung genotoxischer bzw. kanzerogener Anilinderivate plausibel oder belegt ist. Da umfassende toxikologische Langzeitstudien *in vivo* zu Naphthol AS, NAAX und NDPA fehlen, erfolgte die Bewertung auf der Grundlage des „*Threshold of Toxicological Concern*“ (TTC)-Konzeptes. Demnach kann für genotoxische Substanzen eine Aufnahmemenge von höchstens 0,15 µg pro Person pro Tag als gesundheitlich akzeptabel angesehen werden. Ausgegangen wird dabei von einem Körpergewicht von 60 kg. Wenn die entsprechend sehr niedrigen Freisetzungswerte nicht analytisch bestimmbar sind, dürfen Naphthol AS, NAAX und NDPA im Kaltwasserextrakt nicht nachweisbar sein (die Nachweisgrenze sollte in Anlehnung an die Verordnung (EU) Nr. 10/2011 bei höchstens 10 µg Stoff je kg Lebensmittel oder Lebensmittelsimulanz liegen).

HNS, NAAX und NDPA waren in nahezu der Hälfte der untersuchten 51 Proben nachweisbar, Naphthol AS in 10 Proben. Auffällig war vor allem Verpackungspapier für Backwaren, das häufig mehrere der Analyten enthielt. Andere Probengruppen wie Trinkhalme, Muffinformen und Servietten waren insgesamt deutlich weniger belastet. In jeder Probengruppe gab es Proben, in denen Naphthol AS, NAAX und NDPA nicht nachgewiesen wurden. Aus den gemessenen Migrationswerten für HNS ergibt sich kein erhöhtes Gesundheitsrisiko. Für Naphthol AS, NAAX und NDPA überschreiten bereits die aus den kleinsten bestimmbarsten Gehalten berechneten Expositionswerte die vom BfR abgeleiteten gesundheitlich akzeptablen Aufnahmewerte von 0,42 µg (für Naphthol AS), 0,25 µg (für NAAX) bzw. 0,15 µg (für NDPA) pro Person pro Tag um einen Faktor von etwa 5 bis 13. Die höchste gemessene Konzentration entspricht einer Überschreitung des gesundheitlich akzeptablen Aufnahmewertes etwa um den Faktor 590. Bei einer regelmäßigen Überschreitung ist ein erhöhtes Gesundheitsrisiko für den Verbraucher möglich.

Naphthol AS-, NAAX- und NDPA-freisetzende Materialien sollten nicht im Kontakt mit Lebensmitteln verwendet werden, bis geeignete toxikologische Studien vorliegen, welche die Sicherheit der genannten Verbindungen belegen. Die Hersteller sollten ihre Rohstoffe und Endprodukte auf Verunreinigungen mit diesen Substanzen bzw. deren Freisetzung prüfen und ggf. Alternativen zu den verwendeten Materialien suchen.

3. Begründung

3.1. Risikobewertung

3.1.1. Mögliche Gefahrenquellen

Bei der Produktion von Papier und Karton, das zu verschiedenen Lebensmittelbedarfsgegenständen weiterverarbeitet werden soll, wird eine Vielzahl von Hilfs- und Veredelungsstoffen eingesetzt, um die für die jeweilige Anwendung gewünschten Eigenschaften zu erzeugen. Die vier Stoffe Naphthol AS, HNS, NAAX und NDPA sind sehr wahrscheinlich der Gruppe der Ausgangsstoffe, Verunreinigungen oder Abbauprodukte von (Azo-) Farbstoffen zuzuordnen. Darauf deuten die Listung von NAAX und 2-Naphthol im Anhang 10 zu Druckfarben der Schweizer Bedarfsgegenständeverordnung (EDI, 2017) sowie die chemische Struktur der vier Verbindungen hin.

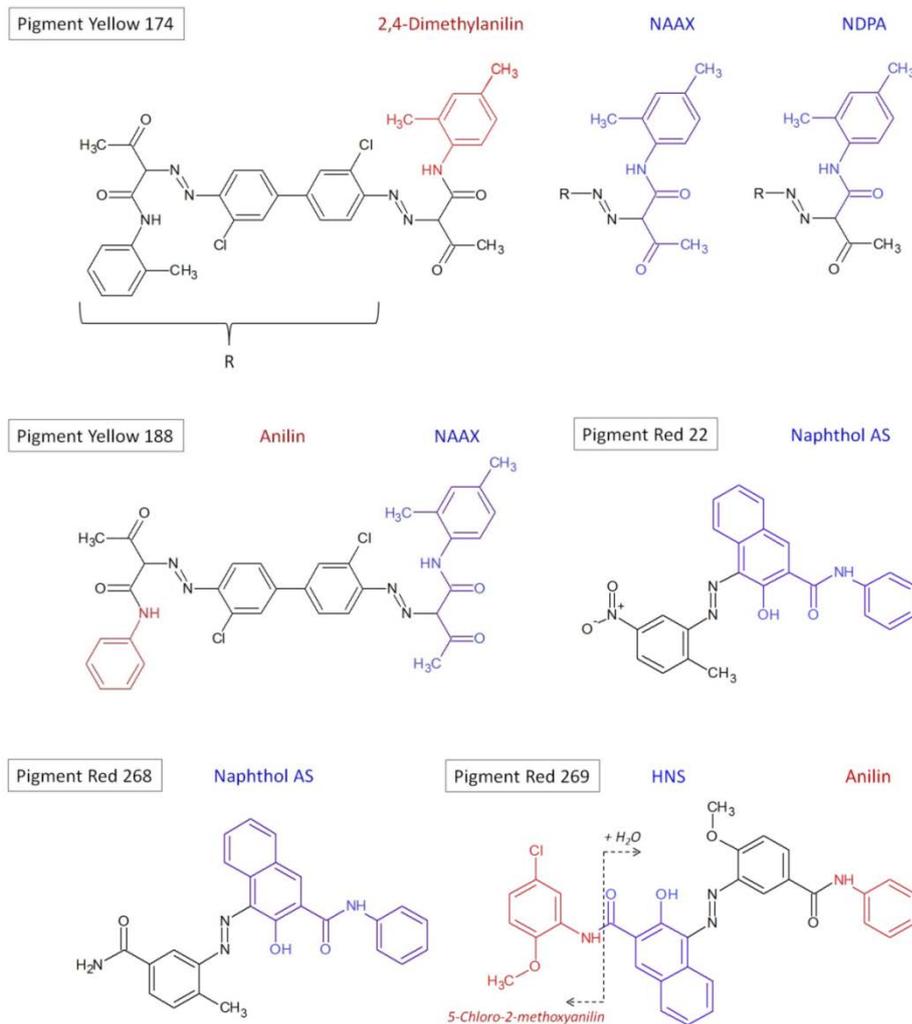


Abbildung 2: Strukturen von fünf Azopigmenten (Pigment Yellow 174 (CAS 78952-72-4), Pigment Yellow 188 (CAS 23792-68-9), Pigment Red 22 (CAS 6448-95-9), Pigment Red 268 (CAS 16403-84-2), Pigment Red 269 (CAS 67990-05-0)) als mögliche Vorläufer für Naphthol AS, NAAX, NDPA, HNS (blau) sowie für Anilin und Anilinderivate (rot).

So enthalten beispielsweise die Pigmente Yellow 174 (CAS 78952-72-4), Yellow 188 (CAS 23792-68-9), Red 22 (CAS 6448-95-9), Red 268 (CAS 16403-84-2) oder Red 269 (CAS 67990-05-0) eine oder mehrere der vier oben genannten Verbindungen als Substrukturen (vgl. Abbildung 2). Die genannten Pigmente sind auch im Anhang 10 der Schweizer Bedarfsgegenständeverordnung (EDI, 2017) sowie zum Teil im Entwurf der deutschen „Druckfarbenverordnung“ (BMEL, 2016) gelistet.

Über Naphthol AS, NAAX, NDPA und HNS hinaus wurden in den Kaltwasserextrakten einiger untersuchter Proben auch die Verbindungen Anilin (CAS 62-53-3), 2,4-Dimethylanilin (CAS 95-68-1) und 5-Chloro-2-methoxyanilin (CAS 95-03-4) bestimmt, die ebenfalls zu erwartende Spaltprodukte oder Verunreinigungen einiger der in Abbildung 2 gezeigten Pigmente bzw. von Naphthol AS, NAAX und NDPA darstellen. Die genannten Abbauprodukte oder Verunreinigungen von Farbstoffen oder Pigmenten können im Kontakt mit Lebensmitteln auf diese übergehen und durch den Verbraucher oral aufgenommen werden.

3.1.2 Gefährdungspotential

3.1.2.1 Aufnahme, Verteilung, Metabolismus, Exkretion (Ausscheidung)

Dem BfR liegen zu keiner der vier Verbindungen toxikokinetische Daten vor. Zur theoretischen Abschätzung einer möglichen Resorption der Verbindungen kann die „Rule of five“ (Lipinski et al., 2001) verwendet werden. Nach dieser Regel weisen gut resorbierbare Stoffe eine Molmasse von kleiner 500 g/mol und nicht mehr als fünf Wasserstoffbrückendonatoren, nicht mehr als zehn Wasserstoffbrückenakzeptoren sowie einen Octanol/Wasser-Verteilungskoeffizienten (LogP_{ow}) ungefähr zwischen 0 und 5 auf. Dies trifft auf alle vier betrachteten Verbindungen zu (siehe Tabelle 1).

Tabelle 1: Strukturelle und physikochemische Daten zur Abschätzung der oralen Resorption entsprechend der „Rule of five“

	Naphthol AS	HNS	NAAX	NDPA
Molmasse in g/mol	263,3	188,2	205,3	163,2
Anzahl Wasserstoffbrücken-Donatoren	2	2	1	1
Anzahl Wasserstoffbrücken-Akzeptoren	1	1	2	1
LogP_{ow} *	3,36	2,11	2,06	2,03

*berechnet mit <http://www.swissadme.ch/index.php>

Da zudem in der Literatur für jeden der Stoffe oder für chemisch/strukturell ähnliche Verbindungen in verschiedenen Studien systemische Toxizität berichtet wird (siehe unten), ist davon auszugehen, dass alle vier Verbindungen in relevanten Mengen über den Magen-Darm-Trakt ins Blut resorbiert werden.

Für Naphthol AS, NAAX und NDPA ist die Frage der Metabolisierung und damit verbundene Spaltung der Amidbindung von großer Bedeutung, da auf diesem Wege die primären aromatischen Amine Anilin bzw. 2,4-Dimethylanilin gebildet werden können. Anilin ist entsprechend VO (EG) Nr. 1272/2008 als mutagen und karzinogen der Klasse 2 eingestuft. 2,4-Dimethylanilin steht ebenfalls im Verdacht, mutagen und karzinogen (BAuA, 2016) zu sein (siehe unten).

Naphthol AS: Es liegen keine Daten aus entsprechenden *in vitro*- oder *in vivo*-Tests vor. Nach der *in silico*-Vorhersage des Metabolismus mit Hilfe der OECD-Toolbox Version 4.1 (OECD, 2018) tritt keine Spaltung der Amidbindung auf. Dass allerdings das Spaltprodukt HNS in einer Vielzahl von Proben gefunden wurde und zudem auch das Spaltprodukt Anilin in einer Probe nachgewiesen werden konnte (siehe Abschnitt 0), könnte darauf zurückzuführen sein, dass die Verbindung möglicherweise labil genug ist, um bereits in der technischen Anwendung oder danach gespalten zu werden. In diesem Fall wäre eine (metabolische) Spaltung der Verbindung ebenfalls wahrscheinlich. Da keine gegenteiligen Studiendaten vorliegen, geht das BfR in seiner Risikobewertung davon aus, dass eine Freisetzung von Anilin während der Metabolisierung von Naphthol AS stattfindet.

NAAX: *In vivo* wurde nach oraler Verabreichung von NAAX an Ratten die Bildung von 2,4-Dimethylanilin und dessen Bindung an Hämoglobinmoleküle im Blut der Ratten beobachtet (BUA, 1992; Sabbioni, 1999). Eine Aussage zur Metabolisierungsrate lässt die Studie jedoch nicht zu. Mit Hilfe der OECD-Toolbox Version 4.1 (OECD, 2018) generierte *in silico*-Daten stützen den *in vivo*-Befund, da 2,4-Dimethylanilin als ein möglicher Metabolit vorhergesagt wird. In einer Arbeit von Rasper (2016) wurde zudem gezeigt, dass NAAX bei 80 °C bereits in wässriger Lösung – ohne enzymatische Einwirkung – gespalten wird und das umso mehr, je niedriger der pH-Wert der Lösung ist. Das bei dieser Spaltung entstehende 2,4-Dimethylanilin wurde von der LUA Sachsen in 2 Proben zusätzlich zu NAAX nachgewiesen (siehe Abschnitt 0).

NDPA: Die Spaltung von Arylacetamiden wie NDPA kann *in vivo* durch das Enzym Arylacetamid-Deacetylase (AADAC) katalysiert werden (Fukami et al., 2015; Yoshida et al., 2018). Die Reaktion ist beispielsweise für die dem NDPA strukturell sehr ähnlichen Arzneistoffe Indiplon, Flutamid und Phenacetin gut untersucht (Kobayashi et al., 2012; Shimizu et al., 2014; Watanabe et al., 2009). Da auch mit Hilfe der OECD-Toolbox Version 4.1 (OECD, 2018) generierte *in silico*-Daten auf eine Spaltung der Amidbindung des NDPA hindeuten, geht das BfR in seiner Risikobewertung davon aus, dass eine Freisetzung von 2,4-Dimethylanilin während der Metabolisierung von NDPA stattfindet. Zudem hat die LUA Sachsen zusätzlich zu NDPA in 2 Proben 2,4-Dimethylanilin nachgewiesen (siehe Abschnitt 0), was ebenfalls auf eine mögliche Spaltung von NDPA hindeutet.

3.1.2.2. Genotoxizität / Kanzerogenität

Zu keiner der vier Verbindungen liegen dem BfR vollständige Originaldaten vor. Keine der Verbindungen wurde entsprechend Verordnung (EG) Nr. 1272/2008 (CLP) harmonisiert eingestuft. Zudem wurde für keine der Verbindungen eine Karzinogenitätsstudie, beispielsweise entsprechend nach OECD Richtlinie 451, durchgeführt. Für NAAX und HNS liegen Zusammenfassungen von Studien zur Genotoxizität vor. Das BfR hat zudem mit Hilfe der OECD-Toolbox Version 4.1 (OECD, 2018) sowie der Algorithmen „Derek Nexus“ (Version 1.1) sowie „Sarah Nexus“ (Version 2.0) *in silico* Vorhersagen zur Genotoxizität und Karzinogenität erstellt sowie Möglichkeiten eines „Read-across“ zu strukturell ähnlichen Verbindungen erwogen. Nachfolgend sind die vorhandenen Daten und die Ergebnisse der Vorhersagen bzw. des „Read-across“ dargestellt.

Studiendaten

Für **NDPA** sind dem BfR keine Studien zu Genotoxizität oder Kanzerogenität bekannt.

Naphthol AS: Es liegen zwei japanische Studien zur Genotoxizität vor: ein Mutagenitätstest in Bakterien (AMES-Test) und ein *in vitro*-Chromosomenaberrationstest (JECDB, 2019a). Aus den englischen Ergebnistabellen geht hervor, dass die Substanz als *in vitro* nicht genotoxisch einzustufen ist. Ob alle Vorgaben der entsprechenden OECD-Richtlinie 471 bzw. 473 eingehalten wurden, ist aus den englischsprachigen Ergebnistabellen nicht ersichtlich. *In vivo*-Untersuchungen zur Genotoxizität liegen nicht vor.

NAAX: Im bei der ECHA vorliegenden Registrierungsdossier (ECHA, 2019g) sind eine Studie zur Mutagenität in Bakterien entsprechend OECD Richtlinie 471 (AMES-Test) und ein *in vitro*-Chromosomenaberrationstest entsprechend OECD Richtlinie 473 aufgeführt. Die Studien wurden von den Registranten als valide und entsprechend der Richtlinien durchgeführt eingestuft. Bei beiden Studien wurde sowohl mit als auch ohne metabolische Aktivierung keine genotoxische Wirkung von NAAX beobachtet. Diese Einschätzung wird auch durch das „Beratergremium für umweltrelevante Altstoffe“ der Gesellschaft Deutscher Chemiker (GDCh) geteilt (BUA, 1992). Allerdings ist nicht klar, ob die Testbedingungen und der eingesetzte Enzymmix (S9) aus der Rattenleber geeignet sind, eine mögliche Abspaltung von 2,4-Dimethylanilin aus NAAX *in vivo* zu modellieren.

HNS: Im bei der ECHA vorliegenden Registrierungsdossier (ECHA, 2019i) sind eine Studie zur Mutagenität in Bakterien entsprechend OECD Richtlinie 471 (AMES-Test), ein *in vitro*-Chromosomenaberrationstest entsprechend OECD Richtlinie 473 und ein *in vivo*-Chromosomenaberrationstest entsprechend OECD Richtlinie 475 an Hamstern nach oraler Verabreichung der Substanz aufgeführt. Die Studien wurden von den Registranten als valide und entsprechend der Richtlinien durchgeführt eingestuft. Als Einschränkung ist beschrieben, dass bei dem *in vivo*-Chromosomenaberrationstest nur sehr wenige Zellen untersucht wurden. Die Substanz wurde als nicht genotoxisch im AMES-Test, jedoch als genotoxisch im *in vitro*-Chromosomenaberrationstest (ohne metabolische Aktivierung) bewertet. Dieser Bewertung schloss sich auch die OECD an (OECD, 2004). *In vivo* zeigte HNS keine genotoxischen Eigenschaften. Allerdings ist die Validität der Studie aufgrund der geringen Anzahl untersuchter Zellen sehr eingeschränkt. Zusätzlich ist in der Literatur ein *in vivo*-Mikronukleustest entsprechend OECD Richtlinie 474 beschrieben (JECDB). Der Studienbericht ist in japanischer Sprache verfasst, die Ergebnistabellen sowie eine Zusammenfassung liegen in englischer Sprache vor. Demnach ist HNS als nicht genotoxisch einzustufen. Aus den englischen Passagen ist nicht ersichtlich, ob die Vorgaben der OECD Richtlinie 474 eingehalten wurden. Daher wurde die aus der Studie extrahierbare japanische Zusammenfassung übersetzt. Die Autoren berichten im Methodik-Teil, dass pro Tier 2000 polychromatische Erythrozyten untersucht wurden, was der Vorgabe aus der OECD Richtlinie 474 entspricht.

In silico-Daten

In der Tabelle 2 sind die mittels der OECD-Toolbox Version 4.1 (OECD, 2018) sowie die mittels der Algorithmen „Derek Nexus“ (Version 1.1) und „Sarah Nexus“ (Version 2.0) erzeugten Vorhersagen zur Genotoxizität / Kanzerogenität inklusive der jeweiligen Begründung dargestellt. Dabei wird deutlich, dass bis auf HNS alle Verbindungen aufgrund ihrer chemischen Struktur ein Potential zur Bindung an Proteine oder DNA aufweisen und damit genotoxisch und kanzerogen sein könnten. Die im Abschnitt 3.1.2.1 diskutierte Freisetzung von Anilinderivaten wird auch durch die *in silico*-Vorhersagen als möglich eingestuft. Für HNS ist nur die Vorhersage, dass die Verbindung zur Bildung von Mikronuklei bzw. Chromosomenaberrationen führen könnte, positiv, was der Vorhersagealgorithmus mit dem Vorliegen einer chinoiden Struktur und der Möglichkeit einer Addition eines Nukleophils an eine α,β -ungesättigte Carbonylverbindung begründet (Michael-Addition). Beides scheint nicht zutreffend, da die

Verbindung keine chinoide Struktur aufweist und die Michael-Addition zur Aufhebung der Aromatizität führen würde und damit energetisch ungünstig wäre. Somit ist für HNS eine Genotoxizität oder Kanzerogenität nicht anzunehmen.

Tabelle 2: Zusammenfassung der generierten *in silico*-Daten

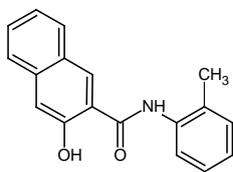
Programm / Algorithmus	Naphthol AS	HNS	NAAX	NDPA
Derek Nexus				
Karzinogenität	-	-	plausibel, aromatisches Amin oder Amid	plausibel, aromatisches Amin oder Amid, Anilin / Vorläufer
Chromosomenschädigung <i>in vitro</i>	-	-	uneindeutig, Anilin/ Alkylanilin	uneindeutig, Anilin/ Alkylanilin
Mutagenität <i>in vitro</i>	negativ	negativ	plausibel, aromatisches Amin oder Amid	plausibel, aromatisches Amin oder Amid
Mutagenität <i>in vivo</i>	-	-	uneindeutig, aromatisches Amin oder Amid	uneindeutig, aromatisches Amin oder Amid
Sarah Nexus				
Mutagenität <i>in vitro</i>	positiv, 13 % Sicherheit	negativ, 46 % Sicherheit	negativ, 23 % Sicherheit	negativ, 35 % Sicherheit
OECD Toolbox				
Bindung an DNA	ja, nicht kovalente Interaktion	nein	nein	nein
Bindung an Proteine	ja, Acylierung	nein	ja, Acylierung	ja, Acylierung
Karzinogenität	nein	nein	nein	ja, aromatisches N-Acylamin (Genotoxizität)
<i>in vitro</i> Mutagenität (AMES)	nein	nein	nein	ja, aromatisches N-Acylamin
<i>in vitro</i> / <i>in vivo</i> Genotoxizität (Mikronukleus / Chromosomenaberration)	ja, H-Akzeptor	ja, H-Akzeptor / Michael-Addition an chinoide Struktur	ja, H-Akzeptor	ja, aromatisches N-Acylamin

- keine Vorhersage möglich

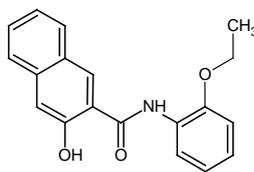
Read-across

Naphthol AS: Für die strukturell sehr ähnlichen Verbindungen 1, 2, 3 und 4 in Abbildung 3 ist im jeweiligen Registrierungsdossier der ECHA (ECHA, 2019b; ECHA, 2019c; ECHA, 2019e; ECHA, 2019j) jeweils ein AMES-Test entsprechend OECD Richtlinie 471 angegeben. Für die Verbindung 2 ist zudem ein *in vivo*-Mikronukleustest entsprechend OECD Richtlinie 474 aufgeführt. Da dem BfR die Originaldaten nicht vorliegen, kann das BfR nicht überprüfen, ob die Vorgaben der Richtlinien – beispielsweise bezüglich verwendender Bakterienstämme im AMES-Test oder der Anzahl an untersuchten Zellen – eingehalten wurden. Von den jeweiligen Registranten werden die Studien als valide eingeschätzt. In allen Tests wurde die getestete Substanz als nicht genotoxisch eingestuft.

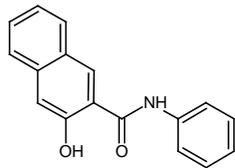
Ein *Read-across* zum Naphthol AS scheint auf der Grundlage der vorliegenden Daten möglich. Naphthol AS selbst kann folglich als nicht genotoxisch angesehen werden. Ob Naphthol AS jedoch möglicherweise *in vivo* gespalten wird und das genotoxische Kanzerogen Anilin (siehe unten) freisetzt, kann auf der Grundlage der Daten nicht evaluiert werden. Es wurde bei dem *in vivo*-Mikronukleustest von Verbindung 2 an Ratten keine Genotoxizität beobachtet, obwohl auch dort die Freisetzung eines Anilins möglich ist. Allerdings wird bei einer möglichen Spaltung der Verbindung 2 zunächst 2-Ethoxyanilin freigesetzt, welches im Gegensatz zum Anilin nicht harmonisiert als mutagen oder kanzerogen eingestuft ist. Darüber hinaus liegen keine Informationen dazu vor, ob Naphthol AS und Verbindung 2 tatsächlich gleichermaßen metabolisiert werden.



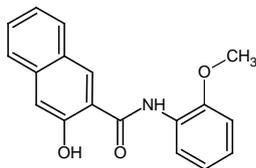
2'-Methyl-3-hydroxy-2-naphthylidenehydrazide
(CAS 135-61-5), 1



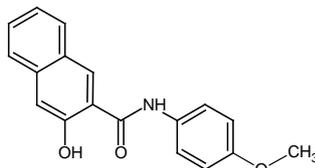
2'-Ethoxy-3-hydroxy-2-naphthylidenehydrazide
(CAS 92-74-0), 2



Naphthol AS (CAS 92-77-3)
3-Hydroxy-2-naphthylidenehydrazide



2'-Methoxy-3-hydroxy-2-naphthylidenehydrazide
(CAS 135-62-6), 3



4'-Methoxy-3-hydroxy-2-naphthylidenehydrazide
(CAS 92-79-5), 4

Abbildung 3: Naphthol AS und strukturell ähnliche Verbindungen

NAAX: Für die strukturell sehr ähnlichen Verbindungen 1 (ECHA, 2019l), 2 (ECHA, 2019f; JECDB, 2019b), 3 (Toxnet) und 4 (ECHA, 2019d) in Abbildung 4 sind verschiedene *in vitro* Genotoxizitätstests durchgeführt worden, darunter für alle Verbindungen ein AMES-Test entsprechend OECD Richtlinie 471. Für die Verbindungen 1 und 2 wurden zudem *in vitro*-Chromosomenaberrationstests entsprechend OECD Richtlinie 473 sowie für die Verbindungen 2 und 4 Genmutationsstudien in Säugerzellen entsprechend OECD Richtlinie 476 durchgeführt. Da dem BfR die Originaldaten nicht vorliegen, kann das BfR auch für diese Studien nicht überprüfen, ob die Vorgaben der Richtlinien eingehalten wurden.

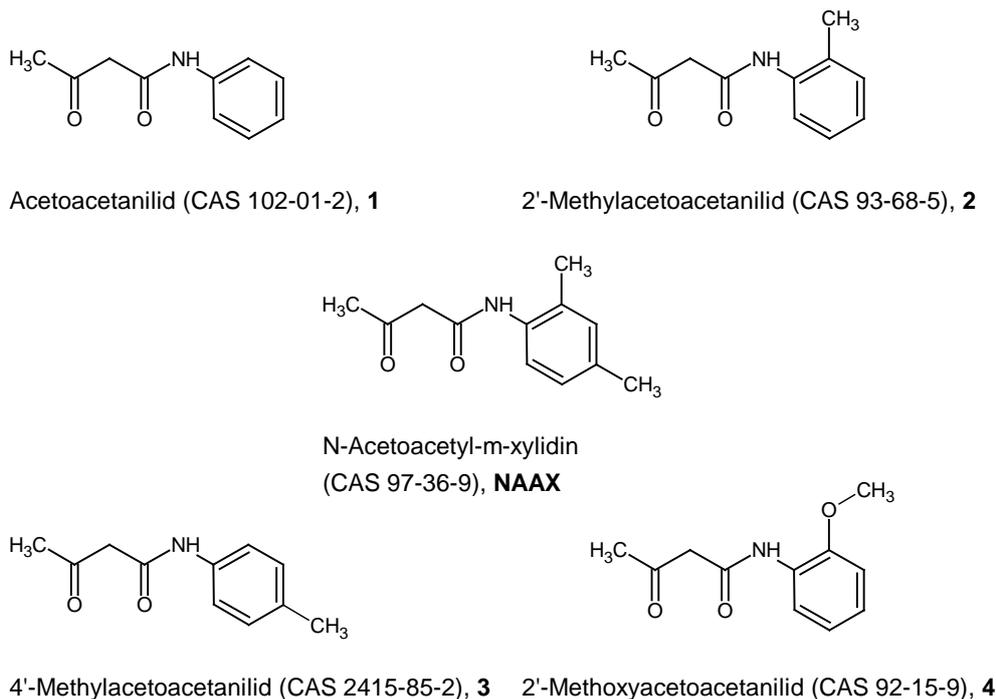
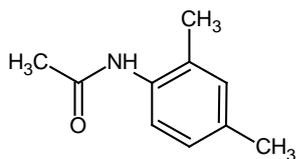


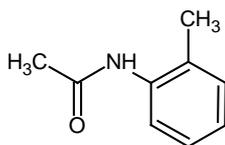
Abbildung 4: NAAX und strukturell ähnliche Verbindungen

Trotz vereinzelter positiver Ergebnisse (denen jedoch in Wiederholungstests stets negative Ergebnisse gegenüberstanden) sind die Verbindungen insgesamt als nicht genotoxisch *in vitro* anzusehen. Die Ergebnisse der Genotoxizitätstests für NAAX (siehe oben) werden damit bestätigt. Ob NAAX jedoch möglicherweise *in vivo* gespalten wird und das möglicherweise genotoxische und möglicherweise kanzerogene 2,4-Dimethylanilin (siehe unten) freisetzt, kann auf der Grundlage der *in vitro*-Daten nicht evaluiert werden.

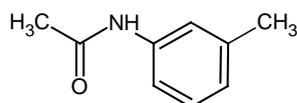
NDPA: Für die strukturell sehr ähnliche Verbindung 2 in Abbildung 5 ist in der Literatur ein negativer AMES-Test entsprechend OECD Richtlinie 471 publiziert (Zeiger et al., 1992). Der AMES-Test zu Verbindung 3 in Abbildung 5 war hingegen schwach positiv (Zeiger et al., 1992). Für Verbindung 1 in Abbildung 5 weist die OECD Toolbox Version 4.1 (OECD, 2018) einen negativen AMES-Test aus, der in der OASIS-Genotoxizitätsdatenbank hinterlegt ist. Das BfR hat keinen Zugriff auf die Originaldaten. Die Einhaltung der Vorgaben der OECD Richtlinie 471 kann entsprechend nicht überprüft werden. Tests zu den clastogenen oder aneugenischen Eigenschaften der Verbindungen liegen nicht vor. Ob die Verbindungen 1-3 und damit auch NDPA genotoxisch sind, kann daher nicht abschließend beurteilt werden.



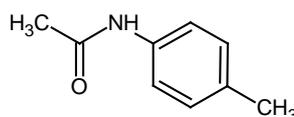
N-(2,4-Dimethylphenyl)acetamid
(CAS 2050-43-3), **NDPA**



N-(2-Methylphenyl)acetamid
(CAS 120-66-1), **1**



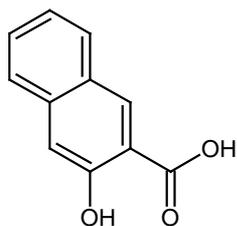
N-(3-Methylphenyl)acetamid
(CAS 537-92-8), **2**



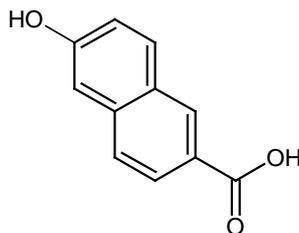
N-(4-Methylphenyl)acetamid
(CAS 103-89-9), **3**

Abbildung 5: NDPA und strukturell ähnliche Verbindungen

HNS: Für die strukturell sehr ähnliche Substanz 6-Hydroxy-2-naphthoesäure (CAS 16712-64-4, Abbildung 6) sind im Registrierungsdossier der ECHA (ECHA, 2019k) – analog zu HNS – ein positiver *in vitro*-Chromosomenaberrationstest sowie ein negativer *in vivo* Mikronukleustest angegeben. In der Testzusammenfassung der *in vivo*-Studie ist angegeben, dass je Tier 2000 Erythrozyten auf Mikrokerne untersucht wurden. Da dem BfR die Originaldaten nicht vorliegen, können die Angaben vom BfR nicht überprüft werden. Ein *Read-across* von HNS zu 6-Hydroxy-2-naphthoesäure ist aufgrund der chemisch / strukturellen Ähnlichkeit möglich. HNS ist damit als *in vivo* nicht genotoxisch anzusehen.



3-Hydroxy-2-naphthoesäure
(CAS 92-70-6), **HNS**



6-Hydroxy-2-naphthoesäure
(CAS 16712-64-4)

Abbildung 6: HNS und die strukturell ähnliche Verbindung 6-Hydroxy-2-naphthoesäure

3.1.2.3. Sonstige Toxizität

Naphthol AS: Es liegt eine japanische Screening-Studie an SD-Ratten zur kombinierten Toxizität nach wiederholter Aufnahme und zur Reproduktionstoxizität nach OECD-Richtlinie 422 vor (JCHECK, 2019). Dabei wurden über einen Zeitraum von 42 Tagen Dosen von 0, 40, 200 und 1000 mg/kg Körpergewicht (KG)/Tag per Schlundsonde verabreicht. Aus den

englischsprachigen Ergebnistabellen geht hervor, dass – bis auf wenige Abweichungen bei einigen Laborparametern (Chlorid, Phosphat) in der höchsten Dosis – keine Effekte beobachtet wurden. Die Dosis, bei der keine adversen Effekte beobachtet wurden (NOAEL) betrug 1000 mg/kg KG/Tag (höchste Dosis). Eine Screening-Studie stellt jedoch lediglich einen ersten Hinweis auf eventuelle Effekte bei lebenslanger Exposition dar und kann eine subchronische oder chronische Studie nicht ersetzen. Die Ableitung einer duldbaren täglichen Aufnahmemenge (TDI) ist daher auf der Grundlage der vorliegenden Daten nicht möglich.

NAAX: Es liegt eine japanische Screening-Studie an Sprague-Dawley-Ratten zur kombinierten Toxizität nach wiederholter Aufnahme und zur Reproduktionstoxizität nach OECD Richtlinie 422 vor (ECHA, 2019f; JECDB, 2019b). Dabei wurden über einen Zeitraum von 44 Tagen Dosen von 0, 8, 25, 80 und 250 mg/kg Körpergewicht (KG)/Tag per Schlundsonde verabreicht. Es wurden folgende Effekte beobachtet: Anzeichen einer Methämoglobinämie in den beiden höchsten Dosisgruppen (verringerte Erythrozytenzahl, Hämoglobinkonzentration und Hämatokritwerte sowie erhöhte Methämoglobinwerte), wie sie typisch sind bei einer Exposition gegenüber Anilinderivaten (Kobayashi et al., 2012); Nekrosen in der Milz sowie erhöhte Milzgewichte, Ablagerungen von Hämosiderin in der Leber und von eosinophilen Blutkörperchen in der Niere in den beiden höchsten Dosisgruppen. Der NOAEL betrug 25 mg/kg KG/Tag. Eine Screening-Studie stellt jedoch lediglich einen ersten Hinweis auf eventuelle Effekte bei lebenslanger Exposition dar und kann eine subchronische oder chronische Studie nicht ersetzen. Die Ableitung eines TDI ist daher auf der Grundlage der vorliegenden Daten nicht möglich.

NDPA: Es liegen dem BfR keine Studien nach wiederholter Aufnahme vor. Wie im Abschnitt 3.1.2. dargestellt, ist eine Spaltung der Verbindung im Magen-Darm-Trakt zu erwarten. Das freigesetzte 2,4-Dimethylanilin kann im Blut zu einer Methämoglobinämie führen (Kobayashi et al., 2012).

HNS: Im Registrierungsdossier der ECHA (ECHA, 2019i) sind eine subchronische Studie an Ratten entsprechend OECD Richtlinie 407 und eine Eingenerationenstudie an Ratten zur Reproduktionstoxizität entsprechend OECD Richtlinie 415 angegeben. Originaldaten liegen nur für letztere in japanischer Sprache mit englischsprachigen Ergebnistabellen vor (JECDB, 2000). Beide Studien wurden auch von der OECD bewertet (OECD, 2004). In der subakuten Studie wurden erniedrigte Serum-Phosphat-Konzentrationen und erhöhte Bilirubinkonzentrationen im Serum und Urin beider Geschlechter festgestellt. Die Weibchen wiesen zudem leicht erhöhte Lebergewichte in der höchsten Dosis sowie bei je einem Tier der höchsten und mittleren Dosisgruppe eine Nekrose der Nebenniere auf. Als NOAEL wurde demnach die niedrigste Dosis von 12 mg/kg KG/Tag angesehen. In der Eingenerationenstudie wurde der Elterngeneration (F0) vor der Verpaarung, während der Trächtigkeit und danach insgesamt 98 Tage lang HNS per Schlundsonde zugeführt. Dabei wurde auf Auswirkungen auf den Nachwuchs (F1) aber auch auf adverse Effekte bei der F0 hin untersucht. Der einzige für den Nachwuchs beobachtete Effekt war ein reduziertes mittleres Körpergewicht in der höchsten Dosisgruppe (200 mg/kg KG/Tag). In der F0 Generation wurden in der Hochdosisgruppe vereinzelt Lebervergrößerungen beobachtet. Zudem zeigte die histologische Untersuchung Hyperplasien der Schleimhaut des Vormagens. Der NOAEL betrug 12,5 mg/kg KG/Tag. Eine Reihe von Informationen, beispielsweise zu einzelnen Organgewichten sowie Urin- und Blutparametern, wie sie für eine subchronische Studie entsprechend OECD Richtlinie 408 vorgeschrieben sind, sind in der vorliegenden Studie nicht dokumentiert. Einige wichtige Informationen zur Bewertung der Toxizität nach wiederholter Aufnahme fehlen demnach.

3.1.2.4. Im Körper möglicherweise freigesetzte Anilinderivate

Wie im Abschnitt 3.1.2. beschrieben, können bei oraler Aufnahme von Naphthol AS, NAAx und NDPA möglicherweise Anilin bzw. 2,4-Dimethylanilin freigesetzt werden.

Anilin: Anilin ist entsprechend der Verordnung (EG) Nr. 1272/2008 (CLP) als Mutagen (Klasse 2, „kann vermutlich genetische Defekte verursachen“) und Karzinogen (Klasse 2, „kann vermutlich Krebs erzeugen“) eingestuft. Im AMES-Test wurde Anilin zwar als nicht genotoxisch getestet, allerdings liegen positive Mutagenitätstests an Säugerzellen sowie positive *in vitro* Mikronukleus- und Chromosomenaberrationstests vor (ECHA, 2019m; EU, 2004). *In vivo* waren die Ergebnisse nicht eindeutig. In Mäusen wurden clastogene Effekte nicht oder nur bei sehr hohen, systemisch toxischen Dosen beobachtet; bei Ratten hingegen traten diese Effekte auch bei deutlich niedrigeren Dosen auf (ECHA, 2019m; EU, 2004). Im gleichen Maße unterschieden sich die Ergebnisse der Tierstudien auch in Hinblick auf Karzinogenität. So konnte an Mäusen keine karzinogene Wirkung nachgewiesen werden, während an Ratten die Bildung von Sarkomen der Milz beobachtet wurde (ECHA, 2019m; EU, 2004). Beim Menschen wird Anilin schon seit dem Ende des 18. Jahrhunderts als Auslöser für Blasenkrebs diskutiert. Auch in modernen Studien wurde bei Arbeitern, die verschiedenen Chemikalien, unter anderem Anilin, ausgesetzt waren, ein erhöhtes Auftreten von Blasenkrebs nachgewiesen. Der Effekt konnte aber nicht eindeutig dem Anilin zugeordnet werden (EU, 2004).

2,4-Dimethylanilin (DMA): DMA ist nicht harmonisiert eingestuft. Im Registrierungsdossier der ECHA sind zwei positive *in vitro*-Chromosomenaberrationstests sowie positive AMES-Tests angegeben (ECHA, 2019h). *In vivo*-Daten zur Mutagenität sind dem BfR nicht bekannt. Zur Karzinogenität ist bei der ECHA eine 18-Monatsstudie an Mäusen und Ratten angegeben. Für keine der Studien liegen dem BfR die Originaldaten vor. Die Karzinogenitätsstudie ist nicht unter GLP und mit einigen Abweichungen zur entsprechenden OECD Richtlinie 451 durchgeführt worden. So wurden beispielsweise nur zwei Dosisgruppen und bei den Ratten nur die Männchen untersucht. Auffälligkeiten zeigten sich nur bei den weiblichen Mäusen. In der Hochdosisgruppe (250 mg/kg KG/Tag) war die Inzidenz für Lungentumore im Vergleich zur Kontrolle signifikant erhöht. Da der entsprechende Mausstamm (CD-1) bekannt ist, auch spontan diese Krebsform auszubilden, ist fraglich, ob die Ergebnisse auf den Menschen übertragbar sind. Bis zum Vorliegen entsprechender *in vivo*-Studien muss aber zumindest davon ausgegangen werden, dass DMA möglicherweise genotoxisch ist, zumal die strukturell sehr ähnliche Verbindung 2,6-Dimethylanilin harmonisiert als Karzinogen (Klasse 2, „kann vermutlich Krebs erzeugen“) eingestuft ist (ECHA, 2019a).

3.1.2.5. Zusammenfassung und Ableitung gesundheitlich akzeptabler Aufnahmemengen

Naphthol AS: Aus den vorliegenden experimentellen Daten lässt sich schließen, dass Naphthol AS *in vitro* nicht genotoxisch ist. Die *in silico*-Daten deuten zwar auf ein gewisses Potential zur Bindung an DNA und Proteine hin, doch bei Studien (inklusive *in vivo*-Studien) an chemisch / strukturell ähnlichen Verbindungen wurde kein Hinweis auf Genotoxizität gefunden. In einer Screening-Studie zur Toxizität nach wiederholter Aufnahme und zur Reproduktionstoxizität traten auch in der höchsten Dosisgruppe von 1000 mg/kg KG/Tag keine adversen Effekte auf. Umfassende Daten zur (sub) chronischen Toxizität fehlen jedoch. Es ist jedoch wahrscheinlich, dass im Magen-Darm-Trakt durch Spaltung der Amidbindung das genotoxische Kanzerogen Anilin freigesetzt wird. Bis zum Vorliegen entsprechender Studien (beispielsweise zur *in vivo*-Genotoxizität oder zum Metabolismus von Naphthol AS) muss Naphthol AS daher als möglicherweise genotoxisch *in vivo* angesehen werden. Nach dem „Threshold of Toxicological Concern“-Konzept (TTC-Konzept) sollte die tägliche Aufnahme

des wahrscheinlich freiwerdenden Anilins die gesundheitlich akzeptable Aufnahmemenge von $0,15 \mu\text{g}/\text{Person}^2$ nicht überschreiten, da in diesem Fall eine Gesundheitsgefährdung unwahrscheinlich ist (EFSA und WHO, 2016). Für Naphthol AS ergibt sich entsprechend ein gesundheitlich akzeptabler Aufnahmewert von $0,42 \mu\text{g}/\text{Person}$ (KG 60 kg)/Tag ($= 0,15 \mu\text{g} \cdot \text{Molmasse}_{\text{Naphthol AS}} / \text{Molmasse}_{\text{Anilin}}$).

NAAX: Aus den vorliegenden experimentellen Daten für NAAX und strukturähnliche Verbindungen lässt sich schließen, dass NAAX *in vitro* nicht genotoxisch ist. Die *in silico*-Daten sagen jedoch ein beträchtliches genotoxisches und kanzerogenes Potential für NAAX voraus, vor allem aufgrund seines Charakters als wahrscheinlicher Anilin-Vorläufer. Entsprechende *in vivo*-Metabolismusstudien weisen die Freisetzung von 2,4-Dimethylanilin und dessen anschließende Bindung an Hämoglobin nach. Auch eine Screening-Studie zur Toxizität nach wiederholter Aufnahme und zur Reproduktionstoxizität weist neben Effekten auf Leber, Niere und Milz typische Merkmale einer Methämoglobinämie nach, wie sie nach Bindung von Anilinderivaten an Hämoglobin auftreten kann. Da es im Tierversuch das als möglicherweise genotoxisch anzusehende 2,4-Dimethylanilin freisetzt, ist NAAX bis zum Vorliegen entsprechender *in vivo* Daten als möglicherweise genotoxisch *in vivo* anzusehen. Nach dem TTC-Konzept sollte die tägliche Aufnahme des wahrscheinlich freiwerdenden 2,4-Dimethylanilins den gesundheitlich akzeptablen Aufnahmewert von $0,15 \mu\text{g}/\text{Person}$ nicht überschreiten, da in diesem Fall eine Gesundheitsgefährdung unwahrscheinlich ist (EFSA und WHO, 2016). Für NAAX ergibt sich entsprechend eine gesundheitlich akzeptable Aufnahmemenge von $0,25 \mu\text{g}/\text{Person}/\text{Tag}$ ($= 0,15 \mu\text{g} \cdot \text{Molmasse}_{\text{NAAX}} / \text{Molmasse}_{2,4\text{-Dimethylanilin}}$).

NDPA: Für diese Verbindung sowie chemisch/strukturelle Analoga liegen kaum experimentelle Daten vor. Genotoxische Eigenschaften sind auf der Grundlage dieser Daten möglich, auch weil Studien zu aneugenen und clastogenen Eigenschaften vollständig fehlen. Die *in silico*-Daten sagen ein erhebliches genotoxisches und kanzerogenes Potential für NDPA voraus – vor allem aufgrund seines Charakters als Anilin-Vorläufer, denn *in vivo* wird NDPA sehr wahrscheinlich zu 2,4-Dimethylanilin gespalten. Die Reaktion wird durch das Enzym „Arylacetamid-Deacetylase“ katalysiert und ist für strukturverwandte Arzneistoffe gut beschrieben. Entsprechend ist NDPA bis zum Vorliegen entsprechender *in vivo* Daten als möglicherweise genotoxisch *in vivo* anzusehen. Nach dem TTC-Konzept sollte die tägliche Aufnahme daher die gesundheitlich akzeptablen Aufnahmemenge von $0,15 \mu\text{g}/\text{Person}$ (60 kg KG) nicht überschreiten, da in diesem Fall eine Gesundheitsgefährdung unwahrscheinlich ist (EFSA und WHO, 2016).

HNS: Die Verbindung ist, wenn man alle experimentellen und *in silico*-Informationen zu ihr und chemisch / strukturell ähnlichen Verbindungen heranzieht, als nicht genotoxisch einzuordnen. In Studien zur Toxizität nach wiederholter Aufnahme zeigten sich Effekte auf die Nebenniere und Hyperplasien der Vormagenschleimhaut. Der NOAEL betrug $12 \text{ mg}/\text{kg KG}/\text{Tag}$. Allerdings fehlt zu einer umfassenden Untersuchung der (sub) chronischen Toxizität eine Vielzahl an Daten beispielsweise zu den Organgewichten und den Blut- bzw. Urinwerten. Zur Ableitung einer duldbaren täglichen Aufnahmemenge (TDI) wird daher ein Gesamtsicherheitsfaktor von 2000 herangezogen (je Faktor 10 für Inter- und Intraspezies-Unterschiede, Faktor 2 für die Extrapolation von einer subchronischen auf eine chronische Studie sowie Faktor 10 für Unsicherheiten in der Datenbasis). Der TDI beträgt demnach $6 \mu\text{g}/\text{kg KG}/\text{Tag}$. Für einen Erwachsenen (KG = 60 kg, tägliche Aufnahme von Lebensmittel, das im Kontakt mit dem betrachteten Material war = 1 kg) entspricht das einem gesundheitlich akzeptablen Aufnahmewert von $360 \mu\text{g}/\text{Tag}$.

² Es wird bei den auf die Person bezogenen Werten immer ein Körpergewicht von 60 kg angenommen

Akzeptable Migrationswerte: Entsprechend der Verordnung (EU) Nr. 10/2011 wird für eine erwachsene Person eine tägliche Verzehrsmenge von 1 kg Lebensmittel, das mit dem entsprechenden FCM in Kontakt war, angenommen. Akzeptable Migrationswerte (in $\mu\text{g/l}$) entsprechen daher dem Zahlenwert nach den akzeptablen täglichen Aufnahmemengen (siehe Tabelle 3). Konzentrationen an Naphthol AS, NAAX und NDPA im Kaltwasserextrakt von 0,15 $\mu\text{g/l}$ und weniger können jedoch aufgrund von höheren analytischen Nachweisgrenzen in der Regel nicht nachgewiesen werden. Naphthol AS, NAAX und NDPA dürfen im Kaltwasserextrakt entsprechend nicht nachweisbar sein (Die Nachweisgrenze liegt in Anlehnung an die Verordnung (EU) Nr. 10/2011 bei höchstens 10 μg Stoff je kg Lebensmittel oder Lebensmittel simulanz). Für HNS ist eine Migration von 360 $\mu\text{g/l}$ akzeptabel (siehe Tabelle 3).

Tabelle 3: Gesundheitlich akzeptable Aufnahmemerte und akzeptable Migrationswerte für den Wasserextrakt für Naphthol AS, NAAX, NDPA und HNS

	Naphthol AS	NAAX	NDPA	HNS
Gesundheitlich akzeptable Aufnahmemerte in $\mu\text{g/Person/Tag}$	0,42	0,25	0,15	360
Akzeptable Migrationswerte in $\mu\text{g/l}$	nicht nachweisbar, Nachweisgrenzen < 10			360

3.1.3 Expositionsabschätzung

Aufgrund der Daten der LUA Sachsen (2018), welche im Rahmen der Analytik primärer aromatischer Amine auch die oben genannten Verbindungen (Abbildung 1) in Kaltwasserextrakten aus Papier- und Kartonmatrices bestimmt hat, ist ein Übergang der Verbindungen auf Lebensmittel bei Kontakt zu dem jeweiligen FCM zu erwarten. In Kaltwasserextrakten von FCM aus Papier und Karton gemäß DIN EN 645 wurden Naphthol AS, NAAX, NDPA und HNS im Bereich von 2 bis 368 $\mu\text{g/l}$ nachgewiesen. Die daraus resultierende Exposition ist in Tabelle 4 zusammengefasst.

Während die getesteten Trinkhalme keine der organischen Verbindungen enthielten, wurden vor allem in der Produktgruppe des Bäckerrollenpapiers häufig mehrere Analyten in einer Probe quantifiziert. Der höchste Einzelwert wurde im Wasserextrakt eines Blockbodenbeutels bestimmt (HNS, 368 $\mu\text{g/l}$).

Neben diesen vier Verbindungen wurden in einigen Kaltwasserextrakten auch potentielle Spaltprodukte quantifiziert, darunter die primären aromatischen Amine Anilin bzw. 2,4-Dimethylanilin (toxikologische Daten siehe Abschnitt 3.1.2). Auffällig dabei ist ein Anilingehalt von 3 $\mu\text{g/l}$ in dem Extrakt eines Bäckerrollenpapiers, in dem gleichzeitig der höchste Naphthol AS-Gehalt aller Proben bestimmt wurde (274 $\mu\text{g/l}$, vgl. Tabelle 4). In Extrakten mit geringeren Naphthol AS-Gehalten (2 bis 95 $\mu\text{g/l}$) wurde kein Anilin nachgewiesen. Dies stützt die Vermutung, dass Naphthol AS einen Anilinvorläufer darstellen könnte. Ein statistischer Zusammenhang lässt sich jedoch bei nur einem Messpunkt nicht ableiten. Eine (zufällige) gleichzeitige Verunreinigung durch beide Stoffe ist ebenfalls denkbar.

Tabelle 4: Tägliche Expositionswerte, abgeleitet aus gemessenen Gehalten organischer Verbindungen und ihrer potentiellen Spaltprodukte in Kaltwasserextrakten von Lebensmittelkontaktmaterialien aus Papier und Karton (tägliche Verzehrsmenge 1 kg Lebensmittel, Körpergewicht 60 kg).

Modell	Gehalt in µg/l Extrakt ≙ Orale Exposition in µg/Person/Tag					
	Naphthol AS	NAAX	NDPA	HNS	Anilin	2,4-DMA
Probenanzahl gesamt	51	51	51	51	51	51
Probenanzahl > Nachweisgrenze	10	22	25	19	1	2
Minimalwert*	2	2	2	7	3	3
Maximalwert	274	55	22	368	3	3
Mittelwert**	9	9	3	25	-	-
Median*	7	13	6	24	-	-

- zu wenig Datenpunkte

* der Proben mit Analytgehalten oberhalb der Nachweisgrenze

** Lower bound Ansatz: Analytgehalte unterhalb der Nachweisgrenze ≙ 0 µg/l

2,4-Dimethylanilin wurde in den Kaltwasserextrakten einer Servietten- und einer Bäckerrollenpapier-Probe mit je 3 µg/l nachgewiesen. Potentielle Ausgangsverbindungen hierfür stellen NAAX sowie NDPA dar. Beide Verbindungen wurden in den 2,4-Dimethylanilin-haltigen Extrakten quantifiziert. Da jedoch in über zwanzig weiteren Proben NAAX (bis 76 µg/l) und NDPA (bis 22 µg/l) mit vergleichbaren oder teils höheren Gehalten gefunden wurden, nicht jedoch das 2,4-Dimethylanilin, ist ein ausschließlicher Zusammenhang zwischen den Gehalten an 2,4-Dimethylanilin und NAAX bzw. NDPA unwahrscheinlich.

Unter Anwendung der Vorgabe aus der Verordnung (EU) Nr. 10/2011, nach der die tägliche Verzehrsmenge eines Erwachsenen 1 kg Lebensmittel beträgt, sowie unter der Annahme eines Körpergewichts von 60 kg ergeben sich die in Tabelle 4 aufgeführten täglichen Expositionswerte.

3.1.4. Risikocharakterisierung

Das BfR hat, wie in Abschnitt 3.1.2. dargestellt, gesundheitlich akzeptable Aufnahmewerte für Naphthol AS, NAAX, NDPA und HNS abgeleitet (siehe Tabelle 3). Für Naphthol AS, NAAX und NDPA stellt nach aktueller Datenlage eine tägliche Aufnahme von bis zu 0,42, 0,25 bzw. 0,15 µg/Person kein gesundheitliches Risiko dar. Für HNS ist eine tägliche Aufnahme von bis zu 360 µg/Person akzeptabel. Naphthol AS, NAAX und NDPA sollten im Kaltwasserextrakt entsprechend nicht nachweisbar sein, mit Nachweisgrenzen von höchstens 10 µg/l. Wie aus der Tabelle 4 zu entnehmen ist, waren NAAX und NDPA in nahezu der Hälfte der untersuchten 51 Proben nachweisbar, Naphthol AS in 10 Proben. Die aus den höchsten gemessenen Gehalten berechneten Expositionswerte übersteigen dabei den vom BfR abgeleiteten gesundheitlich akzeptablen Aufnahmewert von 0,42 µg/Person/Tag (Naphthol AS), 0,25 µg/Person/Tag (NAAX) bzw. 0,15 µg/Person/Tag (NDPA) um einen Faktor von etwa 590 (Naphthol AS), 220 (NAAX) bzw. 140 (NDPA). Auch die Minimalwerte in Proben mit nachweisbaren Gehalten überschreiten den gesundheitlich akzeptablen Aufnahmewert deutlich (etwa Faktor 5 bis 13). Bei einer einmaligen Überschreitung dieser akzeptablen Aufnahmewerte ist ein erhöhtes Gesundheitsrisiko unwahrscheinlich. Bei einer regelmäßigen Überschreitung muss jedoch mit einem erhöhten Risiko für das Auftreten gesundheitlicher

Beeinträchtigungen gerechnet werden. Vor diesem Hintergrund ist auch das Vorhandensein primärer aromatischer Amine in den Proben toxikologisch bedenklich. Diese waren nicht Gegenstand der vorliegenden Bewertung. Zusätzlich kritisch zu sehen ist, dass vor allem in Verpackungspapier für Backwaren häufig mehrere der Analyten gefunden wurden, so dass der Gesamtgehalt möglicherweise Anilin-freisetzender Verbindungen noch höher ist. Die berechnete Exposition gegenüber HNS überschreitet den abgeleiteten gesundheitlich akzeptablen Aufnahmewert nicht. Ein erhöhtes Gesundheitsrisiko ist damit unwahrscheinlich.

3.2. Unsicherheitenanalyse

Die toxikologische Datenbasis ist für Naphthol AS, NAAX und NDPA sehr klein. Insbesondere fehlen Daten zur Toxikokinetik und zur (sub) chronischen Toxizität. Aus den vorhandenen Daten scheint es plausibel oder belegt, dass die genannten Verbindungen im Magen-Darm-Trakt Anilinderivate freisetzen können. In welchen Mengen diese Anilinderivate gebildet werden, könnte mit Hilfe entsprechender Metabolismusstudien aufgeklärt werden. In Abwesenheit der genannten Daten konnte die toxikologische Bewertung nur pauschal auf der Grundlage des TTC-Konzeptes und unter Annahme der Freisetzung genotoxischer Verbindungen erfolgen. Die gesundheitlich akzeptable tägliche Aufnahmemenge ist entsprechend sehr niedrig, und die berechneten Expositionswerte müssen daher als möglicherweise gesundheitlich bedenklich angesehen werden. Eine detaillierte Einzelbewertung wäre nur auf der Grundlage weiterer toxikologischer Daten möglich.

Für HNS ist die Datenlage deutlich besser, und es konnte eine duldbare tägliche Aufnahmemenge abgeleitet werden. Bei ihrer Ableitung sind dennoch vorhandene Unsicherheiten in der Datenlage – wie beispielsweise fehlende Untersuchungen zu Auswirkungen auf die einzelnen Organgewichte oder Blutparameter – einbezogen worden.

3.3. Handlungsrahmen (Empfehlungen)

Aus der Migration von Naphthol AS, N-Acetoacetyl-m-xylydin (NAAX) und N-(2,4-Dimethylphenyl)acetamid (NDPA) in Lebensmittel können sich Gesundheitsrisiken für Verbraucherinnen und Verbraucher ergeben. Aus der Risikobewertung ergibt sich, dass die Proben, für die eine Freisetzung der genannten Stoffe in den Kaltwasserextrakt nachgewiesen wurde, nicht für den Lebensmittelkontakt verwendet werden sollten. Dies gilt auch für die Proben, bei denen eine Freisetzung von Anilinderivaten beobachtet wurde. Besonders auffällig waren dabei Papiere, die zum Einpacken von Backwaren verwendet werden. Andere Probengruppen wie Trinkhalme, Muffinformen und Servietten waren insgesamt deutlich weniger belastet. In jeder Probengruppe gab es Proben, in denen die drei genannten Verbindungen nicht nachgewiesen wurden. Naphthol AS-, NAAX- und NDPA-freisetzende Materialien sollten nicht im Kontakt mit Lebensmitteln verwendet werden, bis geeignete toxikologische Studien vorliegen, welche die Sicherheit der genannten Verbindungen belegen. Die Hersteller sollten ihre Rohstoffe und Endprodukte auf Verunreinigungen mit diesen Substanzen bzw. deren Freisetzung prüfen und ggf. Alternativen zu den verwendeten Materialien suchen.

4. Referenzen

- BAuA (2016): Technische Regeln für Gefahrstoffe. TRGS 905. Verzeichnis krebserzeugender, keimzellmutagener oder reproduktionstoxischer Stoffe. GMBI 2016 S. 378-390 [Nr. 19], Zuletzt geändert und ergänzt: GMBI 2018 S. 259 [Nr.15] https://www.baua.de/DE/Angebote/Rechtstexte-und-Technische-Regeln/Regelwerk/TRGS/pdf/TRGS-905.pdf?__blob=publicationFile
- BfR (2017): Empfehlung XXXVI des Bundesinstituts für Risikobewertung. Papiere, Kartons und Pappen für den Lebensmittelkontakt, Stand 01.09.2017. <https://bfr.ble.de/kse/faces/resources/pdf/360.pdf>
- BMEL (2016): Bundesministerium für Ernährung und Landwirtschaft. Entwurf der Einundzwanzigsten Verordnung zur Änderung der Bedarfsgegenständeverordnung – Notifizierte Fassung. https://www.bmel.de/SharedDocs/Downloads/Verbraucherschutz/DruckfarbenVO-DE.html;jsessionid=C749F10C1AF4989248725D162782B75F.1_cid358
- BUA (1992): BUA Stoffbericht 123 - Acetoacetyl-m-xylid. Beratergremium für umweltrelevante Altstoffe der Gesellschaft deutscher Chemiker
- ECHA (2019a): European Chemicals Agency - C&L inventory for 2,6-dimethylaniline (CAS 87-62-7). <https://echa.europa.eu/information-on-chemicals/cl-inventory-database/-/discli/details/90282>
- ECHA (2019b): European Chemicals Agency - Registration dossier for 2'-ethoxy-3-hydroxy-2-naphthanilide (CAS 92-74-0). <https://echa.europa.eu/registration-dossier/-/registered-dossier/2012/7/7/3>
- ECHA (2019c): European Chemicals Agency - Registration dossier for 2'-methoxy-3-hydroxy-2-naphthanilide (CAS 135-62-6). <https://echa.europa.eu/registration-dossier/-/registered-dossier/22161/7/7/2>
- ECHA (2019d): European Chemicals Agency - Registration dossier for 2'-Methoxyacetoacetanilide (CAS 92-15-9). <https://echa.europa.eu/registration-dossier/-/registered-dossier/14534/7/7/2/?documentUUID=2d2d9d34-3df6-401f-b561-60bde9c933b8>
- ECHA (2019e): European Chemicals Agency - Registration dossier for 2'-methyl-3-hydroxy-2-naphthanilide (CAS 135-61-5). <https://echa.europa.eu/registration-dossier/-/registered-dossier/13267/1>
- ECHA (2019f): European Chemicals Agency - Registration dossier for 2'-Methylacetoacetanilide (CAS 93-68-5). <https://echa.europa.eu/registration-dossier/-/registered-dossier/22153>
- ECHA (2019g): European Chemicals Agency - Registration dossier for 2',4'-dimethylacetoacetanilide (CAS 97-36-9). <https://echa.europa.eu/registration-dossier/-/registered-dossier/14428>

- ECHA (2019h): European Chemicals Agency - Registration dossier for 2,4-dimethylaniline (CAS 95-68-1). <https://echa.europa.eu/de/registration-dossier/-/registered-dossier/2085/7/7/2>
- ECHA (2019i): European Chemicals Agency - Registration dossier for 3-hydroxy-2-naphthoic acid (CAS 92-70-6). <https://echa.europa.eu/registration-dossier/-/registered-dossier/14175>
- ECHA (2019j): European Chemicals Agency - Registration dossier for 4'-methoxy-3-hydroxy-2-naphthanilide (CAS 92-79-5). <https://echa.europa.eu/registration-dossier/-/registered-dossier/22153>
- ECHA (2019k): European Chemicals Agency - Registration dossier for 6-Hydroxy-2-naphthoic acid (CAS 16712-64-4). <https://echa.europa.eu/registration-dossier/-/registered-dossier/10731/7/7/3>
- ECHA (2019l): European Chemicals Agency - Registration dossier for Acetoacetanilide (CAS 102-01-2). <https://echa.europa.eu/registration-dossier/-/registered-dossier/22153>
- ECHA (2019m): European Chemicals Agency - Registration dossier for aniline (CAS 62-53-3). <https://echa.europa.eu/de/registration-dossier/-/registered-dossier/15333/7/8>
- EDI (2017): Verordnung des Eidgenössischen Departement des Innern (EDI) über Materialien und Gegenstände, die dazu bestimmt sind, mit Lebensmitteln in Berührung zu kommen (Bedarfsgegenständeverordnung) - Anhang 10 (Druckfarben). https://www.blv.admin.ch/dam/blv/de/dokumente/lebensmittel-und-ernaehrung/rechts-und-vollzugsgrundlagen/lebensmittelrecht2017/anhang10-verordnung-materialien-kontakt-lm-gg.pdf.download.pdf/Anhang_10.pdf
- EFSA und WHO (2016): Review of the Threshold of Toxicological Concern (TTC) approach and development of new TTC decision tree. EFSA Supporting Publications 13 (3), 1006E-n/a. DOI: 10.2903/sp.efsa.2016.EN-1006
- EU (2004): European Union Risk Assessment Report. 1st Priority List. Volume 50. Aniline. Institute for Health and Consumer Protection of the European Chemicals Bureau
- Fukami T., Kariya M., Kurokawa T., Iida A., und Nakajima M. (2015): Comparison of substrate specificity among human arylacetamide deacetylase and carboxylesterases. European Journal of Pharmaceutical Sciences 78, 47-53. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ejps.2015.07.006>
- GDCh: Beratergremium für umweltrelevante Altstoffe (BUA). https://www.gdch.de/fileadmin/downloads/Publikationen/Weitere_Publikationen/PDF/bua_infoallgemein.pdf
- JCHECK (2019): Japan Chemicals Collaborative Knowledge Database - entry for 3-Hydroxy-2-naphthanilide (92-77-3). http://www.safe.nite.go.jp/jcheck/detail.action?cno=92-77-3&mno=5-2272&request_locale=en
- JECDB: Japan Existing Chemical Database - Test report - Exp. No. 7817 (115-182): in vivo Micronucleus test for 3-Hydroxy-2-naphthoic acid (92-70-6). http://dra4.nihs.go.jp/mhlw_data/home/pdf/PDF92-70-6g.pdf

- JECDB (2000): Japan Existing Chemical Database - Test report - One-generation Reproductive Toxicity Test for 3-Hydroxy-2-naphthoic acid (92-70-6).
http://dra4.nihs.go.jp/mhlw_data/home/pdf/PDF92-70-6p.pdf
- JECDB (2019a): Japan Existing Chemical Database - entry for 3-Hydroxy-2-naphthanilide (92-77-3).
http://dra4.nihs.go.jp/mhlw_data/jsp/FileListPageENG.jsp?parameter_csno=92-77-3
- JECDB (2019b): Japan Existing Chemical Database - entry for o-Acetoacetotoluidide (93-68-5).
http://dra4.nihs.go.jp/mhlw_data/jsp/ResultPageENG.jsp?condition_item=cas&condition_keyword=93-68-5&condition_type=*
- Kobayashi Y., Fukami T., Higuchi R., Nakajima M., und Yokoi T. (2012): Metabolic activation by human arylacetamide deacetylase, CYP2E1, and CYP1A2 causes phenacetin-induced methemoglobinemia. *Biochemical Pharmacology* 84 (9), 1196-1206. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.bcp.2012.08.015>
- Lipinski C.A., Lombardo F., Dominy B.W., und Feeney P.J. (2001): Experimental and computational approaches to estimate solubility and permeability in drug discovery and development settings. *Journal of Pharmaceutical Sciences* 90 (12), 1649-1664. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0169-409X\(96\)00423-1](https://doi.org/10.1016/S0169-409X(96)00423-1). The article was originally published in *Advanced Drug Delivery Reviews* 23 (1997) 3–25.1. *Advanced Drug Delivery Reviews* 46 (1), 3-26. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0169-409X\(00\)00129-0](https://doi.org/10.1016/S0169-409X(00)00129-0)
- OECD (2004): SIDS Initial Assessment Report For SIAM 19 - 3-Hydroxy-2-naphthoic acid.
<http://www.inchem.org/documents/sids/sids/92706.pdf>
- OECD (2018): OECD-Toolbox Version 4.1. <http://www.oecd.org/chemicalsafety/risk-assessment/oecd-qsar-toolbox.htm>
- Rasper T.O. (2016): Primäre aromatische Amine und Präkursoren in Pigmenten, Druckfarben und bedruckten Papieren. Diplomarbeit, Technische Universität Dresden
- Sabbioni A.B.G. (1999): Biomonitoring of arylamines: haemoglobin adducts of aniline derivatives. *Biomarkers* 4 (3), 229-236. DOI: 10.1080/135475099230895
- Shimizu M., Fukami T., Ito Y., Kurokawa T., Kariya M., Nakajima M., und Yokoi T. (2014): Indiplon is Hydrolyzed by Arylacetamide Deacetylase in Human Liver. *Drug Metabolism and Disposition*. DOI: 10.1124/dmd.113.056184
- Toxnet: CCRIS/Toxnet Datenbank-Eintrag für N-Acetoacetyl-p-toluidin (2415-85-2).
<https://toxnet.nlm.nih.gov/cgi-bin/sis/search2/f?./temp/~9HzjWV:2>
- Watanabe A., Fukami T., Nakajima M., Takamiya M., Aoki Y., und Yokoi T. (2009): Human Arylacetamide Deacetylase Is a Principal Enzyme in Flutamide Hydrolysis. *Drug Metabolism and Disposition* 37 (7), 1513-1520. DOI: 10.1124/dmd.109.026567
- Yoshida T., Fukami T., Kurokawa T., Gotoh S., Oda A., und Nakajima M. (2018): Difference in substrate specificity of carboxylesterase and arylacetamide deacetylase between

dogs and humans. European Journal of Pharmaceutical Sciences 111, 167-176. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ejps.2017.09.040>

Zeiger E., Anderson B., Haworth S., Lawlor T., und Mortelmans K. (1992): Salmonella mutagenicity tests: V. Results from the testing of 311 chemicals. Environmental and Molecular Mutagenesis 19 (S21), 2-141. DOI: doi:10.1002/em.2850190603

Weitere Informationen auf der BfR-Website zum Thema Lebensmittelkontaktmaterialien

Stellungnahme 021/2014 zu paA in Lebensmittelbedarfsgegenständen:

<https://www.bfr.bund.de/cm/343/primaere-aromatische-amine-aus-bedruckten-lebensmittelbedarfsgegenstaenden-wie-servietten-oder-baeckertueten.pdf>

FAQ zu den Empfehlungen des BfR für Materialien für den Lebensmittelkontakt:

https://www.bfr.bund.de/de/fragen_und_antworten_zu_den_empfehlungen_des_bfr_fuer_materialien_fuer_den_lebensmittelkontakt-60432.html



„Stellungnahmen-App“ des BfR

Über das BfR

Das Bundesinstitut für Risikobewertung (BfR) ist eine wissenschaftlich unabhängige Einrichtung im Geschäftsbereich des Bundesministeriums für Ernährung und Landwirtschaft (BMEL). Es berät die Bundesregierung und die Bundesländer zu Fragen der Lebensmittel-, Chemikalien- und Produktsicherheit. Das BfR betreibt eigene Forschung zu Themen, die in engem Zusammenhang mit seinen Bewertungsaufgaben stehen.