

Bundesinstitut für Risikobewertung (BfR)

Farbstoffe Sudan I bis IV in Lebensmitteln

Stellungnahme des BfR vom 19. November 2003

Verschiedene Staaten der Europäischen Union und einige Bundesländer haben in Proben von scharfem Chilipulver aus Indien die verbotenen Farbstoffe Sudan I-IV nachgewiesen. Der Gehalt der Proben, die in Staaten der Europäischen Union untersucht wurden, lag zwischen 2,8 und 3500 mg je Kilogramm Chilipulver. Die Farbstoffe wurden auch in Proben fertig zubereiteter Lebensmittel gefunden.

Sudan I-IV sind synthetisch hergestellte Azofarbstoffe, die in Lebensmitteln natürlicherweise nicht vorkommen. Derartige Farbstoffe gelten deshalb als Zusatzstoffe und müssen für den Einsatz in Lebensmitteln zugelassen werden. (Für Zusatzstoffe gilt in der Europäischen Union ein grundsätzliches Verbot mit Erlaubnisvorbehalt). Die synthetischen Farbstoffe Sudan I-IV sind in der Europäischen Union nicht als Lebensmittelzusatzstoffe zugelassen. Lebensmittel, die sie enthalten, sind folglich in Deutschland und der Europäischen Union nicht verkehrsfähig.

Die Azofarbstoffe Sudan I-IV können nach oraler Aufnahme im Körper in Amine aufgespalten werden. Einige Amine, die bei der Azospaltung dieser Sudan-Farbstoffe entstehen können, sind als krebserzeugend (Kategorie 2) eingestuft. Aufgrund ihres Wirkmechanismus kann für diese chemischen Verbindungen keine Dosis festgelegt werden, ab der die krebserzeugende Wirkung eintritt (sogenannter Schwellenwert). Das bedeutet auch, dass für diese Stoffe keine duldbare tägliche Aufnahmemenge (TDI) festgelegt werden kann.

Das BfR hat das gesundheitliche Risiko abgeschätzt, das von Gewürzen und Lebensmitteln ausgeht, die die Farbstoffe Sudan I-IV enthalten. Das Institut kommt zu dem Schluss, dass Sudan-Farbstoffe grundsätzlich die Gesundheit schädigen können. Es weist aber darauf hin, dass bei einmaligem oder gelegentlichem Verzehr von Speisen, die Sudanfarbstoffe in wenigen Milligramm enthalten, das Risiko einer Krebserkrankung wahrscheinlich sehr gering ist. Diese Einschätzung gilt jedoch nicht für häufigen Verzehr von Lebensmitteln und Gewürzen, die den Stoff in hohen Konzentrationen von mehreren Tausend Milligramm enthalten.

Die Einschätzung, dass das Risiko einer Krebserkrankung bei gelegentlichem Verzehr von niedrig belasteten Lebensmitteln wahrscheinlich nur sehr gering ist, bedeutet aber nicht, dass dann gar kein Risiko besteht. Denn für krebserzeugende Stoffe der Kategorie 2 kann keine Menge angegeben werden, die gesundheitlich unbedenklich ist. Da das Risiko bei häufigem bzw. dauerhaftem Verzehr steigt, sollte aus Gründen der Vorsorge so wenig wie möglich an derartigen Stoffen aufgenommen werden.

Das BfR empfiehlt, neben Sudan I auch die Farbstoffe Sudan II, III und IV in Überwachungsmaßnahmen mit einzubeziehen.

1. Anlass

Über das Schnellwarnsystem der EU wurden in den letzten Monaten wiederholt Meldungen verbreitet, wonach die nicht zugelassenen Farbstoffe Sudan I bis IV in Lebensmitteln nachgewiesen wurden. Diese Farbstoffe wurden vorwiegend in Chilipulver sowie in daraus zubereiteten Lebensmitteln gefunden. Am 9. Mai 2003 hat Frankreich über das Schnellwarnsystem Informationen über die Feststellung des Farbstoffs Sudan I in scharfen Chilierzugnissen aus Indien übermittelt. Sudan I steht im Verdacht, ein genotoxisches Kanzerogen zu sein, so dass keine duldbare tägliche Aufnahmemenge festgelegt werden kann. Die EU-Kommission hat deshalb am 20. Juni 2003 eine Entscheidung über Dringlichkeitsmaßnah-

men (2003/460/EG) erlassen, wonach die Mitgliedstaaten die Einfuhr von scharfen Chilis und scharfen Chilierzugnissen verbieten, sofern nicht mit einem die Sendung begleitenden Analysebericht nachgewiesen ist, dass das Erzeugnis kein Sudanrot I (CAS-Nr. 842-07-9) enthält (CEC, 2003). Nach Auffassung der EU-Kommission "deuten die von Frankreich übermittelten Untersuchungsergebnisse auf eine Verfälschung hin, die ein schwerwiegendes Gesundheitsrisiko darstellt" (Erwägungsgrund (4)). Die EU-Kommission begründete ihre Entscheidung mit "großen Gefahren für die Gesundheit" (Erwägungsgrund (7)).

Seitdem wurden auch von anderen EU-Mitgliedsländern einschließlich Deutschland sowie von der EU-Kommission über das Schnellwarnsystem entsprechende Meldungen verbreitet, die sich weit überwiegend auf den Farbstoff Sudan I beziehen. Einzelne Meldungen betrafen auch die Farbstoffe Sudan II, III und IV. Bislang wurden ungefähr 25 Meldungen aus Deutschland mitgeteilt (RASFF-Liste vom 24.10.2003).

Das BfR wurde vom Bundesministerium für Verbraucherschutz, Ernährung und Landwirtschaft (BMVEL) sowie von einigen Landesbehörden, die ihrerseits Informationen über das aktuelle Vorkommen von Sudan I und III in Paprika- und Chiligewürzen mitgeteilt haben, um Stellungnahme gebeten. Dabei wurde die Frage gestellt, in welcher Weise die Farbstoffe Sudan I und III grundsätzlich geeignet sind, die Gesundheit zu schädigen, ob die ermittelten Konzentrationen geeignet sind, die Gesundheit zu schädigen und somit die Voraussetzungen für eine Beanstandung gemäß der Vorschrift des § 8 LMBG vorliegen.

Außerdem wurde das BfR vor dem Hintergrund der Aussagen der Kommission zu Erzeugnissen mit mehreren Tausend Milligramm Sudan I um eine Bewertung von Produkten mit deutlich niedrigeren Gehalten gebeten, wobei deutlich werden müsse, inwieweit die Aussagen der Kommission auf solche Erzeugnisse übertragbar sind. Die Stellungnahme werde benötigt, um eine Entscheidung über eine mögliche Information der Öffentlichkeit nach Artikel 10 der Verordnung (EG) Nr. 178/2002 treffen zu können.

2. Ergebnis

Das BfR hält die genannten Sudan-Farbstoffe grundsätzlich für geeignet, die Gesundheit zu schädigen. Da in den Fällen, in denen die Farbstoffe Sudan I bis IV nur in Konzentrationen von einigen Milligramm pro Kilogramm Chilipulver enthalten sind, bei den damit verbundenen möglichen Aufnahmemengen das Risiko einer Schädigung der Gesundheit wahrscheinlich aber sehr gering ist, sind die Voraussetzungen für eine Beanstandung gemäß der Vorschrift des § 8 LMBG aus Sicht des BfR zumindest in diesen Fällen ebenso wie bei Spuren anderer genotoxischer bzw. kanzerogener Verbindungen nicht erfüllt.

Unabhängig davon sind Lebensmittel, die die genannten Sudan-Farbstoffe enthalten, aber allein schon deshalb zu beanstanden, weil diese Farbstoffe in Lebensmitteln natürlicherweise nicht vorkommen und ein Zusatz nach § 11 LMBG verboten ist.

Das BfR empfiehlt zu prüfen, ob die Farbstoffe Sudan II, III und IV wegen ihres Gefährdungspotentials und des Risikos, das bei einem hohen Gehalt und bei hohen Verzehrsmengen angenommen werden kann, neben Sudan I in die Überwachungsmaßnahmen mit einzu beziehen sind.

3. Begründung

3.1 Risikobewertung

3.1.1 Agens (Gefahrenquelle)

Bei den Farbstoffen Sudan I bis IV handelt es sich um Azofarbstoffe.

Tabelle 1: Gefahrenquelle

Substanz	CAS-Nr.	Colour-Index	Name / Synonyme (Beispiele)
Sudan I	842-07-9	12055	1-Phenylazo-2-naphthol 1-Phenylazo- β -naphthol 2-Hydroxy-1-phenylazonaphthalin 2-Hydroxynaphthyl-1-azobenzol Solvent Yellow 14 Sudan Gelb Dispersol Yellow PP Ölorange E Scharlach B
Sudan II	3118-97-6	12140	1-(2,4-Dimethylbenzolazo)-2-naphthol Solvent Orange 7 D&C Red No. 14, Ext. Sudan Orange CEN-C2
Sudan III	85-86-9	26100	1-[(4-Benzolazo)-benzolazo]-2-naphthol Solvent Red 23 D&C Red No. 17 Ölrot 3G C-Ext. Rot 56
Sudan IV	85-83-6	26105	2',3-Dimethyl-4-(2-hydroxy-1-naphthylazo)- azobenzol o-Tolylazo-o-tolylazo- β -naphthol Solvent Red 24 Ölrot 2B Scharlachrot CEN-C5

Für Azofarbstoffe sind in der Regel sehr viele Synonyme (z.T. über 100) gebräuchlich. Bei Bedarf sind zu den o.g. Farbstoffen weitere Synonyme z.B. in der Terminologie-Datenbank CHEMID oder der Fakten-Datenbank RTECS recherchierbar (www.dimdi.de).

3.1.2 Gefährdungspotential

Nach oraler Aufnahme können Azofarbstoffe zu den korrespondierenden Aminen reduziert werden. Die Azo-Reduktion kann durch Reduktasen der gastrointestinalen Mikroflora und auch durch mikrosomale und cytosolische Reduktasen der Leber und extrahepatischer Gewebe erfolgen. Dabei kommt der gastrointestinalen Mikroflora eine große Bedeutung zu (Literaturübersicht z.B. in SCCNFP, 2002). Auf die Freisetzung von Aminen und deren nachfolgende metabolische Aktivierung wird die in zahlreichen Fällen festgestellte Mutagenität in In-vitro-Testsystemen und die kanzerogene Wirkung im Tierversuch zurückgeführt, woraus sich der Verdacht ableitet, dass alle Azo-Verbindungen, die eine im Stoffwechsel freisetzbare kanzerogene Aminkomponente enthalten, ein krebserzeugendes Potential besitzen (DFG, 2003).

3.1.2.1 Gefährdungspotential von Sudan I:

Sudan I ist im Anhang I der Richtlinie 67/548/EWG als krebserzeugend in Kategorie 3 und als mutagen in Kategorie 3 eingestuft. In den Technischen Regeln für Gefahrstoffe (TRGS 905) ist es nicht aufgeführt. Die Einstufungsempfehlung des Ausschusses für Gefahrstoffe (AGS) entspricht der Einstufung im Anhang I der Richtlinie 67/548/EWG.

Der AGS hat seinen Einstufungsvorschlag wie folgt begründet: C.I. Solvent Yellow 14 (Sudan I) hat bei Ratten nach Verabreichung über das Futter zu einer dosisabhängig erhöhten Inzidenz von neoplastischen Leberknötchen geführt. Die bei Mäusen aufgetretenen Leukämien und Lymphome zeigen keine klare Dosisabhängigkeit und liegen zum Teil im Bereich von Kontrollwerten. Nach oraler Gabe hat der Stoff bei Ratten zu einer erhöhten Rate von Mikrokernen in polychromatischen Erythrozyten geführt, während bei Mäusen der Mikrokernertest negativ bzw. schwach positiv ausfiel. Aufgrund der bei Ratten aufgetretenen neoplastischen Leberknötchen, die als kanzerogene Vorstufen angesehen werden, und der genotoxischen Wirksamkeit in-vivo, sollte C.I. Solvent Yellow 14 als kanzerogen Kategorie 3 und als mutagen Kategorie 3 eingestuft werden. Hinsichtlich reproduktionstoxischer Wirkungen kann der Stoff nicht eingestuft werden, da keine Daten vorliegen. Aufgrund der hautsensibilisierenden Wirkung bei Versuchstieren und beim Menschen sollte der Stoff als hautsensibilisierend eingestuft (R 43) werden. (AGS, 1997).

Sudan I wurde F-344 Ratten und B6C3F1 Mäusen über 103 Wochen mit dem Futter verabreicht (NTP, 1982, Technical Report 226). Die Konzentrationen im Futter betragen für Ratten 0, 250 und 500 ppm (ca. 15 bzw. 30 mg/kg KG/Tag) und für Mäuse 0, 500 und 1000 ppm (ca. 60 bzw. 120 mg/kg KG/Tag). Die Körpergewichte der exponierten Ratten waren im Vergleich zu den Kontrolltieren leicht vermindert. Substanzbedingte klinische Anzeichen von Toxizität oder Todesfälle traten nicht auf. Bei weiblichen Ratten wurden substanzbedingte nicht-neoplastische Schädigungen der Niere beobachtet (Nephropathien: 11/50, 16/49, 25/48). Bei männlichen und weiblichen Ratten führte Sudan I zu einer dosisabhängig erhöhten Inzidenz von neoplastischen Leberknötchen, die in der hohen Dosisgruppe statistisch signifikant erhöht war. Leberkarzinome traten bei 2 Ratten je Geschlecht in der hohen Dosisgruppe auf. Bei Mäusen wurde ein vermehrtes Auftreten von Leukämien und Lymphomen beobachtet. Eine Dosis-Wirkungs-Beziehung liegt allerdings nicht vor. Eine statistisch signifikante Erhöhung lag lediglich bei den weiblichen Mäusen der niedrigen Dosisgruppe vor. (NTP, 1982; AGS, 1997).

Aus älteren Studien wird über das, im Vergleich zu Kontrolltieren, gehäufte Auftreten von Blasenkarzinomen bei Mäusen nach Implantation von Sudan I in die Harnblase berichtet. Der Stoff wurde in Paraffinpellets eingebettet, die aber bereits selbst eine Proliferation von Epithelzellen der Harnblase bewirken (AGS, 1997). Außerdem wird über das Auftreten von Lebertumoren nach subcutaner Applikation berichtet (IARC, 1975).

Sudan I ist genotoxisch in vitro und in vivo (AGS, 1997): In vitro war der Stoff positiv im Maus-Lymphoma-Test und verursachte eine erhöhte Rate von Schwester-Chromatid-Austauschen in CHO-Zellen. Negative Ergebnisse wurden im HGPRT-Test und Chromosomenaberrationstest mit CHO-Zellen sowie im UDS-Test erhalten. Der Ames-Test fiel nur vereinzelt positiv aus. Bei Ratten wurde eine erhöhte Rate von Mikrokernen in polychromatischen Erythrozyten nach oraler Gabe festgestellt. Bei Mäusen fiel der Mikrokernertest negativ bzw. schwach positiv aus. Mit dem Comet-Assay wurden bei Mäusen genotoxische Wirkungen im Magen und Colon beobachtet (Tsuda et al., 2000).

Bei der Azo-Reduktion von Sudan I können theoretisch die Amine Anilin (CAS 62-53-3) und 1-Amino-2-naphthol (CAS 2834-92-6) entstehen.

Anilin ist nach Anhang I der Richtlinie 67/548/EWG als krebserzeugend (Kategorie 3), giftig (T), gesundheitsschädlich (Xn) und umweltgefährlich (N) eingestuft. Anilin wird derzeit im Rahmen der Verordnung (EWG) Nr. 793/93 zur Bewertung und Kontrolle der Umweltrisiken chemischer Altstoffe bewertet. In diesem Zusammenhang wurde unter Mitwirkung des BfR (Deutschland ist Rapporteur) ein Draft Risk Assessment Report (RAR) erstellt (<http://ecb.jrc.it/>), der vom Scientific Committee on Toxicity, Ecotoxicity and the Environment kommentiert wurde (CSTEE, 2003). Ein Final Risk Assessment Report ist noch nicht veröffentlicht. Auf nationaler Ebene ist Anilin in den Technischen Regeln für Gefahrstoffe (TRGS

905) als krebserzeugend (Kategorie 3) und erbgutverändernd (Kategorie 3) eingestuft. Entsprechend lauten die Empfehlungen und Begründungen des Ausschusses für Gefahrstoffe (AGS, 2002). Außerdem wurde Anilin von mehreren Expertengremien (z.B. von der International Agency for Research on Cancer (IARC), der "Senatskommission zur Prüfung gesundheitsschädlicher Arbeitsstoffe" (MAK-Kommission) der Deutschen Forschungsgemeinschaft und dem Beratergremium für umweltrelevante Altstoffe (BUA) der Gesellschaft Deutscher Chemiker) bewertet.

Anilin führt nach Verabreichung mit dem Futter bei Ratten, nicht aber bei Mäusen zu Tumoren (AGS, 2002; CSTEE, 2003). In einer Studie, in der F344 Ratten (130 Tiere pro Gruppe) Anilinhydrochlorid über 104 Wochen in Dosierungen von 0, 10, 30 und 100 mg/kg KG/Tag mit dem Futter erhielten (das entspricht Anilin-Dosen von 0, 7, 22 und 72 mg/kg KG/Tag), traten bei den hoch dosierten Tieren verschiedene Arten von Tumoren der Milz auf (CIIT, 1982).

Anilin induzierte in vitro und in vivo genotoxische Effekte. Der Ausschuss für Gefahrstoffe hat Anilin als nicht-genotoxisches Kanzerogen mit Schwellenwert angesehen (AGS, 2002), während das Scientific Committee on Toxicity, Ecotoxicity and the Environment sich der im Draft Risk Assessment Report geäußerten Auffassung der "Working Group (Human Health) on classification and labelling of dangerous substances under Directive 67/548/EEC" anschließt, wonach für einen Schwellenwert-Mechanismus nicht genügend Belege existieren und Anilin demzufolge als "non-threshold carcinogen" anzusehen ist (CSTEE, 2003). Für den Arbeitsschutzbereich wurde in dem Draft RAR unter Berücksichtigung der kanzerogenen Wirkung ein "Critical Exposure Level" von 2 mg/Person/Tag bzw. 0,2 mg/m³ abgeleitet. Die MAK-Kommission hat demgegenüber einen MAK-Wert von 2 ml/m³ bzw. 7,7 mg/m³ abgeleitet (DFG, 2003, Begründungen, 1992, Nachtrag, 2002).

In den Studien zur chronischen Toxizität konnte kein NOAEL ermittelt werden. Aus der CIIT-Studie (1982) wurde als LOAEL (für hämatotoxische Wirkungen als sensitivsten Endpunkt) 7 mg/kg KG/Tag abgeleitet (Draft RAR; CSTEE, 2003). Es gibt auch Hinweise darauf, dass die wiederholte orale Aufnahme von Anilin beim Menschen bereits bei 0,4 mg/kg KG/Tag zu hämatotoxischen Wirkungen führen kann (CSTEE, 2003).

Für die indirekte Exposition über die Umwelt (einschließlich Lebensmittel, Trinkwasser und Luft) wurde im Draft RAR der Margin of Safety (MOS) ermittelt. Dabei wurde unter Zugrundelegung des LOAEL von 7 mg/kg KG/Tag zwischen einem "local scenario" mit einer Aufnahme von 0,74 mg/kg KG/Tag und einem "regional scenario" mit einer Aufnahme von $0,7 \times 10^{-6}$ mg/kg KG/Tag unterschieden. Dabei wurde der Margin of Safety lediglich für das "regional scenario" als ausreichend angesehen, nicht jedoch für das "local scenario".

Für **1-Amino-2-naphthol** ist die Datenlage unzureichend. Eine Recherche in einschlägigen Datenbanken (DIMDI: xTOXFACT, xTOXLITALL, CANCERLIT) ergab nur wenige Informationen, die es nicht ermöglichen, das kanzerogene Potential von 1-Amino-2-naphthol abzuschätzen. 1-Amino-2-naphthol induzierte Genmutationen in *Salmonella typhimurium* TA100 (Dillon et al., 1994). In vitro wurden mit 1-Amino-2-naphthol die Bildung von Methaemoglobin (Tarding and Poulsen, 1987) und Wasserstoffperoxid (Nakayama et al., 1983) beobachtet. Nach oraler Verabreichung an Mäuse wurden Heinz-Körper in den Erythrozyten gefunden (Niitsu, 1973), was auf oxidativ denaturiertes Haemoglobin hindeutet. Nach Implantation von 1-Amino-2-naphthol-haltigen Paraffinpellets in die Blase von Mäusen wurde eine erhöhte Inzidenz von squamösen Metaplasien festgestellt (Bonser et al., 1963). Paraffinpellets können aber bereits selbst eine Proliferation von Epithelzellen der Harnblase bewirken (AGS, 1997).

3.1.2.2 Gefährdungspotential von Sudan II:

Bei der Azo-Reduktion von Sudan II können theoretisch die Amine 2,4-Xylidin (CAS 95-68-1) und 1-Amino-2-naphthol (CAS 2834-92-6) entstehen.

2,4-Xylidin ist in den Technischen Regeln für Gefahrstoffe (TRGS 905, 2002) als krebserzeugend in Kategorie 3 eingestuft. Im Anhang I der Richtlinie 67/548/EWG ist es nicht genannt. Die MAK-Kommission hat dieses Amin als krebserzeugend in Kategorie 2 eingestuft (DFG, 2003).

Die Begründungen der MAK-Kommission enthalten u.a. folgende Angaben:

Je 25 männliche CD-Ratten erhielten im Rahmen einer Untersuchung von 21 Arylaminen 2,4-Xylidinhydrochlorid mit dem Futter. Die eine Gruppe erhielt 3 Monate lang 2000, 2 Monate lang 250 und 13 Monate lang 500 mg/kg Futter, die andere Gruppe 3 Monate lang 4000, 2 Monate lang 500 und schließlich 13 Monate lang 1000 mg/kg Futter. In diesem Versuch war 2,4-Xylidinhydrochlorid nicht kanzerogen (Weisburger et al., 1978). Im Rahmen dieser Versuchsreihe erhielten außerdem je 25 männliche und weibliche CD1-Mäuse 18 Monate lang 125 und 250 mg 2,4-Xylidinhydrochlorid/kg Futter (das entspricht etwa 15 bzw. 30 mg/kg KG/Tag). Dabei war die Zahl der Lungentumoren bei den hochdosierten Weibchen (11/19) signifikant gegenüber den Kontrolltieren (5/22) erhöht.

1-Amino-2-naphthol siehe Kapitel 3.1.2.1.

3.1.2.3 Gefährdungspotential von Sudan III:

Bei der Azo-Reduktion von Sudan III können theoretisch die Amine 4-Aminoazobenzol (CAS 60-09-3), 1-((4-Aminophenyl)azo)-2-naphthol (CAS 2653-68-1), Anilin (CAS 62-53-3), p-Phenylendiamin (CAS 106-50-3) und 1-Amino-2-naphthol (CAS 2834-92-6) entstehen.

4-Aminoazobenzol ist im Anhang I der Richtlinie 67/548/EWG als krebserzeugend in Kategorie 2 und umweltgefährlich (N) eingestuft.

In einer älteren Studie (Kirby and Peacock, 1947), in der 4-Aminoazobenzol männlichen Wistar Ratten in Dosierungen von 2000 bis 10000 mg/kg über 104 Wochen mit dem Futter verabreicht wurde, traten bei 7 von 16 Tieren Lebertumoren auf (IARC, 1975). Die Dosierung entspricht etwa 80 bis 400 mg/kg Körpergewicht/Tag. In einer weiteren Studie an 8 männlichen und 7 weiblichen Wistar Ratten (Kirby, 1947), in der die Dosierung über einen Zeitraum von zwei Jahren schrittweise von 2500 auf 800 mg/kg (das entspricht etwa 100 bzw. 32 mg/kg KG/Tag) reduziert wurde, überlebten 6 Tiere, und Lebertumoren wurden nicht beobachtet (IARC, 1975). Nach dermalen Applikation wurden Tumoren beobachtet (IARC, 1975).

p-Phenylendiamin ist im Anhang I der Richtlinie 67/548/EWG als giftig (T), reizend (Xi) und umweltgefährlich (N) eingestuft. Es wurde von der MAK-Kommission als krebserzeugend in Kategorie 3B sowie als fruchtschädigend in Gruppe D eingestuft, wonach die vorliegenden Daten einen Trend einer fruchtschädigenden Wirkung erkennen lassen, eine abschließende Bewertung aber nicht möglich ist. Außerdem wurde ein MAK-Wert von 0,1 mg/m³ abgeleitet. Die Begründungen der MAK-Kommission lauten u.a. wie folgt: p-Phenylendiamin findet in Haarfärbemitteln Verwendung. In 2-Jahres-Fütterungsstudien war p-Phenylendiamin-Dihydrochlorid sowohl bei der Maus als auch bei der Ratte ohne Befund. Auch topische Applikation an Maus und Kaninchen blieb ohne Wirkung. Dagegen führte die subkutane Verabreichung von p-Phenylendiamin bei Ratten zu Sarkomen an der Injektionsstelle. p-Phenylendiamin wirkt stark sensibilisierend und löst Reaktionen auf der Haut und im Atemtrakt aus. Reproduktionstoxikologische Untersuchungen an Ratten waren ohne Befund. Im Ames-Test ist es nach metabolischer Aktivierung mutagen. In einem von mehreren Versuchen, in denen p-Phenylendiamin in Mischungen mit H₂O₂ geprüft wurde, waren sowohl nach Hautpinselung als auch nach subkutaner Injektion bei weiblichen Ratten insbesondere die Mammatumoren,

daneben auch Weichteil- und Uterustumoren, erhöht. Ein Verdacht auf krebserzeugendes Potential kann aufgrund der Datenlage nicht ausgeräumt werden. Der bestehende MAK-Wert orientiert sich an den Beobachtungen über die Sensibilisierung, kann aber anhand der Daten nicht begründet werden. (...) (DFG, 2003; MAK-Begründungen, 1996).

Anilin und 1-Amino-2-naphthol siehe Kapitel 3.1.2.1.

Zu **1-((4-Aminophenyl)azo)-2-naphthol** stehen nach Recherche in den einschlägigen Literatur- und Faktendatenbanken (DIMDI: xTOXFACT, xTOXLITALL) keine relevanten Daten hinsichtlich krebserzeugender oder genotoxischer Wirkung zur Verfügung.

3.1.2.4 Gefährdungspotential von Sudan IV:

Bei der Azo-Reduktion von Sudan IV können theoretisch die Amine o-Aminoazotoluol (CAS 97-56-3), 1-((4-Amino-2-methylphenyl)azo)-2-naphthol (CAS –), 1-Amino-2-naphthol (CAS 2834-92-6), 2,5-Diaminotoluol (CAS 95-70-5) und o-Toluidin (CAS 95-53-4) entstehen.

o-Aminoazotoluol ist im Anhang I der Richtlinie 67/548/EWG als krebserzeugend (Kategorie 2) eingestuft und wurde auch von der MAK-Kommission als krebserzeugend in Kategorie 2 klassifiziert (DFG, 2003).

o-Aminoazotoluol wurde an 10 Hunde in Dosierungen von 5 bzw. 20 mg/kg KG/Tag oral verabreicht. Alle Tiere, die die höhere Dosis erhielten, starben innerhalb von 8 Wochen. Von den vier Hunden, die 30 bis 62 Monate überlebten, hatten zwei Tiere Harnblasen-Karzinome, ein Tier ein Adenokarzinom in der Leber und Gallenblase und ein Tier ein Adenokarzinom der Gallenblase sowie ein Cholangiom und ein Hepatom. Dagegen wurden bei 40 Hunden, denen andere Substanzen über 33 – 74 Monate verabreicht wurden, keine derartigen Tumoren beobachtet (Nelson and Woodard, 1953). Kanzerogene Wirkungen wurden auch bei Mäusen, Ratten und Hamstern nach oraler Applikation beobachtet (IARC, 1975). Bezogen auf das Körpergewicht lagen die Dosierungen dabei allerdings höher als in der Hundestudie.

o-Toluidin ist im Anhang I der Richtlinie 67/548/EWG als krebserzeugend (Kategorie 2), giftig (T), reizend (Xi) und umweltgefährlich (N) eingestuft. Es wurde auch von der MAK-Kommission als krebserzeugend in Kategorie 2 eingestuft (DFG, 2003).

o-Toluidin wurde Gruppen von 50 männlichen und 50 weiblichen F-344 Ratten über 101-104 Wochen mit dem Futter in Konzentrationen von 3000 oder 6000 mg/kg (entsprechend etwa 150 bzw. 300 mg/kg KG/Tag) verabreicht (NCI, 1979; Goodman et al., 1984). Die Kontrollgruppen enthielten jeweils 20 Tiere. Körpergewicht und Überlebensrate waren dosisabhängig reduziert. Die kombinierte Inzidenz für Sarkome, Fibrosarkome, Angiosarkome und Osteosarkome in verschiedenen (nicht spezifizierten) Organen der männlichen Ratten war bereits bei der niedrigeren Dosis statistisch signifikant erhöht (0/20, 15/50, 37/49) (WHO, 1998).

1-Amino-2-naphthol siehe Kapitel 3.1.2.1.

2,5-Diaminotoluol ist im Anhang I der Richtlinie 67/548/EWG als giftig (T), gesundheitsschädlich (Xn) und umweltgefährlich (N) eingestuft. Hinsichtlich krebserzeugender Wirkung liegt im Anhang I keine Einstufung vor. Nach früheren Bewertungen der International Agency for Research on Cancer und von Expertengremien des International Programme on Chemical Safety war die Datenlage für eine Bewertung des kanzerogenen Potentials unzureichend (IARC, 1978; EHC, 1987).

Das Sulfat-Salz von 2,5-Diaminotoluol wurde in einer NTP-Studie mit Fischer 344 Ratten und B6C3F1 Mäusen geprüft, wobei die Ratten die Prüfsubstanz in Konzentrationen von 0,2 und

0,06 % und die Mäuse in Konzentrationen von 0,1 und 0,6 % mit dem Futter über 78 Wochen erhielten. Dabei wurden Gruppen von jeweils 50 männlichen und weiblichen Tieren eingesetzt. Eine signifikant erhöhte Inzidenz der Lungentumoren bei weiblichen Mäusen der hohen Dosisgruppe wurde von den Autoren auf versuchstechnische Ursachen zurückgeführt und als nicht relevant angesehen ("...was not considered convincing evidence of a compound-related carcinogenic effect..."). Das Ergebnis hinsichtlich krebserzeugender Wirkung wurde von den Autoren als negativ interpretiert (NTP, 1978). Die Aussagekraft der Studie ist wegen der kurzen Dauer von 78 Wochen allerdings eingeschränkt (EHC, 1987). Nach dermalen Applikation wurden mit 2,5-Diaminotoluol keine kanzerogenen Wirkungen beobachtet (EHC, 1987; Pang, 1992).

Mit 2,5-Diaminotoluol wurden genotoxische Wirkungen *in vitro* mit dem Ames-Test mit S9-Mix und mit einem Chromosomenaberrationstest an CHO-Zellen ohne S9-Mix (Chung et al., 1995) sowie *in vivo* im Comet-Assay (Sekihashi et al., 2002) beobachtet. In dem Comet-Assay wurden in einem der geprüften Organe von Ratten (Magen) genotoxische Wirkungen festgestellt, aber nicht in verschiedenen Organen von Mäusen (Sekihashi et al., 2002).

Zu **1-((4-Amino-2-methylphenyl)azo)-2-naphthol** stehen nach Recherche in den Terminologie-Datenbanken CHEMID und CHEMLINE sowie in den einschlägigen Literatur- und Faktendatenbanken keine CAS-Nummer und keine toxikologischen Daten zur Verfügung.

3.1.3 Exposition

Wie aus zahlreichen Meldungen des EU-Schnellwarnsystems hervorgeht (RASFF-Liste Nr. 270, Stand 24.10.2003), wurden die Farbstoffe Sudan I bis IV seit Mai 2003 vorwiegend in Chilipulver sowie in daraus zubereiteten Lebensmitteln gefunden. Als Herkunftsländer sind in den Meldungen Staaten aus dem Fernen und Nahen Osten (z.B. Indien, Pakistan, Thailand, Libanon, Türkei) aber auch einige Mitgliedsländer der EU genannt. Die Meldungen bezogen sich weit überwiegend auf den Farbstoff Sudan I. Einzelne Meldungen betrafen auch die Farbstoffe Sudan II, III und IV. In etwa 40 Meldungen wurden auch Angaben zu den gefundenen Gehalten gemacht. So lagen für Sudan I die Gehalte in Chilipulver zwischen 2,8 und 3500 mg/kg und in Gewürzmischungen und Saucen zwischen 0,7 und 170 mg/kg. In zwei Meldungen wurden Gehalte für Sudan IV angegeben, die bei 230 mg/kg Chilipulver bzw. 380 mg/kg Paprikagewürz lagen. Für Sudan II und III waren den RASFF-Listen über Schnellwarnungen bislang keine Gehaltsangaben zu entnehmen.

Wie eine Landesbehörde dem BfR direkt mitgeteilt hat, wurden die Farbstoffe Sudan I und III bei aktuellen Untersuchungen in Paprika- und Chiligewürzen in Konzentrationsbereichen von 5 – 10 mg/kg sowie in Würzsaucen von 1 – 2 mg/kg nachgewiesen.

Die mittleren und maximalen Verzehrsmengen von *Capsicum* (Chili und Paprika) liegen nach Angaben, die dem Expertenkomitee für Aromastoffe des Europarats aus Frankreich mitgeteilt wurden (Council of Europe, 1999), bei 77 und 264 mg/Tag. Bei einem Sudan-I-Gehalt von 2,8 bis 3500 mg/kg ergibt sich für eine mittlere tägliche *Capsicum*-Verzehrsmenge eine Sudan-I-Aufnahme von 0,2 bis 270 µg/Tag und für eine maximale *Capsicum*-Verzehrsmenge eine Sudan-I-Aufnahme von 0,7 bis 924 µg/Tag.

Nach anderen Angaben liegen die Verzehrsmengen für gemahlene Chili-Pulver in Europa zwischen 50 und 500 mg pro Tag, wobei diese Mengen für Tage gelten, an denen mit Chili gewürzte Speisen verzehrt werden (Govindarajan and Sathyanarayana, 1991). Bei einem Sudan-I-Gehalt von 2,8 bis 3500 mg/kg ergibt sich daraus eine Sudan-I-Aufnahme von 0,14 bis 1750 µg/Tag.

Ein natürliches Vorkommen der Sudan-Farbstoffe ist nicht bekannt. Dagegen kommt eine Reihe primärer Amine natürlicherweise in Lebensmitteln vor. Anilin wurde in frischem Obst und Gemüse in Konzentrationen von 0,6 bis 30,9 mg/kg nachgewiesen, z.B. in Blumenkohl

(22 mg/kg) und Möhren (30,9 mg/kg) (Neurath et al., 1977). Außerdem wurde es als flüchtiger Inhaltsstoff in Schwarzem Tee (Vitzthum et al., 1975) und gepresstem Knoblauch (Yu et al., 1989) nachgewiesen. Tolidin wurde in Grünkohl und Sellerie (jeweils 1,1 mg/kg) sowie in Möhren (7,2 mg/kg) gefunden (Neurath et al., 1977), wobei nicht klar ist, ob sich die Werte auf o-, m- oder p-Tolidin beziehen.

3.1.4 Risikocharakterisierung

Sudan I:

Sudan I wurde nach EU-Kriterien als krebserzeugend in Kategorie 3 und als mutagen in Kategorie 3 eingestuft (Anhang I der Richtlinie 67/548/EWG). Stoffe der Kategorie 3 geben wegen möglicher krebserzeugender Wirkung beim Menschen Anlass zur Besorgnis, können aber aufgrund unzureichender Informationen nicht endgültig beurteilt werden.

Für Sudan I können die möglichen Aufnahmemengen folgendermaßen mit der Dosis verglichen werden, die im Tierversuch zu neoplastischen Leberknötchen geführt hat:

Bei einem angenommenen hohen Farbstoff-Gehalt (3500 mg/kg) und bei einer großen Verzehrsmenge von Chili-Pulver (bis 500 mg/Tag) können im ungünstigsten Fall pro Tag 1750 µg Sudan I aufgenommen werden. Das entspricht 29,2 µg/kg Körpergewicht (bei einem Körpergewicht von 60 kg). Diese Menge liegt um den Faktor 1×10^3 unter der Dosis von 30 mg/kg Körpergewicht, bei der im Tierversuch bei Ratten nach chronischer Verabreichung von Sudan I mit dem Futter eine statistisch signifikante Erhöhung der Inzidenz von neoplastischen Leberknötchen beobachtet wurde (NTP, 1982). Anders ausgedrückt beträgt der Unterschied zwischen der Menge Sudan I, die bei den zugrundeliegenden Annahmen im ungünstigsten Fall pro Tag aufgenommen werden kann (29,2 µg/kg Körpergewicht), und der Menge, bei der im Tierversuch eine statistisch signifikante Erhöhung der Inzidenz von neoplastischen Leberknötchen beobachtet wurde (30 mg/kg Körpergewicht), drei Größenordnungen.

Bei einem angenommenen niedrigeren Farbstoff-Gehalt (z.B. 10 mg/kg) und bei einer großen Verzehrsmenge von Chili-Pulver (bis 500 mg/Tag) können im ungünstigsten Fall pro Tag 5 µg Sudan I aufgenommen werden. Das entspricht 0,083 µg/kg Körpergewicht (bei einem Körpergewicht von 60 kg). Diese Menge liegt um den Faktor $3,6 \times 10^5$ unter der Dosis von 30 mg/kg Körpergewicht, bei der im Tierversuch bei Ratten nach chronischer Verabreichung von Sudan I mit dem Futter eine statistisch signifikante Erhöhung der Inzidenz von neoplastischen Leberknötchen beobachtet wurde (NTP, 1982). Anders ausgedrückt beträgt der Unterschied zwischen der Menge Sudan I, die bei den zugrundeliegenden Annahmen im ungünstigsten Fall pro Tag aufgenommen werden kann (0,083 µg/kg Körpergewicht), und der Menge, bei der im Tierversuch eine statistisch signifikante Erhöhung der Inzidenz von neoplastischen Leberknötchen beobachtet wurde (30 mg/kg Körpergewicht), sechs Größenordnungen.

Die kanzerogene und genotoxische Wirkung von Sudan I ist möglicherweise auch auf die Freisetzung von Anilin und 1-Amino-2-naphthol und deren nachfolgende metabolische Aktivierung zurückzuführen (NTP, 1982).

Anilin ist im Anhang I der Richtlinie 67/548/EWG als krebserzeugend der Kategorie 3 eingestuft. Die "Working Group (Human Health) on classification and labelling of dangerous substances under Directive 67/548/EEC", das Scientific Committee on Toxicity, Ecotoxicity and the Environment (CSTEE), der Ausschuss für Gefahrstoffe und die MAK-Kommission haben Anilin entsprechend bewertet. Stoffe der Kategorie 3 geben wegen möglicher krebserzeugender Wirkung beim Menschen Anlass zur Besorgnis, können aber aufgrund unzureichender Informationen nicht endgültig beurteilt werden.

Aus der Menge von 1750 µg, die im ungünstigen Fall bei einem angenommenen hohen Farbstoff-Gehalt (3500 mg/kg) und bei einer großen Verzehrsmenge von Chili-Pulver (bis 500 mg/Tag) pro Tag aufgenommen werden kann, könnten theoretisch durch Azo-Reduktion bis zu 656 µg Anilin freigesetzt werden. Die gleiche Menge Anilin wird auch beim Verzehr von etwa 20 g roher Möhren aufgenommen. Sie entspricht 11 µg/kg KG/Tag (bei einem Körpergewicht von 60 kg) und liegt damit um den Faktor 3 unterhalb des "Critical Exposure Level" von 2 mg/Person/Tag (entsprechend 33 µg/kg KG/Tag bei einem Körpergewicht von 60 kg), das von der Working Group Human Health im Draft RAR im Hinblick auf die kanzerogene Wirkung für den Arbeitsschutzbereich abgeleitet wurde, und auch deutlich unterhalb des LOAEL von 7 mg/kg KG/Tag. Die mögliche Aufnahmemenge von 11 µg/kg KG/Tag liegt um den Faktor $6,5 \times 10^3$ unter der Dosis von 72 mg/kg Körpergewicht, bei der im Tierversuch bei Ratten nach chronischer Verabreichung von Anilin mit dem Futter eine statistisch signifikante Erhöhung der Inzidenz von Tumoren der Milz beobachtet wurde (CIIT, 1982). Anders ausgedrückt beträgt der Unterschied zwischen der Menge Anilin, die bei den zugrundeliegenden Annahmen im ungünstigsten Fall pro Tag aufgenommen werden kann (11 µg/kg Körpergewicht), und der Menge, bei der im Tierversuch eine statistisch signifikante Erhöhung der Inzidenz von Tumoren der Milz beobachtet wurde (72 mg/kg Körpergewicht), drei Größenordnungen.

Aus der Menge von 5 µg, die im ungünstigen Fall bei einem angenommenen niedrigeren Farbstoff-Gehalt (10 mg/kg) und bei einer großen Verzehrsmenge von Chili-Pulver (bis 500 mg/Tag) pro Tag aufgenommen werden kann, könnten theoretisch durch Azo-Reduktion bis zu 1,9 µg Anilin freigesetzt werden. Das entspricht 0,03 µg/kg KG/Tag (bei einem Körpergewicht von 60 kg) und liegt damit etwa um den Faktor 1000 unterhalb des "Critical Exposure Level" von 2 mg/Person/Tag (entsprechend 33 µg/kg KG/Tag bei einem Körpergewicht von 60 kg), der von der Working Group Human Health im Draft RAR im Hinblick auf die kanzerogene Wirkung für den Arbeitsschutzbereich abgeleitet wurde, und auch deutlich unterhalb des LOAEL von 7 mg/kg KG/Tag. Die mögliche Aufnahmemenge von 0,03 µg/kg KG/Tag liegt um den Faktor $2,4 \times 10^6$ unter der Dosis von 72 mg/kg KG/Tag, bei der im Tierversuch bei Ratten nach chronischer Verabreichung von Anilin mit dem Futter eine statistisch signifikante Erhöhung der Inzidenz von Tumoren der Milz beobachtet wurde (CIIT, 1982). Anders ausgedrückt beträgt der Unterschied zwischen der Menge Anilin, die bei den zugrundeliegenden Annahmen im ungünstigsten Fall pro Tag aufgenommen werden kann (0,03 µg/kg Körpergewicht), und der Menge, bei der im Tierversuch eine statistisch signifikante Erhöhung der Inzidenz von Tumoren der Milz beobachtet wurde (72 mg/kg Körpergewicht), sechs Größenordnungen.

Für 1-Amino-2-naphthol ist die Datenlage unzureichend. Eine Recherche in einschlägigen Datenbanken (DIMDI: xTOXFACT, xTOXLITALL, CANCERLIT) ergab nur wenige Informationen, die es nicht ermöglichen, das kanzerogene Potential von 1-Amino-2-naphthol abzuschätzen. Ein Verdacht auf eine mögliche kanzerogene Wirkung könnte allenfalls aus der Strukturanalogie zu anderen kanzerogenen Aminen abgeleitet werden. Allein aus einer Strukturanalogie kann aber kein Risiko abgeschätzt werden. Die Bildung reaktiver Sauerstoffspezies, die mit 1-Amino-2-naphthol beobachtet wurde, stellt kein nennenswertes gesundheitliches Risiko dar, weil bei einer Aufnahme von 1122 µg 1-Amino-2-naphthol, die aus 1750 µg Sudan I unter den o.g. Bedingungen theoretisch maximal freigesetzt werden können, noch nicht mit einer Sättigung der körpereigenen Inaktivierungsmechanismen zu rechnen sein dürfte.

Das BfR stimmt in seiner Bewertung von Sudan-I-Konzentrationen, die im Bereich von wenigen Milligramm pro Kilogramm liegen, mit der britischen Food Standards Agency überein, die das auf ihrer Website unter der Rubrik "Sudan I – your questions answered" entsprechend formuliert hat: *"If I have eaten a contaminated chilli product, has my health been damaged? There is no immediate risk of illness. If you have eaten a product occasionally any possible risk is likely to be very small. Frequent eating of contaminated products over a long period of time would increase that risk"* (FSA, 2003 a). Das kann aber nicht mehr mit Gewissheit für

Konzentrationen von mehreren Tausend Milligramm pro Kilogramm angenommen werden, weil der Unterschied zwischen der Menge Sudan I, die bei hohen Sudan-I-Gehalten und hoher Verzehrsmenge im ungünstigsten Fall pro Tag aufgenommen werden kann, und der Menge, bei der im Tierversuch eine statistisch signifikante Erhöhung der Inzidenz von neoplastischen Leberknötchen beobachtet wurde, nur drei Größenordnungen (etwa Faktor 1000) beträgt.

Sudan II, III und IV:

Durch Azo-Reduktion können aus den Farbstoffen Sudan II, III und IV verschiedene Amine freigesetzt werden, von denen jeweils mindestens eins nach MAK- bzw. EU-Kriterien als krebserzeugend in Kategorie 2 eingestuft wurde. Für krebserzeugende Stoffe der Kategorie 2, deren Einwirkung nach dem gegenwärtigen Stand der Kenntnis eine eindeutige Krebsgefährdung für den Menschen bedeutet, kann keine noch als unbedenklich anzusehende Konzentration angegeben werden (DFG, 2003).

Die Konzentrationsangaben der EU-Schnellwarnungen beziehen sich fast ausschließlich auf den Farbstoff Sudan I. Es ist aber vorstellbar, dass auch die Farbstoffe Sudan II, III und IV in einem ähnlichen Konzentrationsbereich eingesetzt werden. Deshalb sollen modellhaft auch für diese Verbindungen die vorstellbaren Aufnahmemengen mit den wirksamen Dosen im Tierversuch verglichen werden.

Für **Sudan II** können die vorstellbaren Aufnahmemengen an **2,4-Xylidin** folgendermaßen mit der Dosis verglichen werden, die im Tierversuch zu Tumoren geführt hat:

Aus der Menge von 1750 µg, die bei einem angenommenen hohen Farbstoff-Gehalt (3500 mg/kg) und bei einer großen Verzehrsmenge von Chili-Pulver (bis 500 mg/Tag) im ungünstigsten Fall pro Tag aufgenommen werden kann, könnten theoretisch durch Azo-Reduktion bis zu 767 µg 2,4-Xylidin aus Sudan II freigesetzt werden. Das entspricht 12,8 µg/kg Körpergewicht (bei einem Körpergewicht von 60 kg). Diese Menge liegt um den Faktor $2,3 \times 10^3$ unter der Dosis von 30 mg/kg Körpergewicht, bei der im Tierversuch bei Mäusen nach chronischer Verabreichung von 2,4-Xylidin mit dem Futter eine statistisch signifikante Erhöhung der Lungentumor-Inzidenz beobachtet wurde (Weisburger et al., 1978). Anders ausgedrückt beträgt der Unterschied zwischen der Menge 2,4-Xylidin, die bei den zugrundeliegenden Annahmen im ungünstigsten Fall pro Tag aufgenommen werden kann (12,8 µg/kg Körpergewicht), und der Menge, bei der im Tierversuch eine statistisch signifikante Erhöhung der Tumor-Inzidenz beobachtet wurde (30 mg/kg Körpergewicht), drei Größenordnungen.

Aus der Menge von 5 µg, die bei einem angenommenen geringeren Farbstoff-Gehalt (10 mg/kg) und bei einer großen Verzehrsmenge von Chili-Pulver (bis 500 mg/Tag) im ungünstigsten Fall pro Tag aufgenommen werden kann, könnten theoretisch durch Azo-Reduktion bis zu 2,2 µg 2,4-Xylidin aus Sudan II freigesetzt werden. Das entspricht 0,037 µg/kg Körpergewicht (bei einem Körpergewicht von 60 kg). Diese Menge liegt um den Faktor $8,2 \times 10^5$ unter der Dosis von 30 mg/kg Körpergewicht, bei der im Tierversuch bei Mäusen nach chronischer Verabreichung von 2,4-Xylidin mit dem Futter eine statistisch signifikante Erhöhung der Lungentumor-Inzidenz beobachtet wurde (Weisburger et al., 1978). Anders ausgedrückt beträgt der Unterschied zwischen der Menge 2,4-Xylidin, die bei den zugrundeliegenden Annahmen im ungünstigsten Fall pro Tag aufgenommen werden kann (0,037 µg/kg Körpergewicht), und der Menge, bei der im Tierversuch eine statistisch signifikante Erhöhung der Tumor-Inzidenz beobachtet wurde (30 mg/kg Körpergewicht), sechs Größenordnungen.

Für **Sudan III** können die vorstellbaren Aufnahmemengen an **4-Aminoazobenzol** folgendermaßen mit der Dosis verglichen werden, die im Tierversuch zu Tumoren geführt hat:

Aus der Menge von 1750 µg, die bei einem angenommenen hohen Farbstoff-Gehalt (3500 mg/kg) und bei einer großen Verzehrsmenge von Chili-Pulver (bis 500 mg/Tag) im ungünstigsten Fall pro Tag aufgenommen werden kann, könnten theoretisch durch Azo-Reduktion bis zu 767 µg 4-Aminoazobenzol aus Sudan III freigesetzt werden. Das entspricht 12,8 µg/kg Körpergewicht (bei einem Körpergewicht von 60 kg). Diese Menge liegt um den Faktor $2,3 \times 10^3$ unter der Dosis von 30 mg/kg Körpergewicht, bei der im Tierversuch bei Mäusen nach chronischer Verabreichung von 4-Aminoazobenzol mit dem Futter eine statistisch signifikante Erhöhung der Lungentumor-Inzidenz beobachtet wurde (Weisburger et al., 1978). Anders ausgedrückt beträgt der Unterschied zwischen der Menge 4-Aminoazobenzol, die bei den zugrundeliegenden Annahmen im ungünstigsten Fall pro Tag aufgenommen werden kann (12,8 µg/kg Körpergewicht), und der Menge, bei der im Tierversuch eine statistisch signifikante Erhöhung der Tumor-Inzidenz beobachtet wurde (30 mg/kg Körpergewicht), drei Größenordnungen.

tigsten Fall pro Tag aufgenommen werden kann, könnten theoretisch durch Azo-Reduktion bis zu 979 µg 4-Aminoazobenzol aus Sudan III freigesetzt werden. Das entspricht 16,3 µg/kg Körpergewicht (bei einem Körpergewicht von 60 kg). Diese Menge liegt um den Faktor $4,9 \times 10^3$ bis $2,4 \times 10^4$ unter den Dosen von 80 bis 400 mg/kg Körpergewicht, bei denen im Tierversuch bei Ratten nach chronischer Verabreichung von 4-Aminoazobenzol mit dem Futter eine statistisch signifikante Erhöhung der Lebertumor-Inzidenz beobachtet wurde (Kirby and Peakock, 1947). Anders ausgedrückt beträgt der Unterschied zwischen der Menge 4-Aminoazobenzol, die bei den zugrundeliegenden Annahmen im ungünstigsten Fall pro Tag aufgenommen werden kann (16,3 µg/kg Körpergewicht), und der Menge, bei der im Tierversuch eine statistisch signifikante Erhöhung der Tumor-Inzidenz beobachtet wurde (80 bis 400 mg/kg Körpergewicht), drei bis vier Größenordnungen.

Aus der Menge von 5 µg, die bei einem angenommenen geringeren Farbstoff-Gehalt (10 mg/kg) und bei einer großen Verzehrsmenge von Chili-Pulver (bis 500 mg/Tag) im ungünstigsten Fall pro Tag aufgenommen werden kann, könnten theoretisch durch Azo-Reduktion bis zu 2,8 µg 4-Aminoazobenzol aus Sudan III freigesetzt werden. Das entspricht 0,047 µg/kg Körpergewicht (bei einem Körpergewicht von 60 kg). Diese Menge liegt um den Faktor $1,7 \times 10^6$ bis $8,5 \times 10^6$ unter den Dosen von 80 bis 400 mg/kg Körpergewicht, bei denen im Tierversuch bei Ratten nach chronischer Verabreichung von 4-Aminoazobenzol mit dem Futter eine statistisch signifikante Erhöhung der Lebertumor-Inzidenz beobachtet wurde (Kirby and Peakock, 1947). Anders ausgedrückt beträgt der Unterschied zwischen der Menge 4-Aminoazobenzol, die bei den zugrundeliegenden Annahmen im ungünstigsten Fall pro Tag aufgenommen werden kann (0,047 µg/kg Körpergewicht), und der Menge, bei der im Tierversuch eine statistisch signifikante Erhöhung der Tumor-Inzidenz beobachtet wurde (80 bis 400 mg/kg Körpergewicht), sechs bis sieben Größenordnungen.

Für **Sudan IV** können die vorstellbaren Aufnahmemengen an **o-Toluidin** bzw. **o-Aminoazotoluol** folgendermaßen mit den Dosen verglichen werden, die im Tierversuch zu Tumoren geführt haben:

Aus der Menge von 1750 µg, die bei einem angenommenen hohen Farbstoff-Gehalt (3500 mg/kg) und bei einer großen Verzehrsmenge von Chili-Pulver (bis 500 mg/Tag) im ungünstigsten Fall pro Tag aufgenommen werden kann, könnten theoretisch durch Azo-Reduktion bis zu 493 µg o-Toluidin aus Sudan IV freigesetzt werden. Das entspricht 8,2 µg/kg Körpergewicht (bei einem Körpergewicht von 60 kg). Diese Menge liegt um den Faktor $1,8 \times 10^4$ unter der Dosis von 150 mg/kg Körpergewicht, bei der im Tierversuch bei Ratten nach chronischer Verabreichung von o-Toluidin mit dem Futter eine statistisch signifikante Erhöhung der Tumor-Inzidenz beobachtet wurde (WHO, 1998). Anders ausgedrückt beträgt der Unterschied zwischen der Menge o-Toluidin, die bei den zugrundeliegenden Annahmen im ungünstigsten Fall pro Tag aufgenommen werden kann (8,2 µg/kg Körpergewicht), und der Menge, bei der im Tierversuch eine statistisch signifikante Erhöhung der Tumor-Inzidenz beobachtet wurde (150 mg/kg Körpergewicht), fünf Größenordnungen.

Aus der Menge von 5 µg, die bei einem angenommenen niedrigeren Farbstoff-Gehalt (10 mg/kg) und bei einer großen Verzehrsmenge von Chili-Pulver (bis 500 mg/Tag) im ungünstigsten Fall pro Tag aufgenommen werden kann, könnten theoretisch durch Azo-Reduktion bis zu 1,4 µg o-Toluidin aus Sudan IV freigesetzt werden. Das entspricht 0,023 µg/kg Körpergewicht (bei einem Körpergewicht von 60 kg). Diese Menge liegt um den Faktor $6,5 \times 10^6$ unter der Dosis von 150 mg/kg Körpergewicht, bei der im Tierversuch bei Ratten nach chronischer Verabreichung von o-Toluidin mit dem Futter eine statistisch signifikante Erhöhung der Tumor-Inzidenz beobachtet wurde (WHO, 1998). Anders ausgedrückt beträgt der Unterschied zwischen der Menge o-Toluidin, die bei den zugrundeliegenden Annahmen im ungünstigsten Fall pro Tag aufgenommen werden kann (0,023 µg/kg Körpergewicht), und der Menge, bei der im Tierversuch eine statistisch signifikante Erhöhung der Tumor-Inzidenz beobachtet wurde (150 mg/kg Körpergewicht), sieben Größenordnungen.

Aus der Menge von 1750 µg, die bei einem angenommenen hohen Farbstoff-Gehalt (3500 mg/kg) und bei einer großen Verzehrsmenge von Chili-Pulver (bis 500 mg/Tag) im ungünstigsten Fall pro Tag aufgenommen werden kann, könnten theoretisch durch Azo-Reduktion auch bis zu 1036 µg o-Aminoazotoluol aus Sudan IV freigesetzt werden. Das entspricht 17,3 µg/kg Körpergewicht (bei einem Körpergewicht von 60 kg). Diese Menge liegt nur um den Faktor $2,9 \times 10^2$ unter der Dosis von 5 mg/kg Körpergewicht, bei der im Tierversuch bei Hunden nach chronischer Verabreichung von o-Aminoazotoluol mit dem Futter eine statistisch signifikante Erhöhung der Tumor-Inzidenz beobachtet wurde (Nelson and Woodard, 1953). Anders ausgedrückt beträgt der Unterschied zwischen der Menge o-Aminoazotoluol, die bei den zugrundeliegenden Annahmen im ungünstigsten Fall pro Tag aufgenommen werden kann (17,3 µg/kg Körpergewicht), und der Menge, bei der im Tierversuch eine statistisch signifikante Erhöhung der Tumor-Inzidenz beobachtet wurde (5 mg/kg Körpergewicht), nur zwei Größenordnungen.

Aus einer Menge von 5 µg, die bei einem niedrigeren Farbstoff-Gehalt (z.B. 10 mg/kg) und bei einer großen Verzehrsmenge von Chili-Pulver (bis 500 mg/Tag) im ungünstigsten Fall pro Tag aufgenommen werden kann, könnten theoretisch durch Azo-Reduktion bis zu 3 µg o-Aminoazotoluol freigesetzt werden. Das entspricht 0,05 µg/kg Körpergewicht (bei einem Körpergewicht von 60 kg). Diese Menge liegt um den Faktor $1,0 \times 10^5$ unter der Dosis von 5 mg/kg Körpergewicht, bei der im Tierversuch bei Hunden nach chronischer Verabreichung von o-Aminoazotoluol mit dem Futter eine statistisch signifikante Erhöhung der Tumor-Inzidenz beobachtet wurde (Nelson and Woodard, 1953). Anders ausgedrückt beträgt der Unterschied zwischen der Menge o-Aminoazotoluol, die bei den zugrundeliegenden Annahmen im ungünstigsten Fall pro Tag aufgenommen werden kann (0,05 µg/kg Körpergewicht), und der Menge, bei der im Tierversuch eine statistisch signifikante Erhöhung der Tumor-Inzidenz beobachtet wurde (5 mg/kg Körpergewicht), fünf Größenordnungen.

Diese Vergleiche sind in der folgenden Tabelle zusammengefasst.

Tabelle 2: Vergleich von möglichen Aufnahmemengen mit wirksamen Dosen im Tierversuch

Substanz	Konz. des Sudan-Farbstoffs im Chilipulver mg/kg	Aufnahmemenge an Sudan I bzw. Amin (bei Verzehr von 500 mg Chili-pulver / Tag) µg/kg KG/Tag	Dosis, bei der im Tierversuch kanzerogene Wirkungen beobachtet wurden µg/kg KG/Tag	Abstand* Faktor	Abstand* Größenordnungen
Sudan I	3500	29,2	30 000	$1,0 \times 10^3$	3
Sudan I	10	0,083	30 000	$3,6 \times 10^5$	6
Anilin (aus Sudan I)	3500	11	72 000	$6,5 \times 10^3$	3
Anilin (aus Sudan I)	10	0,03	72 000	$2,4 \times 10^6$	6
2,4-Xylidin (aus Sudan II)	3500	12,8	30 000	$2,3 \times 10^3$	3
2,4-Xylidin (aus Sudan II)	10	0,037	30 000	$8,2 \times 10^5$	6
4-Aminoazobenzol (aus Sudan III)	3500	16,3	80 000 bis 400 000	$4,9 \times 10^3$ bis $2,4 \times 10^4$	3 bis 4
4-Aminoazobenzol (aus Sudan III)	10	0,047	80 000 bis 400 000	$1,7 \times 10^6$ bis $8,5 \times 10^6$	6 bis 7
o-Toluidin (aus Sudan IV)	3500	8,2	150 000	$1,8 \times 10^4$	5
o-Toluidin (aus Sudan IV)	10	0,023	150 000	$6,5 \times 10^6$	7
o-Aminoazotoluol (aus Sudan IV)	3500	17,3	5 000	$2,9 \times 10^2$	2
o-Aminoazotoluol (aus Sudan IV)	10	0,05	5 000	$1,0 \times 10^5$	5

* Abstand (Unterschied) zwischen maximaler Exposition und wirksamer Dosis im Tierversuch.

Schlussfolgerung:

Aus den dargelegten Abschätzungen kann der Schluss abgeleitet werden, dass bei einmaligem oder gelegentlichem Verzehr von Lebensmitteln, die mit Sudan-Farbstoffen in Konzentrationen von wenigen Milligramm pro Kilogramm kontaminiert sind, das Risiko einer Krebserkrankung wahrscheinlich sehr gering ist, weil der Unterschied zwischen der Farbstoff- bzw. Amin-Menge, die bei hoher Verzehrsmenge im ungünstigsten Fall pro Tag aufgenommen werden kann, und der Dosis, bei der im Tierversuch kanzerogene Wirkungen beobachtet wurden, etwa fünf bis sieben Größenordnungen beträgt.

Das kann aber nicht mehr für Konzentrationen von mehreren Tausend Milligramm pro Kilogramm angenommen werden, weil der Unterschied zwischen der Farbstoff- bzw. Amin-Menge, die bei hoher Verzehrsmenge im ungünstigsten Fall pro Tag aufgenommen werden könnte, und der Dosis, bei der im Tierversuch kanzerogene Wirkungen beobachtet wurden, dann nur noch zwei bis drei Größenordnungen beträgt.

Die Einschätzung, dass bei einmaligem oder gelegentlichem Verzehr von nur wenig mit Sudan-Farbstoffen kontaminierten Lebensmitteln das Risiko einer Krebserkrankung wahrscheinlich sehr gering ist, bedeutet nicht, dass dann gar kein Risiko besteht. Denn für kanzerogene Stoffe der Kategorie 2, deren Einwirkung nach dem gegenwärtigen Stand der Kenntnis eine eindeutige Krebsgefährdung für den Menschen darstellt, kann keine noch als unbedenklich anzusehende Konzentration angegeben werden (DFG, 2003). Zudem steigt das Risiko selbstverständlich bei häufigem bzw. dauerhaftem Verzehr. Aus Vorsorgegründen sollte deshalb die Aufnahme von solchen Stoffen so gering wie möglich sein bzw. eine Exposition nach Möglichkeit vermieden werden. Das gilt umso mehr als eine Aufnahme von kanzerogenen Aminen auch aus anderen Anwendungsbereichen, wie z.B. Haarfärbemitteln, resultieren kann (Platzek et al., 1999; SCCNFP, 2002) und bei Einwirkung mehrerer verschiedener kanzerogener Amine mit additiven Wirkungen zu rechnen ist.

Außerdem ist zu beachten, dass Risiken, die im Arbeitsschutzbereich gegebenenfalls tolerierbar sind, für den Lebensmittelbereich anders zu bewerten sind, zumal, wenn es sich wie im vorliegenden Fall um vermeidbare Risiken handelt.

In bezug auf die eingangs gestellte Frage, ob die Voraussetzungen für eine Beanstandung gemäß der Vorschrift des § 8 LMBG vorliegen, hält das BfR die genannten Sudan-Farbstoffe zwar grundsätzlich für geeignet, die Gesundheit zu schädigen. Da in den Fällen, in denen die Farbstoffe Sudan I bis IV nur in Konzentrationen von einigen Milligramm pro Kilogramm Chilipulver enthalten sind, bei den damit verbundenen möglichen Aufnahmemengen das Risiko einer Schädigung der Gesundheit wahrscheinlich aber sehr gering ist, sind die Voraussetzungen für eine Beanstandung gemäß der Vorschrift des § 8 LMBG aus Sicht des BfR zumindest in diesen Fällen ebenso wie bei Spuren anderer genotoxischer bzw. kanzerogener Verbindungen nicht erfüllt.

Unabhängig davon sind Lebensmittel, die die genannten Sudan-Farbstoffe enthalten, aber allein schon deshalb zu beanstanden, weil diese Farbstoffe in Lebensmitteln natürlicherweise nicht vorkommen und ein Zusatz nach § 11 LMBG verboten ist.

Hinweis auf Nachweis- und Überwachungsmethoden:

Sofern in den Überwachungseinrichtungen der Bundesländer keine geeigneten Nachweismethoden zur Verfügung stehen, macht das BfR auf zwei Methoden zum Nachweis und zur Bestimmung von Sudan I aufmerksam, die von der britischen Food Standards Agency veröffentlicht wurden und die in einem FSA-Projekt zur Validierung vorgesehen sind (FSA, 2003 b).

3.2 Maßnahmen

Wenngleich zu den Farbstoffen Sudan II, III und IV nur wenige Meldungen über das EU-Schnellwarnsystem verbreitet wurden, empfiehlt das BfR zu prüfen, ob die Farbstoffe Sudan II, III und IV wegen ihres Gefährdungspotentials und des Risikos, das bei einem hohen Gehalt und bei hohen Verzehrsmengen angenommen werden kann, neben Sudan I in die Überwachungsmaßnahmen mit einzubeziehen sind.

4. Literatur

AGS. Ausschuss für Gefahrstoffe. Begründungen zur Bewertung von Stoffen als krebserzeugend, erbgutverändernd oder fortpflanzungsgefährdend. Anilin (Oktober 2002), 1-Phenylazo-2-naphthol (Sudan I) (November 1997)

http://www.baua.de/prax/ags/begr_905.htm

Bonser GM, Clayson DB, Jull JW (1963) The potency of 20-methylcholanthrene relative to other carcinogens on bladder implantation. Br. J. Cancer 17, 235-241.

CEC (2003) Entscheidung der Kommission vom 20. Juni 2003 über Dringlichkeitsmaßnahmen hinsichtlich scharfer Chilis und scharfer Chilierzugnisse (2003/460/EG), Amtsblatt der Europäischen Union L 154/114 vom 21.6.2003.

http://europa.eu.int/eur-lex/pri/de/oj/dat/2003/l_154/l_15420030621de01140115.pdf

Chung KT, Murdock CA, Stevens SE Jr, Li YS, Wei CI, Huang TS, Chou MW (1995) Mutagenicity and toxicity studies of p-phenylenediamine and its derivatives. Toxicol Lett. 81, 23-32.

CIIT (1982) Chemical Industry Institute of Technology. Final Report, 104-Week Chronic Toxicity Study in Rats, Anilin Hydrochloride, Research Triangle Park, NC, USA. (Zitiert nach Draft RAR Anilin, 13.02.2002 und CSTE, 2003).

Council of Europe (1999) Committee of Experts on Flavouring Substances. Amended publication datasheet on capsaicin. RD 4.2/6-44.

CSTE (2003) Opinion on the results of the Risk Assessment of Aniline (adopted during the 37th plenary meeting of 1 April 2003)

http://europa.eu.int/comm/food/fs/sc/sct/out183_en.pdf

DFG (2003) Deutsche Forschungsgemeinschaft, Senatskommission zur Prüfung gesundheitsschädlicher Arbeitsstoffe. MAK- und BAT-Werte-Liste 2003. Mitteilung 39. WILEY-VCH-Verlag, Weinheim.

Dillon D, Combes R, Zeiger E (1994) Activation by caecal reduction of the azo dye D and C Red No. 9 to a bacterial mutagen. Mutagenesis 9, 295-299.

EHC (1987) International Programme on Chemical Safety. Environmental Health Criteria 74. Diaminotoluenes. World Health Organization, Geneva.

<http://www.inchem.org/documents/ehc/ehc/ehc74.htm>

FSA (2003 a) Food Standards Agency. Sudan I – your questions answered. <http://www.foodstandards.gov.uk/safereating/sudani/sudanI/>

FSA (2003 b) Food Standards Agency. Guidance Notes on Sudan I in chilli imported from India. 15 September 2003. Analysis of chilli powder or products containing chilli powder. <http://www.foodstandards.gov.uk/foodindustry/guidancenotes/foodguid/sudanguidance>

Goodman D, Ward J, Reichardt W (1984) Splenic fibrosis and sarcomas in F344 rats fed diets containing aniline HCl, p-chloro-aniline, azobenzene, o-toluidine HCl, 4,4'-sulfonyldianiline or D+C red No. 9. *Journal of the National Cancer Institute* 73, 265-273. (zitiert nach WHO, 1998).

Govindarajan VS and Sathyanarayana MN (1991) Capsicum – production, technology, chemistry, and quality. Part V. Impact on physiology, pharmacology, nutrition, and metabolism; structure, pungency, pain, and desensitization sequences. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 29, 435-474.

IARC (1975) World Health Organization. International Agency for Research on Cancer. IARC Monographs on the evaluation of the carcinogenic risk of chemicals to man: Some aromatic azo compounds. Volume 8. Lyon

IARC (1978) World Health Organization. International Agency for Research on Cancer. IARC Monographs on the evaluation of the carcinogenic risk of chemicals to man: Some aromatic amines and related nitro compounds – hair dyes, coloring agents and miscellaneous industrial chemicals. Volume 16. Lyon. 97-109.

<http://www.inchem.org/documents/iarc/vol16/25diaminotoluene.html>

Kirby AHM and Peacock PR (1947) The induction of liver tumours by 4-aminoazobenzene and its N:N-dimethyl derivative in rats on a restricted diet. *J. Path. Bact.* 59, 1-7. (Zitiert nach IARC, 1975).

Nakayama T, Kimura T, Kodama M, Nagata C (1983) Generation of hydrogen peroxide and superoxide anion from active metabolites of naphthylamines and amino azo dyes – its possible role in carcinogenesis. *Carcinogenesis* 4, 765-770.

NCI (1979) Bioassay of o-toluidine hydrochloride for possible carcinogenicity (CAS No. 636-21-5). Bethesda, MD, US Department of Health, Education and Welfare, Public Health Service, National Institutes of Health, National Cancer Institute (Carcinogenesis Technical Report Series No. 153; NIH Publication No. 79-1709). (Zitiert nach WHO, 1998).

Nelson AA and Woodard G (1953) Tumors of the urinary bladder, gall bladder and liver in dogs fed o-aminoazotoluene or p-dimethylaminoazobenzene. *J. nat. Cancer Inst.* 13, 1497-1509. (Zitiert nach IARC, 1975).

Neurath GB, Dünger M, Pein FG, Ambrosius D and Schreiber O (1977) Primary and secondary amines in the human environment. *Food Cosmet. Toxicol.* 15, 275-282.

Niitsu K (1973) Metabolism and carcinogenicity of azo dyes. I. Metabolism of food colours, Orange II and Sunset Yellow FCF. *Tokyo Jikeika Ika Daigaku Zasshi* 88, 460-466.

NTP (1978) National Toxicology Program Technical Report No. 126. Bioassay of 2,5-Toluediamine Sulfate for Possible Carcinogenicity (CAS Nr. 6369-59-1)

NTP (1982) National Toxicology Program Technical Report No. 226. Carcinogenesis Bioassay of C.I. Solvent Yellow 14 in F344/N Rats and B6C3F1 Mice (Feed Study).

Pang SNJ (1992) Final report on the safety assessment of toluene-2,5-diamine, toluene-2,5-diamine sulfate, and toluene-3,4-diamine. *Journal of the American College of Toxicology* 11, 423-445.

Platzek T, Lang C, Grohmann G, Gi U-S, and Baltes W (1999) Formation of a carcinogenic aromatic amine from an azo dye by human skin bacteria in vitro. *Human Experimental Toxicology* 18, 552-559.

Richtlinie 67/548/EWG des Rates zur Angleichung der Rechts- und Verwaltungsvorschriften für die Einstufung, Verpackung und Kennzeichnung gefährlicher Stoffe vom 27. Juni 1967
<http://www.baua.de/prax/ags/67-548.htm>

SCCNFP (2002) Opinion of the Scientific Committee on Cosmetic Products and Non-Food Products intended for Consumers concerning the safety review of the use of certain azo-dyes in cosmetic products, adopted by the SCCNFP during the 19th plenary meeting of 27 February 2002. http://europa.eu.int/comm/food/fs/sc/sccp/out155_en.pdf

Schnellwarnsystem der EU (Rapid Alert System for Food and Feed)
http://europa.eu.int/comm/food/fs/sfp/ras_index_en.html

Sekihashi K, Yamamoto A, Matsumura Y, Ueno S, Watanabe-Akanuma M, Kassie F, Knasmüller S, Tsuda S, Sasaki YF (2002) Comparative investigation of multiple organs of mice and rats in the comet assay. *Mutat Res.* 517, 53-75.

Tarding F, Poulsen E (1987) Influence of two azo dyes Orange RN and Orange II on the formation of methemoglobin in-vitro. *Israel Journal of Veterinary Medicine* 43, 130-134.

TRGS 905 (2002) Technische Regeln für Gefahrstoffe
<http://www.baua.de/prax/ags/trgs905.htm>

Tsuda S, Matsusaka N, Madarame H, Ueno S, Susa N, Ishida K, Kawamura N, Sekihashi K, Sasaki YF (2000) the comet assay in eight mouse organs: results with 24 azo compounds. *Mutation Research* 465, 11-26.

Vitzthum OG, Werkhoff P, and Hubert P (1975) New volatile constituents of black tea aroma. *J. Agric. Food Chem.* 23, 999-1003.

Weisburger EK, Russfield AB, Homburger F, Weisburger JH, Boger E, Van Dongen CG, Chu KC (1978) Testing of twenty-one environmental aromatic amines or derivatives for long-term toxicity or carcinogenicity. *J Environ Pathol Toxicol* 2, 325-356. (Zitiert nach MAK-Begründungen).

WHO (1998) o-Toluidine. International Programme on Chemical Safety. Inter-Organization Programme for the Sound Management of Chemicals. Concise International Chemical Assessment Document No. 7. World Health Organization, Geneva, 1998.

Yu T-H, Wu C-M, and Liou Y-C (1989) Volatile compounds from garlic. *J. Agric. Food Chem.* 37, 725-730.