

24. Juli 2023

Anilin in Fingermalfarben: Gesundheitliche Beeinträchtigungen für Kinder sind nach derzeitigem Stand des Wissens nicht zu erwarten

Anilin ist ein wichtiger Grundstoff in der chemischen Industrie. Es dient als Ausgangsstoff etwa zur Herstellung unterschiedlicher Kunst-, Kleb- und Farbstoffe, die wiederum in der Produktion verbrauchernaher Produkte, darunter auch Spielzeug, verwendet werden. Anilin kann in Produkten somit als herstellungsbedingte Verunreinigung oder als (nicht entfernter) Rückstand nach der Produktion vorhanden sein. Zudem kann es als Spaltprodukt von Azofarbstoffen, mit denen das Produkt gefärbt wurde, entstehen.

In der EU gelten Sicherheitsvorgaben für Spielzeuge. Für freies Anilin in Fingermalfarben liegt der Gehaltsgrenzwert bei 10 Milligramm pro Kilogramm (mg/kg). Eine Abfrage bei den Landesuntersuchungsämtern ergab, dass solch hohe Gehalte bei ihren Kontrollen bisher jedoch nicht nachgewiesen wurden.


Anilin kann das Nervensystem und die roten Blutkörperchen schädigen. Zudem besitzt es ein sensibilisierendes Potential, was eine allergische Hautreaktion (Kontaktdermatitis) zur Folge haben kann. Ratten, denen hohe Dosierungen von Anilin verabreicht wurden, entwickelten Tumoren in der Milz – eine krebsauslösende Eigenschaft wird deswegen für Anilin angenommen. Ob die in der (männlichen) Ratte gezeigte kanzerogene Wirkung einem Schwellenwert-Mechanismus unterliegt und wie bzw. ob diese Befunde auf den Menschen übertragen werden können, ist derzeit noch unklar. Die Angaben über die beobachteten Effekte beschreiben das Gefährdungspotential, das möglicherweise von Anilin ausgehen kann. Das von einem Stoff ausgehende Risiko für schädliche Wirkungen hängt von der Menge ab, der Menschen ausgesetzt sind, sowie von der Dauer.

Das Bundesinstitut für Risikobewertung (BfR) hat im Folgenden das gesundheitliche Risiko von Anilin in Fingermalfarben bewertet. Hierbei ist das BfR von der sehr konservativen Annahme ausgegangen, dass ein Kind durchgängig von seinem ersten bis zu seinem vollendeten vierzehnten Lebensjahr regelmäßig mit Fingermalfarbe spielt und diese immer den maximal zulässigen Gehalt von 10 mg Anilin/kg Fingermalfarbe enthält. Neben dem beabsichtigten Hautkontakt wurde zusätzlich für Kinder im Alter von unter 36 Monaten eine mögliche Aufnahme über den Mund berücksichtigt. Für die Bewertung der nicht-krebsauslösenden Effekte wurde das Konzept des Sicherheitsabstandes angewendet, in

Bezug auf mögliche krebsauslösende Effekte hingegen das zusätzliche Lebenszeitkrebsrisiko ermittelt.

Die Bewertung der nicht-krebsauslösenden Effekte ergab einen ausreichend großen Sicherheitsabstand. Das zusätzliche Lebenszeitkrebsrisiko liegt im Bereich der vom Wissenschaftlichen Ausschuss für Gesundheits- und Umweltrisiken (SCHER) als gerade noch akzeptabel angesehenen Risikohöhe von 1:1.000.000. Da die Anilin-Gehalte in Fingermalfarben in der Realität deutlich geringer sind als hier angenommen, ist die Eintrittswahrscheinlichkeit gesundheitlicher Effekte als sehr niedrig zu bezeichnen.

Anilin in Fingermalfarben

A Betroffen sind	Kinder 				
B Wahrscheinlichkeit einer gesundheitlichen Beeinträchtigung bei regelmäßigem Kontakt mit Anilin durch den Gebrauch von Fingermalfarbe	Sehr niedrig	Niedrig	Mittel	Hoch	Sehr hoch
C Schwere der gesundheitlichen Beeinträchtigung bei regelmäßigem Kontakt mit Anilin durch den Gebrauch von Fingermalfarbe	Keine Beeinträchtigung	Leichte Beeinträchtigung [reversibel/irreversibel]	Mittelschwere Beeinträchtigung [reversibel/irreversibel]	Schwere Beeinträchtigung [reversibel/irreversibel]	
D Aussagekraft der vorliegenden Daten	Hoch: Die wichtigsten Daten liegen vor und sind widerspruchsfrei		Mittel: Einige wichtige Daten fehlen oder sind widersprüchlich	Gering: Zahlreiche wichtige Daten fehlen oder sind widersprüchlich	
E Kontrollierbarkeit durch Verbraucherinnen und Verbraucher	Kontrolle nicht notwendig	Kontrollierbar durch Vorsichtsmaßnahmen	Kontrollierbar durch Verzicht	Nicht kontrollierbar	

Dunkelgrau hinterlegte Felder kennzeichnen die Eigenschaften des in dieser Stellungnahme bewerteten Risikos (nähere Angaben dazu im Text der Stellungnahme Nummer 034/2023 des BfR vom 24. Juli 2023).

Erläuterung

Das Risikoprofil soll das in der BfR-Stellungnahme beschriebene Risiko visualisieren. Es ist nicht dazu gedacht, Risikovergleiche anzustellen. Das Risikoprofil solle nur im Zusammenhang mit der Stellungnahme gelesen werden.

1 Gegenstand der Bewertung

Das Bundesinstitut für Risikobewertung (BfR) hat im Folgenden Anilin in Fingermalfarben bewertet. Anilin dient als Ausgangsstoff für z. B. Farb- und Kunststoffe, die für die Herstellung verbrauchernaher Produkte, darunter auch Spielzeug, verwendet werden. Es kann daher als herstellungsbedingte Verunreinigung in Produkten vorhanden sein. Neben diesem Vorkommen in freier Form kann Anilin aber auch aus der reduktiven Spaltung bestimmter Azofarbstoffe entstehen, mit denen das Material gefärbt wurde.

Anilin (CAS-Nr. 62-53-3, EC-Nr. 200-539-3) ist nach der Verordnung (EG) Nr. 1272/2008 über die Einstufung, Kennzeichnung und Verpackung von Stoffen und Gemischen (CLP-Verordnung) harmonisiert als kanzerogener (krebsauslösender) und mutagener (erbgutverändernder) Stoff der Kategorie 2 (Carc. 2, Muta. 2), als organschädigend bei längerer oder wiederholter Exposition (STOT RE 1) sowie als hautsensibilisierend (Skin Sens. 1) eingestuft.

Durch die Richtlinie (EU) 2021/903 wird ein Gehaltsgrenzwert für freies Anilin von 10 mg/kg in Fingermalfarben sowie ein Grenzwert für durch reduktive Spaltung freigesetztes Anilin von 30 mg/kg in Fingermalfarben sowie in Spielzeugmaterial aus Textil und aus Leder in Anhang II, Anlage C der EU-Spielzeugrichtlinie festgelegt. Diese Grenzwerte gelten für Spielzeug, welches für Kinder im Alter von unter 36 Monaten vorgesehen ist bzw. solches, welches bestimmungsgemäß in den Mund genommen werden soll; sie sind seit dem 5. Dezember 2022 anzuwenden. Für Spielzeug anderer Kategorien bzw. Spielzeug, das aus anderen als den o.g. Materialien hergestellt wird, gilt nach der europäischen Spielzeugrichtlinie 2009/48/EG (EU-Spielzeugrichtlinie) momentan ein 1.000- bis 2.000-fach höherer Grenzwert von 1 % (10.000 mg/kg). Dieser Wert entspricht dem generischen Konzentrationsgrenzwert der CLP-Verordnung für die Kennzeichnung von Gemischen, die als Carc. 2 oder Muta. 2 harmonisiert eingestuft sind.

2 Ergebnis

Bezogen auf das Potenzial von Anilin zur Schädigung der Erythrozyten und des zentralen Nervensystems sind für den maximal zulässigen Anilingehalt von 10 mg/kg Fingermalfarbe bei gleichzeitiger oraler und dermaler Exposition keine gesundheitlichen Effekte für Kinder verschiedener Altersstufen zu erwarten. Ebenso läge im Hinblick auf eine mögliche kanzerogene Wirkung, selbst unter der Annahme einer Wirkungsweise ohne Schwellenwert, in Verbindung mit einer sehr konservativen Expositionsschätzung das zusätzliche Lebenszeitkrebsrisiko (*lifetime excess cancer risk*, LCR) im Bereich der im Jahr 2010 vom damaligen Wissenschaftlichen Ausschuss für Gesundheits- und Umweltrisiken (SCHER) als (gerade noch) akzeptabel angesehenen Risikohöhe von 1:1.000.000 (bzw. 1×10^{-6}) (SCHER, 2010).

3 Begründung

3.1 Risikobewertung

3.1.1 Gefahrenidentifizierung

Anilin (CAS-Nr. 62-53-3) ist eine klare, farblose bis schwach gelbliche, ölige Flüssigkeit mit süßlichem bis fischähnlichem Geruch. Es besitzt ein Molekulargewicht von 93 g/mol, einen *n*-Octanol-Wasser-Verteilungskoeffizienten K_{OW} von 7,94 ($\log K_{OW} = 0,9$) und eine Wasserlöslichkeit von 36 Gramm pro Liter (g/l) (Wellner et al., 2008). Chemisch gesehen handelt es sich um einen Benzolring mit einer Aminogruppe ($-NH_2$) und damit um das einfachste primäre aromatische Amin.

Anilin ist ein wichtiger Grundstoff in der chemischen Industrie. Es dient als Ausgangsstoff z. B. zur Herstellung unterschiedlicher Polyurethankunststoffe, Klebstoffe, Gummiadditive und Farbstoffe, die für die Herstellung verbrauchernaher Produkte, darunter auch Spielzeug, verwendet werden. Anilin kann somit in Produkten als herstellungsbedingte Verunreinigung oder als (nicht entfernter) Rückstand nach der Produktion vorhanden sein. Neben diesem Vorkommen in freier Form kann Anilin aber auch aus der reduktiven Spaltung bestimmter Azofarbstoffe entstehen, mit denen das Material gefärbt wurde.

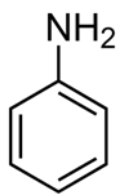


Abbildung 1: Strukturformel des Anilins

Aktuelle Regelungen für Anilin in Spielzeug

Laut Artikel 10 Absatz 2 der EU-Spielzeugrichtlinie dürfen „Spielzeuge bei bestimmungsgemäßem oder vorhersehbarem Gebrauch und unter Berücksichtigung des Verhaltens von Kindern die Sicherheit oder Gesundheit der Benutzer oder Dritter nicht gefährden“.

Durch die im Dezember 2022 erfolgte Aufnahme von Anilin in Anlage C des Anhangs II der europäischen Spielzeugrichtlinie gilt inzwischen ein Gehaltsgrenzwert für freies Anilin von 10 mg/kg in Fingermal Farben sowie 30 mg/kg für durch reduktive Spaltung aus Azofarbstoffen freigesetztes Anilin in Fingermal Farben sowie in Spielzeugmaterial aus Textil und aus Leder für solches Spielzeug, welches für Kinder im Alter von unter 36 Monaten vorgesehen ist bzw. solches, das bestimmungsgemäß in den Mund genommen werden soll. Für Spielzeug anderer Kategorien bzw. Spielzeug, das aus anderen als den o.g. Materialien hergestellt wird, gilt gemäß der EU-Spielzeugrichtlinie, dass freies Anilin, das nach CLP-Verordnung als kanzerogener sowie mutagener Stoff der Kategorie 2 (Carc. 2 und Muta. 2) klassifiziert ist, bis zu einem Gehalt von 1 % bzw. 10.000 mg/kg in Spielzeug theoretisch enthalten sein darf, sofern dieses bei bestimmungsgemäßem oder vorhersehbarem Gebrauch die Sicherheit oder Gesundheit der Benutzerinnen und Benutzer oder Dritter nicht gefährdet (siehe Artikel 10 Absatz 2 der EU-Spielzeugrichtlinie). Dieser Wert entspricht dem generischen Konzentrationsgrenzwert der CLP-Verordnung für die Einstufung und Kennzeichnung von Anilin in Gemischen.

Außerdem konkretisieren die europäischen Normen der Normenreihe EN 71 das allgemeine Sicherheitserfordernis an Spielzeug, indem diese chemische Anforderungen für bestimmte Spielzeuge enthalten. Darüber hinaus sind in den Normen Analysemethoden zur Überprüfung der Grenzwerte beschrieben. Harmonisierte Normen wie die EN 71-7 wurden im Europäischen Amtsblatt veröffentlicht (EU, 2019) und sind damit eine rechtsverbindliche Grundlage für die Konformitätsvermutung, d. h. für die Übereinstimmung mit den entsprechenden grundlegenden Anforderungen der EU-Spielzeugrichtlinie (EU, 2009). So können Hersteller von Spielzeug in ihrer Konformitätserklärung gemäß der EU-Spielzeugrichtlinie auf die Anwendung relevanter harmonisierter Normen verweisen. Durch das Anbringen des CE-Zeichens (*Conformité Européenne*, französisch für ‚Europäische Konformität‘) bestätigt der Hersteller, dass das Konformitätsbewertungsverfahren für das Spielzeug durchgeführt wurde und das Spielzeug mit den Anforderungen der EU-Spielzeugrichtlinie übereinstimmt.

3.1.2 Gefahrencharakterisierung

Toxikokinetik

Die Aufnahme von Anilin in den Körper kann sowohl inhalativ als auch oral oder dermal erfolgen. Nach oraler Gabe von radioaktiv (^{14}C) markiertem Anilin wurden bei Ratten bis ca. 89 % (nach 24 h) bzw. 96 % (nach 48 h) der Radioaktivität über den Urin wieder ausgeschieden, bei der Maus waren es nach 24 h ca. 72 % (McCarthy et al., 1985; Bus & Popp, 1987). In einer Humanstudie mit vier Probanden zeigte sich 48 h nach einmaliger oraler Verabreichung von am Benzolring markiertem (deuteriertem) Anilin- d_5 eine Ausscheidung der unkonjugierten Ausgangssubstanz sowie drei ihrer Metaboliten im Urin von insgesamt bis zu 72,1 % (Modick et al., 2016). Da jedoch nicht alle relevanten Anilinmetaboliten analysiert wurden, liegt die tatsächliche renale Elimination, und somit auch die (vorherige) gastrointestinale Resorption wahrscheinlich über den gemessenen 72,1 %. Daher wurde in der vorliegenden Stellungnahme zur Berechnung der systemischen Expositionsdosis nach Verschlucken von Anilin-haltigem Spielzeugmaterial eine orale Bioverfügbarkeit von 100 % als *Worst-Case-Szenario* angenommen.

Ex-vivo-Penetrationsexperimente an exzidiertes, nicht (mehr) lebensfähiger Humanhaut mithilfe der Franz-Diffusionszelle ergaben eine Penetrationsrate von 20–38 % der aufgetragenen Menge, ermittelt als Summe der innerhalb von 24 h in der Rezeptorflüssigkeit gefundenen Anilin-Menge (Wellner et al., 2008). Hierfür wurde Anilin in Konzentrationen von 0,03 g/l in 95:5 (v/v) Phosphatpuffer/Ethanol sowie von 0,3 g/l, 3 g/l und 30 g/l in 0,9 %iger NaCl-Lösung und als Reinsubstanz (Dichte der Flüssigkeit: 1.020 g/l) unter *Infinite-Dose*-Bedingungen (500 μl pro cm^2) appliziert. Die Rezeptorflüssigkeit wurde zu mehreren Zeitpunkten zwischen 1 und maximal 24 h nach Applikation gesammelt und der Anilingehalt mittels Gaschromatographie/Massenspektrometrie (GC/MS) bestimmt. Der Anteil der in der Haut (Dermis sowie Epidermis ohne *Stratum corneum*) verbliebenen Menge wurde durch die Autorinnen und Autoren nicht bestimmt. Diese Information wäre jedoch zur Berechnung der Absorption nach den Leitlinien des Scientific Committee on Consumer Safety (SCCS) (2021) zur Testung und Sicherheitsbewertung kosmetischer Inhaltsstoffe notwendig. Wellner et al. nahmen an, dass „eine relevante Menge“ von Anilin in der Haut verblieb.

Die ermittelten Daten zeigten einen annähernd linearen Zusammenhang zwischen der maximalen Fluxrate und der applizierten Anilin-Konzentration. Die Fluxrate gibt an, welche

Stoffmenge pro Hautfläche und Zeiteinheit durch die Haut penetriert und in die Rezeptorflüssigkeit übergeht. Eine Re-Analyse der Beziehung zwischen Fluxrate und Anilin-Konzentrationen mittels linearer Regression durch den Nullpunkt ergab für Konzentrationen bis 30 g/l (= 30.000 mg/kg) als Steigungsparameter einen Permeabilitätskoeffizienten (K_p) von 0,0073 cm/h.

In einer *In-vivo*-Studie an zehn gesunden Probandinnen und Probanden wurde die dermale Aufnahme von Anilin anhand der Ausscheidung des Anilin-Metaboliten 4-Aminophenol über den Urin über 24 h bestimmt (Baranowska-Dutkeiwicz, 1982). Hierfür wurde jeweils eine Hand (347 bis 459 cm² Hautfläche) der teilnehmenden weiblichen und männlichen Personen für 30 bzw. 60 min in 1%ige sowie 2%ige wässrige Anilin-Lösung bei einer Temperatur von 20 ± 1 °C eingetaucht. Anschließend wurde die exponierte Hautfläche mit Wasser und Seife gereinigt. Die Messung von 4-Aminophenol über 24 h im Urin erfolgte mithilfe der Indophenol-Methode nach Dutkiewicz (1974; zitiert nach Baranowska-Dutkeiwicz, 1982), für die ein Variationskoeffizient von 9,5 % angegeben wurde. Anschließend wurde die über die Haut aufgenommene Anilin-Menge (x , mg) anhand der über den Zeitraum von 6–8 h nach Exposition bestimmten 4-Aminophenol-Ausscheidungsrate (y , mg/h) nach folgender Formel von Piotrowski (1957) berechnet:

$$y = \frac{0,14 \times x^{1,44}}{8,5 + x^{0,44}}$$

Die Genauigkeit dieser Dosisrekonstruktion gibt Piotrowski mit ± 35 % an. So spiegelt die in der *In-vivo*-Studie von Baranowska-Dutkeiwicz (1982) über den Urin in 24 h ausgeschiedene Menge von 4-Aminophenol 13–55 mol% der aufgenommenen Anilin-Menge wider; sie unterliegt also einer recht hohen Schwankung. Laut Piotrowski (1957) gilt hierbei, dass je höher die aufgenommene Anilin-Menge ist, desto höher ist die Umwandlungsrate zu 4-Aminophenol. Vermutlich existieren auch interindividuelle Unterschiede in der Höhe der Umwandlung zu diesem Metaboliten. Die Ergebnisse der *In-vivo*-Studie von Baranowska-Dutkeiwicz (1982) sind in Tabelle 1 zusammengefasst. Die dermale Fluxrate ($\mu\text{g}/\text{cm}^2/\text{h}$) wurde berechnet, in dem die aufgenommenen Anilin-Menge durch die exponierte Hautfläche und die Expositionsdauer geteilt wurde.

Tabelle 1: Anzahl der Versuche, exponierte Handfläche, Anilin-Konzentration, Expositionsdauer und daraus resultierende mittlere Absorptionsraten (in μg Anilin pro cm^2 und h) der *in vivo*-Hautpenetrationsstudie von Baranowska-Dutkeiwicz (1982).

Anzahl Versuche	Exponierte Handfläche (cm ²)	Anilin-Konzentration (%)	Expositionsdauer (min)	Mittlere Fluxrate ($\mu\text{g}/\text{cm}^2/\text{h}$)
4	347 – 416	1	30	320
4	350 – 436	1	60	200
4	350 – 459	2	30	1.220
2	347 – 370	2	60	820

Im Ergebnis zeigten sich mittlere Fluxraten zwischen 200 und 1.220 $\mu\text{g}/\text{cm}^2/\text{h}$. Dabei zeigte sich für beide Expositionsdauern, dass die Verdopplung der Anilin-Konzentration von 1 % auf 2 % zu einer Vervierfachung der Fluxrate (von 320 auf 1.220 $\mu\text{g}/\text{cm}^2/\text{h}$ nach 30 min bzw. von 200 auf 820 $\mu\text{g}/\text{cm}^2/\text{h}$ nach 60 min) führte. Die Verdopplung der Expositionsdauer (von 30

auf 60 min) führte hingegen bei beiden Anilin-Konzentrationen zu einer Verringerung der Fluxrate (Tabelle 1).

Die Daten von Baranowska-Dutkeiwicz (1982) zeigen somit, dass die Aufnahme nicht mit konstanter Rate erfolgt, sondern sich zunächst sehr schnell vollzieht und sich im weiteren Verlauf verlangsamt. Ein Indiz hierfür ist die Beobachtung, dass die aufgenommene Menge bei 60-minütiger Exposition weniger als doppelt so hoch ist wie die nach 30-minütiger Exposition. Die anfänglich sehr schnelle Aufnahme könnte durch den zu Versuchsbeginn vorherrschenden starken Konzentrationsgradienten zwischen der wässrigen Lösung und der Haut begünstigt sein.

Verglichen mit dem *In-vitro*-Versuch von Wellner et al. (2008) ergab der *In-vivo*-Versuch von Baranowska-Dutkeiwicz (1982) vergleichsweise höhere Fluxraten. So ergab sich im *In-vitro*-Versuch für eine 3%ige wässrige Anilin-Lösung eine maximale Fluxrate von 218 $\mu\text{g}/\text{cm}^2/\text{h}$, während der *In-vivo*-Versuch für die 1%ige wässrige Anilin-Lösung bereits eine annähernd gleich hohe mittlere Fluxrate von 200 $\mu\text{g}/\text{cm}^2/\text{h}$ ergab. Ein Grund für die Diskrepanz zwischen den *In-vitro*- und *In-vivo*-Versuchen könnte in der unterschiedlichen Methodik, d. h. im Versuchsaufbau als auch in der Berechnung der Fluxraten, liegen.

Für die Abschätzung der Aufnahme von Anilin aus Fingermalfarben über die Haut werden die Daten aus dem *In-vivo*-Versuch von Baranowska-Dutkeiwicz (1982) verwendet, da der Versuchsaufbau näher am Anwendungsszenario ist und die Fluxraten aus dem *In-vitro*-Versuch von Wellner et al. (2008) vermutlich eine Unterschätzung der tatsächlichen Aufnahme über die Haut darstellen.

Verteilung, Metabolismus, Elimination

Oral aufgenommenes Anilin wird schnell resorbiert, zügig verteilt, verstoffwechselt und schließlich wieder ausgeschieden.

Nach einmaliger oraler Verabreichung von ^{14}C -markiertem Anilinhydrochlorid an Ratten fand sich die höchste Radioaktivität, bezogen auf die Bestandteile des Blutes, in den Erythrozyten (Khan et al., 1995). Im Vergleich zur Einmalgabe kam es nach dreimaliger Verabreichung zu einer 85%igen Erhöhung des Eisengehaltes in der Milz, nicht jedoch in der Leber.

Die Metabolisierung von Anilin erfolgt primär durch *N*-Acetylierung sowie Ring- und *N*-Hydroxylierung in der Leber („nicht-toxische Metabolisierung“). Tierversuche zeigten insbesondere für die Ring-Hydroxylierung starke Interspezies-Unterschiede hinsichtlich der Stellung (*ortho*-, *meta*- oder *para*-) der Hydroxylgruppe (McCarthy et al., 1985). Beim Mensch wird der überwiegende Anteil des Anilins durch die *N*-Acetylierung zu *N*-Acetylanilin (Acetanilid) und nachfolgender Ring-Hydroxylierung zu *N*-Acetyl-4-aminophenol (NA4AP, Paracetamol) umgesetzt (Abbildung 2). Daran können sich weitere Konjugationsreaktionen anschließen. Glucuronsäure- und Sulfatkonjugate machen den Hauptanteil der Anilinmetaboliten im Urin aus (MAK, 1992).

Die toxische Wirkung von Anilin beruht hingegen auf der oxidativen Verstoffwechslung über die *N*-Hydroxylierung des Anilins. Das hierbei entstehende *N*-Phenylhydroxylamin kann in den Erythrozyten zu Nitrosobenzol oxidiert werden, wobei gleichzeitig das Eisen(II) des Hämoglobins zu Eisen(III) oxidiert wird, sodass Methämoglobin (Met-Hb) entsteht. Dieses trägt nicht mehr zum Sauerstofftransport im Blut bei. Das gebildete Nitrosobenzol kann nun entweder mit den SH-Gruppen des Hämoglobins oder Glutathions zu Hb- bzw. Glutathion-

Addukten reagieren oder in einem Redoxzyklus unter Verbrauch von NADPH weiteres reaktives *N*-Phenylhydroxylamin bilden, wodurch somit ein Äquivalent *N*-Phenylhydroxylamin die Bildung mehrerer Äquivalente Met-Hb induzieren kann. Bei stärkerer Belastung mit Phenylhydroxylamin wirkt der Verbrauch von NADPH jedoch als limitierender Faktor auf die Bildung von weiterem Met-Hb. Anilin selbst ist demgegenüber jedoch kein direkter Met-Hb-Induktor (Ciccoli et al., 1999).

Die *N*-Hydroxylierung als Beginn für den „toxifizierenden Stoffwechselweg“ steht sowohl mit der Ring-Hydroxylierung als auch mit der *N*-Acetylierung als „nicht-toxische Stoffwechselwege“ in Konkurrenz. In einer Studie an beruflich exponierten Personen konnten Lewalter und Korallus (1985) zeigen, dass die Met-Hb-Konzentration nach Exposition gegenüber Anilin durch die Geschwindigkeit der *N*-Acetylierung beeinflusst wird. Genetisch bedingte Unterschiede in der Bevölkerung hinsichtlich der Enzymausstattung (hier: *N*-Acetyltransferasen, NAT) könnten somit zu individuellen Unterschieden in der Toxikokinetik von Anilin führen (Leggett et al., 2021). Sogenannte „langsame Acetylierer“ könnten daher ein erhöhtes Risiko Anilin-induzierter gesundheitlicher Effekte (wie die Methämoglobinämie, s. u.) aufweisen (Lewalter & Korallus, 1985). Man geht davon aus, dass „langsame Acetylierer“ auch anfälliger sind für durch bestimmte kanzerogene aromatische Amine ausgelöste Tumore (Hein, 2000; Hein et al., 2000; Hein, 2002). Allerdings konnte eine neuere Humanstudie nach insgesamt sechsstündiger (ausschließlich) inhalativer Exposition gegenüber einer Anilin-Konzentration von 2 ml/m³ (= 2 ppm) mit 19 Versuchspersonen (15 „langsame Acetylierer“, 4 „schnelle Acetylierer“) keine Unterschiede in der Met-Hb-Bildung sowie in der Ausscheidung von Anilin über den Urin zwischen den Probandengruppen feststellen (Käfferlein et al., 2014). Das Blut der „langsamen Acetylierer“ wies allerdings ungefähr 30 % höhere Hb-Addukt-Level auf als das der „schnellen Acetylierer“. In einer Studie nach oraler Gabe zeigten sich hingegen Unterschiede in der Ausscheidung von unkonjugiertem Anilin und Acetanilid in Abhängigkeit des Acetylierungsstatus (Modick et al., 2016).

Des Weiteren könnte *N*-Phenylhydroxylamin nach *O*-Acetylierung durch NAT und anschließender Acetat-Abspaltung reaktive Nitreniumionen bilden, was zu DNA-Addukt-Bildung führen könnte. Durch den leicht sauren pH-Wert des Urins wäre dieser Prozess auch direkt (unter Wasserabspaltung) in der Harnblase möglich (Abbildung 2) (Leng et al., 2019). In der Literatur finden sich jedoch keine Belege, dass Nitreniumionen nach Anilin-Gabe *in vivo* tatsächlich gebildet werden.

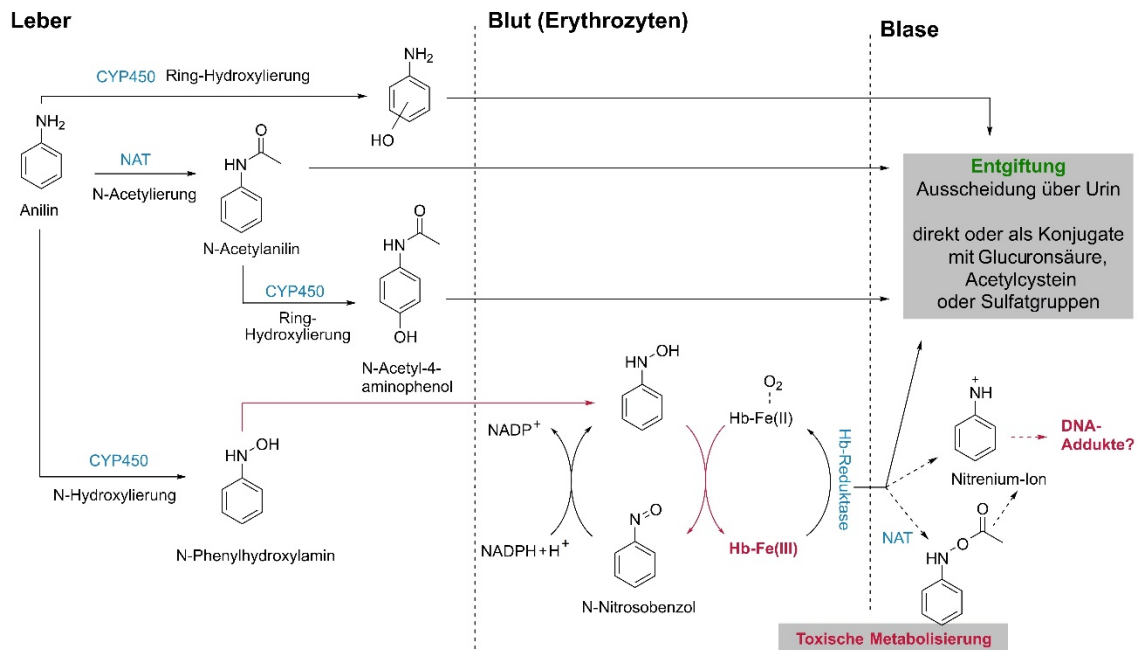


Abbildung 2: Metabolisierung von Anilin im Menschen und beteiligte Enzyme (nach Käfferlein et al., 2014). *CYP450*: Cytochrom P450; *Hb*: Hämoglobin; *Hb-Fe(III)*: Methämoglobin; *NADPH*: Nicotinsäureamid-Adenin-Dinucleotid-Phosphat, reduzierte Form; *NADP⁺*: Nicotinsäureamid-Adenin-Dinucleotid-Phosphat, oxidierte Form; *NAT*: *N*-Acetyltransferase.

Studien mit intravenöser Injektion von radioaktiv (mit ^3H und ^{14}C) markiertem Anilin in Ratten und Mäusen zur Bindung von Anilin-Metaboliten an Makromoleküle zeigten eine kovalente Bindung an Proteine und RNA sowie in geringerem Ausmaß auch an DNA in der Leber, Milz, den Nieren und dem Darm (Roberts & Warwick, 1966; McCarthy et al., 1985). Im Vergleich zur Maus zeigte die Ratte in allen Geweben eine erhöhte Radioaktivität als Indikator für eine Bindung an Makromoleküle. Dies wird damit erklärt, dass sich bei der Ratte bei höheren Dosierungen vermutlich aufgrund eines enzymatischen Sättigungseffektes der Anilin-Stoffwechsel ändert. Dies führt dazu, dass reaktivere Metaboliten gebildet werden, die eine höhere Affinität zur DNA, RNA und zu Proteinen aufweisen. Demgegenüber ist die Maus in der Lage, den bei ihr dominierenden Stoffwechselweg über die Konjugation mit Glucuronsäure auch bei höheren Dosierungen aufrecht zu erhalten, wodurch eine effiziente Elimination der Metaboliten weiterhin gewährleistet wird (McCarthy et al., 1985; MAK, 1992).

Die orale Verabreichung von ^{14}C -markiertem Anilin an Ratten zeigte eine überwiegende Ausscheidung über den Harn, bei der ca. 90 % der verabreichten Radioaktivität innerhalb von 24–48 h eliminiert wurden (McCarthy et al., 1985; MAK, 1992). Humanstudien mit inhalativer und dermaler Exposition gegenüber Anilin ergaben eine Halbwertszeit (HWZ) der Elimination von 4-Aminophenol über den Urin von 3,5 Stunden (Piotrowski, 1972, zitiert nach MAK, 1992; Piotrowski, 1977). Eine aktuellere Humanstudie mit oraler Gabe von ring-deuteriertem Anilin (Modick et al., 2016) bestätigt diesen Wert für den nach enzymatischer Abspaltung von Glucuronid- und Sulfatkonjugaten gemessenen Hauptmetaboliten *N*-Acetyl-4-aminophenol (NA4AP; HWZ: 3,4 – 4,3 h), während für freies (nicht-metabolisiertes) Anilin eine Eliminationshalbwertszeit von 0,6–1,2 h ermittelt wurde. Insgesamt wurden über einen Zeitraum von 48 h nach Verabreichung durchschnittlich ~70 % der Dosis als NA4AP (65,2 %), NA4AP-Mercaptursäure (4 %), unkonjugiertes Anilin (0,24 %) sowie Acetanilid (0,26 %) ausgeschieden, wobei weitere, nicht gemessene Metaboliten (z. B. 4-Aminophenol)

wahrscheinlich die restlichen (nicht wiedergefundenen) ~30 % der Dosis ausmachen. Laut Piotrowski (1957) spiegeln 4-Aminophenol sowie alle Metabolite, die durch Hydrolyse in 4-Aminophenol umgewandelt werden können, im Urin 13–55 mol% der dermal absorbierten Menge Anilins wider; 4-Aminophenol kann somit auch als Biomarker einer Anilin-Exposition verwendet werden (Baranowska-Dutkeiwicz, 1982; Talaska & Al-Zoughool, 2003). Auch bei Ratten macht 4-Aminophenol ca. 16 % des Anilin-Metaboliten-Spektrums des Urins aus (Kao et al., 1978).

Wirkungsweise

Wichtigster toxischer Effekt von Anilin ist die Schädigung des Nervensystems und der Erythrozyten, u. a. durch die Bildung von Methämoglobin (Met-Hb), was als Methämoglobinämie bezeichnet wird. Ursache dieser Schädigung ist die Interaktion von *N*-Phenylhydroxylamin mit O₂-Hämoglobin unter Bildung von Nitrosobenzol sowie Met-Hb (Abbildung 2). Dies führt zu einem gestörten Transport von Sauerstoff zu den Organen und Geweben und kann zu Zyanose („Blausucht“), Kopfschmerz, erhöhter Herzfrequenz, Schwindel, Übelkeit mit Erbrechen und anderen Symptomen bis hin zum Tod führen (siehe z. B. Lubash et al., 1964).

Generell ist die Bildung von Met-Hb durch die Aktivität der erythrozytären Met-Hb-Reduktase reversibel; übersteigt die Konzentration an Met-Hb jedoch die Kapazität der Met-Hb-Reduktase, kommt es u. a. zur Bildung von Hyperoxid-Anionen, einer reaktiven Sauerstoffspezies, die in den Erythrozyten zu oxidativem Stress führen (Jarolim et al., 1990; Grossman et al., 1992; Jollow & McMillan, 2001; Dickinson & Forman, 2002; zitiert nach Koenig et al., 2018). Hinzu kommt eine Störung des Redox-Gleichgewichts durch die aus geschädigten Erythrozyten freigesetzten Eisen-Ionen, die ebenfalls zum oxidativen Stress beitragen (Koenig et al., 2018). Außerdem kommt es infolge der Präzipitation des Hämoglobins in den Erythrozyten (Heinz-Körper) zu einer reduzierten Elastizität und Deformierbarkeit, was wiederum zu einer Anhäufung geschädigter Erythrozyten und reduzierter Abbaufähigkeit in der roten Pulpa der Milz führt (Koenig et al., 2018). Die damit einhergehende Akkumulation von Zelltrümmern in den Gefäßen der Milz bewirkt Schwellungen sowie Entzündungsreaktionen; daraus folgend kann es auch zu einer Fibrose in der Milz kommen. Auch die direkte Gabe von Nitrosobenzol an Ratten führt zu den beschriebenen Effekten (Khan et al., 2000). Diese Effektkaskade endet bei Ratten – nicht jedoch bei Mäusen (und Hamstern) – letztendlich in den beobachteten Milztumoren (National Toxicology Program, 1978; CIIT, 1982; Hecht et al., 1983). Die zugrundeliegenden molekularen Mechanismen werden dem Review-Artikel von Makhdoumi et al. (2019) detailliert erläutert.

Die Beobachtung, dass vornehmlich männliche Ratten Tumore ausbilden, könnte durch deren (auch für andere Chemikalien gezeigte) höhere Sensitivität gegenüber Eisen-vermittelten kanzerogenen Effekten im Vergleich zu weiblichen Ratten begründet sein. Darüber hinaus zeigten Mäuse (und Hamster) vermutlich aufgrund deutlich höherer Methämoglobin-Reduktase-Level im Vergleich zu Ratten ebenfalls keine Tumorentwicklung (Srivastava et al., 2002).

Nicht-kanzerogene Effekte

Eine einmalige orale bzw. intravenöse Verabreichung von Anilin an männliche Wistar-Ratten führte zu Methämoglobinämie, zur Bildung von Heinz-Körpern sowie zu einer vergrößerten

Milz (Jenkins et al., 1972). Der „*No Observed Effect Level*“ (NOEL; die höchste Dosis, bei der im Tierexperiment keine statistisch signifikante behandlungsbedingte Wirkung auftritt) dieser Studie lag für die orale Dosis bei 20 mg/kg Körpergewicht (KG) und Tag. In derselben Studie wurden darüber hinaus freiwillige Probandinnen und Probanden gegenüber Anilin oral exponiert. Hierfür wurden 17 männlichen und 3 weiblichen Personen im Alter zwischen 22 und 45 Jahren an drei aufeinanderfolgenden Tagen 5, 15 oder 25 mg Anilin oral verabreicht. Einige dieser Personen erhielten an weiteren Tagen weitere, höhere Mengen bis maximal 65 mg Anilin. 1, 2 sowie 3 Stunden nach oraler Gabe wurde der Methämoglobin-Gehalt im Blut bestimmt. Eine signifikante Erhöhung zeigte sich erst ab einer Gabe von 25 mg, so dass die Autorinnen und Autoren einen NOEL von 15 mg ableiteten, was bei einem angenommenen Körpergewicht der Probandinnen und Probanden von 70 kg einer Dosis von 0,21 mg/kg KG entspräche. Die Gabe von 35 mg Anilin führte zur Erhöhung des Methämoglobin-Spiegels um 3,7 %; bei 45 mg lag diese bereits bei 7,08 % und bei der höchsten Gabe von 65 mg bei maximal 11,07 %, wobei der Spiegel eine Stunde nach Erreichen des Maximalwerts wieder im Normalbereich lag. Da Methämoglobin-Gehalte bis 5 % als nicht-advers gelten (Henschler & Lehnert, 1986), lässt sich eine Gabe von 35 mg Anilin, entsprechend einer Dosis von 0,5 mg/kg KG (bei 70 kg KG), als „*No Observed Adverse Effect Level*“ (NOAEL; die höchste getestete Dosis, bei der keine adverse/gesundheits-schädliche Wirkung zu beobachten ist) dieser Studie ableiten.

In einer subakuten Studie an männlichen F344-Ratten, denen Anilinhydrochlorid in Dosierungen von 10, 30 und 100 mg/kg KG und Tag (tatsächlich aufgenommene Mengen mind. 4, 12 und 41 mg Anilin/kg KG und Tag) über die Nahrung verabreicht wurde, zeigten sich bei 2 von 6 Tieren der niedrigsten Dosisgruppe bereits nach einer Woche Effekte auf das hämatopoietische System durch Bildung von Hb-Addukten (Mellert 2004; Zwirner-Baier 2003). Somit lässt sich aus dieser Studie ein „*Lowest Observed Adverse Effect Level*“ (LOAEL; niedrigste Dosis in einer toxikologischen Studie, bei der eine schädliche Substanzwirkung beobachtet wurde) von 4 mg/kg KG und Tag für die Bildung von Hb-Addukten ableiten.

Eine 2-Jahresstudie mit oraler Verabreichung von Anilinhydrochlorid über die Nahrung (entsprechend 0, 7, 22 und 72 mg Anilin/kg KG und Tag) an F344-Ratten (CIIT, 1982) ergab für systemische, nicht-neoplastische Effekte einen LOAEL von 7 mg/kg KG und Tag. Die Tiere der niedrigsten Dosisgruppe zeigten u. a. eine übermäßige Ansammlung von Eiseneinlagerungen (Hämosiderin) in der Milz sowie eine gesteigerte Hämatopoese in der roten Pulpa der Milz, eine signifikant erhöhte Zahl junger, noch unreifer roter Blutkörperchen (Retikulozyten) bei gleichzeitiger Reduktion der Anzahl reifer Erythrozyten. Da diese Effekte bereits in der niedrigsten Dosisgruppe auftraten, ließ sich kein NOAEL ableiten.

In einer Studie zur prä- und postnatalen Entwicklungstoxizität wurde trächtigen F344-Ratten vom 7. bis 20. Tag der Gestation (GD 7 bis GD 20) bzw. vom GD 7 bis zum Ende der Trächtigkeit Anilinhydrochlorid (entsprechend 7, 22 und 72 mg Anilin/kg KG und Tag) per Schlundsonde verabreicht. Föten der höchsten Dosisgruppe zeigten u. a. erhöhte relative Lebergewichte sowie signifikant vergrößerte Erythrozyten mit einer reduzierten Größenverteilungsspanne; der NOAEL für fetale Effekte lag bei 22 mg/kg KG und Tag. Allerdings wiesen die Nachkommen der Niedrigdosisgruppe transient höhere relative Lebergewichte am postnatalen Tag 25 (PND 25) sowie PND 50 auf, nicht jedoch am PND 60. Die Studie ergab darüber hinaus selbst bei maternal-toxischen Dosen keine Hinweise auf embryonale oder teratogene Effekte (Price et al., 1985).

Neben den Effekten in der Milz ist Anilin als hautsensibilisierend der Kategorie 1 (Skin. Sens. 1) harmonisiert eingestuft; verschiedene Tests weisen darauf hin, dass Anilin ein sensibilisierendes Potential besitzt und zu einer allergischen Hautreaktion (Kontaktdermatitis) führen kann (ECB, 2004).

Für die Risikobewertung in dieser Stellungnahme wird für die nicht-kanzerogenen Effekte der LOAEL von 4 mg/kg KG und Tag aus der subakuten Studie als niedrigster toxikologischer Referenzwert zugrunde gelegt.

Genotoxizität

Für Anilin liegen zahlreiche *in vitro* Genmutationsstudien an Bakterien und Säugerzellen sowie *In-vitro*- und *In-vivo*-Zytogenitätsstudien vor. Die Datenlage und das genotoxische Potenzial von Anilin wurden intensiv in der Wissenschaft und in wissenschaftlichen Gremien diskutiert (ECB, 2004; Bomhard & Herbold, 2005; MAK, 2007; IARC, 2020).

Während Genmutationstests an Bakterien (Standard *in vitro*-Ames-Test) negativ sind, werden in *In-vitro*-Genmutationstests an Säugerzellen, dem *Mouse lymphoma test TK^{+/−}* (MLA), positive Ergebnisse berichtet (Mitchell et al., 1988; McGregor et al., 1991).

Bei *In-vivo*-Versuchen an Ratten führten hohe Anilin-Dosierungen zu einer leicht erhöhten Häufigkeit von Chromosomenaberrationen und Mikrokernen bei unreifen (polychromatischen) Erythrozyten aus dem Knochenmark (Bomhard, 2003). Bei der Maus wurden ebenfalls Mikrokern, jedoch keine Chromosomenaberration im Knochenmark induziert (Jones & Fox, 2003). Auch in einem Test mit angebrüteten Hühnereiern (*Hen's Egg Test – Micronucleus Induction*, HET-MN) führte die Gabe von Anilin in einer Entwicklungsphase gesteigerter Blutbildung in der Dottersackmembran, die zugleich ein Ort der Biotransformation ist, zu einem Anstieg der Mikrokernrate (Reisinger et al., 2021). Eine Studie an transgenen (BigBlue) Ratten mit Gabe von 100 mg/kg KG und Tag per Schlundsonde zeigte erhöhte Mikrokernraten in Retikulozyten, hämatologische Effekte inklusive Met-Hb-Bildung sowie erhöhte Milz- und Lebergewichte, jedoch keine erhöhten Mutationshäufigkeiten in den Geweben von Leber, Milz und Rückenmark (Koenig et al., 2018). Aufgrund der zugleich detektierten signifikanten Reduktion der Erythrozytenzahl sowie einer Erhöhung der Retikulozytenzahl und des Methämoglobinlevels schließen die Autorinnen und Autoren, dass die Mikrokernbildung auf Kompensationseffekte, also auf eine gesteigerte Zellerneuerung infolge der durch Anilin hervorgerufenen Erythrozytentoxizität, zurückzuführen sei. Des Weiteren lieferte die Behandlung von bebrüteten Hühnereiern und nachfolgende Analyse der embryonalen Hühnerleber mittels Comet-Assay und ³²P-Postlabeling zum Nachweis von DNA-Addukten keine Hinweise auf eine DNA-Reaktivität von Anilin (Koenig et al., 2018; Kobets et al., 2019).

Kanzerogenität

In hohen Dosierungen induziert oral verabreichtes Anilin Milztumoren in (vor allem männlichen) Ratten (National Toxicology Program, 1978; CIIT, 1982), nicht aber in Mäusen (National Toxicology Program, 1978) und Hamstern (Hecht et al., 1983). In der Studie des Chemical Industry Institute of Toxicology (CIIT) wurden F344-Ratten (130 Tiere pro Geschlecht und Gruppe) über einen Zeitraum von 104 Wochen Anilinhydrochlorid in Dosierungen von 0 (Kontrolle), 7, 22 sowie 72 mg Anilin/kg KG und Tag oral über das Futter verabreicht. Während in den Kontrollen sowie in der niedrigsten Dosisgruppe weder bei den weiblichen noch bei den männlichen Tieren Tumoren auftraten, entwickelte ein Männchen

der mittleren Dosisgruppe Milztumoren. In der höchsten Dosisgruppe (72 mg/kg KG und Tag) wiesen 35 Männchen (sowie ein Weibchen) Tumoren der Milz auf. Diese Studie wurde auch zur Ableitung des LOAEL für nicht-kanzerogene Effekte von 7 mg/kg Körpergewicht und Tag herangezogen (siehe oben), d. h. die beobachteten Milztumoren traten erst oberhalb von Dosierungen auf, bei denen bereits eine starke Schädigung der Erythrozyten beobachtet wurde. Insgesamt ergeben sich aus der Datenlage Hinweise auf ein organ-, spezie- und geschlechtsspezifisches Muster der Kanzerogenese mit einer nicht-linearen, sehr steilen Dosis-Häufigkeits-Beziehung der Tumorbildung in der Milz der männlichen Ratten.

Einige Fachleute und -Gremien vermuten einen ursächlichen Zusammenhang zwischen Erythrozytentoxizität, Induktion von Eisen-vermitteltem oxidativen Stress, gesteigerter Erythropoese sowie DNA-Schädigung, die letztendlich zur Tumorbildung führen kann (u. a. Wu et al., 2005; Wang et al., 2008). Verschiedene Autorinnen und Autoren postulieren somit das Vorhandensein einer Schwellenwert-Dosis, unterhalb derer es nicht zur Auslösung der beschriebenen Reaktionskaskade kommt, die letztendlich zu den Tumoren in der Milz der Ratten führt (z. B. Bus & Popp, 1987; Mellert et al., 2004; MAK, 2007; SCOEL, 2010; SCOEL, 2015; MAK, 2018).

In verschiedenen Kohorten-Studien an Beschäftigten der chemischen Industrie, die u. a. gegenüber Anilin exponiert waren, konnte die beobachtete erhöhte Blasenkrebsrate nicht eindeutig auf Anilin zurückgeführt werden (SCOEL, 2015; MAK, 2018). Vielmehr führt man die erhöhten Inzidenzen bei beruflich Exponierten auf die zeitgleiche Exposition gegenüber anderen Substanzen zurück, allen voran *o*-Toluidin, welches Blasenkrebs über die Bildung von DNA-bindenden Nitreniumionen induziert (Carreon et al., 2010; Carreon et al., 2014; Tajima et al., 2020; Park et al., 2021). Diese Interpretation wird gestützt durch eine chronische Studie an F344-Ratten mit oraler Gabe von Anilin und anderen aromatischen Aminen wie z. B. *o*-Toluidin über die Nahrung (Goodman et al., 1984). Im Gegensatz zu *o*-Toluidin führte die alleinige Gabe von Anilin weder zur Bildung von γ -H2AX (phosphoryliertes Histon als genereller Biomarker beispielsweise einer DNA-Schädigung) noch zu histopathologischen Veränderungen im Harnblasenepithel (Toyoda et al., 2019).

Demgegenüber stuft die Internationale Agentur für Krebsforschung (International Agency for Research on Cancer, IARC) Anilin im Juni 2020 als „*wahrscheinlich* krebserzeugend für den Menschen“ (Gruppe 2A) ein (DeMarini et al., 2020; IARC, 2020). Basis hierfür waren u. a. mechanistische Überlegungen, nach denen Anilin einer Gruppe von aromatischen Aminen angehört, von denen einige von der IARC als *erwiesenermaßen* für den Menschen krebserzeugend klassifiziert wurden (Gruppe 1 Kanzerogene). Neben diesen mechanistischen Überlegungen wurde Anilin bzw. Anilinhydrochlorid auf das Vorhandensein verschiedener Schlüsselmerkmale von Kanzerogenen hin geprüft, darunter die Induktion von Protein-/Hämoglobin- und/oder DNA-Addukten, Genotoxizität oder der Induktion von oxidativem Stress.

Die Europäische Behörde für Lebensmittelsicherheit (EFSA) bestimmte unter Anwendung des Benchmark-Dosis-Ansatzes (EFSA, 2007; EFSA, 2018) eine Effektdosis (BMDL₁₀) von 29 mg/kg KG und Tag für eine 10%ige Zunahme der Tumorinzidenz, basierend auf den Daten zur Häufigkeit der Milztumore bei männlichen Ratten aus beiden Kanzerogenitätsstudien (National Toxicology Program, 1978; CIIT, 1982). Auch die US-amerikanische Umweltbehörde EPA (Environmental Protection Agency; US EPA) vertritt die Auffassung, dass bei Fehlen sicherer Belege für einen Schwellenwert davon ausgegangen werden muss,

dass bereits kleinste Mengen von Anilin eine tumorinduzierende Wirkung haben könnten; mithilfe des *Linearized-Multistage*-Modells leitete die US EPA demzufolge einen „*oral cancer slope factor*“ (CSF) von $5,7 \times 10^{-3}$ pro mg/kg KG und Tag ab (US EPA (2000)). Die zur Berechnung des CSF zugrundeliegende Studie ist die 2-Jahresstudie an Ratten (CIIT, 1982).

Für die Risikobewertung in dieser Stellungnahme wird daher für die (potentiellen) kanzerogenen Effekte der CSF von $5,7 \times 10^{-3}$ pro mg/kg KG und Tag als konservativster Ansatz zugrunde gelegt.

3.1.3 Expositionsschätzung für freies Anilin

Fingermalfarben sind Produkte mit bestimmungsgemäßigem, intensivem Hautkontakt, welche teilweise bereits für Kinder unter 36 Monaten vorgesehen sind; die meisten der Produkte für Kinder unter 36 Monaten sind hierbei ausgewiesen für die Altersstufe ab 2 Jahren („2+“) (CEN ISO/TR 8124-8:2016), einige wenige jedoch auch schon für Kinder ab 12 Monaten.

Aufgrund des Mouthingverhaltens („in den Mund nehmen“) kleiner Kinder muss für diese Altersgruppe zusätzlich zur dermalen Exposition durch bestimmungsgemäßen Gebrauch auch von einer (unbeabsichtigten) oralen Aufnahme ausgegangen werden.

Ermittlung der Gesamtexposition durch Fingermalfarben

Für die Expositionsschätzung stehen dem BfR keine belastbaren Anwendungsdaten zur Verfügung, so dass im Folgenden ein sehr konservativer Ansatz zugrunde gelegt wird.

Entsprechend dem Expositionsszenario für Fingermalfarben im „*Children's Toys Fact Sheet*“ (RIVM, 2002) spielt ein 18 Monate altes, 9,85 kg schweres Kind 100-mal im Jahr durchschnittlich jeweils 45 Minuten lang mit Fingermalfarben. Der Kontakt mit der Farbe erfolgt primär über die Handinnenflächen, was zu einer beabsichtigten dermalen Exposition führt. Zusätzlich wird laut *Toys Fact Sheet* angenommen, dass pro Minute durch Hand-zu-Mund-Kontakt 30 mg Fingermalfarbe verschluckt wird, insgesamt also 1.350 mg pro Spielevent (45 min \times 30 mg).

Zur Berechnung des Krebsrisikos ist jedoch nicht nur ein einzelner Zeitpunkt relevant, sondern das über die gesamte Lebenszeit aufsummierte zusätzliche Risiko (*Lifetime Excess Cancer Risk*, LCR). Daher wurde in einem konservativen Ansatz davon ausgegangen, dass ein Kind beginnend ab einem Alter von einem Jahr durchgehend bis zu einem Alter von 14 Jahren (analog dem Geltungsbereich der EU-Spielzeugrichtlinie) regelmäßig mit Fingermalfarben spielt, dabei Kontakt mit den Handinnenflächen hat sowie altersabhängig jeweils entweder 400 mg (Kinder bis 36 Monate) oder 0 mg (Kinder über 36 Monate) verschluckt.

Da Fingermalfarben gemäß EN 71-7 inzwischen Bitterstoffe enthalten müssen, geht das BfR für Kinder bis zu 36 Monaten (in Anlehnung an die Stellungnahme von (SCHER, 2016) für flüssig/haftende Spielzeugmaterialien von einer oralen Aufnahme von 400 mg statt der vom niederländischen Nationalen Institut für öffentliche Gesundheit und Umwelt (Rijksinstituut voor Volksgezondheid en Milieu; RIVM) vorgeschlagenen 1.350 mg aus, wohingegen für Kinder über 36 Monaten gar keine orale Aufnahme angenommen wird. Ebenfalls abweichend vom Expositionsszenario des RIVM ist das BfR der Auffassung, dass Kinder mit zunehmendem Alter vermehrt andere Produkte zum kreativen Gestalten verwenden, so dass für Kinder über 36 Monaten von einer reduzierten Spielhäufigkeit mit Fingermalfarben von 12-mal pro Jahr ausgegangen wird. Die altersabhängigen Körpergewichte, dermalen

Expositionsflächen, oralen Aufnahmemengen sowie Spielhäufigkeiten sind in Tabelle 2 zusammengestellt.

Tabelle 2: Expositionsparameter für die Schätzung der dermalen und oralen Aufnahme von Anilin über Fingermalfarben für verschiedene Altersgruppen von Kindern.

Alter (Jahre)	Körpergewicht (kg)	Dermale Expositionsfläche		Orale Aufnahmemenge	Spielhäufigkeit (pro Jahr)
		Handfläche gesamt (cm ²)	Handinnenseite (cm ²)	Fingermalfarbe (mg)	
1–2	9,8	260	130	400	100
2–3	12,4	270	135	400	100
3–6	15,7	330	165	0	12
6–11	24,3	460	230	0	12
11–14*	44,8	640	320	0	12

*Die Angaben für Körpergewicht und Handflächen beziehen sich auf 11- bis 16-jährige Kinder. Die Spielzeug-Richtlinie gilt jedoch nur für Spielzeug für Kinder bis 14 Jahre, sodass die Expositionsberechnung nur für Kinder bis einschließlich 14 Jahren durchgeführt wurde

Für die dermale Expositionsschätzung in dieser Stellungnahme wurden die im *In-vivo*-Versuch ermittelten mittleren Absorptionsraten für eine wässrige Lösung mit einem Anilingehalt von 1 % von 320 µg/cm²/h für eine 30-minütige Kontaktdauer bzw. von 200 µg/cm²/h für eine 60-minütige Kontaktdauer (siehe 3.1.2) mittels linearer Interpolation für die hier veranschlagte Spieldauer von 45 min auf eine Absorptionsrate von 260 µg/cm²/h gemittelt. Hierbei wurde vereinfachend davon ausgegangen, dass die für wässrige Lösungen ermittelte Absorptionsrate auch für visköse Fingermalfarben gilt. Es ergeben sich in Abhängigkeit vom Alter infolge des dermalen Kontakts systemische Expositionsdosen (SED_{derm}) zwischen 1,39 µg/kg KG und Event (für 11- bis 14-jährige Kinder) und 2,59 µg/kg KG und Event (für 1- bis 2-jährige Kinder) (siehe Tabelle 3).

Für die orale Exposition ergeben sich unter der Annahme, dass Anilin aus Fingermalfarben beim Menschen zu 100 % im Magen-Darm-Trakt resorbiert wird (siehe oben) systemische Expositionsdosen (SED_{oral}) zwischen 0 und 0,41 µg/kg KG und Event.

Die Gesamtexposition (SED_{gesamt}) errechnet sich aus der Summe von dermalen und oraler Aufnahme (SED_{derm} + SED_{oral}) und liegt zwischen 1,39 µg/kg KG und Event (für 11- bis 14-Jährige) und 2,99 µg/kg KG und Event (für 1- bis 2-Jährige).

Diese eventbezogenen Expositionsdosen lassen sich bei einer Spielhäufigkeit von 100-mal bzw. 12-mal pro Jahr auf eine auf das Jahr bezogene durchschnittliche tägliche Expositionsdosis extrapolieren (*Year Average Daily Dose*, YADD = SED × (100 bzw. 12)/365, analog der „*Lifetime average daily Dose*“ nach US EPA (2005a)). Für jede altersbezogene YADD lässt sich anschließend ein zusätzliches LCR ermitteln, welches sich als Produkt aus dem oralen „*Cancer Slope Factor*“ (CSF) von 5,7 × 10⁻³ (mg/kg KG und Tag)⁻¹ (basierend auf der Beobachtung von Milztumoren nach chronischer oraler Exposition von Ratten nach US EPA (1988)) und der YADD ergibt. Zusätzlich berücksichtigt wird bei der LCR-Berechnung ein Faktor für die erhöhte Empfindlichkeit von Kindern gegenüber mutagen wirkenden Kanzerogenen ohne Schwellenwert in frühen Lebensjahren (*age-dependent Adjustment Factor* (ADAF)); aufgrund des Fehlens substanzspezifischer Informationen verwendet das BfR die von der US-EPA festgelegten Standardwerte: 10 für Kinder bis 24 Monate, 3 für ältere

Kinder bis < 16 Jahre, nach US EPA (2005b) sowie die Dauer der betrachteten Lebensphase in Bezug auf eine angenommene Lebenserwartung von 70 Jahren.

3.1.4 Risikocharakterisierung

Nicht-kanzerogene (systemische) Effekte

Zur Bewertung der nicht-kanzerogenen Effekte wird das Konzept des Sicherheitsabstandes (*Margin of Safety*, MoS) angewendet. Der MoS entspricht dem Quotienten aus einem gesundheitsbasierten Referenzwert und der systemischen Expositionsdosis SED_{gesamt} . Da aus der Gefahrencharakterisierung ein LOAEL (niedrigste im Tierversuch eingesetzte Dosis mit beobachtetem adversen Effekt) als gesundheitsbasierter Referenzwert vorliegt, sollte der MoS den Wert 300 nicht unterschreiten. Dieser ergibt sich aus dem Produkt der Unsicherheitsfaktoren für die intra- und interspeziespezifischen Unterschiede in Toxikokinetik (Faktor 10) und Toxikodynamik (Faktor 10) sowie der Tatsache, dass der LOAEL anstelle eines NOAEL verwendet wird (Faktor 3). Die subakute Studie mit täglicher Verabreichung von Anilin über die Nahrung an Ratten (Zwirner-Baier et al., 2003; Mellert et al., 2004) ergab bereits nach einer einwöchigen Aufnahme Effekte auf das hämatopoietische System bei einer Dosis von 4 mg/kg KG und Tag (LOAEL). Unter Berücksichtigung einer oralen Bioverfügbarkeit von (mindestens) 89 % für Anilin bei der Ratte ergibt sich ein systemischer LOAEL von 3,56 mg/kg KG und Tag. Die resultierenden MoS-Werte liegen somit zwischen 1.336 (1- bis 2-Jährige) und 2.872 (11- bis 14-Jährige) und sind daher selbst unter der Annahme einer täglichen Spielhäufigkeit als ausreichend groß zu bezeichnen.

Dementsprechend ist bei einem Gehalt von 10 mg/kg freiem Anilin in Fingermalfarben die Eintrittswahrscheinlichkeit gesundheitlicher Beeinträchtigungen hinsichtlich der nicht-kanzerogenen systemischen Effekte, selbst bei aggregierter Exposition durch gleichzeitige orale und dermale Aufnahme, sehr niedrig.

Kanzerogene Effekte (Annahme eines genotoxischen Wirkmechanismus ohne Schwellenwert)

Obwohl die Datenlage auf einen indirekten Mechanismus der Tumorentstehung bei der Ratte hindeutet, kann das Fehlen eines Schwellenwertes nicht mit Sicherheit ausgeschlossen werden. Als einzig akzeptable Vorgehensweise für die Bewertung von Kanzerogenen in Spielzeug, für die kein Schwellenwert abgeleitet werden kann, empfahl SCHER im Jahr 2010 das Konzept des zusätzlichen LCR (SCHER, 2010). Eine zusätzliche Tumorzinzidenz von 1×10^{-6} , d. h. einem zusätzlichen Krebsfall bei einer Million gegenüber dieser Dosis exponierten Personen, wurde hierbei von SCHER als akzeptables Risiko für Erwachsene vorgeschlagen, während für Kinder ggf. ein zusätzlicher Sicherheitsfaktor notwendig sei. Daher wird unter der (konservativen) Annahme eines Wirkmechanismus ohne Schwellenwert zur Berechnung des damit verbundenen zusätzlichen LCR folgende Formel verwendet:

$$\text{Zusätzliches LCR} = \text{CSF} \times \text{ADAF} \times \text{YADD} \times \text{TF}$$

wobei

CSF: cancer slope factor; hier: $5,7 \times 10^{-3}$ pro mg/(kg KG und Tag) US EPA (2005b)

ADAF: age dependent adjustment factor, hier: 10 für 0 – <2 Jahre, 3 für >2 – <16 Jahre

YADD: year adjusted daily dose, siehe Tabelle 3

TF: time fraction, hier: Anzahl Jahre in Altersgruppe / 70 Jahre

Das zusätzliche LCR wird zunächst für jede Altersgruppe separat errechnet (siehe Tabelle 3). Im Anschluss werden die einzelnen LCR-Werte über alle Altersstufen aufaddiert. Unter Berücksichtigung des zugrunde gelegten Expositionsszenarios liegt das zusätzliche LCR durch Spielen mit Fingermalfarben mit einem Anilingehalt von 10 mg/kg mit $0,99 \times 10^{-6}$ im Bereich des nach SCHER akzeptablen Wertes von 1×10^{-6} .

Tabelle 3: Systemische Expositionsdosen für die dermale (SED_{dermal}), die orale (SED_{oral}) und die Gesamtaufnahme (SED_{gesamt}) sowie die anhand der Verwendungshäufigkeit für Fingermalfarben (100 bzw. 12 \times pro Jahr) errechnete jährliche durchschnittliche tägliche Dosis (YADD). Aus der YADD bzw. SED_{gesamt} ergeben sich das zusätzliche Lebenszeitkrebsrisiko (LCR) sowie der Sicherheitsabstand (MoS) bezüglich systemischer Effekte durch Spielen mit Fingermalfarben, die jeweils 10 mg freies Anilin/kg enthalten.

Alter (Jahre)	SED_{dermal}	SED_{oral}	SED_{gesamt}	YADD ($\mu\text{g}/\text{kg KG und Tag}$)	Zusätzliches LCR	MoS
	(μg/kg KG und Event)					
1–2	2,59	0,41	2,99	0,82	$0,67 \times 10^{-6}$	1.336
2–3	2,12	0,32	2,45	0,67	$0,16 \times 10^{-6}$	1.636
3–6	2,05	0	2,05	0,07	$0,05 \times 10^{-6}$	1.952
6–11	1,85	0	1,85	0,06	$0,07 \times 10^{-6}$	2.167
11–14	1,39	0	1,39	0,05	$0,03 \times 10^{-6}$	2.872

Summe: $0,99 \times 10^{-6}$

3.1.5 Unsicherheitsbetrachtung

Die hier vorgestellte Risikobewertung ist mit mehreren Unsicherheiten verbunden. Zum einen bestehen noch Datenlücken bezüglich der Toxikologie von Anilin. So ist bisher nicht zweifelsfrei erwiesen, ob die in der (männlichen) Ratte gezeigte kanzerogene Wirkung einem Schwellenwert-Mechanismus unterliegt und wie bzw. ob diese Befunde auf den Menschen übertragen werden können.

Weitere Unsicherheiten bestehen in der eingeschränkten/lückenhaften Datenlage zur Nutzung von Fingerfarben durch Kinder und damit in den Parametern, die zur Berechnung der Exposition gegenüber Anilin aus Fingermalfarben herangezogen wurden. So bestehen Unsicherheiten in der verwendeten Absorptionsrate zur Aufnahme über die Haut und bezüglich der in Kontakt mit der Fingermalfarbe befindlichen Körperoberfläche, der angenommenen Spielhäufigkeit sowie der Höhe der oral aufgenommenen Menge je Altersgruppe. Auch das Extrapolieren der systemischen Expositionsdosis für einen Tag, an dem mit Fingermalfarben gespielt wurde, auf Tage, an denen keine Exposition stattfindet, ist streng genommen nur für Substanzen legitim, die eine lineare Dosis-Wirkungsbeziehung aufweisen. Ob Anilin hierzu gehört, ist derzeit nicht abschließend geklärt.

In Anbetracht der identifizierten Unsicherheiten wurde die Risikobewertung so gestaltet, dass jeder Parameter nach Möglichkeit derart gewählt wurde, dass die resultierende Expositionsschätzung eher zu einer Überschätzung der tatsächlichen Exposition führt. Auch auf der Seite des Gefährdungspotentials wurde mit der Annahme des Fehlens eines Schwellenwertes die konservativste Möglichkeit für den Endpunkt Kanzerogenität gewählt, sodass alle anderen Optionen (geringere Exposition, Wirkmechanismus mit Schwellenwert) ebenfalls miteingeschlossen sind. Da selbst für diese sehr konservativen Annahmen

bezüglich Exposition und Gefährdungspotential ein gesundheitliches Risiko nicht zu erwarten ist, ist die Wahrscheinlichkeit gesundheitlicher Beeinträchtigungen durch Fingermalfarben mit Gehalten an freiem Anilin in Höhe des Grenzwertes im Ergebnis als sehr niedrig anzusehen.

3.2 Weitere Aspekte

In der hier vorgestellten gesundheitlichen Bewertung wurde davon ausgegangen, dass ein Kind jedes Mal mit Fingermalfarbe spielt, welche einen Anilin-Gehalt in Höhe der maximal zulässigen Menge von 10 mg/kg aufweist. Eine Abfrage bei den Landesuntersuchungsämtern ergab jedoch, dass solch hohe Gehalte in den Produkten bisher nicht gefunden wurden. So lag der maximale analysierte Gehalt von ca. 60 bisher gemessenen Fingermalfarben im Zeitraum vom Jahr 2015 bis zum Ende des Jahres 2020 bei 8,6 mg Anilin/kg. Dieser Wert ergab sich in einer gelben Fingermalfarbe (erst) nach reduktiver Spaltung. In diesem Falle wäre ein Gehalt bis 30 mg/kg zulässig, der auf ein Verwendungsverbot von Azofarbstoffen abzielt, die Anilin nach reduktiver Spaltung freisetzen können. Eine weitere gelbe Farbe enthielt 4,3 mg/kg, eine rote Farbe 5,7 mg/kg, beide ebenfalls erst nach reduktiver Spaltung. Der Anilingehalt aller übrigen Proben, sowohl mit als auch ohne vorherige reduktive Spaltung, lag unterhalb der Nachweisgrenze von 2 mg/kg (bei Messung mittels Gaschromatographie mit Tandem-Massenspektrometrie; GC-MS/MS) bzw. 0,8 mg/kg (bei Messung mittels Flüssigchromatographie mit Diodenarray-Detektor; LC/DAD). Das tatsächliche zusätzliche Lebenszeitkrebsrisiko ist somit sehr wahrscheinlich deutlich kleiner als die nach SCHER akzeptable Risikohöhe von 1×10^{-6} .

Weitere Informationen auf der BfR-Website zum Thema Spielzeug

Themenseite zur gesundheitlichen Bewertung von Spielzeug:

https://www.bfr.bund.de/de/gesundheitliche_bewertung_von_spielzeug-7527.html

4 Referenzen

Baranowska-Dutkeiwicz, B. (1982) Skin absorption of aniline from aqueous solutions in man. *Toxicol Lett* 10, 4, 367-372

[https://doi.org/10.1016/0378-4274\(82\)90231-4](https://doi.org/10.1016/0378-4274(82)90231-4).

Bomhard, E.M. (2003) High-dose clastogenic activity of aniline in the rat bone marrow and its relationship to the carcinogenicity in the spleen of rats. *Arch Toxicol* 77, 5, 291-297

<https://doi.org/10.1007/s00204-003-0443-1>.

Bomhard, E.M., Herbold, B.A. (2005) Genotoxic activities of aniline and its metabolites and their relationship to the carcinogenicity of aniline in the spleen of rats. *Crit Rev Toxicol* 35, 10, 783-835

<https://doi.org/10.1080/10408440500442384>.

- Bus, J.S., Popp, J.A. (1987) Perspectives on the mechanism of action of the splenic toxicity of aniline and structurally-related compounds. *Food Chem Toxicol* 25, 8, 619-626
[https://doi.org/10.1016/0278-6915\(87\)90024-x](https://doi.org/10.1016/0278-6915(87)90024-x).
- Carreon, T., Hein, M.J., Hanley, K.W. et al. (2014) Bladder cancer incidence among workers exposed to o-toluidine, aniline and nitrobenzene at a rubber chemical manufacturing plant. *Occup Environ Med* 71, 3, 175-182
<https://doi.org/10.1136/oemed-2013-101873>.
- Carreon, T., Hein, M.J., Viet, S.M. et al. (2010) Increased bladder cancer risk among workers exposed to o-toluidine and aniline: a reanalysis. *Occup Environ Med* 67, 5, 348-350
<https://doi.org/10.1136/oem.2009.051136>.
- Ciccoli, L., Ferrali, M., Rossi, V. et al. (1999) Hemolytic drugs aniline and dapsone induce iron release in erythrocytes and increase the free iron pool in spleen and liver. *Toxicol Lett* 110, 1-2, 57-66
[https://doi.org/10.1016/s0378-4274\(99\)00138-1](https://doi.org/10.1016/s0378-4274(99)00138-1).
- CIIT (1982) 104-week chronic toxicity study in rats. Aniline hydrochloride. Final report, Project No 2010-101. Hazleton Laboratories America, Vienna, VA, USA, CIIT, Research Triangle Park, NC, USA.
- DeMarini, D.M., Carreón-Valencia, T., Gwinn, W.M. et al. (2020) Carcinogenicity of some aromatic amines and related compounds. *The Lancet Oncology* 21, 8, 1017-1018
[https://doi.org/10.1016/S1470-2045\(20\)30375-2](https://doi.org/10.1016/S1470-2045(20)30375-2)
- Dickinson, D.A., Forman, H.J. (2002) Cellular glutathione and thiols metabolism. *Biochemical Pharmacology* 64, 5-6, 1019-1026. 10.1016/S0006-2952(02)01172-3.
- DIN (2020) DIN EN 71-7:2020-06. Sicherheit von Spielzeug - Teil 7: Fingermalfarben - Anforderungen und Prüfverfahren; Deutsche Fassung EN 71-7:2014+A3:2020
<https://www.beuth.de/de/norm/din-en-71-7/322138248>
- Dutkiewicz, T. (1974) *Toxicological Chemistry PZWL*, Warszawa 200-204.
- ECB (2004) European Union Risk Assessment Report: Aniline. CAS No: 62-53-3. 200-539-3, European Commission
<https://echa.europa.eu/documents/10162/462b7066-c639-4883-b384-3daf4ec88ded>
- EFSA (2007) Opinion of the Scientific Panel on Food Additives, Flavourings, Processing Aids and Materials in Contact with Food on the food colour Red 2G (E128) based on a request from the Commission related to the re-evaluation of all permitted food additives. Question number EFSA-Q-2007-126

<https://doi.org/10.2903/j.efsa.2007.515>

EFSA (2018) Review of the existing maximum residue levels for pencycuron according to Article 12 of Regulation (EC) No 396/2005. EFSA Journal 16

doi:10.2903/j.efsa.2018.5518

Richtlinie 2009/48/EG des Europäischen Parlaments und des Rates vom 18. Juni 2009 über die Sicherheit von Spielzeug (ABl. L 170 vom 30.06.2009, S. 1), zuletzt geändert durch Richtlinie (EU) 2020/2089 der Kommission (ABl. L 423 vom 15.12.2020, S. 58), berichtigt durch Berichtigung der Richtlinie 2009/48/EG des Europäischen Parlaments und des Rates (ABl. L 355 vom 31.12.2013, S. 92). (2009)

EU (2019) Durchführungsbeschluss (EU) 2019/1728 der Kommission vom 15. Oktober 2019 über die harmonisierten Normen für Spielzeug zur Unterstützung der Richtlinie 2009/48/EG des Europäischen Parlaments und des Rates.

<https://eur-lex.europa.eu/legal-content/DE/TXT/?uri=CELEX%3A32019D1728&qid=1624347414200>

Goodman, D.G., Ward, J.M., Reichardt, W.D. (1984) Splenic fibrosis and sarcomas in F344 rats fed diets containing aniline hydrochloride, p-chloroaniline, azobenzene, o-toluidine hydrochloride, 4,4'-sulfonyldianiline, or D & C red No. 9. J Natl Cancer Inst 73, 1, 265-273.

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/6588231>.

Grossman, S.J., Simson, J., Jollow, D.J. (1992) Dapsone-Induced Hemolytic-Anemia - Effect of N-Hydroxy Dapsone on the Sulfhydryl Status and Membrane-Proteins of Rat Erythrocytes. Toxicology and Applied Pharmacology 117, 2, 208-217

doi:10.1016/0041-008x(92)90239-O.

Hecht, S.S., El-Bayoumy, K., Rivenson, A. et al. (1983) Bioassay for carcinogenicity of 3,2'-dimethyl-4-nitrosobiphenyl, O-nitrosotoluene, nitrosobenzene and the corresponding amines in Syrian golden hamsters. Cancer Lett 20, 3, 349-354

[https://doi.org/10.1016/0304-3835\(83\)90034-4](https://doi.org/10.1016/0304-3835(83)90034-4).

Hein, D.W. (2000) N-acetyltransferase genetics and their role in predisposition to aromatic and heterocyclic amine-induced carcinogenesis. Toxicology Letters 112, 349-356

doi:10.1016/S0378-4274(99)00226-X.

Hein, D.W. (2002) Molecular genetics and function of NAT1 and NAT2: role in aromatic amine metabolism and carcinogenesis. Mutation Research-Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis 506, 65-77

doi:10.1016/S0027-5107(02)00153-7.

- Hein, D.W., Doll, M.A., Fretland, A.J. et al. (2000) Molecular genetics and epidemiology of the NAT1 and NAT2 acetylation polymorphisms. *Cancer Epidemiology Biomarkers & Prevention* 9, 1, 29-42,
[doi:10.1016/S0378-4274\(99\)00226-X](https://doi.org/10.1016/S0378-4274(99)00226-X).
- Henschler, D., Lehnert, G.E. (1986) *Biologische Arbeitsstoff-Toleranz-Werte (BAT-Werte) und Expositionsäquivalente für krebserzeugende Arbeitsstoffe (EKA): arbeitsmedizinisch-toxikologische Begründungen 3. Lieferung, Anilin*. VCH-Verlagsgesellschaft, Weinheim
- IARC (2020) IARC Monographs Volume 127 Working Group Carcinogenicity of some aromatic amines and related compounds
<https://www.iarc.who.int/news-events/iarc-monographs-evaluation-of-the-carcinogenicity-of-some-aromatic-amines-and-related-compounds/>
- Jarolim, P., Lahav, M., Liu, S.C. et al. (1990) Effect of Hemoglobin Oxidation-Products on the Stability of Red-Cell Membrane Skeletons and the Associations of Skeletal Proteins - Correlation with a Release of Hemin. *Blood* 76, 10, 2125-2131.
- Jenkins, F.P., Robinson, J.A., Gellatly, J.B.M. et al. (1972) The no-effect dose of aniline in human subjects and a comparison of aniline toxicity in man and the rat. *Food and Cosmetics Toxicology* 10, 5, 671-679
[https://doi.org/10.1016/S0015-6264\(72\)80147-0](https://doi.org/10.1016/S0015-6264(72)80147-0).
- Jollow, D.J., McMillan, D.C. (2001) Oxidative stress, glucose-6-phosphate dehydrogenase and the red cell. *Biological Reactive Intermediates* Vi 500, 595-605
- Jones, E., Fox, V. (2003) Lack of clastogenic activity of aniline hydrochloride in the mouse bone marrow. *Mutagenesis* 18, 3, 283-285
<https://doi.org/10.1093/mutage/18.3.283>.
- Käfferlein, H.U., Broding, H.C., Bunger, J. et al. (2014) Human exposure to airborne aniline and formation of methemoglobin: a contribution to occupational exposure limits. *Arch Toxicol* 88, 7, 1419-1426
<https://doi.org/10.1007/s00204-014-1266-y>.
- Kao, J., Faulkner, J., Bridges, J.W. (1978) Metabolism of aniline in rats, pigs and sheep. *Drug Metab Dispos* 6, 5, 549-555
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/30604>.
- Khan, M.F., Kaphalia, B.S., Ansari, G.A. (1995) Erythrocyte-aniline interaction leads to their accumulation and iron deposition in rat spleen. *J Toxicol Environ Health* 44, 4, 415-421
<https://doi.org/10.1080/15287399509531970>.
- Khan, M.F., Wu, X., Ansari, G.A. (2000) Contribution of nitrosobenzene to splenic toxicity of aniline. *J Toxicol Environ Health A* 60, 4, 263-273

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10914691>.

Kobets, T., Duan, J.D., Brunneemann, K.D. et al. (2019) DNA-damaging activities of twenty-four structurally diverse unsubstituted and substituted cyclic compounds in embryo-fetal chicken livers. *Mutat Res* 844, 10-24

<https://doi.org/10.1016/j.mrgentox.2019.06.004>.

Koenig, C.M., Beevers, C., Pant, K. et al. (2018) Assessment of the mutagenic potential of para-chloroaniline and aniline in the liver, spleen, and bone marrow of Big Blue (R) rats with micronuclei analysis in peripheral blood. *Environmental and Molecular Mutagenesis* 59, 9, 785-797

<https://doi.org/10.1002/em.22241>.

Leggett, C.S., Doll, M.A., States, J.A.-O. et al. (2021) Acetylation of putative arylamine and alkylaniline carcinogens in immortalized human fibroblasts transfected with rapid and slow acetylator N-acetyltransferase 2 haplotypes. 1432-0738 (Electronic).

Leng, G., Richter, E., Kadhum, T. et al. (2019) Aromatische Amine, Nitroaromaten und heterozyklische aromatische Amine. In: Barth, M.S. (ed) *Toxikologie*.

Lewalter, J., Korallus, U. (1985) Blood protein conjugates and acetylation of aromatic amines. New findings on biological monitoring. *Int Arch Occup Environ Health* 56, 3, 179-196

<https://doi.org/10.1007/BF00396596>.

Lubash, G.D., Phillips, R.E., Shields, J.D., 3rd et al. (1964) Acute Aniline Poisoning Treated by Hemodialysis. Report of a Case. *Arch Intern Med* 114, 530-532

<https://doi.org/10.1001/archinte.1964.03860100112013>.

MAK (1992) Anilin [MAK Value Documentation in German language, 1992]. The MAK Collection for Occupational Health and Safety, 1-21.

MAK (2007) Anilin [MAK Value Documentation in German Language, 2007].

MAK (2018) Anilin [MAK Value Documentation in German Language, 2018].

Makhdoumi, P., Hossini, H., Ashraf, G.M. et al. (2019) Molecular Mechanism of Aniline Induced Spleen Toxicity and Neuron Toxicity in Experimental Rat Exposure: A Review. *Curr Neuropharmacol* 17, 3, 201-213

<https://doi.org/10.2174/1570159X16666180803164238>.

McCarthy, D.J., Waud, W.R., Struck, R.F. et al. (1985) Disposition and Metabolism of Aniline in Fischer 344 Rats and C57bl/6 X C3h F1-Mice. *Cancer Research* 45, 1, 174-180

- McGregor, D.B., Brown, A.G., Howgate, S. et al. (1991) Responses of the L5178Y mouse Lymphoma cell forward mutation assay. V: 27 coded chemicals. *Environmental and Molecular Mutagenesis* 17, 3, 196-219
<https://doi.org/10.1002/em.2850170309>.
- Mellert, W., Deckardt, K., Gembardt, C. et al. (2004) Aniline: early indicators of toxicity in male rats and their relevance to spleen carcinogenicity. *Hum Exp Toxicol* 23, 8, 379-389
<https://doi.org/10.1191/0960327104ht466oa>.
- Mitchell, A.D., Rudd, C.J., Caspary, W.J. (1988) Evaluation of the L5178Y mouse lymphoma cell mutagenesis assay: intralaboratory results for sixty-three coded chemicals tested at SRI International. *Environmental and Molecular Mutagenesis* 12 Suppl 13, 37-101
<https://doi.org/10.1002/em.2860120504>.
- Modick, H., Weiss, T., Dierkes, G. et al. (2016) Human metabolism and excretion kinetics of aniline after a single oral dose. *Archives of Toxicology* 90, 6, 1325-1333
<https://doi.org/10.1007/s00204-015-1566-x>.
- National Toxicology Program (1978) Bioassay of aniline hydrochloride for possible carcinogenicity. *Natl Cancer Inst Carcinog Tech Rep Ser* 130, 1-115
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12799662>.
- Park, R.M., Carreon, T., Hanley, K.W. (2021) Risk assessment for o-toluidine and bladder cancer incidence. *Am J Ind Med*
<https://doi.org/10.1002/ajim.23265>.
- Piotrowski, J. (1957) Quantitative estimation of aniline absorption through the skin in man. *J Hyg Epidemiol Microbiol Immunol* 1, 1, 23-32
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/13475789>.
- Piotrowski, J.K. (1972) Certain problems of exposure tests for aromatic compounds. *Prac Lek* 24, 94-97.
- Piotrowski, J.K. (1977) Exposure tests for organic compounds in industrial toxicology.
- Price, C.J., Tyl, R.W., Marks, T.A. et al. (1985) Teratologic and postnatal evaluation of aniline hydrochloride in the Fischer 344 rat. *Toxicol Appl Pharmacol* 77, 3, 465-478
[https://doi.org/10.1016/0041-008x\(85\)90187-5](https://doi.org/10.1016/0041-008x(85)90187-5).
- Reisinger, K., Fieblinger, D., Heppenheimer, A. et al. (2021) The Hen's Egg Test for Micronucleus-Induction (HETMN): Validation data set. *Mutagenesis*
<https://doi.org/10.1093/mutage/geab016>.

- RIVM (2002) Children's toys fact sheet. 2002. RIVM report 612810012/2002.
<https://www.rivm.nl/bibliotheek/rapporten/612810012.pdf>
- Roberts, J.J., Warwick, G.P. (1966) Covalent Binding of Metabolites of Dimethylaminoazobenzene Beta-Naphthylamine and Aniline to Nucleic Acids in Vivo. International Journal of Cancer 1, 2, 179-&. doi:10.1002/ijc.2910010207.
- SCCS (2021) SCCS Notes of Guidance for the Testing of Cosmetic Ingredients and their Safety Evaluation 11th revision SCCS/1628/21, 2021-03-30/31
https://health.ec.europa.eu/publications/sccs-notes-guidance-testing-cosmetic-ingredients-and-their-safety-evaluation-11th-revision_en.
- SCHER (2010) Risk from Organic CMR Substances in Toys.
https://ec.europa.eu/health/scientific_committees/environmental_risks/docs/scher_o_121.pdf
- SCHER (2016) Final Opinion on estimates of the amount of toy materials ingested by children, 8 April 2016.
https://ec.europa.eu/health/scientific_committees/environmental_risks/docs/scher_o_170.pdf
- SCOEL (2010) Recommendation from Scientific Committee on Occupational Exposure Limits for Aniline. SCOEL/SUM/153. . Limits], S.C.o.O.E.,
- SCOEL (2015) Recommendation from the Scientific Committee on Occupational Exposure Limits for Aniline (Addendum 2014). SCOEL/REC/153. Limits], S.C.o.O.E.,
- Srivastava, S., Alhomida, A.S., Siddiqi, N.J. et al. (2002) Methemoglobin reductase activity and in vitro sensitivity towards oxidant induced methemoglobinemia in swiss mice and beagle dogs erythrocytes. Mol Cell Biochem 232, 1-2, 81-85
<https://doi.org/10.1023/a:1014853421871>.
- Tajima, Y., Toyoda, T., Hirayama, Y. et al. (2020) Novel o-Toluidine Metabolite in Rat Urine Associated with Urinary Bladder Carcinogenesis. Chem Res Toxicol 33, 7, 1907-1914
<https://doi.org/10.1021/acs.chemrestox.0c00098>.
- Talaska, G., Al-Zoughool, M. (2003) Aromatic amines and biomarkers of human exposure. J Environ Sci Health C Environ Carcinog Ecotoxicol Rev 21, 2, 133-164
<https://doi.org/10.1081/GNC-120026234>.
- Toyoda, T., Matsushita, K., Morikawa, T. et al. (2019) Distinct differences in the mechanisms of mucosal damage and gamma-H2AX formation in the rat urinary bladder treated with o-toluidine and o-anisidine. Arch Toxicol 93, 3, 753-762

<https://doi.org/10.1007/s00204-019-02396-8>.

US EPA (1988) Integrated Risk Information System (IRIS). Chemical Assessment Summary on Aniline

https://cfpub.epa.gov/ncea/iris/iris_documents/documents/subst/0350_summary.pdf#nameddest=woe.

US EPA (2000) Fact Sheet Aniline.

<https://www.epa.gov/sites/production/files/2016-08/documents/aniline.pdf>.

US EPA (2005a) Guidelines for Carcinogen Risk Assessment. EPA/630/P-03/001F

https://www.epa.gov/sites/production/files/2013-09/documents/cancer_guidelines_final_3-25-05.pdf.

US EPA (2005b) Supplemental Guidance for Assessing Susceptibility from Early-Life Exposure to Carcinogens. U.S. Environmental Protection Agency, Washington, DC, EPA/630/R-03/003F

https://www.epa.gov/sites/default/files/2013-09/documents/childrens_supplement_final.pdf

Wang, J., Wang, G., Ansari, G.A. et al. (2008) Activation of oxidative stress-responsive signaling pathways in early splenotoxic response of aniline. *Toxicol Appl Pharmacol* 230, 2, 227-234

<https://doi.org/10.1016/j.taap.2008.02.022>.

Wellner, T., Luersen, L., Schaller, K.H. et al. (2008) Percutaneous absorption of aromatic amines - a contribution for human health risk assessment. *Food Chem Toxicol* 46, 6, 1960-1968

<https://doi.org/10.1016/j.fct.2008.01.036>.

Wu, X., Kannan, S., Ramanujam, V.M. et al. (2005) Iron release and oxidative DNA damage in splenic toxicity of aniline. *J Toxicol Environ Health A* 68, 8, 657-666

<https://doi.org/10.1080/15287390590921757>.

Zwirner-Baier, I., Deckart, K., Jackh, R. et al. (2003) Biomonitoring of aromatic amines VI: determination of hemoglobin adducts after feeding aniline hydrochloride in the diet of rats for 4 weeks. *Arch Toxicol* 77, 12, 672-677

<https://doi.org/10.1007/s00204-003-0473-8>.

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.

Impressum

Herausgeber:

Bundesinstitut für Risikobewertung

Max-Dohrn-Straße 8–10

10589 Berlin

T +49 30 18412-0

F +49 30 18412-99099

bfr@bfr.bund.de

bfr.bund.de

Anstalt des öffentlichen Rechts

Vertreten durch den Präsidenten Professor Dr. Dr. Andreas Hensel

Aufsichtsbehörde: Bundesministerium für Ernährung und Landwirtschaft

USt-IdNr: DE 165893448

V.i.S.d.P: Dr. Suzan Fiack



BfR | Risiken erkennen –
Gesundheit schützen