

# Pigment Yellow 12, Pigment Yellow 13, Pigment Yellow 83

## MAK-Begründung

A. Hartwig<sup>1,\*</sup>

MAK Commission<sup>2,\*</sup>

<sup>1</sup> *Vorsitz der Ständigen Senatskommission zur Prüfung gesundheitsschädlicher Arbeitsstoffe, Deutsche Forschungsgemeinschaft, Institut für Angewandte Biowissenschaften, Abteilung Lebensmittelchemie und Toxikologie, Karlsruher Institut für Technologie (KIT), Adenauerring 20a, Geb. 50.41, 76131 Karlsruhe*

<sup>2</sup> *Ständige Senatskommission zur Prüfung gesundheitsschädlicher Arbeitsstoffe, Deutsche Forschungsgemeinschaft, Kennedyallee 40, 53175 Bonn*

\* E-Mail: A. Hartwig ([andrea.hartwig@kit.edu](mailto:andrea.hartwig@kit.edu)), MAK Commission ([arbeitsstoffkommission@dfg.de](mailto:arbeitsstoffkommission@dfg.de))

### Keywords

Pigment Yellow; Löslichkeit;  
Lunge; Granuläre bio-  
beständige Stäube;  
Bioverfügbarkeit; Inhalation;  
Kanzerogenität; maximale  
Arbeitsplatzkonzentration;  
MAK-Wert

## Abstract

The German Commission for the Investigation of Health Hazards of Chemical Compounds in the Work Area has evaluated Pigment Yellow 12 [6358-85-6], Pigment Yellow 13 [5102-83-0] and Pigment Yellow 83 [5567-15-7] considering all toxicological end points. Depending on their intended use, the pigments are produced in different sizes with a d<sub>50</sub> ranging from 15 to 250 nm. In technical applications, particles smaller than 100 nm are called nanoparticles. By definition, pigments are not soluble in application media. Pigment Yellow 12, 13 and 83 were found to be insoluble in the body and in phagolysosomal solution in vitro, which simulates the lung environment. The carcinogenic 3,3'-dichlorobenzidine was not released. Systemic toxicity was not observed in oral studies in rats and mice with exposure periods of up to 2 years. Therefore, these three pigments are insoluble and not bioavailable. If inhaled, insoluble particles can accumulate in the lung. In two 5-day inhalation studies of Pigment Yellow 83 and two 21-day inhalation studies of Pigment Yellow 13 in rats, local effects in the lungs were observed, which were similar to those observed after exposure to granular biopersistent dusts. No long-term inhalation toxicity studies have been carried out with the pigments. Long-term exposure to pigment concentrations which exceed the lung clearance capacity is assumed to result in particle-induced carcinogenic effects in the lungs. Therefore, in analogy to granular biopersistent dusts, Pigment Yellow 12, 13 and 83 have been classified in Carcinogen Category 4. A maximum concentration at the workplace (MAK value) has been established in analogy to that for granular biopersistent dusts taking into account the lower agglomerate density of particles below 100 nm. This results in a MAK value of  $0.3 \text{ mg/m}^3 \times (\text{mass density of the pigment} \times 0.5)$ . In analogy to granular biopersistent dusts, the pigments have been assigned to Peak Limitation Category II with an excursion factor of 8. No developmental toxicity studies are available for Pigment Yellow 12, 13 and 83. In analogy to granular biopersistent dusts, and based on the findings of two developmental toxicity studies with orally applied nanoparticles, titanium dioxide and amorphous silica, which did not induce any effects on the foetus, Pigment Yellow 12, 13 and 83 have been assigned to Pregnancy Risk Group C. As the pigments are not soluble or bioavailable, genotoxicity and mutagenicity were not observed. The pigments are not sensitizing to the skin or airways and do not penetrate the skin in toxicologically relevant amounts.

### Citation Note:

Hartwig A, MAK Commission.  
Pigment Yellow 12, Pigment  
Yellow 13, Pigment Yellow 83.  
MAK-Begründung. MAK  
Collect Occup Health Saf. 2021  
Sep;6(3):Doc052.  
DOI: [https://doi.org/10.34865/  
mb635885grpd6\\_3or](https://doi.org/10.34865/mb635885grpd6_3or)

Manuskript abgeschlossen:  
16 Apr 2020

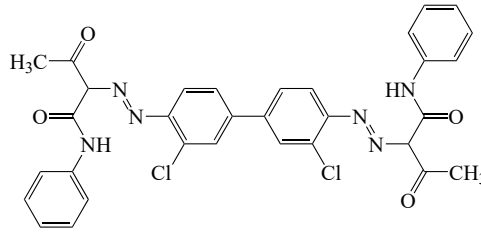
Publikationsdatum:  
30 Sep 2021

Lizenz: Dieses Werk ist  
lizenziert unter einer [Creative  
Commons Namensnennung 4.0  
International Lizenz](#).

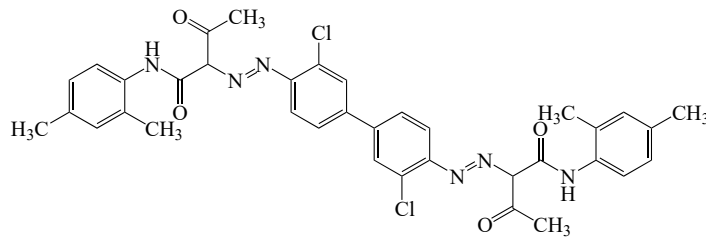


<b>MAK-Wert (2020)</b>	<b>0,3 mg/m<sup>3</sup> A × (Materialdichte × 0,5)<sup>a)</sup></b>
<b>Spitzenbegrenzung (2020)</b>	<b>Kategorie II, Überschreitungsfaktor 8</b>
<b>Hautresorption</b>	–
<b>Sensibilisierende Wirkung</b>	–
<b>Krebserzeugende Wirkung (2020)</b>	<b>Kategorie 4</b>
<b>Fruchtschädigende Wirkung (2020)</b>	<b>Gruppe C</b>
<b>Keimzellmutagene Wirkung</b>	–
<b>BAT-Wert</b>	–
<b>Synonyma</b>	<u>Pigment Yellow 12:</u> CI 21090 2,2'-[[3,3'-Dichlor[1,1'-biphenyl]-4,4'-diyl]bis(azo)]bis[3-oxo-N-phenylbutanamid] <u>Pigment Yellow 13:</u> CI 21100 2,2'-[[3,3'-Dichlor[1,1'-biphenyl]-4,4'-diyl]bis(azo)]bis[N-(2,4-dimethylphenyl)-3-oxobutanamid] <u>Pigment Yellow 83:</u> CI 21108 2,2'-[[3,3'-Dichlor[1,1'-biphenyl]-4,4'-diyl]bis(azo)]bis[N-(4-chlor-2,5-dimethoxyphenyl)-3-oxobutanamid]
<b>Chemische Bezeichnung (IUPAC-Name)</b>	<u>Pigment Yellow 12:</u> 2-[[4-[4-[(1-Anilin-1,3-dioxobutan-2-yl)diazenyl]-3-chlorphenyl]-2-chlorphenyl]diazenyl]-3-oxo-N-phenylbutanamid <u>Pigment Yellow 13:</u> 2-[[2-Chlor-4-[3-chlor-4-[[1-(2,4-dimethylanilin)-1,3-dioxobutan-2-yl]diazanyl]phenyl]phenyl]diazenyl]-N-(2,4-dimethylphenyl)-3-oxobutanamid <u>Pigment Yellow 83:</u> 2-[[2-Chlor-4-[3-chlor-4-[[1-(4-chlor-2,5-dimethoxyanilin)-1,3-dioxobutan-2-yl]diazanyl]phenyl]phenyl]diazenyl]-N-(4-chlor-2,5-dimethoxyphenyl)-3-oxobutanamid
<b>CAS-Nr.</b>	<u>Pigment Yellow 12:</u> 6358-85-6 <u>Pigment Yellow 13:</u> 5102-83-0 <u>Pigment Yellow 83:</u> 5567-15-7

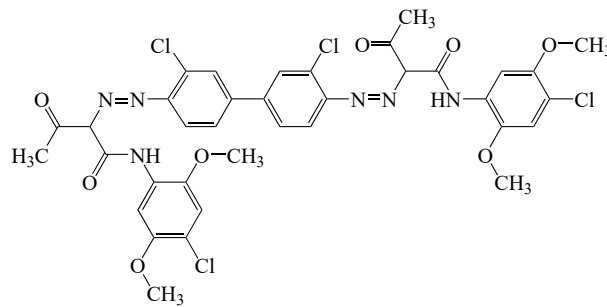
Formel



Pigment Yellow 12:  $C_{32}H_{26}Cl_2N_6O_4$



Pigment Yellow 13:  $C_{36}H_{34}Cl_2N_6O_4$



Pigment Yellow 83:  $C_{36}H_{32}Cl_4N_6O_8$

Molmasse

Pigment Yellow 12: 629,51 g/mol

Pigment Yellow 13: 685,61 g/mol

Pigment Yellow 83: 818,50 g/mol

Schmelzpunkt

Pigment Yellow 12:

306 °C; Zersetzung bei 310 °C (ECHA 2017 a)

Pigment Yellow 13:

Zersetzung bei 330 °C (ECHA 2017 b)

Pigment Yellow 83:

Zersetzung bei 300 °C (ECHA 2017 c)

Siedepunkt

–

Dampfdruck bei 25°C

Pigment Yellow 12:

$2,9 \times 10^{-17}$  hPa (ber.; OECD 2003)

Pigment Yellow 13:

$6,2 \times 10^{-19}$  hPa (ber.; OECD 2003)

Pigment Yellow 83:

$2,4 \times 10^{-21}$  hPa (ber.; OECD 2003)

Dichte	<u>Pigment Yellow 12:</u> 1,39 g/cm <sup>3</sup> (ECHA 2017 a) <u>Pigment Yellow 13:</u> 1,36 g/cm <sup>3</sup> (ECHA 2017 b) <u>Pigment Yellow 83:</u> 1,5 g/cm <sup>3</sup> (ECHA 2017 c)
log K <sub>OW</sub>	<u>Pigment Yellow 12:</u> 2,1 bei 23 °C (ber.; ECHA 2017 a; OECD 2003) <u>Pigment Yellow 13:</u> 1,8 bei 24 °C (ber.; ECHA 2017 b; OECD 2003) <u>Pigment Yellow 83:</u> 0,02 bei 24 °C (ber.; ECHA 2017 c; OECD 2003)
Löslichkeit	<u>Pigment Yellow 12:</u> 0,4 µg/l Wasser bei 24 °C, pH-Wert 7 (ECHA 2017 a; OECD 2003) <u>Pigment Yellow 13:</u> 0,35 µg/l Wasser bei 24 °C, pH-Wert 7 (ECHA 2017 b; OECD 2003) <u>Pigment Yellow 83:</u> 8,1 µg/l Wasser bei 23 °C, pH-Wert 7 (ECHA 2017 c; OECD 2003)
Reinheit	<u>Pigment Yellow 12:</u> > 96 % (ECHA 2017 a) <u>Pigment Yellow 13:</u> > 96 % (ECHA 2017 b) <u>Pigment Yellow 83:</u> > 96 % (ECHA 2017 c)
Verunreinigungen	Wasser < 1 %; 3,3'-Dichlorbenzidin < 25 mg/kg, normaler Gehalt typischerweise < 5 mg/kg; primäre aromatische Amine < 500 mg/kg (k. w. A.; ECHA 2017 a; OECD 2003) <u>Pigment Yellow 12:</u> Acetoacetanilid 102-01-2 (OECD 2003) <u>Pigment Yellow 13:</u> 2',4'-Dimethylacetoacetanilid 97-36-9 (OECD 2003) <u>Pigment Yellow 83:</u> 4'-Chlor-2',5'-dimethoxyacetoacetanilid 4433-79-8 (OECD 2003)
Herstellung	Diazotierung von 3,3'-Dichlorbenzidin und Kupplung an entsprechend substituiertes Acetoacetanilid; Partikel fallen als feines Pulver mit z. T. Partikelgrößen kleiner als 100 nm aus (Schmidt et al. 2007)

a) (Materialdichte × 0,5) entspricht einer angenommenen Agglomeratdichte bei 50 % Raumerfüllung

Farbmittel ist der Oberbegriff aller zum Färben von Produkten eingesetzten organischen oder anorganischen Substanzen. Farbstoffe sind lösliche Farbmittel, Pigmente sind per Definition im Anwendungsmedium unlöslich (BAuA 2001; Wesendorf 2018).

Die Begründung basiert auf einer Gruppenbewertung im Rahmen des ICCA-HPV-Programms (OECD 2003), den öffentlich verfügbaren Registrierungsdaten im Rahmen von REACH (ECHA 2017 a, b, c), einer Gruppenbewertung der australischen Behörden (NICNAS 2017), sowie unveröffentlichten Firmenstudien. Die Partikelgrößenverteilung von Pigment Yellow 12, 13 und 83 kann bis in den ultrafeinen Partikelbereich von unter 100 nm reichen (Schmidt et al. 2007). Partikel, die kleiner als 100 nm sind, werden im technischen Umfeld als Nanopartikel bezeichnet. Nach Herstellerangaben liegen die d<sub>50</sub>-Werte für Pigment Yellow 12 und 13 im Bereich von 15 bis 100 nm, der d<sub>50</sub>-Wert für Pigment Yellow 83 bei 15 bis 250 nm (Verband der Mineralfarbenindustrie e.V. 2019).

Die Pigmente werden im kosmetischen Bereich (nur Pigmente Yellow 13 und 83) z. B. in Badesalz, Gesichts-Makeup, Maskara, Haarfärbemittel, Nagellack oder Duschmitteln eingesetzt. Alle drei Pigmente werden als Farbmittel in Industrie- und Anstrichfarben, Lacken, Druckfarben, Kunststoffen (Polymere), Vervielfältigung von bespielten Ton-, Bild- und Datenträgern, Kreide, Textilien (nur Pigment Yellow 12), sowie in Knetmasse und in Kunstharzlacken (nur Pigment Yellow 13) verwendet (NICNAS 2017; OECD 2003). Es gibt Berichte über den Einsatz einiger Pigmente Yellow als Tattoo-Farbstoffe, jedoch werden die Farbstoffe hierfür weder hergestellt noch empfohlen (OECD 2003).

### Gruppenbewertung

Die Pigmente Yellow 12, 13 und 83 haben eine ähnliche Struktur und weisen alle Chlor-substituierte Biphenyl-Einheiten, Azo- und Ketogruppen sowie an beiden Enden des Moleküls substituierte oder nicht substituierte Phenylringe auf, die durch eine Amidbindung mit dem Rest des Moleküls verbunden sind. Sie ähneln sich in den Molmassen, der Stabilität und den physikalisch-chemischen Eigenschaften, z. B. sind sie praktisch unlöslich in Wasser. Daher ist bei Kontakt mit Wasser keine Hydrolyse der Amidbindung zu erwarten. In verschiedenen Testsystemen zeigte sich keine Reduktion der Azobindung. Auch in vivo trat keine Spaltung der Azobindung oder Hydrolyse der Substanzen auf. Basierend auf den vorhandenen Daten ist bei den drei Pigmenten keine Bioverfügbarkeit und ein ähnliches toxikologisches Profil zu erwarten (NICNAS 2017; OECD 2003). In statischen und dynamischen Löslichkeitsuntersuchungen in phagolysosomaler Lösung waren Pigment Yellow 12, Pigment Yellow 13, Pigment Yellow 83 „opaque“ und Pigment Yellow 83 „transparent“ unlöslich (BASF SE 2019 b).

Es ist unwahrscheinlich, dass die Zahl und Identität der Substituenten an den Phenylringen der Pigmente Yellow 12, 13 und 83 das chemische Verhalten deutlich beeinflusst (OECD 2003).

## 1 Allgemeiner Wirkungscharakter

Da die Pigmente Yellow 12, 13 und 83 nicht bioverfügbar sind und auch nach oraler Gabe und in phagolysosomaler Lösung in vitro nicht gespalten werden, kommt es ausschließlich nach Inhalation zu lokalen Befunden am Atemtrakt.

In zwei 5-Tage-Inhalationsstudien an Ratten mit Pigment Yellow 83 in zwei verschiedenen Partikelgrößen treten Hypertrophie bzw. Hyperplasie im Bronchialepithel und partikelbeladene Histozyten in den tracheobronchialen Lymphknoten auf. Bei Exposition gegen Pigment Yellow 83 „opaque“ ist dies bei  $30 \text{ mg/m}^3$ , bei Exposition gegen Pigment Yellow 83 „transparent“ bereits bei  $10 \text{ mg/m}^3$  zu beobachten. Nach Exposition gegen Pigment Yellow 83 „transparent“ tritt zusätzlich eine Infiltration von Neutrophilen in die Bronchien auf.

In zwei dreiwöchigen Inhalationsstudien mit zwei verschiedenen Formulierungen von Pigment Yellow 13 kommt es bei allen drei Konzentrationen von ca. 53, 150 und  $400 \text{ mg/m}^3$  in der Lunge zu braungelben Ablagerungen in Alveolen und Interstitium und zur Akkumulation von Schaumzellen in den Alveolen sowie bei den höheren Konzentrationen zu erhöhtem Lungengewicht, was auf eine Reaktion auf die Partikelablagerung zurückzuführen ist.

Eine Entwicklungstoxizitätsstudie nach OECD-Prüfrichtlinie 422 mit Pigment Yellow 12 an Ratten führt bei  $1000 \text{ mg/kg KG}$  und Tag zu keinen substanzbedingten Befunden bei Muttertieren und Nachkommen. Die Pigmente Yellow 12, 13 und 83 sind nicht genotoxisch in vitro oder im Mikronukleus- und SCE-Test in vivo. Pigment Yellow 12 und Pigment Yellow 83 zeigen in einer oralen Kanzerogenitätsstudie keine kanzerogene Wirkung bei Ratten oder Mäusen.

## 2 Wirkungsmechanismus

Die Pigmente Yellow 12, 13 und 83 sind nicht systemisch verfügbar. Bei Inhalation erfolgt eine Akkumulation in der Lunge, wenn die Expositionskonzentration so hoch ist, dass die alveoläre Clearance überfordert wird. Der daraus resultierende partikelbedingte Effekt zeigt sich bereits in 5- und 21-Tage-Inhalationsstudien an Ratten (Abschnitt 5.2.1; BASF SE 2018, 2019 a; Ciba-Geigy 1979 a, b) und kann bei längerfristiger Exposition zur chronischen Entzündung und

dadurch bedingten kanzerogenen Wirkung am Atemtrakt führen. Chronische Inhalationsstudien mit entsprechendem Untersuchungsumfang fehlen jedoch.

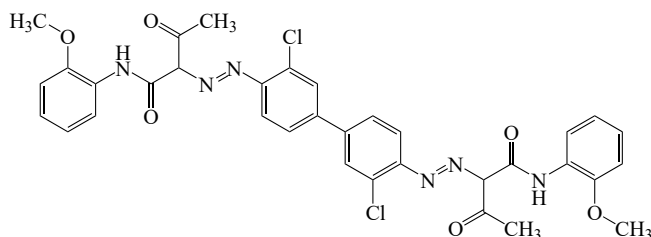
### 3 Toxikokinetik und Metabolismus

#### 3.1 Aufnahme, Verteilung, Ausscheidung

##### 3.1.1 Inhalative und intratracheale Exposition

Es liegen keine Untersuchungen zur quantitativen inhalativen Aufnahme der drei Pigmente vor. In Anbetracht der physikalisch-chemischen Eigenschaften der Pigmente, vor allem des log  $K_{OW}$  und der Molmasse, wird von keiner oder einer sehr geringen Resorption bei inhalativer Exposition ausgegangen. Dies bestätigte sich in zwei 5-Tage-Inhalationsstudien mit Pigment Yellow 83 (zwei verschiedene Produkte) und zwei 21-Tage-Inhalationsstudien mit Pigment Yellow 13 (zwei verschiedene Produkte), bei denen keine systemischen Effekte, jedoch leichte lokale Befunde am Atemtrakt beobachtet worden sind (BASF SE 2018, 2019 a; Ciba-Geigy 1979 a, b; siehe Abschnitt 5.1.1).

Um zu prüfen, ob ähnlich wie bei Azofarbstoffen die Azobindungen des Pigment-Moleküls in vivo gespalten werden und der kanzerogene Metabolit 3,3'-Dichlorbenzidin freigesetzt werden kann, wurde in einer älteren Studie die Resorption und Metabolisierung nach intratrachealer Applikation von Pigment Yellow 83 und des strukturähnlichen Pigment Yellow 17 (CAS-Nr. 4531-49-1; [Abbildung 1](#)) untersucht.



**Abb. 1** Strukturformel von Pigment Yellow 17

Je sechs männliche Wistar-Ratten pro Konzentration und Untersuchungszeitpunkt erhielten mittels intratrachealer Instillation fünfmal innerhalb von vier Wochen jeweils 10 oder 20 mg Pigment Yellow 83 oder Pigment Yellow 17 in Suspension oder 3,3'-Dichlorbenzidin und wurden vier Wochen lang nachbeobachtet. Urin, Faeces und Hämoglobin wurden mittels sensitiver und spezifischer GC-MS-Analytik auf das Vorhandensein von 3,3'-Dichlorbenzidin geprüft. Die in der Ausgangssubstanz vorhandenen Verunreinigungen wurden analytisch bestimmt. Der Gehalt an Aminoazoverbindung betrug 11 mg/kg Pigment im Pigment Yellow 17 und im Pigment Yellow 83 weniger als 10 mg/kg Pigment. Im Pigment Yellow 17 und Pigment Yellow 83 wurden 9 bzw. 1,7 ng 3,3'-Dichlorbenzidin/g Pigment nachgewiesen. Die Pigmente lagen in mikrokristalliner Form als kurze Stäbchen mit einer Kantenlänge von 1 µm vor. Die Löslichkeit betrug weniger als 20 µg/l Wasser oder Octanol. Am 31. Tag lag der Pigmentgehalt in der Lunge bei den beiden Pigmenten zwischen 50 % und 75 % der applizierten Menge und verringerte sich in der Nachbeobachtungszeit nicht. Während der Behandlung mit Pigment Yellow 83 traten sehr geringe Mengen an 3,3'-Dichlorbenzidin im Urin auf, bei einigen Tieren auch in den Faeces und an Hämoglobin gebunden ([Tabelle 1](#)). Am 30. Tag betrug der 24-Stunden-Bioverfügbarkeitsanteil bezogen auf den Pigmentgehalt der Lungen 0,0012 Molprozent, am 56. Tag unter 0,00006 Molprozent. Am Ende der Nachbeobachtungszeit betrug bei zwei von fünf Proben die noch an Hämoglobin gebundene Menge maximal 0,13 ng/g. Anhand der Ausscheidung mit dem Urin wurde berechnet, dass pro 24 Stunden 0,001 bis 0,005 % der theoretisch aus der gesamten verabreichten Substanzmenge freisetzbaren Menge an 3,3'-Dichlorbenzidin nachgewiesen worden sind (BAuA 2001). In dieser Untersuchung wurde berechnet, dass das 3,3'-Dichlorbenzidin nicht nur aus der Verunreinigung mit 3,3'-Dichlorbenzidin und der Monoazoverbindung stammte, da die freigesetzte berechnete

Menge geringfügig größer war als die bestimmte Menge an Verunreinigung. Dies wurde jedoch in späteren Untersuchungen zur Bioverfügbarkeit widerlegt (siehe Löslichkeitsprüfung in phagolysosomaler Lösung; BASF SE 2019 b).

In einer Studie mit identischem Applikationsschema mit Gabe von 7,3 mg 3,3'-Dichlorbenzidin/Tier, wurden innerhalb von 24 Stunden etwa 3 % als freies Amin bzw. als Konjugate ausgeschieden. Mit Pigment Yellow 17, ebenfalls analog in einer Dosis von 20 mg/Tier appliziert, lagen die Ausscheidung von 3,3'-Dichlorbenzidin mit Urin und Faeces sowie die Hämoglobinbindung unterhalb der Nachweisgrenze. Die Nachweisgrenze der Methode betrug 0,02 ng 3,3'-Dichlorbenzidin/ml Urin und 0,05 ng 3,3'-Dichlorbenzidin/g Hämoglobin. Die mit der Lunge assoziierten Lymphknoten waren bei den exponierten Tieren gelb gefärbt und vergrößert und in den Makrophagen war unter dem Mikroskop Pigment zu erkennen. „Geringgradige Atemgeräusche und mäßig lethargisches Verhalten“ während vier bis sechs Stunden nach der Applikation wurden auf die Behandlung zurückgeführt (BAuA 2001).

**Tab. 1** 3,3'-Dichlorbenzidin in Urin, Faeces und als Hämoglobinaddukt nach 5-maliger intratrachealer Gabe von 10 oder 20 mg Pigment Yellow 83 innerhalb von 4 Wochen an Ratten mit 4 Wochen Nachbeobachtung (BAuA 2001)

Menge, Untersuchungstag	Urin	Faeces	Hämoglobin-Addukt
10 mg, 2./26./30. Tag	3,9–4,2 ng/24 h	nur in 2 von 30 Proben nachweisbare Mengen: 2,2 bzw. 4,4 ng/24 h	31. Tag in 3/5 Proben: max. 0,24 ng/g
20 mg, 2. Tag	4,6 ng/24 h		–
30. Tag	8,8 ng/24 h		4/5 Proben: max. 6,66 ng/g
56. Tag	–	–	2/5 Proben: max. 0,13 ng/g

### 3.1.1.1 Systemische Verfügbarkeit von Nanomaterialien nach Inhalation

Alveolengängige Partikel können aus dem Alveolarbereich über das Zwischengewebe der Lunge in das Lymphsystem und besonders die ultrafeinen Partikel auch in die Blutkapillaren übertreten (DFG 2019, Abschnitt V). Nanopartikel können im Organismus Membranen durchdringen und sekundäre Organe wie Gehirn, Herz, Leber und auch den Fetus erreichen. Der Anteil dort liegt unter 0,5 % bezogen auf die Menge, hängt jedoch in umgekehrter Weise von der Partikelgröße ab. Jedoch ist auch eine Abhängigkeit in Bezug auf Material, Morphologie, Hydro- und Lipophilie, Oberflächenladung, Oberflächenliganden sowie ihrem möglichen Austausch mit verschiedenen Körperflüssigkeiten gegeben. Beim Menschen soll die systemische Verteilung ähnlich wie bei Ratten erfolgen (Kreyling 2013).

### 3.1.1.2 Untersuchungen zur Löslichkeit

Um zu klären, ob sich nach inhalativer Aufnahme von Pigment Yellow 12, Pigment Yellow 13 oder zwei verschiedenen großen Pigment-Yellow-83-Produkten, Pigment Yellow 83 „transparent“ und Pigment Yellow 83 „opaque“, ein Anteil des Pigmentes in der Lunge lösen könnte, wurde eine statische und eine dynamische In-vitro-Untersuchung in phagolysosomaler Lösung bei einem pH-Wert von 4,5 durchgeführt. Dies entspricht dem Milieu in den Phagolysosomen der Alveolarmakrophagen. Die genauen Spezifikationen der Pigmente sowie die Durchführung und die Ergebnisse sind in Tabelle 2 aufgeführt. Vor dem Versuch wurden die Pigmente einmal mit einer Mischung von Methanol/Toluol (80/20), einmal mit n-Octanol und einmal mit Methanol gewaschen, um Verunreinigungen zu entfernen. Dann wurden 125 mg Pigment/l phagolysosomaler Lösung suspendiert und sieben Tage lang in einem Schüttelgerät oder 24 Stunden lang in einem Ultraschallbad bewegt und die Flüssigkeit anschließend auf gelöste Substanz hin untersucht. Die Nachweisgrenze betrug bei der UV-VIS-Analyse 0,1 ng/cm<sup>2</sup> und Stunde und bei der LC-MS-Analyse 0,034 ng/cm<sup>2</sup> und Stunde. Bei der UV-VIS-Analyse lag die Konzentration in der Probelösung im Bereich der Nachweisgrenze von 0,01 % gelöster Substanz oder darunter, bei der LC-MS-Analyse immer unterhalb der Nachweisgrenze. Bei der dynamischen Untersuchung im kontinuierlichen Durchfluss-System lagen die Konzentrationen bei beiden Messverfahren immer unterhalb der Nachweisgrenzen. Zusätzlich wurden die Partikel von Pigment Yellow 83 „transparent“ und „opaque“ vor und nach einer Woche Durchfluss-Experiment transmissions-elektronenmikroskopisch (TEM) untersucht. Dabei zeigte sich, dass es sich um stäbchenförmige Partikel handelte, die z. T. einen Querschnittsdurchmesser im nm-Bereich haben und als Agglomerate vorlagen. Das Pigment Yellow 83 „transparent“ schrumpfte um 6 %, das Pigment Yellow 83 „opaque“ vergrößerte sich um 23 %. Nach Angaben der Autoren handelte es sich um keine statistisch signifikante

Veränderung der Partikelgröße, da die Ungenauigkeit der Partikelgrößenbestimmung aufgrund der geringen Anzahl an untersuchten Partikeln und der großen Partikelgrößen-Streuung ca. 20 % beträgt. Bei beiden Partikeln war auch im Anschluss an die Löslichkeitstests die ebene, glatte Oberflächenmorphologie unverändert, was ein Indiz für die Beständigkeit der Partikeloberfläche ist. In den vorliegenden Untersuchungen zeigte sich keine Löslichkeit der Pigmente Yellow 83 „transparent“, „opaque“ oder der Pigmente Yellow 12 und 13 (BASF SE 2019 b).

**Tab. 2** Statische und dynamische Löslichkeitsuntersuchungen mit Pigment Yellow (BASF SE 2019 b)

	Pigment Yellow 83 „transparent“	Pigment Yellow 83 „opaque“	Pigment Yellow 12	Pigment Yellow 13
Produktionsdatum	12/2014	10/2014	06/2006	09/2004
Reinheit	98,7 %	99,7 %	98,05 %	98,9 %
massenspezifische Oberfläche (BET)	63 m <sup>2</sup> /g	17 m <sup>2</sup> /g	31 m <sup>2</sup> /g	38 m <sup>2</sup> /g
volumenspezifische Oberfläche (VSSA)	93 m <sup>2</sup> /cm <sup>3</sup>	25 m <sup>2</sup> /cm <sup>3</sup>	43 m <sup>2</sup> /cm <sup>3</sup>	53 m <sup>2</sup> /cm <sup>3</sup>
Statische Löslichkeitsuntersuchung in Wasser mit Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> , NaCl, Na <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> , CaCl <sub>2</sub> × 2 H <sub>2</sub> O bei 37 °C u. pH-Wert 4,5: 125 mg/l 24 h lang geschüttelt oder Ultraschall über Nacht, dann filtriert und die Flüssigkeit analysiert				
UV-VIS-Analytik (NWG 0,01 %)	0,013 % (geschüttelt) 0,014 % (Ultraschall)	n. n. (geschüttelt oder Ultraschall)	n. n. (geschüttelt oder Ultraschall)	n. n. (geschüttelt) 0,016 % (Ultraschall)
LC-MS-Analytik (NWG 20 µg/l = 0,016 %)	n. n.	n. n.	n. n.	n. n.
Kontinuierliches Durchfluss-System: 1 mg Feststoff pro Zelle mit 2 ml/h Durchflussrate; Lösungsmittel: Wasser mit Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> , NaCl, Na <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> , CaCl <sub>2</sub> × 2 H <sub>2</sub> O, Glycin (org. Säure), Kaliumhydrogenphthalat (Ionenfänger) bei 37 °C u. pH-Wert 4,5, 7 Tage				
UV-VIS-Analytik (Definition unlöslich: bei < 1 ng/cm <sup>2</sup> /h)	0,072 ng/cm <sup>2</sup> /h → unlöslich	0,049 ng/cm <sup>2</sup> /h → unlöslich	0,039 ng/cm <sup>2</sup> /h → unlöslich	0,065 ng/cm <sup>2</sup> /h → unlöslich
LC-MS maximale Konzentration (NWG 20 µg/l)	n. n.	n. n.	n. n.	n. n.
LC-MS dynamische Löslichkeitsrate (NWG abhängig von Oberfläche)	n. n. (NWG 0,009 ng/cm <sup>2</sup> /h)	n. n. (NWG 0,034 ng/cm <sup>2</sup> /h)	n. n. (NWG 0,028 ng/cm <sup>2</sup> /h)	n. n. (NWG 0,029 ng/cm <sup>2</sup> /h)
TEM: Partikelgröße vor und nach Löslichkeitsuntersuchung	Differenz -6 % (nicht signifikant da Methoden- Unsicherheit ca. 20 %)	Differenz +23 % (nicht signifikant da Methoden- Unsicherheit ca. 20 %)	n. d.	n. d.
mittlere Größe	vor: 37,5 nm nach: 35,7 nm	vor: 173 nm nach: 210 nm	n. d.	n. d.
mediane Größe	vor: 37,0 nm nach: 34,6 nm	vor: 159 nm nach: 196 nm	n. d.	n. d.
minimale Größe	vor: 19,7 nm nach: 15,5 nm	vor: 67,5 nm nach: 75,5 nm	n. d.	n. d.
maximale Größe	vor: 63,8 nm nach: 57,0 nm	vor: 358,5 nm nach: 458 nm	n. d.	n. d.

nach: nach sieben Tagen Durchflussexperiment; n. d.: nicht durchgeführt; n. n.: nicht nachweisbar; NWG: Nachweisgrenze; TEM: Transmissions-Elektronenmikroskopie; vor: vor dem Durchflussexperiment

### 3.1.2 Orale Exposition

Zur Untersuchung der Resorption von <sup>14</sup>C-Pigment Yellow 12 und seiner wasserlöslichen sulfonierten Form (aus U-<sup>14</sup>C-(3,3'-Dichlorbenzidin) synthetisiert) erfolgte eine einmalige orale Gabe von 1,24 bis 2,65 µmol/kg KG (ca. 0,7–1,7 mg/kg KG) an männliche F344-Ratten. Weder nach zehn Minuten noch nach acht Stunden wurde Radioaktivität im Blut nachgewiesen und die Radioaktivität in den Geweben lag im Bereich der Hintergrundbelastung. Die gesamte



verabreichte Radioaktivität wurde acht Stunden nach der Verabreichung in den Faeces und dem Inhalt des Darmes wiedergefunden. Auch bei Gabe der sulfonierten Form verhielt es sich ähnlich und nur nach einem Tag wurde 0,02 % der Radioaktivität im Urin gemessen. Nach wiederholter oraler Gabe „größerer Mengen“ Pigment Yellow 12 könnten Spuren der Substanz oder ihrer Verunreinigungen resorbiert worden sein, da an der Schleimhaut des Verdauungstraktes Färbungen beobachtet worden sind. Diese könnten aber auch durch Kontamination bei der Präparation für die Nekropsie entstanden sein. In einer Entwicklungstoxizitäts-Screeningstudie mit Schlundsondengabe von Pigment Yellow 12 trat bei der höchsten Dosis von 1000 mg/kg KG und Tag bei wenigen Nachkommen eine leichte Färbung der Haut auf, die durch eine Kontamination durch die Nekropsie verursacht wurde. Weder Pigment Yellow 12 noch die verabreichten wasserlöslichen Derivate wurden *in vivo* durch Darmbakterien metabolisiert (OECD 2003).

Die Aufnahme, Verteilung und Ausscheidung wurde nach einmaliger Schlundsondengabe von <sup>14</sup>C-Pigment Yellow 12 (11 µCi/µmol; Vehikel: Emulphor EL-620 : Ethanol : Wasser im Verhältnis 1 : 1 : 8; (v/v)) in einer Dosis von 1,11 mg/kg KG (entspricht 3,89 µCi/Ratte oder 0,354 µmol/Ratte) an drei bis sechs männlichen F344-Ratten untersucht. Bis acht Stunden nach der Exposition trat keine Radioaktivität in Blut, Leber oder Urin auf. Die Wiederfindung in Faeces und Blinddarm betrug 104 %. Die Autoren schlossen daraus, dass die Substanz nach oraler Gabe an Ratten nicht resorbiert wird (Decad et al. 1983).

In einer Studie aus dem Jahr 1989 wurde nach einmaliger oraler Schlundsondengabe von Pigment Yellow 12 an männliche Ratten (Tif:RAI f) der Urin auf Metaboliten untersucht. Die Substanz wurde in Öl (k. w. A., nicht radioaktiv markiert) in Dosierungen von 0, 40 oder 400 mg/kg KG verabreicht. Es wurden insgesamt 30 Tiere eingesetzt, wobei nicht genannt ist, wieviele Tiere pro Dosisgruppe. Im Urin, der nach der Substanzgabe 48 Stunden lang gesammelt wurde, sind keine 3,3'-Dichlorbenzidin-Metaboliten nachgewiesen worden. Eine Positivkontrolle mit der Gabe von 3,3'-Dichlorbenzidin (k. w. A.) führte zu einer Wiederfindung von 2–4 % der verabreichten Dosis im Urin innerhalb von 24 Stunden, und weiteren 0,2–1 % zwischen 24 und 48 Stunden nach Substanzgabe. Die Nachweisgrenze im Urin betrug 5 µg/l Urin. Die Autoren schlossen, dass nach oraler Gabe *in vivo* kein Hinweis auf eine Spaltung von Pigment Yellow 12 zu 3,3'-Dichlorbenzidin vorliegt (ECHA 2017 a).

Je fünf männliche und weibliche Sprague-Dawley-Ratten erhielten einmalig mit der Schlundsonde 400 mg Pigment Yellow 13/kg KG verabreicht. Innerhalb von 48 Stunden wurden keine 3,3'-Dichlorbenzidin-Metaboliten im Urin nachgewiesen (ECHA 2017 a).

Nach einmaliger oraler Gabe (k. w. A.) von 50 mg Pigment Yellow 13/kg KG an Kaninchen wurde nach 24 bis 72 Stunden keine Substanz im Urin nachgewiesen (OECD 2003).

Je sechs weibliche Wistar-Ratten erhielten vier Wochen lang normales Futter oder Futter mit 0,2 % Pigment Yellow 13 (< 0,1 mg 3,3'-Dichlorbenzidin/kg, 220 mg Monoazoverbindung/kg) oder Pigment Yellow 17 (< 0,1 mg 3,3'-Dichlorbenzidin/kg, 21 mg Monoazoverbindung/kg). Dies entsprach 170 bzw. 165 mg Pigment/kg KG und Tag. Je vier weibliche Ratten erhielten als positive Kontrolle Trinkwasser mit 0,06 % des bioverfügbaren Azofarbstoffs Direct Red 46 (19 mg 3,3'-Dichlorbenzidin/kg), was 69 mg/kg KG und Tag entsprach. Die Tiere zeigten keine Anzeichen von Toxizität, die Körpergewichtsentwicklung war ähnlich der der Kontrolltiere. Im Fließgleichgewicht wurden mittels GC/MS-Analytik 3,3'-Dichlorbenzidin-Hämoglobin-Adduktspiegel oder mittels <sup>32</sup>P-Postlabeling 3,3'-Dichlorbenzidin-DNA-Adduktspiegel in der Leber bestimmt. Zum Vergleich wurden DNA- und Hämoglobinaddukte bei Ratten nach 4-wöchiger Gabe von 0,00024 %, 0,0012 % oder 0,006 % 3,3'-Dichlorbenzidin mit dem Trinkwasser gemessen. Die 3,3'-Dichlorbenzidin-exponierten Tiere zeigten einen dosisabhängigen Anstieg der Adduktspiegel von 8,1 ng/g Hämoglobin auf 160 ng/g Hämoglobin und von 2,6 ng/g DNA (relativer Adduktspiegel  $3,3 \times 10^{-9}$ ) auf 45,4 ng/g DNA (relativer Adduktspiegel  $56,1 \times 10^{-9}$ ). Bei zwei von sechs gegen Pigment Yellow 13 exponierten Tieren traten 3,3'-Dichlorbenzidin-Äquivalent-Adduktspiegel von 0,18 bzw. 0,2 ng/g Hämoglobin und in zwei von neun Proben von 0,3 bzw. 0,15 ng/g DNA (Nachweisgrenze 0,1 ng/g Hämoglobin und 0,08 ng/g DNA) auf. Es wurde eine theoretische Freisetzung von 0,01 bis 0,02 mg 3,3'-Dichlorbenzidin/kg KG und Tag aus Pigment Yellow 13 berechnet, wobei die Verunreinigung mit der Monoazoverbindung zu berücksichtigen ist, die zu einer theoretischen Freisetzung von 0,02 mg 3,3'-Dichlorbenzidin/kg KG und Tag führen könnte. Dies spricht dafür, dass die beobachteten 3,3'-Dichlorbenzidin-Addukte aus der Verunreinigung entstanden sind. Bei den gegen Pigment Yellow 17 exponierten Tieren wurden keine Hämoglobin- oder DNA-Adduktspiegel nachgewiesen.

Die gegen Direct Red 46 als Positivkontrolle exponierten Tiere hatten einen Gesamtadduktspiegel von 17,7 ng/g Hämoglobin und 5,2 ng/g DNA (relativer Adduktspiegel  $6,4 \times 10^{-9}$ ) (Sagelsdorff et al. 1996).

Es wurde kein 3,3'-Dichlorbenzidin im Urin von Ratten, Kaninchen oder Affen gefunden, die oral Pigment Yellow 13 erhielten (NICNAS 2017; OECD 2003) oder in oralen Kanzerogenitätsstudien mit Ratten und Mäusen, die Pigment Yellow 12 und Pigment Yellow 83 erhielten (Leuschner 1978).

### 3.1.3 Dermale Aufnahme

Es erfolgte keine Resorption von  $^{14}\text{C}$ -Pigment Yellow 12 bei dermaler eintägiger okklusiver Applikation an Ratten. Die Radioaktivität wurde in der Applikationsstelle, dem Pflaster und der zur Auftragung verwendeten Pipettenspitze wiedergefunden (OECD 2003).

### 3.1.4 Fazit

Nach oraler, dermaler und intratrachealer Gabe ergeben sich keine Hinweise auf eine Spaltung der Azogruppe der Pigmente und eine Freisetzung von 3,3'-Dichlorbenzidin. Der Nachweis von 3,3'-Dichlorbenzidin im Urin bzw. als Hämoglobin- bzw. DNA-Addukt in verschiedenen Studien nach Gabe von Pigment Yellow 12 und 13 beruht auf den Verunreinigungen der Pigmente mit 3,3'-Dichlorbenzidin bzw. den entsprechenden Monoazoverbindungen. Zwei 5-Tage-Inhalationsstudien mit Pigment Yellow 83 (zwei verschiedene Produkte) und zwei 21-Tage-Inhalationsstudien mit Pigment Yellow 13 (zwei verschiedene Produkte) waren ohne systemische Wirkung.

Es zeigte sich keine Löslichkeit der Pigmente Yellow 83 „transparent“, „opaque“ oder der Pigmente Yellow 12 und 13 in phagolysosomaler Lösung (BASF SE 2019 b). Daher werden die Pigmente Yellow 12, 13 und 83 auch in der Lunge als unlöslich bewertet.

## 3.2 Metabolismus

Aufgrund nicht nachweisbarer Resorption spielt ein möglicher Metabolismus keine wesentliche Rolle für eine mögliche systemische Wirkung. In In-vivo-Untersuchungen trat nach oraler und intratrachealer Exposition keine Spaltung der Azobindung auf. Aus In-vitro-Studien liegen keine Hinweise auf eine metabolische Umsetzung durch die Darmflora vor (OECD 2003). Für Pigment Yellow 83 könnte als Worst-Case eine Metabolisierung zu 0,005 Molprozent 3,3'-Dichlorbenzidin angenommen werden (Abschnitt 3.1).

## 4 Erfahrungen beim Menschen

In einer pigmentherstellenden Firma trat während und nach der Schicht kein Unterschied in der Konzentration von 3,3'-Dichlorbenzidin oder N-Acetyl-3,3'-dichlorbenzidin im Urin zwischen exponierten und nicht exponierten Arbeitern auf. Es fehlen jedoch Expositionsangaben (OECD 2003).

Nur zur allergenen Wirkung liegen Berichte beim Menschen vor.

### Allergene Wirkung

Nach langjähriger Nutzung von Farbkreiden entwickelte ein Patient (50 Jahre alt) über einen Zeitraum von zwei Monaten wiederholt Episoden ekzematöser Veränderungen im Gesicht, an den Handrücken und Handgelenken sowie in den Fingerzwischenräumen. Im Epikutantest wurden zweifach positive Reaktionen auf 1%- und 10%ige Zubereitungen gelber, und 10 %iger Zubereitung roter Kreide nachgewiesen. Zusätzlich zeigte der Patient eine positive Reaktion auf das in der gelben Kreide enthaltene Pigment Yellow 12 (k. w. A). Hierbei reagierte er einfach bzw. zweifach positiv auf 1%- bzw. 10 %ige Zubereitungen (Lovell und Peachey 1981).

Keiner von 32 Patienten mit einer Sensibilisierung gegen p-Aminoazobenzol und einer positiven Reaktion auf 0,25 % p-Aminoazobenzol reagierte im Epikutantest positiv auf 2 %ige Zubereitungen von Pigment Yellow 12 und Pigment Yellow 13 in Vaseline (Thierbach et al. 1992).

In einem unvollständig dokumentierten Repeated Insult Patch Test mit achtmaliger 48-stündiger okklusiver Induktionsbehandlung mit Pigment Yellow 13 trat bei keinem von 200 Freiwilligen eine Reaktion nach wiederholter Behandlung auf. Die Auslösung erfolgte zwölf Tage nach der letzten Exposition im Rahmen der Induktion. Testkonzentration, Substanzspezifizierung und Vehikel sind jedoch nicht dokumentiert (ECHA 2021 a).

## 5 Tierexperimentelle Befunde und In-vitro-Untersuchungen

### 5.1 Akute Toxizität

#### 5.1.1 Inhalative Aufnahme

Bei der einmaligen vierstündigen Exposition von Ratten (k. w. A.) gegen 1384, 2237 oder 4448 mg Pigment Yellow 13/m<sup>3</sup> als Staub mit einem Anteil an inhalierbaren Partikeln von 81 %, 98 % und 94 %, traten schnelle Atmung, Atemnot, hervortretende Augen, zerzaustes Fell und gekrümmte Haltung auf. Alle Tiere erholten sich davon. Es starb kein Tier und bei der Nekropsie wurden keine substanzbedingten Befunde beobachtet. Die LC<sub>50</sub> lag somit oberhalb von 4448 mg/m<sup>3</sup>. Die Pigmente Yellow 12 und 83 verhalten sich wahrscheinlich ähnlich (OECD 2003).

In einer Untersuchung ähnlich der OECD-Prüfrichtlinie 403 wurden je zehn männliche und weibliche Tif:RAIf-Ratten nur mit der Nase vier Stunden lang gegen 4250 (±128) mg Pigment Yellow 13/m<sup>3</sup> als Aerosol der Partikelgröße 1–7 µm exponiert und 14 Tage lang nachbeobachtet. Während der letzten Expositionsstunde hatten die Tiere Atemnot, gekrümmte Haltung und zerzaustes Fell, wovon sie sich innerhalb von vier Tagen erholten. Es traten keine makroskopischen Befunde auf (ECHA 2017 b).

#### 5.1.2 Orale Aufnahme

Untersuchungen zur akuten oralen Toxizität sind in [Tabelle 3](#) aufgeführt.

Die orale LD<sub>50</sub> bei männlichen und weiblichen Wistar-Ratten lag in einer Untersuchung nach OECD-Prüfrichtlinie 401 oberhalb von 2000 mg Pigment Yellow 12/kg KG, es traten keine Todesfälle, keine Anzeichen von Toxizität und keine substanzbedingten pathologischen Befunde auf. Die Faeces waren bis zwei Tage nach der Substanzgabe orange gefärbt (Hoechst AG 1995 c).

Die orale LD<sub>50</sub> bei Sprague-Dawley- und Wistar-Ratten lag oberhalb von 3000 mg Pigment Yellow 13/kg KG und oberhalb von 1750 mg Pigment Yellow 83/kg KG. Die Einfärbung der Faeces 24 Stunden nach Substanzgabe trat als einziger substanzbedingter Effekt auf. Die Reinheit der Substanzen ist unbekannt. Weitere Studien, die nach Angaben der Autoren nach OECD-Prüfrichtlinie 401 erfolgten, wurden mit Formulierungen und Substanzgehalten von 30–72 % durchgeführt, wobei die Zusatzstoffe nicht genannt worden sind. Eine Formulierung von Pigment Yellow 12 (62–72 % Substanzgehalt) ergab eine LD<sub>50</sub> bei Ratten von größer 2000 mg/kg KG. In keiner der Studien starben Tiere oder wurden Anzeichen von Toxizität berichtet. In LD<sub>50</sub>-Untersuchungen an Ratten wurden Dosierungen bis 17 000 mg/kg KG ohne Mortalität vertragen (OECD 2003).

**Tab. 3** Akute orale Toxizität der Pigmente Yellow 12, 13, 83

Spezies, Stamm	LD <sub>50</sub>	Bemerkung	Literatur
<b>Pigment Yellow 12</b>			
Ratte, Wistar, ♀	>15 000 mg/kg KG	nicht letal, keine Anzeichen von Toxizität, keine makroskopischen Befunde	Hoechst AG 1975 a, 1976 b
Ratte, Wistar, ♂	>15 000 mg/kg KG	Atembeschwerden direkt nach Applikation	Hoechst AG 1976 a
Ratte, Wistar, ♀	>5000 mg/kg KG	nicht letal, keine Anzeichen von Toxizität, keine makroskopischen Befunde	Hoechst AG 1982 a
Ratte, Wistar, ♂ u. ♀	>2000 mg/kg KG	hochbeiniger Gang, unregelmäßige Atmung, keine makroskopischen Befunde	Hoechst AG 1988 c, 1995 c
<b>Pigment Yellow 13</b>			
Ratte, Wistar, ♀	>15 000 mg/kg KG	nicht letal, gesträubtes Fell, beschleunigte Atmung	Hoechst AG 1977 b
Ratte, Wistar, ♀	>5000 mg/kg KG	nicht letal, Hochstellung, gesträubtes Fell, verengte Lider	Hoechst AG 1982 b
<b>Pigment Yellow 83</b>			
Ratte, Wistar, ♀	>10 000 mg/kg KG	nicht letal, keine Anzeichen von Toxizität, keine makroskopischen Befunde	Hoechst AG 1976 c
Ratte, Wistar, ♀	>15 000 mg/kg KG	nicht letal, gesträubtes Fell, beschleunigte Atmung	Hoechst AG 1977 a
Ratte, Wistar, ♀	>10 000 mg/kg KG	nicht letal, keine Anzeichen von Toxizität, keine makroskopischen Befunde	Hoechst AG 1980 a
Ratte, Wistar, ♀ u. ♂	>5000 mg/kg KG	nicht letal, keine Anzeichen von Toxizität, keine makroskopischen Befunde	Hoechst AG 1984 a

### 5.1.3 Dermale Aufnahme

Die dermale LD<sub>50</sub> lag bei Sprague-Dawley-Ratten bei der Applikation von 400 mg Pigment Yellow 13/l in Polyethylenglykol/Wasser (50 : 50) oberhalb von 3000 mg Pigment Yellow 13/kg KG. Es traten keine Todesfälle und keine Anzeichen von Toxizität auf (OECD 2003).

## 5.2 Subakute, subchronische und chronische Toxizität

### 5.2.1 Inhalative Aufnahme

Es wurde je eine 5-Tage-Inhalationsstudie mit Pigment Yellow 83 „transparent“, Primärpartikel ca. 37 nm, oder Pigment Yellow 83 „opaque“, Primärpartikel ca. 159 nm, mit je 16 männlichen Wistar-Ratten pro Gruppe und Konzentrationen von 0, 3, 10 oder 30 mg/m<sup>3</sup> (Tabelle 4) durchgeführt. Die Hälfte der Tiere wurde drei Wochen lang nachbeobachtet. Es traten keine systemischen Effekte auf. Bei der höchsten Konzentration von 30 mg/m<sup>3</sup> wurden bei Exposition gegen „opaque“ Hypertrophie bzw. Hyperplasie im Bronchialepithel bei zwei Tieren und Histiozyten mit Partikeln in den tracheobronchialen Lymphknoten bei drei Tieren beobachtet, typische Befunde für eine Partikel-Exposition. Die Konzentration ohne Effekt lag bei 10 mg „opaque“/m<sup>3</sup>. Die Exposition gegen „transparent“ führte bereits bei 10 mg/m<sup>3</sup> zu Hypertrophie bzw. Hyperplasie im Bronchienepithel bei drei Tieren, Infiltration von Neutrophilen in die Bronchien bei einem Tier und Histiozyten mit Partikeln in den tracheobronchialen Lymphknoten bei allen drei Tieren. Die Konzentration ohne Effekt lag bei 3 mg „transparent“/m<sup>3</sup>. Bei den Tieren mit Nachbeobachtungsphase wurde eine leichte Erhöhung der Zahl an roten Blutzellen und eine nicht signifikant erhöhte Zahl an Neutrophilen in der bronchioalveolären Lavageflüssigkeit bestimmt (BASF SE 2018, 2019 a).

In zwei Inhalationsstudien aus dem Jahr 1979 wurden je zehn männliche und weibliche RAI-F-Ratten pro Gruppe nur mit der Nase drei Wochen lang gegen ein Aerosol aus verschiedenen Pigment-Yellow-13-Partikeln exponiert (TK10090 und TK10863; siehe Tabelle 4), von denen 70–80 % kleiner als 7 µm waren (Teilchengröße). Die beiden Prüfsubstanzen wurden unter unterschiedlichen Verfahrensbedingungen hergestellt und weisen eine unterschiedliche Oberflächen-

behandlung auf. Die eine Substanz (TK10090) besteht aus feineren Primärteilchen, behandelt mit 2,5 % Triethanolamin-Oleatsalz, und ist „mit etwas Triethanolaminoleat belegt“. Die andere Substanz (TK10863) besteht aus größeren Primärteilchen, behandelt mit 40 % Staybelite Resin (teilhydriertes Kolophonium), und hat eine „sehr hohe Harz-Oberflächenbelegung“. Die Expositionskonzentrationen wurden einmal stündlich gravimetrisch überwacht und betragen 0, 52, 151 oder 401 mg/m<sup>3</sup> in der Studie mit TK10090, und 0, 54, 157 oder 410 mg/m<sup>3</sup> in der mit TK10863. Weitere je fünf männliche und weibliche Ratten wurden in der Kontroll- und höchsten Konzentrationsgruppe 21 Tage lang nachbeobachtet. Die Tiere zeigten keine Anzeichen von Toxizität. Bei der höchsten Konzentration war die Körpergewichtszunahme der männlichen Tiere am 21. Tag, und bei den weiblichen Tieren am 3., 7. und 10. Tag leicht, aber statistisch signifikant, vermindert. Der Befund war in der Nachbeobachtungszeit reversibel. Es waren mehr polymorphkernige Neutrophile und weniger Lymphozyten vorhanden. Die Lunge war etwas vergrößert, statistisch signifikant schwerer (absolutes und relatives Gewicht) und hatte gelbe Einlagerungen, die auch am Ende der Nachbeobachtungszeit noch vorhanden waren. Ab 151 mg/m<sup>3</sup> traten lokal schaumige Makrophagen in der Lunge „bis zur Staublung (Pneumokoniose)“ auf. Die Befunde in der Lunge wurden nicht einer spezifischen Substanzwirkung, sondern der Partikelwirkung zugeschrieben. Ab 52 mg/m<sup>3</sup> zeigten sich bei der histopathologischen Untersuchung minimale Ablagerungen in der Lunge, Partikel im Zytoplasma der Histiocyten im Interstitium, gelegentlich auch in Alveolen und im Lumen kleiner Bronchien und vereinzelt auch im peribronchialen lymphatischen Gewebe, die aber nicht durch Entzündungsanzeichen oder andere adverse Reaktionen begleitet waren. Die NOAEC liegt unterhalb der niedrigsten Konzentration (Ciba-Geigy 1979 a, b).

Die beobachteten lokalen Befunde an der Lunge werden als Partikelwirkung gewertet.

### **Einfluss der Oberflächenbehandlung der Pigmente auf die Toxizität**

Die Farbpartikel erhalten für verschiedene Verwendungszwecke unterschiedliche Oberflächenbehandlungen. Zwei Oberflächenbehandlungen, mit denen Untersuchungen mit dem Pigment Yellow 13 vorliegen, sind das Harz, das als Klebstoff für die Pigmente dient, und eine Behandlung mit 2–3 % Ethanolamin. Die oben beschriebenen, nahezu identischen 3-Wochen-Inhalationsstudien an Ratten führten zu ähnlichen Befunden in der Lunge (siehe [Tabelle 4](#); Ciba-Geigy 1979 a, b). Aus diesen Untersuchungen ergibt sich kein signifikanter Unterschied in der Wirkung der beiden unterschiedlichen Behandlungen der Partikel, vielmehr steht der Partikeleffekt selbst im Vordergrund.

Bei den beiden 5-Tage-Inhalationsstudien an Ratten mit Pigment Yellow 83 „transparent“, Primärpartikel ca. 37 nm und Agglomerate MMAD 0,4–0,6 µm, und „opaque“, Primärpartikel ca. 159 nm und Agglomerate MMAD 0,3–0,4 µm, führte „transparent“ zu etwas stärkeren Befunden, war also reaktiver (BASF SE 2018, 2019 a). Dies könnte an der Größe der Partikel liegen, da die Primärpartikel bei „transparent“ kleiner sind als die von „opaque“. Auch hier deuten die Befunde vor allem auf eine Partikelwirkung hin.

Tab. 4 Wirkung von spezifischen Pigmenten Yellow nach wiederholter inhalativer Verabreichung

Spezies, Stamm, Anzahl pro Gruppe	Exposition	Befunde	Literatur
Ratte, Wistar, 16 ♂	<b>Pigment Yellow 83 „transparent“</b> , 5 Tage, nur über die Nase, 0, 3, 10, 30 mg/m <sup>3</sup> , 6 h/d, 5 d/w, 8 Tiere/Gruppe 3 Wochen Nachbeobachtung, 98,7% Reinheit, 12/2014 produziert, Primärpartikel ca. 37 nm, Agglomerate 94% < 3 µm aerodynamische Größe, MMAD 0,4–0,6 µm mit GSD 2,9–3,8	am 5. u. 26. Tag je drei Tiere/Gruppe Nekropsie: Organe gewogen und archiviert, nur Atemtrakt histopathologisch untersucht, am 8. u. 29. Tag je fünf Tiere/Gruppe klinisch-chemische Parameter in Blut und BALF (zytologische, biochemische Parameter u. ausgewählte Antigene) untersucht; <b>3 mg/m<sup>3</sup></b> : NOAEC; <b>10 mg/m<sup>3</sup></b> : bei einem Tier geringfügige Infiltration von Neutrophilen im bronchiolären Epithel, drei Tiere Hyperplasie/Hypertrophie im Bronchienepithel; <b>30 mg/m<sup>3</sup></b> : abs. u. rel. Lymphozyten- u. Neutrophilen- u. Monozytenzahl ↑ in BALF, Gehalt an Monozyten-chemoattractant-Protein (MCP-1) ↑ in BALF, geringfügige Infiltration von Neutrophilen im bronchiolären Epithel; Nachbeobachtungs-Tiere: <b>ab 10 mg/m<sup>3</sup></b> : Zahl roter Blutzellen ↑, Neutrophilenzahl in BALF nicht sign. ↑; Befunde am Atemtrakt siehe <a href="#">Tabelle 5</a>	BASF SE 2018
Ratte, Wistar, 16 ♂	<b>Pigment Yellow 83 „opaque“</b> , 5 Tage, nur über die Nase, 0, 3, 10, 30 mg/m <sup>3</sup> , 6 h/d, 5 d/w, 8 Tiere/Gruppe 3 Wochen Nachbeobachtung, 99,7% Reinheit, 10/2014 produziert, Primärpartikel ca. 159 nm, Agglomerate MMAD 0,3–0,4 µm mit GSD 3,0–4,6	am 5. u. 26. Tag je drei Tiere/Gruppe Nekropsie: Organe gewogen und archiviert, nur Atemtrakt histopathologisch untersucht, am 8. u. 29. Tag je fünf Tiere/Gruppe klinisch-chemische Parameter in Blut und BALF (zytologische, biochemische Parameter u. ausgewählte Antigene) untersucht; <b>10 mg/m<sup>3</sup></b> : NOAEC; <b>30 mg/m<sup>3</sup></b> : zwei Tiere Hyperplasie/Hypertrophie im Bronchienepithel, drei Tiere Partikel in tracheobronchialen Lymphknoten; Befunde am Atemtrakt siehe <a href="#">Tabelle 5</a> ;  keine substanzbedingten systemischen Effekte	BASF SE 2019 a
Ratte, RAIf, je 10 ♂, ♀	<b>Pigment Yellow 13, TK10090</b> : feinere Primärteilchen „mit etwas Triethanolaminoleat-Belegung“, 3 Wochen, nur über die Nase, Aerosol, 0, 52, 151, 401 mg/m <sup>3</sup> , 70–80% Teilchenmasse < 7 µm, 6 h/d, 5 d/w, zusätzlich je 5 ♂, ♀ 0, 401 mg/m <sup>3</sup> und 21 d nachbeobachtet	<b>ab 52 mg/m<sup>3</sup></b> : konzentrationsabhängig zunehmend gelbe Partikel in der Lunge, kleine braungelbe fettlösliche Partikel im Interstitium der Lunge und teilweise Alveolen, bei dieser Konz. keine Entzündungsanzeichen; <b>ab 151 mg/m<sup>3</sup></b> : Gelbfärbung in Lunge, braun-gelbe fettlösliche Partikel in Alveolen u. Lungeninterstitium, bei 8/20 Ratten fokale Akkumulation von Schaumzellen in einigen Lungenalveolen; <b>401 mg/m<sup>3</sup></b> : KG-Zunahme (♂) ↓, Lunge: polymorphkernige Neutrophile ↑, Lymphozyten ↓, Lungengröße ↑, rel. u. abs. Lungengew. ↑, fokale Akkumulation basophiler Materials, Zahl Schaumzellen in Alveolen ↑, Tiere „mit Staublunge (Pneumokoniose)“, in Gefrier-Schnitten: braungelbe Partikel von 1–3 µm im Alveolenlumen und Zytoplasma von Schaumzellen im Lumen kleiner Bronchien und in Makrophagen des Interstitiums, leichte fokale Lymphohistiozyten-Infiltration im Interstitium, fokale „Staublunge“, braun-gelbe Partikel z. T. auch im intrapulmonalen lymphoiden Gewebe; <b>401 mg/m<sup>3</sup> u. Nachbeobachtung</b> : KG normalisiert, alle lokalen Lungenbefunde und „Staublunge“ weiterhin vorhanden, vereinzelt braun-gelbe Partikel im intrapulmonalen lymphoiden Gewebe	Ciba-Geigy 1979 a; ECHA 2017 b

Tab. 4 (Fortsetzung)

Spezies, Stamm, Anzahl pro Gruppe	Exposition	Befunde	Literatur
Ratte, RALf, je 10 ♂, ♀	<b>Pigment Yellow 13</b> , TK10683: gröbere Primärteilen mit „sehr hoher Harz-Oberflächenbelegung“, 3 Wochen, nur über die Nase, Aerosol, 0, 54, 157, 410 mg/m <sup>3</sup> , 70–80 % Teilchenmasse < 7 µm, 6 h/d, 5 d/w, zusätzlich je 5 ♂, ♀ 0, 410 mg/m <sup>3</sup> und 21 d nachbeobachtet	<b>ab 54 mg/m<sup>3</sup></b> : konzentrationsabhängig zunehmend gelbe Partikel in der Lunge, fokale Akkumulation braun-gelber doppelbrechender Partikel im Zytoplasma von Histozyten im Interstitium, gelegentlich in Alveolen und Lumen kleiner Bronchien, vereinzelt im peribronchialen lymphatischen Gewebe, keine Entzündungsanzeichen, keine Schaumzellen in den Alveolen; <b>410 mg/m<sup>3</sup></b> : KG-Zunahme (♂ u. ♀) ↓, rel. u. abs. Lungengew. ↑, Tiere „mit Staublunge (Pneumokoniose)“, braungelbe Partikel von 2–4 µm (doppelbrechend) im Lumen zahlreicher Alveolen u. kleinen Bronchien, in zahlreichen Histozyten im Interstitium und peribronchialen lymphatischen Gewebe, fokale Akkumulation schaumiger Pneumozyten in Alveolen, fokale lymphohistiozytische Infiltrationen; <b>410 mg/m<sup>3</sup> u. Nachbeobachtung</b> : nur KG normalisiert, alle lokalen Lungenbefunde u. „Staublunge“ weiterhin vorhanden	Ciba-Geigy 1979 b; ECHA 2017 b

BALF: bronchioalveoläre Lavageflüssigkeit; GSD: geometrische Standardabweichung; MMAD: massenmedianer aerodynamischer Durchmesser; sign.: signifikant

Tab. 5 Inzidenz (Schweregrad) der Befunde am Atemtrakt männlicher Wistar-Ratten nach 5-tägiger inhalativer Exposition gegen Pigment Yellow 83 „transparent“ oder „opaque“ (BASF SE 2018, 2019 a)

Expositionskonzentration [mg/m <sup>3</sup> ]	0	3	10	30
Anzahl der untersuchten Tiere	n = 3	n = 3	n = 3	n = 3
	Inzidenz (Schweregrad)	Inzidenz (Schweregrad)	Inzidenz (Schweregrad)	Inzidenz (Schweregrad)
<b>Pigment Yellow 83 „transparent“</b>				
98,7% Reinheit, 12/2014 produziert, Primärpartikel ca. 37 nm, Agglomerate, 94% < 3 µm aerodynamische Größe, MMAD 0,4–0,6 µm mit GSD 2,9–3,8				
Lunge				
	<b>NOAEC</b>			
alveoläre Histozytose und Partikel in Histozyten	0 (-)	3 (1)	3 (2)	3 (3)
Hypertrophie/Hyperplasie in Bronchienepithel	0 (-)	0 (-)	3 (1)	3 (2)
Infiltration von Neutrophilen in Bronchien	0 (-)	0 (-)	1 (1)	3 (3)
Partikel in Histozyten der BALT	0 (-)	2 (2)	3 (3)	3 (3)
Tracheobronchiale Lymphknoten				
Partikel in Histozyten	0 (-)	n. u.	n. u.	3 (2)
nachbeobachtete Tiere				
Lunge				
alveoläre Histozytose und Partikel in Histozyten	0 (-)	0 (-)	3 (1)	3 (2)
Partikel in alveolären Histozyten	0 (-)	3 <sup>a)</sup>	0 (-)	0 (-)
Partikel in Histozyten der BALT	0 (-)	3 (1)	3 (1)	3 (1)

Tab. 5 (Fortsetzung)

Expositionskonzentration [mg/m <sup>3</sup> ]	0	3	10	30
Anzahl der untersuchten Tiere	n = 3	n = 3	n = 3	n = 3
<b>Pigment Yellow 83 „opaque“</b>				
99,7% Reinheit, 10/2014 produziert, Primärpartikel ca. 159 nm, Agglomerate, MMAD 0,3–0,4 µm mit GSD 3,0–4,6				
Lunge			NOAEC	
alveoläre Histiozytose und Partikel in Histiozyten	0 (-)	0 (-)	2 (1) 1 (2)	3 (2)
Partikel in Histiozyten	0 (-)	3 <sup>a)</sup>	0 (-)	0 (-)
Hypertrophie/Hyperplasie in Bronchienepithel	0 (-)	0 (-)	0 (-)	2 (1)
Partikel in Histiozyten der BALT	0 (-)	0 (-)	3 (1)	3 (1)
Tracheobronchiale Lymphknoten				
Partikel in Histiozyten	0 (-)	n. u.	n. u.	3 (2)
nachbeobachtete Tiere				
Lunge				
alveoläre Histiozytose und Partikel in Histiozyten	0 (-)	0 (-)	3 (1)	1 (1) 2 (2)
Partikel in alveolären Histiozyten	0 (-)	3 <sup>a)</sup>	0 (-)	0 (-)
Partikel in Histiozyten der BALT	0 (-)	3 (1)	2 (1)	3 (1)

<sup>a)</sup> „vorhanden“, k. A. zum Schweregrad

BALT: bronchienassoziierte lymphatische Gewebe; GSD: geometrische Standardabweichung; MMAD: massenmedianer aerodynamischer Durchmesser; n. u.: nicht untersucht

### 5.2.2 Orale Aufnahme

In verschiedenen Untersuchungen mit bis zu zweijähriger oraler Gabe an Ratten und Mäuse traten keine systemischen substanzbedingten Befunde auf (siehe [Tabelle 6](#)).

In einer kombinierten Studie zur Toxizität und Entwicklungstoxizität nach OECD-Prüfrichtlinie 422 erhielten je zehn männliche und weibliche Wistar-Ratten mit der Schlundsonde 0, 50, 200 oder 1000 mg Pigment Yellow 12 in Polyethylenglykol 400/kg KG und Tag, männliche Tiere vier und weibliche Tiere sieben Wochen lang. Die Tiere wurden zwei Wochen vor der Verpaarung und weibliche Tiere bis zum 6. Laktationstag exponiert. Alle Tiere, auch die Tiere der Kontrollgruppe, hatten Durchfall. Durchfall tritt bei Gabe von Polyethylenglykol meistens auf und wird nicht als Effekt von Pigment Yellow 12 gewertet. Bei allen gegen das Pigment exponierten Tieren traten teilweise grünlich-gelbliche Faeces und gelb eingefärbte Körperteile auf. Vereinzelt und nicht dosisabhängig wurden Lethargie, gekrümmte Haltung, Chromodacryorrhoe (rötliche Tränen), angestrenzte Atmung, Salivation, Haarausfall und rötlich-braune Färbung der Faeces beobachtet. Es traten keine substanzbedingten Befunde bei klinischen Beobachtungen, funktioneller Verhaltensbeobachtung (FOB), Körpergewichtsentwicklung, Futtermittelverbrauch, klinischer Pathologie, Makroskopie, Organgewichten und histopathologischer Untersuchung auf. Der NOAEL lag bei der höchsten eingesetzten Dosis von 1000 mg/kg KG und Tag (NOTOX B.V. 2001).

In einer achtwöchigen Vorstudie zu einer Kanzerogenitätsstudie erhielten je fünf männliche und weibliche F344-Ratten bzw. B6C3F1-Mäuse (0, 300 (nur Mäuse), 1000, 3000, 10 000 oder 30 000 mg Pigment Yellow 12/kg Futter (0, ca. 90, 270, 900, 2700 mg/kg KG und Tag für Ratten, Umrechnungsfaktor 0,09 nach EFSA (2012); 0, ca. 60, 200, 600, 2000, 6000 mg/kg KG und Tag für Mäuse, Umrechnungsfaktor 0,2 nach EFSA (2012)). Es traten keinerlei Effekte auf Futteraufnahme, Körpergewichtsentwicklung, Mortalität und keine substanzbedingten Befunde bei der pathologischen Untersuchung



der Organe und Gewebe auf. Die Tiere waren äußerlich gelb gefärbt und auch die Magen- und Darmschleimhaut war durch den Kontakt mit dem Pigment gelb (NTP 1978).

Da in der Vorstudie keine substanzbedingten Befunde an F344-Ratten bzw. B6C3F1-Mäusen aufgetreten sind, wurde die Kanzerogenitätsstudie mit Ratten und Mäusen bis zur höchsten von der Prüfrichtlinie vorgesehenen Dosis von 5 % bzw. 50 000 mg Pigment Yellow 12/kg Futter durchgeführt. Je 50 männliche und weibliche Tiere erhielten 78 Wochen lang 0, 25 000 oder 50 000 mg Pigment Yellow 12/kg Futter (Ratten ca. 0, 1250, 2500 mg/kg KG und Tag; Mäuse ca. 0, 3750, 7500 mg/kg KG und Tag) und wurden weitere 28 Wochen (Ratten) oder 19 Wochen (Mäuse) lang nachbeobachtet. Alle exponierten Tiere waren äußerlich gelb, hatten eine leicht gelbliche Bindehaut und die meisten Organe und inneren Schleimhäute eine gelbliche Färbung. Bei den Mäusen war die Körpergewichtszunahme der exponierten Tiere ab der 36. Woche vermindert (siehe Tabelle 6). Bei den exponierten Ratten traten in der Leber mehr basophile Zellen auf, ♂: 0/50, 5/49, 11/50; ♀: 2/49, 42/49, 40/48 je bei 0, mittlerer, hoher Dosis. Darüber hinaus traten keinerlei substanzbedingte Befunde bei Ratten oder Mäusen auf (NTP 1978). Die reduzierte Körpergewichtszunahme bei den Mäusen ab 3750 mg/kg KG und Tag wird nicht als substanzspezifischer Effekt gewertet, da 2,5 bis 5 % des Futters aus Pigment bestand, das keinen Nährwert besitzt, da es unverändert ausgeschieden wird.

In einer Kanzerogenitätsstudie erhielten je 50 männliche bzw. weibliche NMRI-Mäuse über einen Zeitraum von 104 Wochen mit dem Futter 0, 1000, 3000 oder 9000 mg Pigment Yellow 12 oder 83/kg Futter. Die aufgenommenen Mengen waren bei männlichen bzw. weiblichen Tieren 0, 214 bzw. 219, 649 bzw. 681 oder 1957 bzw. 2030 mg Pigment Yellow 12/kg KG und Tag oder 0, 213 bzw. 210, 652 bzw. 642 oder 1936 bzw. 1961 mg Pigment Yellow 83/kg KG und Tag. Es wurde keine systemische oder lokale Wirkung beobachtet (Leuschner 1978).

**Fazit:** Bei wiederholter oraler Gabe verschiedener Chargen von Pigment Yellow 12 und 83 über einen Zeitraum von bis zu zwei Jahren traten bei Ratten und Mäusen keine substanzbedingten Befunde auf. Die höchsten verabreichten Dosierungen waren bei Ratten 2500 mg/kg KG und Tag und bei Mäusen 7500 mg/kg KG und Tag jeweils über einen Zeitraum von zwei Jahren.

**Tab. 6** Wirkung von Pigment Yellow 12 und 83 nach wiederholter oraler Gabe

Spezies, Stamm, Anzahl pro Gruppe	Exposition	Befunde	Literatur
Ratte, Wistar, je 10 ♂, ♀	<b>Pigment Yellow 12</b> , OECD-Prüfrichtlinie 422, 4 (♂) – 7 (♀) Wochen, 0, 50, 200, 1000 mg/kg KG u. Tag in Polyethylenglykol 400, Schlundsonde	<b>1000 mg/kg KG: NOAEL</b>	NOTOX B.V. 2001
Ratte, k. w. A.	<b>Pigment Yellow 12</b> , 30 Tage, 0; 0,2; 1; 5 % im Futter (0, 80, 400, 2000 mg/kg KG)	<b>2000 mg/kg KG: NOAEL</b>	OECD 2003
Ratte, F344, je 5 ♂, ♀	<b>Pigment Yellow 12</b> , 8 Wochen, 0; 0,1; 0,3; 1; 3 % im Futter (0, 1000, 3000, 10 000, 30 000 mg/kg Futter; 0, ca. 90, 270, 900, 2700 mg/kg KG u. Tag <sup>a)</sup> )	<b>alle Dosierungen:</b> gelb gefärbtes Fell, gelbe Faeces, gelbe Magen-Darmschleimhäute; <b>2700 mg/kg KG: NOAEL</b>	NTP 1978
Ratte, F344, je 50 ♂, ♀	<b>Pigment Yellow 12</b> , 78 Wochen u. 28 Wochen Nachbeobachtung, 0; 2,5; 5 % im Futter (0, 25 000, 50 000 mg/kg Futter; 0, ca. 1250, 2500 mg/kg KG u. Tag <sup>b)</sup> )	<b>alle Dosierungen:</b> gelb gefärbtes Fell, gelbe Faeces, gelbliche Bindehaut, innere Schleimhäute gelblich; alle Dosierungen: basophile Zellen Leber dosisabh. ↑: ♂: 0/50, 5/49, 11/50; ♀: 2/49, 42/49, 40/48; <b>2500 mg/kg KG: NOAEL</b>	NTP 1978

Tab. 6 (Fortsetzung)

Spezies, Stamm, Anzahl pro Gruppe	Exposition	Befunde	Literatur
Ratte, Sprague Dawley, je 50 ♂, ♀	<b>Pigment Yellow 12</b> , 104 Wochen, 0, 68, 205, 630 mg/kg KG u. Tag, mit dem Futter	<b>ab 68 mg/kg KG:</b> gelbe Faeces; <b>630 mg/kg KG: NOAEL</b> , nach 6 und 23 Monaten in Urinproben von je 10/ Geschlecht: keine Metaboliten nachweisbar	Leuschner 1978
Ratte, Sprague Dawley, je 50 ♂, ♀	<b>Pigment Yellow 83</b> , 104 Wochen, 0, 68, 205, 630 mg/kg KG und Tag, mit dem Futter	<b>ab 68 mg/kg KG:</b> gelbe Faeces; <b>630 mg/kg KG: NOAEL</b> , nach 6 und 23 Monaten in Urinproben von je 10/ Geschlecht: keine Metaboliten nachweisbar	Leuschner 1978
Ratte, Sprague Dawley, je 50 ♂, ♀	<b>Pigment Yellow 83</b> , mit 20 mg 3,3'-Dichlorbenzidin/kg, 104 Wochen, 0, 68, 205, 630 mg/kg KG und Tag, mit dem Futter	<b>ab 68 mg/kg KG:</b> gelbe Faeces; <b>630 mg/kg KG: NOAEL</b> , nach 6 und 23 Monaten in Urinproben von je 10/ Geschlecht: 3,3'-Dichlorbenzidin nachweisbar	Leuschner 1978
Maus, B6C3F1, je 5 ♂, ♀	<b>Pigment Yellow 12</b> , 8 Wochen, 0; 0,03; 0,1; 0,3; 1; 3% im Futter (0, ca. 60, 200, 600, 2000, 6000 mg/kg KG u. Tag <sup>a)</sup> )	<b>alle Dosierungen:</b> gelb gefärbtes Fell, gelbe Faeces, gelbe Magen-Darmschleimhäute; <b>6000 mg/kg KG: NOAEL</b>	NTP 1978
Maus, B6C3F1, je 50 ♂, ♀	<b>Pigment Yellow 12</b> , 78 Wochen u. 19 Wochen Nachbeobachtung, 0, 2,5; 5% im Futter (0, 25 000, 50 000 mg/kg KG u. Tag <sup>d)</sup> )	<b>alle Dosierungen:</b> gelb gefärbtes Fell, gelbe Faeces, gelbliche Bindehaut, innere Schleimhäute gelblich; <b>ab 3750 mg/kg KG:</b> KG-Zunahme ab 36. Woche ↓, zu Studienende KG ca. 12% ↓ (♀) u. 7% ↓ (♂) – aus Abbildung; <b>7500 mg/kg KG:</b> zu Studienende KG ca. 25% ↓ (♀) u. 13% ↓ (♂) – aus Abbildung	NTP 1978
Maus, NMRI, je 55 ♂, ♀	<b>Pigment Yellow 12</b> , 104 Wochen, 0, 215, 650, 1960 mg/kg KG u. Tag, mit dem Futter	<b>ab 215 mg/kg KG:</b> gelbe Faeces; <b>1960 mg/kg KG: NOAEL</b> , nach 6 und 23 Monaten in Urinproben von je 10/ Geschlecht: keine Metaboliten nachweisbar	Leuschner 1978
Maus, NMRI, je 55 ♂, ♀	<b>Pigment Yellow 83</b> , 104 Wochen, 0, 215, 650, 1960 mg/kg KG u. Tag, mit dem Futter	<b>ab 215 mg/kg KG:</b> gelbe Faeces; <b>1960 mg/kg KG: NOAEL</b> , nach 6 und 23 Monaten in Urinproben von je 10/ Geschlecht: keine Metaboliten nachweisbar	Leuschner 1978
Maus, NMRI, je 55 ♂, ♀	<b>Pigment Yellow 83</b> , mit 20 mg 3,3'-Dichlorbenzidin/kg, 104 Wochen, 0, 215, 650, 1960 mg/kg KG und Tag, mit dem Futter	<b>ab 215 mg/kg KG:</b> gelbe Faeces; <b>1960 mg/kg KG: NOAEL</b> , nach 6 und 23 Monaten in Urinproben von je 10/ Geschlecht: 3,3'-Dichlorbenzidin nachweisbar	Leuschner 1978

<sup>a)</sup> Umrechnungsfaktor 0,09 nach EFSA (2012)

<sup>b)</sup> Umrechnungsfaktor 0,05 nach EFSA (2012)

<sup>c)</sup> Umrechnungsfaktor 0,2 nach EFSA (2012)

<sup>d)</sup> Umrechnungsfaktor 0,15 nach EFSA (2012)

### 5.2.3 Dermale Aufnahme

Hierzu liegen keine bewertungsrelevanten Untersuchungen vor.

Die Pigmente Yellow werden auch in Tattoo-Farben eingesetzt und können durch Photodegradation zu kanzerogenen Aminen wie 3,3'-Dichlorbenzidin zersetzt werden (NICNAS 2017). Jedoch werden die Pigmente weder für diesen Einsatz in Tattoo-Farben hergestellt, noch empfohlen.

## 5.3 Wirkung auf Haut und Schleimhäute

### 5.3.1 Haut

Pigment Yellow 12, Pigment Yellow 13 und Pigment Yellow 83 wirkten in Untersuchungen an der Haut von Kaninchen nicht oder schwach reizend und führten bei okklusiver Applikation zu Erythemen, die sich am Ende der Beobachtungszeit zurückgebildet hatten (Tabelle 7).

**Tab. 7** Wirkung von Zubereitungen der Pigmente Yellow 12, 13 und 83 an der Haut von Kaninchen

Stamm, Anzahl pro Gruppe, Methode	Dosis bzw. Konzentration	Befunde und Bewertung	Literatur
<b>Pigment Yellow 12</b>			
Himalayan, 6, k. w. A.	0,5 ml einer 5%igen oder 10%igen Lösung in Sesamöl, 24 h okklusiv	einmalig: 5%ige-Lösung: symptomlos vertragen, 10%ige-Lösung: 3 Tiere mit sehr leichten Erythemen, 2 Tiere mit sehr leichtem Ödem (Index 0,42); fünfmalig: 5%ige-Lösung: symptomlos vertragen, 10%ige-Lösung: ab 3. Tag alle Tiere leichte Rötung und Schuppung, <b>schwach reizend</b>	Hoechst AG 1975 b
Himalayan, 6, k. w. A.	500 mg unverdünnter Farbstoff, 24 h okklusiv	wegen Farbüberlagerung nach 24 h keine Bewertung möglich, keine Befunde nach 48 und 72 h, <b>nicht reizend</b>	Hoechst AG 1975 b
Neuseeländer, 6, k. w. A.	500 mg unverdünnter Farbstoff mit Polyethylenglykol angeteigt, 24 h okklusiv	Reizindex 2,7; nach 48 und 72 h Haut trocken, spröde, verhärtet, oberflächlich rissig, <b>schwach hautreizend</b>	Hoechst AG 1982 c
Neuseeländer, 6, k. w. A.	500 mg unverdünnter Farbstoff mit Polyethylenglykol angeteigt, 24 h okklusiv	Reizindex 2,5; nach 48 und 72 h Haut trocken, spröde, verhärtet, <b>schwach hautreizend</b>	Hoechst AG 1982 d
Neuseeländer, 3, k. w. A., ähnlich OECD-Prüfrichtlinie 404	500 mg/Pflaster unverdünnter Farbstoff mit Polyethylenglykol angeteigt, 4 h okklusiv	keine Ödembildung, Erythem u. Schorfbildung 0,9 von 4, nach 7 Tagen alle Befunde reversibel, <b>nicht reizend</b>	Hoechst AG 1985 b
Neuseeländer, 3, k. w. A., ähnlich OECD-Prüfrichtlinie 404	500 mg/Pflaster unverdünnter Farbstoff mit Polyethylenglykol angeteigt, 4 h okklusiv	Erythem u. Schorfbildung 1,6 von 4 und nach 72 h und 7 Tagen Haut trocken, spröde, verhärtet, Ödembildung 0,6 von 4, nach 7 Tagen alle Befunde reversibel, <b>nicht reizend</b>	Hoechst AG 1988 b
Neuseeländer, 3, k. w. A., ähnlich OECD-Prüfrichtlinie 404	500 mg/Pflaster unverdünnter Farbstoff mit isotonischer Kochsalzlösung angeteigt, 4 h okklusiv	Erytheme maximal 1,7; 1,7; 1,5 von 4, Ödeme 0 von 4, Haut trocken, spröde, verhärtet, nach 14 Tagen alle Befunde reversibel, <b>nicht reizend</b>	Hoechst AG 1995 a
<b>Pigment Yellow 13</b>			
Neuseeländer, 6, k. w. A.	500 mg/Pflaster unverdünnter Farbstoff, 24 h okklusiv	wegen Farbüberlagerung nach 24 h keine Bewertung möglich, keine Reizerscheinung nach 48 h, <b>nicht reizend</b>	Hoechst AG 1977 c
Neuseeländer, 6, k. w. A.	500 mg/Pflaster unverdünnter Farbstoff mit Polyethylenglykol angeteigt, 24 h okklusiv	maximaler Reizindex von 1,1, <b>nicht reizend</b>	Hoechst AG 1982 e
Neuseeländer, 3, k. w. A., ähnlich OECD-Prüfrichtlinie 404	500 mg/Pflaster unverdünnter Farbstoff angeteigt mit physiologischer Kochsalzlösung, 4 h okklusiv, pH-Wert in Wasser neutral	1 Tier sehr leichtes Erythem bei 1 h, sonst keine Befunde, <b>nicht reizend</b>	Hoechst AG 1989 c

Tab. 7 (Fortsetzung)

<b>Pigment Yellow 83</b>			
Himalayan, 6, k. w. A.	500 mg/Pflaster unverdünnter Farbstoff – gelbes Pulver, 24 h okklusiv	bei allen Tieren Reizindex 0, <b>nicht reizend</b>	Hoechst AG 1976 e
Neuseeländer, 6, k. w. A.	500 mg/Pflaster unverdünnter Farbstoff – gelbes Pulver, 24 h okklusiv	wegen Farbüberlagerung nach 24 h keine Bewertung möglich, keine Reizerscheinung, <b>nicht reizend</b>	Hoechst AG 1977 d
Himalayan, 6, k. w. A.	0,5 ml flüssige Substanz, 24 h okklusiv, gelber Teig	maximaler Reizindex 0,4, <b>nicht reizend</b>	Hoechst AG 1980 b
Neuseeländer, 3, k. w. A., ähnlich OECD- Prüfrichtlinie 404	500 mg/Pflaster unverdünnter Farbstoff mit Polyethylenglykol angeteigt – gelbes Pulver, 4 h okklusiv	Erytheme maximal 1,7 von 4, Ödeme maximal 0,3 von 4, <b>schwach reizend</b>	Hoechst AG 1992 a
Neuseeländer, 3, k. w. A., ähnlich OECD- Prüfrichtlinie 404	500 mg/Pflaster unverdünnter Farbstoff mit Polyethylenglykol angeteigt – gelbes Pulver, 4 h okklusiv, pH-Wert in Wasser neutral	Erytheme maximal 1,3 von 4, Ödeme maximal 0 von 4, <b>schwach reizend</b>	Hoechst AG 1996 a

### 5.3.2 Auge

Die Pigmente Yellow 12, 13 und 83 zeigten in den meisten Untersuchungen keine oder eine sehr leichte Reizwirkung am Auge von Kaninchen (Tabelle 8). Nur Formulierungen, die 24 bis 45 % Mono- oder Diamine oder 10 % Harnsäure enthielten, wirkten reizend oder ätzend, wobei dann die Zusatzstoffe für diese Wirkung verantwortlich gemacht werden (Hoechst AG 1988 a, 1989 a, 1992 b, 1995 b, 1996 b; NICNAS 2017; OECD 2003).

Tab. 8 Wirkung von Zubereitungen der Pigmente Yellow 12, 13 und 83 am Auge von Kaninchen

Stamm, Anzahl pro Gruppe, Methode	Dosis bzw. Konzentration	Befunde und Bewertung	Literatur
<b>Pigment Yellow 12</b>			
Himalayan, 8, k. w. A.	0,1 cm <sup>3</sup> unverdünnt in je 1 Auge, bei 3 Tieren nach 5 Minuten und 5 Tieren nach 24 h ausgespült	alle Tiere leichte Rötung der Bindehaut (Grad 1 von 3), bei 5 Tieren leichte Schwellung der Bindehaut (Grad 1 von 4), nach 72 h alle Tiere symptomlos, <b>nicht reizend</b>	Hoechst AG 1975 b
Himalayan, 6, k. w. A.	100 mg unverdünnter Farbstoff, 0,1 ml 10%ig in Sesamöl	<u>unverdünnter Farbstoff:</u> 24 h Reizindex 58,6 von 110, 72 h Reizindex 100 von 110, <b>stark reizend</b> <u>10%ige Lösung:</u> maximaler Reizindex: 2,6 von 110 nach 1 h, <b>nicht reizend</b>	Hoechst AG 1976 d
Neuseeländer, 6, k. w. A.	100 mg unverdünnter Farbstoff mit Polyethylenglykol angeteigt	maximaler Reizindex: 14 von 110 nach 7 h, <b>leicht reizend</b>	Hoechst AG 1982 c
Neuseeländer, 6, k. w. A.	100 mg unverdünnter Farbstoff mit Polyethylenglykol angeteigt, nach 24 h mit physiologischer Kochsalzlösung gespült	maximaler Reizindex: 15 von 110 nach 7 h, <b>leicht reizend</b>	Hoechst AG 1982 d
Neuseeländer, 3, k. w. A., OECD-Prüfrichtlinie 405	100 mg unverdünnter Farbstoff mit Polyethylenglykol angeteigt, 24 h Einwirkzeit	mittlere Werte alle Tiere: Hornhauttrübung 0 von 4, Irisentzündung 0,1 von 2, Bindehautschwellung 0,9 von 4, Bindehautrötung 1,7 von 3, <b>nicht reizend</b>	Hoechst AG 1985 a

Tab. 8 (Fortsetzung)

Stamm, Anzahl pro Gruppe, Methode	Dosis bzw. Konzentration	Befunde und Bewertung	Literatur
<b>Pigment Yellow 13</b>			
Neuseeländer, 6, k. w. A.	100 mg unverdünnter Farbstoff	maximaler Reizindex 10 von 110 nach 1 und 7 h, <b>nicht reizend</b>	Hoechst AG 1977 c
Neuseeländer, 6, k. w. A.	100 mg unverdünnter Farbstoff angeteigt mit Polyethylenglykol	maximaler Reizindex 10 von 110 nach 1 h, <b>nicht reizend</b>	Hoechst AG 1982 e
Neuseeländer, 3, k. w. A., OECD-Prüfrichtlinie 405	100 mg unverdünnter Farbstoff, pH-Wert in Wasser neutral	mittlere Indizes aller Tiere: Hornhauttrübung 0,0 von 4, Irisentzündung maximal 0,2 von 2, Bindehautrötung maximal 1,3 von 3, Bindehautschwellung maximal 0,7 von 4, <b>leicht reizend</b>	Hoechst AG 1989 b
<b>Pigment Yellow 83</b>			
Himalayan, 6, k. w. A.	100 mg unverdünnter Farbstoff	maximaler Reizindex 14 von 110 nach 7 h, <b>leicht reizend</b>	Hoechst AG 1976 e
Neuseeländer, 6, k. w. A.	100 mg unverdünnter Farbstoff	maximaler Reizindex 16 von 110 nach 1 h, <b>leicht reizend</b>	Hoechst AG 1977 d
Himalayan, 6, k. w. A.	0,1 ml flüssige Substanz, nach 24 h Auge gespült	maximaler Reizindex 2 von 110 nach 7 h, <b>nicht reizend</b>	Hoechst AG 1980 b
Neuseeländer, 3, k. w. A., OECD-Prüfrichtlinie 405	100 mg unverdünnter Farbstoff – gelbes Pulver, nach 24 h Auge gespült	nach 1 h deutliche Rötung und Schwellung, nach 48 h keine Befunde mehr, <b>nicht reizend</b>	Hoechst AG 1984 b

## 5.4 Allergene Wirkung

### 5.4.1 Hautsensibilisierende Wirkung

Pigment Yellow 13 wurde im Local Lymph Node Assay nach OECD-Prüfrichtlinie 429 an weiblichen CBA-Mäusen als nicht sensibilisierend klassifiziert. Praktisch führte die Behandlung der Tiere mit 2,5-, 5- und 10%igen Suspensionen in drei verschiedenen Vehikeln zu folgenden Stimulationsindices: 1,7; 1,3 und 2,3 (Propylenglykol); 1,1; 1,4 und 1,7 (Ethanol/Wasser (7:3)) sowie 1,5; 1,7 und 2,1 (Aceton/Olivenöl (4:1)). Höhere Konzentrationen wurden nicht untersucht (ECHA 2021 b).

Pigment Yellow 83 war im Local Lymph Node Assay nach OECD-Prüfrichtlinie 429 an je vier weiblichen CBA-Mäusen pro Dosis negativ. Die Behandlung der Tiere mit 2,5-, 5- und 10%igen Suspensionen in Ethanol/Wasser (7:3, v/v) führte zu Stimulationsindices von 1,1; 1,4 und 1,7, wobei es sich bei der 10%igen Suspension um die höchste erreichbare Konzentration handelt (ECHA 2021 c).

Ein Bühler-Test mit Pigment Yellow 12 und 13 an weiblichen Hsd/Poc:DH-Meerschweinchen lieferte ebenfalls negative Ergebnisse. Die Induktionsbehandlung erfolgte mit einer 60%igen Zubereitung von Pigment Yellow 12 bzw. einer 75%igen Zubereitung von Pigment Yellow 13, wobei Maiskeimöl als Vehikel gewählt wurde. Bei der Auslösebehandlung mit 3-, 10-, 30- und 60%igen (Pigment Yellow 12) bzw. 3-, 10-, 30- und 75%igen (Pigment Yellow 13) Zubereitungen im gleichen Vehikel zeigte keines der jeweils 20 Tiere eine Reaktion (ECHA 2021 a, b).

### 5.4.2 Atemwegssensibilisierende Wirkung

Hierzu liegen keine Daten vor.

## 5.5 Reproduktionstoxizität

### 5.5.1 Fertilität

In einer im [Abschnitt 5.2.2](#) beschriebenen kombinierten Studie zur Toxizität und Entwicklungstoxizität nach OECD-Prüfrichtlinie 422 mit Wistar-Ratten und Schlundsondengabe von 0, 50, 200 oder 1000 mg Pigment Yellow 12 in Polyethylenglykol 400/kg KG und Tag, lag der NOAEL für die Elterntiere bei der höchsten Dosis von 1000 mg/kg KG und Tag. Alle Tiere, auch die Tiere der Kontrollgruppe, hatten Durchfall. Durchfall tritt bei Gabe von Polyethylenglykol meistens auf und wird nicht als Effekt von Pigment Yellow 12 gewertet. Der NOAEL für maternale Toxizität und Fertilität lag bei der höchsten Dosis von 1000 mg/kg KG und Tag, da keine Effekte auf die Reproduktion und Zahl der Nachkommen auftraten (NOTOX B.V. 2001).

In den Studien mit wiederholter Gabe wurden keine Effekte auf die Reproduktionsorgane berichtet (OECD 2003).

### 5.5.2 Entwicklungstoxizität

In der im [Abschnitt 5.2.2](#) beschriebenen kombinierten Studie zur Toxizität und Entwicklungstoxizität lag der NOAEL für die Muttertiere und der für Entwicklungstoxizität bei der höchsten untersuchten Dosis von 1000 mg Pigment Yellow 12/kg KG und Tag. Es traten keine Effekte auf die Zahl der Nachkommen, Gewicht, Geschlechterverhältnis, Überleben und Entwicklung der Nachkommen auf. Die Feten der höchsten Dosisgruppe hatten eine gelbe Färbung, die durch Verunreinigung bei der Sektion entstand (NOTOX B.V. 2001). Bei diesem Studientyp werden die Nachkommen jedoch nur auf externe Veränderungen und nicht auf viszerale und skeletale Variationen/Fehlbildungen untersucht, sodass derartige Studien nicht für die Bewertung der entwicklungstoxischen Wirkung geeignet sind. Alle drei Pigmente sind jedoch unlöslich und nicht bioverfügbar.

#### Systemische Verfügbarkeit im Fetus nach oraler Verabreichung von Nanomaterialien an Muttertieren

Da in den Pigmenten auch Partikel kleiner als 100 nm enthalten sein können, werden auch Daten zu Nanomaterialien berücksichtigt.

In zwei Übersichtsartikeln wird über teratogene Effekte von Multi-Walled und Single-Walled Carbon-Nanotubes und TiO<sub>2</sub>-Nanopartikeln bei Mäusen, die während der frühen Gestationsphase behandelt wurden, berichtet. Die Effekte wurden möglicherweise über den Dottersack vermittelt. Nach pränataler Gabe verschiedener Nanomaterialien wurden auch vermehrt reaktive Sauerstoffspezies in der Plazenta inklusive histologischer und funktionaler Abnormalitäten, erhöhte prä- und postnatale Mortalität sowie Wachstumsverzögerungen, Verhaltensänderungen, erhöhte Empfindlichkeit für Allergien und weitere Effekte beobachtet (Ema et al. 2010, 2016). Es werden jeweils mehrere nicht-standardisierte Untersuchungen aufgeführt. Als Beispiel aus den Übersichtsartikeln wurden CD1-Mäusen (TiO<sub>2</sub>: 11 bis 14 Tiere pro Gruppe; Silber: 12 bis 18 Tiere pro Gruppe) am 9. Gestationstag per Schlundsonde TiO<sub>2</sub> (50 nm) oder Silber-Nanopartikel (20 nm) in Dosierungen von 0, 10, 100 oder 1000 mg/kg KG verabreicht. Bei der Untersuchung am 19. Gestationstag nach Schnittentbindung wurde bei 1000 mg TiO<sub>2</sub>/kg KG ein erhöhter Prozentsatz von nicht lebensfähigen Feten festgestellt (7,6 %; Kontrolle: 1,7 %). Ab 100 mg TiO<sub>2</sub>/kg KG wiesen die Feten eine erhöhte Anzahl von „morphologischen Defekten“ auf (Prozentsatz betroffener Feten: Kontrolle: 0 %; 10 mg/kg KG: 2,2 %; 100 mg/kg KG: 5,3 %; 1000 mg/kg KG: 2,5 %). Unter den gepoolten aufgezählten Defekten befanden sich Exenzephalie (6 Feten), offene Augenlider (7 Feten) sowie Bein- (2 Feten) und Schwanzdefekte (1 Fetus). Die Silber-Nanopartikel führten nicht zu derartigen Effekten. Die Behandlung hatte mit beiden Stoffen keine Beeinträchtigung der Wurfgröße, der maternalen und fetalen Körpergewichte sowie der Anzahl von Resorptionen zur Folge (Philbrook et al. 2011). Die Auswertung erfolgte nicht auf Feten- und Wurfbasis und wurde auch nicht detailliert dargestellt, die Tierzahl ist geringer als nach OECD-Prüfrichtlinie gefordert.

Es liegen jedoch auch zwei pränatale Entwicklungstoxizitätsstudien nach OECD-Prüfrichtlinie 414 vor. In diesen Studien an Ratten ergaben sich mit drei verschiedenen ultrafeinen Titandioxidpartikeln bzw. nanoskaliger amorpher Kieselsäure nach Verabreichung per Schlundsonde bis zur Limitdosis von 1000 mg/kg KG und Tag keine maternal- und entwicklungstoxischen Effekte (Hofmann et al. 2015; Warheit et al. 2015; [Tabelle 9](#)). Die Größe der Primärpartikel aller drei untersuchten Titandioxidfraktionen (42 bis 47 nm) sowie die Form der Primärpartikel einer Titandioxidfraktion

(stäbchenförmig) sind ähnlich der des Pigmentes Yellow 83 „transparent“ (mediane Größe: 37,0 nm; Bereich: 19,7 bis 63,8 nm; vgl. [Abschnitt 3.1](#)).

**Fazit:** Untersuchungen mit Nanopartikeln anderer Substanzen nach OECD-Prüfrichtlinie 414 zeigen keine entwicklungstoxische Wirkung.

**Tab. 9** Entwicklungstoxizitätsstudien mit Nanomaterialien nach OECD-Prüfrichtlinie 414

Stoff	Spezies	Exposition	Befunde	Literatur
<b>Titandioxid:</b> <ul style="list-style-type: none"> <li>uf-1: 89 % Anatas u. 11 % Rutil, Größe: 43 nm, Form: unregelmäßig, Agglomerations-Index (10 mg/ml; 200 mg/ml): 42; 41</li> <li>uf-2: 100 % Anatas, Größe: 42 nm, Form: unregelmäßig, Agglomerations-Index: 9,5; 6,2</li> <li>uf-3: 100 % Rutil, Größe: 47 nm, Form: stäbchenförmig, Agglomerations-Index: 52; 53</li> </ul>	<b>Ratte,</b> Wistar bzw. CrI:CD(SD), je 22 ♀	GD 5–19 (Wistar), GD 6–20 (SD), OECD-Prüfrichtlinie 414, 0, 100, 300, 1000 mg/kg KG u. Tag, Schlundsonde, Vehikel: steriles Wasser, Untersuchung GD 21	<b>1000 mg/kg KG: NOAEL</b> Maternal- u. Entwicklungstoxizität; keine statistisch signifikanten Effekte bei allen Dosierungen, keine Teratogenität, aus anderen Studien an Ratten geringe od. keine Aufnahme von TiO <sub>2</sub> aus Gastrointestinaltrakt	Warheit et al. 2015
<b>synthetische amorphe Kieselsäure:</b> 96,5 % Siliziumdioxid, Größe der Primärpartikel: 10–25 nm, Zugabe 10 % fetales Kälberserum zur Verhinderung der Agglomeration, gemessene Partikel: 40–3000 nm (Agglomerate)	<b>Ratte,</b> Wistar (CrI:WI[Han]), je 25 ♀	GD 6–19, OECD-Prüfrichtlinie 414, 0, 100, 300, 1000 mg/kg KG u. Tag, Schlundsonde, Vehikel: stark entionisiertes Wasser, Untersuchung GD 20	<b>1000 mg/kg KG: NOAEL</b> Maternal- u. Entwicklungstoxizität; keine statistisch signifikanten Effekte bei allen Dosierungen, keine Teratogenität, aus Kinetikstudie an Ratten nach einmaliger oraler Gabe von 500 od. 1000 mg kolloidaler SiO <sub>2</sub> -Partikel/kg KG u. Tag: orale Resorption 6,6–9,7%	Hofmann et al. 2015

Agglomerations-Index: je höher, desto agglomerierter; GD: Trächtigkeitstag

## 5.6 Genotoxizität

### 5.6.1 In vitro

Die Untersuchungen sind in der [Tabelle 10](#) dargestellt. Die Pigmente Yellow 12, 13 und 83 führten weder in An- noch in Abwesenheit eines metabolischen Aktivierungssystems aus Lebern von Hamstern oder Ratten zu Mutationen in den Salmonella-typhimurium-Stämmen TA98, TA100, TA102, TA1535 und TA1537 oder in E. coli. Auch in der speziell für Azofarbstoffe eingesetzten Prival-Modifikation waren diese Untersuchungen negativ. Pigment Yellow 12 führte in frisch isolierten Rattenhepatozyten im Comet-Assay zu einem Anstieg der DNA-Strangbrüche bei 20 µg/ml. Pigment Yellow 12 und Pigment Yellow 83 induzierten keine Chromosomenaberrationen in CHO-Zellen. Allerdings fehlen Angaben zur Zytotoxizität. Pigment Yellow 12, Pigment Yellow 13 und Pigment Yellow 83 waren negativ im TK<sup>+/-</sup>-Mutationstest in Maus-Lymphomzellen. Auch in dieser Untersuchung fehlen Angaben zur Zytotoxizität (ECHA 2017 a, b, c; NICNAS 2017; OECD 2003). Es wurde vermutet, dass bei der Comet-Assay-Untersuchung die Farbpartikel in der Hepatozytenlösung das Ergebnis beeinflussen könnten. Zusätzlich war das Testverfahren noch nicht ausführlich validiert, weswegen das Ergebnis der Untersuchung nur eingeschränkt zur Bewertung heranzuziehen ist (OECD 2003).

**Tab. 10** Genotoxizität von Pigment Yellow 12, 13 und 83 in vitro

Endpunkt	Testsystem	Konzentration [ $\mu\text{g}/\text{Platte}$ ] <sup>a)</sup>	wirksame Konz. <sup>a)</sup>	Zytotox. <sup>a)</sup>	Ergebnis		Literatur
					-m. A.	+m. A.	
Genmutation	<b>Pigment Yellow 12</b> S. typhimurium TA98, TA100, TA1535, TA1537	0, 100, 333, 1000, 10000 -, + S9 aus Aroclor-behandelter Ratten- u. Hamsterleber	-	-	-	-	ECHA 2017 a; Zeiger et al. 1987
	<b>Pigment Yellow 12</b> S. typhimurium TA98, TA100, TA1535, TA1537, Prival-Modifikation	0, 3–5000 -, + S9 aus nicht behandelter Hamsterleber; ab 1000 Präzipitation, aber Auszählung möglich	-	-	-	-	ECHA 2017 a
	<b>Pigment Yellow 12</b> S. typhimurium TA98, TA100, TA1535, TA1537, TA1538	0, 8–5000 oder 4–2500 -, + S9 aus nicht behandelter Rattenleber	-	-	-	-	Hoechst AG 1981 a, b, c, 1982 g
	<b>Pigment Yellow 12</b> S. typhimurium TA98, TA100, TA1535, TA1537, Prival-Modifikation	0, 3–5000 -, + S9 aus nicht behandelter Hamsterleber; ab 1000 Präzipitation, aber Auszählung möglich	-	-	-	-	ECHA 2017 a
	<b>Pigment Yellow 12</b> S. typhimurium TA98, TA100, TA102, TA1535, TA1537, Prival-Modifikation	0, 50–5000 -, + S9 aus nicht behandelter Rattenleber; Präzipitation, aber Auszählung möglich	-	-	-	-	ECHA 2017 a
	<b>Pigment Yellow 12</b> E. coli WP2 uvr A, Prival-Modifikation	0, 3–5000 -, + S9 aus nicht behandelter Hamsterleber; ab 1000 Präzipitation, aber Auszählung möglich	-	-	-	-	ECHA 2017 a
	<b>Pigment Yellow 12</b> E. coli WP2 uvr A	0, 8–5000 oder 4–2500 -, + S9 aus nicht behandelter Rattenleber	-	-	-	-	Hoechst AG 1981 a, b, c
	<b>Pigment Yellow 12</b> E. coli WP2 uvr A, Prival-Modifikation	0, 3–5000 -, + S9 aus nicht behandelter Hamsterleber; ab 1000 Präzipitation, aber Auszählung möglich	-	-	-	-	ECHA 2017 a
	<b>Pigment Yellow 13</b> S. typhimurium TA98, TA100, TA1535, TA1537	0, 100, 333, 1000, 10000 -, + S9 aus Aroclor-behandelter Ratten- u. Hamsterleber	-	-	-	-	ECHA 2017 b; Zeiger et al. 1987
	<b>Pigment Yellow 13</b> S. typhimurium TA98, TA100, TA1535, TA1537, TA1538	0, 4–2500 -, + S9 aus nicht behandelter Rattenleber	-	-	-	-	Hoechst AG 1982 f
	<b>Pigment Yellow 13</b> S. typhimurium TA98, TA100, TA1535, TA1537, Prival-Modifikation	0, 3–5000 -, + S9 aus nicht behandelter Hamsterleber	-	-	-	-	ECHA 2017 b
	<b>Pigment Yellow 13</b> E. coli WP2 uvr A, Prival-Modifikation	0, 3–5000 -, + S9 aus nicht behandelter Hamsterleber	-	-	-	-	ECHA 2017 b
	<b>Pigment Yellow 13</b> E. coli WP2 uvr A	0, 4–2500 -, + S9 aus nicht behandelter Rattenleber	-	-	-	-	Hoechst AG 1982 f



Tab. 10 (Fortsetzung)

Endpunkt	Testsystem	Konzentration [ $\mu\text{g}/\text{Platte}$ ] <sup>a)</sup>	wirksame Konz. <sup>a)</sup>	Zytotox. <sup>a)</sup>	Ergebnis		Literatur
					-m. A.	+m. A.	
	<b>Pigment Yellow 83</b> S. typhimurium TA98, TA100, TA1535, TA1537	0, 50–5000 –, + S9 aus Aroclor-behandelter Ratten- u. Hamsterleber; Präzipitation, aber Auszählung möglich	–	–	–	–	ECHA 2017 c
	<b>Pigment Yellow 83</b> S. typhimurium TA98, TA100, TA1535, TA1537	0, 100, 333, 1000, 10000 –, + S9 aus Aroclor-behandelter Ratten- u. Hamsterleber; Präzipitation bei allen Konz., aber Auszählung möglich	–	–	–	–	ECHA 2017 c; Haworth et al. 1983; Zeiger et al. 1987
	<b>Pigment Yellow 83</b> S. typhimurium TA98, TA100, TA1535, TA1537	0, 3–5000 –, + S9 aus nicht behandelte Hamsterleber oder behandelte Rattenleber; ab 1000 Präzipitation, aber Auszählung möglich	–	–	–	–	ECHA 2017 c
	<b>Pigment Yellow 83</b> S. typhimurium TA98, TA100, TA1535, TA1537, TA1538	0, 8–5000 –, + S9 aus nicht behandelte Rattenleber	–	–	–	–	Hoechst AG 1981 b
	<b>Pigment Yellow 83</b> S. typhimurium TA98, TA100, TA1535, TA1537, Prival-Modifikation	0, 3–5000 –, + S9 aus nicht behandelte Hamsterleber oder behandelte Rattenleber; ab 333 Präzipitation, aber Auszählung möglich	–	TA1535 +m. A.: 5000, TA1537 +m. A.: 1000	–	–	ECHA 2017 c
	<b>Pigment Yellow 83</b> E. coli WP2 uvr A	0, 3–5000 –, + S9 aus nicht behandelte Hamsterleber oder behandelte Rattenleber; ab 1000 Präzipitation, aber Auszählung möglich	–	–	–	–	ECHA 2017 c
	<b>Pigment Yellow 83</b> E. coli WP2 uvr A	0, 8–5000 –, + S9 aus nicht behandelte Rattenleber	–	–	–	–	Hoechst AG 1981 b
	<b>Pigment Yellow 83</b> E. coli WP2 uvr A Prival-Modifikation	0, 3–5000 –, + S9 aus nicht behandelte Hamsterleber oder behandelte Rattenleber; ab 333 Präzipitation, aber Auszählung möglich	–	–	–	–	ECHA 2017 c
DNA- Strangbrüche (Comet-Assay)	<b>Pigment Yellow 12</b> Rattenhepatozyten	0, 10, 20 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 40 min Inkubation	20 $\mu\text{g}/\text{ml}$	–	n. d.	+ bei 20 $\mu\text{g}/\text{ml}$	Møller 2001; Møller et al. 1998
Chromo- somenaberra- tionen	<b>Pigment Yellow 12</b> CHO-Zellen	0; 1,6–50 $\mu\text{g}/\text{ml}$	–	k. A.	–	–	ECHA 2017 a
	<b>Pigment Yellow 83</b> CHO-Zellen	–m. A.: 0; 1,6–160 $\mu\text{g}/\text{ml}$ +m. A.: 0; 0,5–50 $\mu\text{g}/\text{ml}$ –, + S9 aus Aroclor-behandelter ♂ Rattenleber, –m. A. 8–12 h, +m. A. 2 h Exposition, 10 h Wachstum, 2 h Selektion, 12 h Fixierung	–	k. A.	–	–	ECHA 2017 c

Tab. 10 (Fortsetzung)

Endpunkt	Testsystem	Konzentration [ $\mu\text{g}/\text{Platte}$ ] <sup>a)</sup>	wirksame Konz. <sup>a)</sup>	Zytotox. <sup>a)</sup>	Ergebnis		Literatur
					-m. A.	+m. A.	
Genmutation in Säugerzellen	<b>Pigment Yellow 12</b> TK <sup>+/-</sup> , Maus-Lymphomzellen L5178Y	-m. A.: 0; 0,0312–0,5 $\mu\text{g}/\text{ml}$ +m. A.: 0; 0,1–0,5 $\mu\text{g}/\text{ml}$ S9 aus Rattenleber –, + Aroclor-Behandlung, 4 h Exposition, 48 h Wachstum, 10–12 d Selektion	–	–	–	–	ECHA 2017 a
	<b>Pigment Yellow 12</b> TK <sup>+/-</sup> , Maus-Lymphomzellen L5178Y	0; 62,5–1000 $\mu\text{g}/\text{ml}$ –, + S9 aus Aroclor-behandelter Rattenleber; ab 62,5 Präzipitation, aber Auswertung möglich	–	–	–	–	ECHA 2017 a
	<b>Pigment Yellow 13</b> TK <sup>+/-</sup> , Maus-Lymphomzellen L5178Y	-m. A.: 0; 0,0312–0,5 $\mu\text{g}/\text{ml}$ +m. A.: 0; 0,1–0,5 $\mu\text{g}/\text{ml}$ S9 aus Aroclor-behandelter Rattenleber, 4 h Exposition, 48 h Wachstum, 10–12 d Selektion	–	–	–	–	ECHA 2017 b
	<b>Pigment Yellow 13</b> TK <sup>+/-</sup> , Maus-Lymphomzellen L5178Y	0; 62,5–1000 $\mu\text{g}/\text{ml}$ –, + S9 aus Aroclor-behandelter Rattenleber; ab 62,5 Präzipitation, aber Auswertung möglich; 3 h Exposition, 24 h Wachstum, 10–14 d Selektion	–	–	–	–	ECHA 2017 b
	<b>Pigment Yellow 83</b> TK <sup>+/-</sup> , Maus-Lymphomzellen L5178Y	-m. A.: 0; 0,0312–0,5 $\mu\text{g}/\text{ml}$ +m. A.: 0; 0,1–0,5 $\mu\text{g}/\text{ml}$ S9 aus Aroclor-behandelter Rattenleber, 4 h Exposition, 48 h Wachstum, 10–12 d Selektion	–	–	–	–	ECHA 2017 c
	<b>Pigment Yellow 83</b> TK <sup>+/-</sup> , Maus-Lymphomzellen L5178Y	0; 62,5–1000 $\mu\text{g}/\text{l}$ –, + S9 aus Aroclor-behandelter Rattenleber; ab 62,5 Präzipitation, aber Auswertung möglich; 3 h Exposition, 24 h Wachstum, 10–14 d Selektion	–	–	–	–	ECHA 2017 c

<sup>a)</sup> wenn nicht anders angegeben bezieht sich die Angabe auf  $\mu\text{g}/\text{Platte}$

k. A.: keine Angabe; Konz.: Konzentration; –m. A.: ohne Zugabe eines metabolischen Aktivierungssystems; +m. A.: mit Zugabe eines metabolischen Aktivierungssystems; n. d.: nicht durchgeführt; Zytotox.: Zytotoxizität

## 5.6.2 In vivo

### Pigment Yellow 12

In einer nicht gut dokumentierten Untersuchung traten keine Schwesterchromatid-Austausche im Knochenmark bei je fünf oder sechs männlichen Balb-c-Mäusen nach einmaliger intraperitonealer Gabe von 5, 10, 50, 100, 200 oder 400 mg Pigment Yellow 12 oder Pigment Yellow 83/kg KG auf. Es fehlen Angaben zur Reinheit der Substanz und Lösungsmittelkontrolle (DMSO). Eine Negativkontrolle wurde nicht mitgeführt, die Positivkontrolle zeigte die erwartete Wirkung. Ausgewertet wurden pro Tier nur 20 statt 50 Metaphasen (ECHA 2017 a).

In einem Mikronukleustest mit je fünf männlichen und weiblichen ICR-Mäusen aus dem Jahr 1994 nach OECD-Prüfrichtlinie 474 wurden einmalig intraperitoneal 1250, 2500 oder 5000 mg Pigment Yellow 12/kg KG verabreicht und die Tiere nach 24 Stunden und bei der höchsten Dosis auch nach 48 und 72 Stunden untersucht. Es wurden jedoch jeweils nur 1000 statt 2000 Zellen ausgewertet. Es traten Anzeichen von klinischer Toxizität in Form von gekrümmter Haltung und Lethargie, jedoch keine erhöhten Mikronukleusinzidenzen im Knochenmark auf. Auch das Verhältnis von PCE

zu NCE unterschied sich nicht statistisch signifikant zwischen den Kontrolltieren und den exponierten Tieren (ECHA 2017 a). Es ist unklar, ob die Substanz das Knochenmark erreicht hat.

### **Pigment Yellow 13**

Ein In-vivo-Mikronukleustest nach OECD-Prüfrichtlinie 474 im Knochenmark von je fünf männlichen und weiblichen ICR-Mäusen war nach einmaliger intraperitonealer Gabe von 1250, 2500 oder 5000 mg Pigment Yellow 13/kg KG und Untersuchungen nach 24, 48 oder 72 Stunden negativ. Pro Tier wurden jedoch nur 1000 statt 2000 unreife Erythrozyten ausgewertet und Aussagen zur Zytotoxizität fehlen (ECHA 2017 b). Es ist unklar, ob die Substanz das Knochenmark erreicht hat.

### **Pigment Yellow 83**

In einem Mikronukleustest im Knochenmark von je fünf männlichen und weiblichen ICR-Mäusen aus dem Jahr 1994 nach OECD-Prüfrichtlinie 474 wurden einmalig intraperitoneal 1250, 2500 oder 5000 mg Pigment Yellow 83/kg KG verabreicht. Die Tiere wurden nach 24 Stunden und bei der höchsten Dosis auch nach 48 und 72 Stunden untersucht. Es wurden jeweils nur 1000 statt 2000 Zellen ausgewertet und Angaben zur Zytotoxizität fehlen. Es traten keine erhöhten Mikronukleusinzidenzen auf. Bei 5000 mg/kg KG zeigte ein Tier eine gekrümmte Haltung und ein Tier Lethargie, weitere Anzeichen von Toxizität wurden nicht beobachtet. Auch das Verhältnis von PCE zu NCE unterschied sich nicht statistisch signifikant zwischen den Kontrolltieren und den exponierten Tieren (ECHA 2017 c). Es ist unklar, ob die Substanz das Knochenmark erreicht hat.

**Fazit:** Die Pigmente Yellow 12, 13 und 83 führen bei intraperitonealer Gabe nicht zu Mikronuklei in Erythrozyten von Mäusen. Es ist unklar, ob die Substanzen das Knochenmark erreicht haben.

## **5.7 Kanzerogenität**

### **5.7.1 Oral**

In einer Kanzerogenitätsstudie erhielten je 50 männliche bzw. weibliche NMRI-Mäuse oder männliche bzw. weibliche Sprague-Dawley-Ratten über einen Zeitraum von 104 Wochen 0, 1000, 3000 oder 9000 mg Pigment Yellow 12 oder Pigment Yellow 83/kg Futter als Partikel mit einer Größe von 0,1 bis 1 µm. Eine weitere Gruppe erhielt Pigment Yellow 83, dem 20 mg 3,3'-Dichlorbenzidin/kg zugesetzt wurden. Die Dosierungen entsprechen im Mittel für Mäuse 0, 215, 650, 1960 mg/kg KG und Tag und für Ratten 0, 68, 205, 630 mg/kg KG und Tag. Die Dosierungen an 3,3'-Dichlorbenzidin, die aus dem mit 3,3'-Dichlorbenzidin versetzten Pigment Yellow 83 aufgenommen wurden, betragen für Mäuse maximal 0,04 und für Ratten 0,01 mg/kg KG und Tag. In keiner Studie wurden erhöhte Tumorinzidenzen oder Anzeichen von Toxizität beobachtet (Leuschner 1978).

Eine Kanzerogenitätsstudie mit Ratten und Mäusen wurde bis zur höchsten von der Prüfrichtlinie vorgesehenen Dosis von 5 % im Futter durchgeführt (dies entspricht 50 000 mg Pigment Yellow 12/kg Futter. Je 50 männliche und weibliche Ratten bzw. Mäuse erhielten 78 Wochen lang Futter mit 25 000 oder 50 000 mg Pigment Yellow 12/kg (0, 1250 bzw. 3750 oder 2500 bzw. 7500 mg Pigment Yellow 12/kg KG und Tag; siehe [Abschnitt 5.2.2](#)) und wurden weitere 28 Wochen (Ratten) oder 19 Wochen (Mäuse) lang nachbeobachtet. Es traten keine lokalen oder systemischen Wirkungen und keine erhöhten Tumorinzidenzen auf (NTP 1978).

#### **5.7.1.1 3,3'-Dichlorbenzidin**

Mit 3,3'-Dichlorbenzidin liegen Langzeitstudien mit Studienberichten aus den Jahren 1959 bis 1978 vor, in denen oft nur eine Dosis eingesetzt worden ist. Dabei traten bei verschiedenen Spezies und in unterschiedlichen Studien verschiedene Tumorlokalisationen auf (siehe [Tabelle 11](#)) (Henschler 1992; NTP 1990), die nach oraler Gabe der Pigmente nicht beobachtet worden sind.

**Tab. 11** Kanzerogenitätsstudien mit 3,3'-Dichlorbenzidin (Henschler 1992)

Spezies, Anzahl pro Gruppe, Applikationsweg, Dosis	Tumorinzidenzen exponierter Tiere (Kontrolltiere)
<b>CD-Ratten</b> , je 50 ♂ u. ♀, <b>oral</b> , 0, 1000 mg/kg Futter (ca. 50 mg/kg KG u. Tag)	Adenokarzinom Mamma ♂: 7/44 (0/44), ♀: 26/44 (3/44); Fibroadenom Mamma ♂: 4/44 (1/44), ♀: 7/44 (17/44); granulozytäre Leukämie ♂: 9/44 (2/44), ♀: 0/44 (0/44); Zymbaldrüsenkarzinom ♂: 8/44 (0/44), ♀: 1/44 (0/44)
<b>Ratten</b> , 35 ♂ u. 15 ♀ (Kontrolle 130), 10–20 mg/Tag, <b>oral</b> (Paste)	Zymbaldrüse 7/29 (0); Brustdrüse 7/29 (0); Haut 3/29 (0); Harnblase 3/29 (0); blutbildende Organe 3/29 (0); Bindegewebe 2/29 (0); Ileum 2/29 (0); Speicheldrüse 2/29 (0), k. w. A.
<b>Ratten</b> , 20 ♀ (Kontrolle 140 ♀), 30 mg DCB-Dihydrochlorid/Tag, <b>oral</b> (Schlundsonde), 10 mal jeden 3. Tag, 1 Monat Applikation, 9 Monate Nachbeobachtung	14 überlebende Tiere; Mamma 0/20 (3/132), k. w. A.
<b>Mäuse</b> , 51 ♂ u. 22 ♀, insgesamt 127–135 mg/Tier; <b>oral</b> mit dem Futter, 10 Monate	Leber 4, Lunge 1, k. w. A.
<b>Mäuse</b> , 18 Tiere, 12 Monate, <b>oral</b> , 0,1% im Futter	alle 18 Tiere im Durchschnitt 18 Hepatome/Tier (2/21 Kontrolltieren je 2 Hepatome), k. w. A.
<b>Beagle Hunde</b> , 6 ♀ (Kontrolle 6), <b>oral</b> (Kapsel), 100 mg 3 × pro Woche bzw. 5 × pro Woche (9,1–12,8 mg/kg KG/ Dosisgabe)	7 Jahre: Übergangszellkarzinom Harnblase 4/4 (0/6), hepatozelluläres Karzinom 3/4 (0/6), Adenokarzinom und Karzinosarkom Mamma 0/4 (4/6), k. w. A.
<b>Ratten</b> , 36 ♂ u. 25 ♀ (Kontrolle 130), <b>subkutan</b> (Paste), 0, 20–120 mg/Tier u. Woche, 6 Monate, dann 20 mg/ Tier/Woche, Gesamtdosis 1620–3000 mg/Tier	Zymbaldrüse 10/35 (0); Applikationsstelle 7/35 (0); Brustdrüse 6/35 (0); Haut 5/35 (0); Bindegewebe 2/35 (0); blutbildende Organe 2/35 (0); Speicheldrüse 1/35 (0), k. w. A.
<b>Mäuse</b> 36 ♂ u. 31 ♀, <b>subkutan</b> , 130 mg/Tier; 8 ♂ u. 15 ♀, 130, 265 mg/Tier, k. w. A.	<b>130 mg/Tier</b> : Applikationsstelle 1, Leber 5, Lunge 2, k. w. A.; <b>265 mg/Tier</b> : Applikationsstelle 2, Leber 3, Lunge 1, k. w. A.

DCB: 3,3'-Dichlorbenzidin

## 5.7.2 Inhalation

Es liegen keine Kanzerogenitätsstudien mit inhalativer Exposition vor. Da es sich bei Pigment Yellow 12, 13 und 83 jedoch um wasserunlösliche Pigmente handelt, die nicht resorbiert werden, kann eine lokale Partikelwirkung am Atemtrakt nicht ausgeschlossen werden. Hinweise darauf liefert eine 21-Tage-Inhalationsstudie, in der es zu lokalen Befunden in der Lunge kam (siehe [Abschnitt 5.2.1](#)).

## 6 Bewertung

Je nach Anwendungszweck variiert die Partikelgrößenverteilung von Pigment Yellow 12, 13 und 83 und kann bis in den ultrafeinen Partikelbereich von unter 100 nm gehen (Schmidt et al. 2007). Partikel, die kleiner als 100 nm sind, werden im technischen Umfeld als Nanopartikel bezeichnet. Nach Herstellerangaben liegen die d50-Werte für Pigment Yellow 12 und 13 im Bereich von 15 bis 100 nm, der d50-Wert für Pigment Yellow 83 bei 15 bis 250 nm (Verband der Mineralfarbenindustrie e.V. 2019). In den meisten Studienbeschreibungen fehlen jedoch Angaben zur Partikelgrößenverteilung sowie dem daraus resultierenden Agglomerationsverhalten.

Kritischer Effekt ist eine lokale Wirkung am Atemtrakt bei langfristiger inhalativer Exposition gegen Stäube der wasserunlöslichen Pigmente Yellow 12, 13 und 83.

**MAK-Wert.** Die Pigmente Yellow 12, 13 und 83 sind unlöslich in Wasser und phagolysosomaler Lösung, also dem intrazellulären Milieu in der Lunge. Daher liegt keine Bioverfügbarkeit vor, sodass bei Inhalation ein Partikeleffekt in der Lunge zu erwarten ist.

Bei 21-tägiger inhalativer Exposition gegen ein Pigment Yellow 13 traten z. T. ähnliche Befunde auf, wie sie als charakteristisch für eine Überlastung der Lunge z. B. durch granuläre, biobeständige Stäube beschrieben werden (Hartwig 2012). Eine Langzeit-Inhalationsstudie mit den Pigmenten fehlt. Bei längerfristiger Expositionszeit ist bei Konzentra-

tionen, die die Lungenclearance überlasten, eine entzündungsbedingte kanzerogene Wirkung durch die Partikel zu erwarten. Daher wird für diese Pigmente der Allgemeine Staubgrenzwert angewendet und, da diese Pigmente auch in Nanogrößen und entsprechenden Agglomeraten vorkommen, um die Agglomeratdichte korrigiert.

Im Rahmen der Löslichkeitstests in phagolysosomaler Lösung sind auch transmissions-elektronenmikroskopische Messungen mit zwei Pigment Yellow 83-Zubereitungen durchgeführt worden. Dabei zeigte sich, dass es sich um stäbchenförmige Partikel handelt, die z. T. einen Querschnittsdurchmesser im nm-Bereich haben und als Agglomerate vorliegen. Die ebene, glatte Oberflächenmorphologie ist auch im Anschluss an die Löslichkeitstests nicht verändert und ist ein Indiz für die Beständigkeit der Partikeloberfläche. Die nano- und mikroskaligen Pigmente unterscheiden sich diesbezüglich nicht (BASF SE 2019 b). Zu berücksichtigen ist jedoch das erhöhte Agglomerationsverhalten der ultrafeinen Partikel und damit die Agglomeratdichte für die Grenzwertableitung (Hartwig 2012). Der bei den granulären biobeständigen mikrometergroßen Stäuben auf die Materialdichte  $1\text{ g/cm}^3$  bezogene Grenzwert wird daher für die als Agglomerate von ultrafeinen Partikeln vorkommenden Pigmente Yellow 12, 13 und 83 auf die Agglomeratdichte bezogen: Unter der Annahme einer minimalsten Raumerfüllung von 50 % des Volumens einer Agglomerat-Einheit (d. h. 50 % des Agglomerat-Volumens sind durch Partikel ausgefüllt), ist die Agglomeratdichte die Hälfte der Materialdichte, sodass sich der MAK-Wert mit  $0,3\text{ mg/m}^3 \times (\text{Materialdichte des Pigmentes} \times 0,5)$  errechnet.

Bei der Dichte von 1,39; 1,36 bzw.  $1,5\text{ g/cm}^3$  der Pigmente Yellow 12, 13 oder 83,  $10\text{ m}^3$  Atemvolumen pro Arbeitstag und 100 % inhalativer Deposition der A-Fraktion bedeutet dies eine Belastung der Lunge mit 2,1; 2,05 bzw. 2,25 mg des entsprechenden Pigmentes pro Tag.

**Spitzenbegrenzung.** Wie bei den granulären biobeständigen Stäuben erfolgt eine Einstufung in Spitzenbegrenzungskategorie II mit einem Überschreitungsfaktor von 8.

**Krebserzeugende Wirkung.** Die wasserunlöslichen Pigmente Yellow 12, 13 und 83 wurden oral und intratracheal nicht resorbiert, systemisch nicht gespalten und waren negativ in oralen Kanzerogenitätsstudien an zwei Ratten- und zwei Mäusestämmen. Eine kanzerogene Wirkung durch die Metabolisierung zu 3,3'-Dichlorbenzidin ist nicht zu erwarten (siehe Abschnitt 3).

In zwei 21-Tage-Inhalationsstudien mit Pigment Yellow 13 und zwei 5-Tage-Inhalationsstudien mit Pigment Yellow 83 zeigten sich Befunde in der Lunge, die denen ähnlich waren, wie sie als charakteristisch für granuläre biobeständige Stäube beschrieben werden (Hartwig 2012). Eine Langzeitinhalationsstudie fehlt. Es ist bei den drei hier bewerteten Pigmenten aufgrund der Unlöslichkeit in Wasser zu erwarten, dass es bei hoher Pigmentpartikel-Last über eine lange Zeitdauer zu einer entzündungsbedingten kanzerogenen Wirkung am Atemtrakt kommt, wie dies für andere granuläre biobeständige Stäube bei Ratten nachgewiesen ist. Daher erfolgt in Analogie zu diesen Stäuben eine Einstufung von Pigment Yellow 12, Pigment Yellow 13 und Pigment Yellow 83 in die Kategorie 4 für Kanzerogene.

#### Dosisvergleich mit 3,3'-Dichlorbenzidin

In einer Veröffentlichung wird vermutet, dass von Ratten bei intratrachealer Applikation von Pigment Yellow 83 pro 24 Stunden maximal 0,005 Mol% zu 3,3'-Dichlorbenzidin metabolisiert werden könnten (20 mg Pigment Yellow 83 appliziert = 24 400 nmol Pigment Yellow 83; Ausscheidung mit dem Urin = maximal 8,8 ng 3,3'-Dichlorbenzidin (BAuA 2001)). Diese Untersuchung wurde durch spätere Untersuchungen zur Bioverfügbarkeit widerlegt, es erfolgt keine Metabolisierung. Dennoch wird für die oben genannte Dosis eine Vergleichsbetrachtung angestellt. Da bei intratrachealer Applikation von 3,3'-Dichlorbenzidin nur 3 % als 3,3'-Dichlorbenzidin mit dem Urin ausgeschieden werden, entsprechen 8,8 ng im Urin einer Bildung von 293 ng 3,3'-Dichlorbenzidin bei intratrachealer Applikation von Pigment Yellow 83 = 1,2 nmol = 0,005 Mol%. Wird angenommen, dass dies beim Menschen ebenfalls zutrifft, würden bei Ausschöpfung des MAK-Wertes (maximale Aufnahme 2,25 mg Pigment Yellow 83) ca. 35 ng 3,3'-Dichlorbenzidin (3,3'-Dichlorbenzidin Molmasse: 253 g/mol, Pigment Yellow 83: 818 g/mol) entstehen, also bei 70 kg Körpergewicht 0,5 ng 3,3'-Dichlorbenzidin/kg KG. Eine 20 000-fach so hohe Dosis von 10 000 ng 3,3'-Dichlorbenzidin/kg KG und Tag als Verunreinigung in Pigment Yellow 83 hat bei Ratten nicht zu Tumoren geführt (Leuschner 1978), wobei hier eine etwaige metabolische Bildung von 3,3'-Dichlorbenzidin aus Pigment Yellow 83 nicht berücksichtigt ist (diese wäre etwa 10 000 ng/kg KG, in Summe also 30 000-fache Dosis 3,3'-Dichlorbenzidin). Eine kanzerogene Wirkung durch eine

Metabolisierung zu 3,3'-Dichlorbenzidin, die in vielen Untersuchungen nicht nachweisbar war (siehe [Abschnitt 3](#)), ist somit nicht anzunehmen.

**Keimzellmutagene Wirkung.** Es liegen keine In-vivo-Studien an Keimzellen vor. Die Untersuchungen zur Mutagenität in vitro waren ebenso negativ wie Mikronukleustests in vivo im Knochenmark von Mäusen nach intraperitonealer Gabe. Es ist jedoch unklar, ob das Knochenmark erreicht wurde. Wegen der negativen Untersuchungen zur Genotoxizität in vitro und in vivo und einer fehlenden Bioverfügbarkeit erfolgt keine Einstufung der Pigmente Yellow 12, 13 und 83 in eine der Kategorien für Keimzellmutagene.

**Fruchtschädigende Wirkung.** Für alle drei Pigmente Yellow liegen keine pränatalen Entwicklungstoxizitätsstudien vor. Aus einer Screening-Studie nach OECD-Prüfrichtlinie 422 ergibt sich ein NOAEL für maternale und perinatale Toxizität von 1000 mg Pigment Yellow 12/kg und Tag, der höchsten Dosis (NOTOX B.V. 2001).

Alle drei Pigmente sind unlöslich und nicht bioverfügbar.

Für mikroskalige Anteile, die analog zu den per definitionem nicht systemisch verfügbaren granulären biobeständigen Stäuben zählen, gilt formal die Zuordnung zur Schwangerschaftsgruppe C (Allgemeiner Staubgrenzwert (A-Fraktion) Granuläre biobeständige Stäube (GBS); Hartwig 2012).

Zur Berücksichtigung nanoskaliger Anteile (< 100 nm) werden zwei Studien nach OECD-Prüfrichtlinie 414 mit Titan-dioxid- und amorphen Kieselsäure-Nanopartikeln herangezogen. In beiden Studien an Ratten ergaben sich mit drei verschiedenen ultrafeinen Titandioxidpartikeln bzw. nanoskaliger amorpher Kieselsäure nach Verabreichung per Schlundsonde bis zur Limitdosis von 1000 mg/kg KG und Tag keine maternal- und entwicklungstoxischen Effekte (Hofmann et al. 2015; Warheit et al. 2015).

Damit werden Pigment Yellow 12, Pigment Yellow 13 und Pigment Yellow 83 der Schwangerschaftsgruppe C zugeordnet.

**Hautresorption.** Zur dermalen Resorption der Pigmente liegt nur eine tierexperimentelle Studie mit radioaktiv markiertem Pigment Yellow 12 an Ratten vor. Nach einem Tag okklusiver Applikation wurde keine Radioaktivität in systemischen Kompartimenten gefunden. Auch aufgrund der hohen Molmassen der Pigmente von über 600 Da ist eine relevante dermale Aufnahme der Stoffe nicht zu erwarten. Die Pigmente Yellow 12, 13 und 83 werden daher nicht mit „H“ markiert.

**Sensibilisierende Wirkung.** Zur hautsensibilisierenden Wirkung von Pigment Yellow 12, 13 und 83 liegen keine hinreichenden klinischen Befunde beim Menschen und nur negative Ergebnisse in Untersuchungen an Mäusen und Meerschweinchen vor. Befunde zur sensibilisierenden Wirkung an den Atemwegen liegen nicht vor. Pigment Yellow 12, 13 und 83 werden daher weder mit „Sh“ noch mit „Sa“ markiert.

## Anmerkungen

### Interessenkonflikte

Die in der Kommission etablierten Regelungen und Maßnahmen zur Vermeidung von Interessenkonflikten ([https://www.dfg.de/dfg\\_profil/gremien/senat/arbeitsstoffe/interessenkonflikte/index.html](https://www.dfg.de/dfg_profil/gremien/senat/arbeitsstoffe/interessenkonflikte/index.html)) stellen sicher, dass die Inhalte und Schlussfolgerungen der Publikation ausschließlich wissenschaftliche Aspekte berücksichtigen.

## Literatur

- BASF SE (2018) Pigment Yellow 83 transparent, short-term inhalation lung toxicity study in male Wistar rats, dust exposure with bronchoalveolar lavage, 3 week recovery period. Project No.: 34I0073/15I004, 18 Dec 2018, BASF SE Experimental Toxicology and Ecology, Ludwigshafen, unveröffentlicht
- BASF SE (2019 a) Pigment Yellow 83 opaque, short-term inhalation lung toxicity study in male Wistar rats, dust exposure with bronchoalveolar lavage, 3 week recovery period. Project No.: 34I0754/14I075, 11 Jul 2019, BASF SE Experimental Toxicology and Ecology, Ludwigshafen, unveröffentlicht
- BASF SE (2019 b) Static solubility and dissolution kinetics of selected diarylide pigments. Project No.: 34I0754/14I075, 29 Jul 2019, BASF Colors & Effects GmbH, Ludwigshafen, unveröffentlicht
- BAuA (Bundesanstalt für Arbeitsschutz und Arbeitsmedizin) (2001) Bioverfügbarkeit von Azopigmenten nach Aufnahme über die Atemwege. Fraunhofer-Institut für Toxikologie und Aerosolforschung, Abschlussbericht zum Forschungsvorhaben F1342. Forschungsvorhaben F1342, Jul 2001, BAuA, Dortmund, unveröffentlicht
- Ciba-Geigy (1979 a) Pigment Yellow 13 (TK 10'090) – 21 days aerosol inhalation toxicity study in rats. 21 Nov 1979, Ciba-Geigy Limited, Basel, unveröffentlicht
- Ciba-Geigy (1979 b) Pigment Yellow 13 (TK 10'683) – 21 days aerosol inhalation toxicity study in rats. 09 Nov 1979, Ciba-Geigy Limited, Basel, unveröffentlicht
- Decad GM, Snyder CD, Mitoma C (1983) Fate of water-insoluble and water-soluble dichlorobenzidine-based pigments in Fisher 344 rats. *J Toxicol Environ Health* 11(3): 455–465. DOI: <https://doi.org/10.1080/15287398309530358>
- DFG (Deutsche Forschungsgemeinschaft) (2019) MAK- und BAT-Werte-Liste 2019. Maximale Arbeitsplatzkonzentrationen und Biologische Arbeitsstofftoleranzwerte. Ständige Senatskommission zur Prüfung gesundheitsschädlicher Arbeitsstoffe, Mitteilung 55. Wiley-VCH, Weinheim. DOI: <https://doi.org/10.1002/9783527826155>
- ECHA (European Chemicals Agency) (2017 a) 2,2'-[(3,3'-Dichloro[1,1'-biphenyl]-4,4'-diyl)bis(azo)]bis[3-oxo-N-phenylbutyramide] (Yellow 12) (CAS Number 6358-85-6). Registration dossier. Joint submission, first publication 01 Sep 2011, last modification 15 Aug 2017. <https://echa.europa.eu/de/registration-dossier/-/registered-dossier/15824>, abgerufen am 11 Sep 2017
- ECHA (European Chemicals Agency) (2017 b) 2,2'-[(3,3'-Dichloro[1,1'-biphenyl]-4,4'-diyl)bis(azo)]bis[N-(2,4-dimethylphenyl)-3-oxobutyramide] (Yellow 13) (CAS Number 5102-83-0). Registration dossier. Joint submission, first publication 01 Sep 2011, last modification 26 Aug 2017. <https://echa.europa.eu/de/registration-dossier/-/registered-dossier/15893>, abgerufen am 08 Nov 2017
- ECHA (European Chemicals Agency) (2017 c) 2,2'-[(3,3'-Dichloro[1,1'-biphenyl]-4,4'-diyl)bis(azo)]bis[N-(4-chloro-2,5-dimethoxyphenyl)-3-oxobutyramide] (Yellow 83) (CAS Number 5567-15-7). Registration dossier. Joint submission, first publication 01 Sep 2011, last modification 01 Sep 2017. <https://echa.europa.eu/de/registration-dossier/-/registered-dossier/16028>, abgerufen am 18 Sep 2017
- ECHA (European Chemicals Agency) (2021 a) 2,2'-[(3,3'-Dichloro[1,1'-biphenyl]-4,4'-diyl)bis(azo)]bis[3-oxo-N-phenylbutyramide] (Yellow 12) (CAS Number 6358-85-6). Registration dossier. Joint submission, first publication 01 Sep 2011, last modification 12 Feb 2021. <https://echa.europa.eu/de/registration-dossier/-/registered-dossier/15824>, abgerufen am 07 Apr 2021
- ECHA (European Chemicals Agency) (2021 b) 2,2'-[(3,3'-Dichloro[1,1'-biphenyl]-4,4'-diyl)bis(azo)]bis[N-(2,4-dimethylphenyl)-3-oxobutyramide] (Yellow 13) (CAS Number 5102-83-0). Registration dossier. Joint submission, first publication 01 Sep 2011, last modification 25 Feb 2021. <https://echa.europa.eu/de/registration-dossier/-/registered-dossier/15893>, abgerufen am 07 Apr 2021
- ECHA (European Chemicals Agency) (2021 c) 2,2'-[(3,3'-Dichloro[1,1'-biphenyl]-4,4'-diyl)bis(azo)]bis[N-(4-chloro-2,5-dimethoxyphenyl)-3-oxobutyramide] (Yellow 83) (CAS Number 5567-15-7). Registration dossier. Joint submission, first publication 01 Sep 2011, last modification 26 Mar 2021. <https://echa.europa.eu/de/registration-dossier/-/registered-dossier/16028>, abgerufen am 07 Apr 2021
- EFSA (European Food Safety Authority) (2012) Guidance on selected default values to be used by the EFSA Scientific Committee, Scientific Panels and Units in the absence of actual measured data. *EFSA J* 10(3): 2579. DOI: <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2012.2579>
- Ema M, Kobayashi N, Naya M, Hanai S, Nakanishi J (2010) Reproductive and developmental toxicity studies of manufactured nanomaterials. *Reprod Toxicol* 30(3): 343–352. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.reprotox.2010.06.002>
- Ema M, Gamo M, Honda K (2016) Developmental toxicity of engineered nanomaterials in rodents. *Toxicol Appl Pharmacol* 299: 47–52. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.taap.2015.12.015>
- Hartwig A (Hrsg) (2012) Allgemeiner Staubgrenzwert (A-Fraktion) (Granuläre biobeständige Stäube (GBS)). In: *Gesundheitsschädliche Arbeitsstoffe, Toxikologisch-arbeitsmedizinische Begründung von MAK-Werten*, 53. Lieferung. Wiley-VCH, Weinheim. Auch erhältlich unter DOI: <https://doi.org/10.1002/3527600418.mb0230stwd0053>
- Haworth S, Lawlor T, Mortelmans K, Speck W, Zeiger E (1983) Salmonella mutagenicity test results for 250 chemicals. *Environ Mutagen* 5 Suppl 1: 1–142
- Henschler D (Hrsg) (1992) 3,3'-Dichlorbenzidin. In: *Gesundheitsschädliche Arbeitsstoffe, Toxikologisch-arbeitsmedizinische Begründung von MAK-Werten*, 18. Lieferung. VCH, Weinheim. Auch erhältlich unter DOI: <https://doi.org/10.1002/3527600418.mb9194d0018>
- Hoechst AG (1975 a) Akute orale Toxizität von Permanent Gelb DHG transp. 02CM83062 an weiblichen SPF-Wistar-Ratten. Bericht 161/75, 22 Mrz 1975, Hoechst AG Pharma Forschung, Frankfurt am Main, unveröffentlicht

- Hoechst AG (1975 b) Haut- und Schleimhautverträglichkeit von Permanent Gelb DHG transp. 02CM83062 an Kaninchen. Bericht 162/75, 21 Mrz 1975, Hoechst AG Pharma Forschung, Frankfurt am Main, unveröffentlicht
- Hoechst AG (1976 a) Akute orale Toxizität von Permanent Gelb DHG 25CM85238 an männlichen SPF-Wistar-Ratten. Bericht 166/76, 21 Apr 1976, Hoechst AG Pharma Forschung, Frankfurt am Main, unveröffentlicht
- Hoechst AG (1976 b) Akute orale Toxizität von Permanent Gelb DHG 25CM85238 an weiblichen SPF-Wistar-Ratten. Bericht 167/76, 21 Apr 1976, Hoechst AG Pharma Forschung, Frankfurt am Main, unveröffentlicht
- Hoechst AG (1976 c) Akute orale Toxizität von Permanent Gelb HR 02 CM 86999 an weiblichen SPF-Wistar-Ratten. Bericht 446/76, 01 Nov 1976, Hoechst AG Pharma Forschung, Frankfurt am Main, unveröffentlicht
- Hoechst AG (1976 d) Haut- und Schleimhautverträglichkeit von Permanent Gelb DHG 25CM85238 an Kaninchen. Bericht 168/76, 22 Apr 1976, Hoechst AG Pharma Forschung, Frankfurt am Main, unveröffentlicht
- Hoechst AG (1976 e) Haut- und Schleimhautverträglichkeit von Permanent Gelb HR 02 CM 86999 an Kaninchen. Hoechst. Bericht 447/76, 02 Nov 1976, Hoechst AG Pharma Forschung, Frankfurt am Main, unveröffentlicht
- Hoechst AG (1977 a) Akute orale Toxizität von Permanent Gelb HR 70 CM 92985 an weiblichen SPF-Wistar-Ratten. Bericht 413/77, 27 Apr 1977, Hoechst AG Pharma Forschung, Frankfurt am Main, unveröffentlicht
- Hoechst AG (1977 b) Akute orale Toxizität von Permanent GelbGR 01 CM 88330 an weiblichen SPF-Wistar-Ratten. Bericht 417/77, 27 Apr 1977, Hoechst AG Pharma Forschung, Frankfurt am Main, unveröffentlicht
- Hoechst AG (1977 c) Haut- und Schleimhautverträglichkeit von Permanent Gelb GR 01 CM 88330 an Kaninchen. Bericht 418/77, 27 Apr 1977, Hoechst AG Pharma Forschung, Frankfurt am Main, unveröffentlicht
- Hoechst AG (1977 d) Haut- und Schleimhautverträglichkeit von Permanent Gelb HR 70 CM 92985 an Kaninchen. Bericht 414/77, 27 Apr 1977, Hoechst AG Pharma Forschung, Frankfurt am Main, unveröffentlicht
- Hoechst AG (1980 a) Akute orale Toxizität von Imperon Gelb K-RN an weiblichen Ratten. Bericht 149/80, 03 Mrz 1980, Hoechst AG Pharma Forschung, Frankfurt am Main, unveröffentlicht
- Hoechst AG (1980 b) Haut- und Schleimhautverträglichkeit von Imperon Gelb K-RN an Kaninchen. Bericht 150/80, 03 Mrz 1980, Hoechst AG Pharma Forschung, Frankfurt am Main, unveröffentlicht
- Hoechst AG (1981 a) 636/80A Permanent Gelb DHG: Assessment of its mutagenicity potential in strains of Salmonella typhimurium and Escherichia coli. Bericht 430/81, 07 Jul 1981, Hoechst AG Pharma Forschung, Frankfurt am Main, unveröffentlicht
- Hoechst AG (1981 b) 637/80A Permanent Gelb HR 70 DHG: Assessment of its mutagenicity potential in strains of Salmonella typhimurium and Escherichia coli. Bericht 431/81, 06 Jul 1981, Hoechst AG Pharma Forschung, Frankfurt am Main, unveröffentlicht
- Hoechst AG (1981 c) 638/80A Permanent Gelb HR 70 RF: Assessment of its mutagenicity potential in strains of Salmonella typhimurium and Escherichia coli. Bericht 432/81 A, 06 Jul 1981, Hoechst AG Pharma Forschung, Frankfurt am Main, unveröffentlicht
- Hoechst AG (1982 a) Akute orale Toxizität von Permanent Gelb DHG N 20 an weiblichen Ratten. Bericht 234/82, 28 Apr 1982, Hoechst AG Pharma Forschung, Frankfurt am Main, unveröffentlicht
- Hoechst AG (1982 b) Akute orale Toxizität von Permanent Gelb GR 03 an weiblichen Ratten. Bericht 22/82, 28 Jan 1982, Hoechst AG Pharma Forschung, Frankfurt am Main, unveröffentlicht
- Hoechst AG (1982 c) Haut- und Schleimhautverträglichkeit von Permanent Gelb DHG N 20 an Kaninchen. Bericht 237/82, 03 Mai 1982, Hoechst AG Pharma Forschung, Frankfurt am Main, unveröffentlicht
- Hoechst AG (1982 d) Haut- und Schleimhautverträglichkeit von Permanent Gelb DHG N 21 an Kaninchen. Bericht 267/82, 06 Mai 1982, Hoechst AG Pharma Forschung, Frankfurt am Main, unveröffentlicht
- Hoechst AG (1982 e) Haut- und Schleimhautverträglichkeit von Permanent Gelb GR 03 an Kaninchen. Bericht 23/82, 28 Jan 1982, Hoechst AG Pharma Forschung, Frankfurt am Main, unveröffentlicht
- Hoechst AG (1982 f) Study of the mutagenic potential of the compound Permanent Gelb DGR in strains of Salmonella typhimurium (Ames test) and Escherichia coli. Bericht 673/82, 25 Oct 1982, Hoechst AG Pharma Forschung, Frankfurt am Main, unveröffentlicht
- Hoechst AG (1982 g) Study of the mutagenic potential of the compound Permanent Gelb DHG N 20 in strains of Salmonella typhimurium (Ames test) and Escherichia coli. Bericht 679/82, 02 Nov 1982, Hoechst AG Pharma Forschung, Frankfurt am Main, unveröffentlicht
- Hoechst AG (1984 a) Colanyl Gelb HR 30 Prüfung der akuten oralen Toxizität an der männlichen und weiblichen Wistar-Ratte. Bericht 84.0243, 17 Mai 1984, Hoechst AG Pharma Forschung, Frankfurt am Main, unveröffentlicht
- Hoechst AG (1984 b) PV Echt Gelb HR 02 Typ 3113 Prüfung auf akute Reizwirkung/Ätzwirkung am Auge von Kaninchen. Bericht 84.0264, 18 Mai 1984, Hoechst AG Pharma Forschung, Frankfurt am Main, unveröffentlicht
- Hoechst AG (1985 a) Permanent Gelb DHG N 22 Prüfung auf Augenreizung am Kaninchen. Bericht 85.0162, 15 Feb 1985, Hoechst AG Pharma Forschung, Frankfurt am Main, unveröffentlicht
- Hoechst AG (1985 b) Permanent Gelb DHG N 22 Prüfung auf Hautreizung am Kaninchen. Bericht 85.0161, 15 Feb 1985, Hoechst AG Pharma Forschung, Frankfurt am Main, unveröffentlicht



- Hoechst AG (1988 a) Permanent Gelb DHG N 23 Prüfung auf Augenreizung am Kaninchen. Bericht 88.1400, 15 Sep 1988, Hoechst AG Pharma Forschung, Frankfurt am Main, unveröffentlicht
- Hoechst AG (1988 b) Permanent Gelb DHG N 23 Prüfung auf Hautreizung am Kaninchen. Bericht 88.1324, 31 Aug 1988, Hoechst AG Pharma Forschung, Frankfurt am Main, unveröffentlicht
- Hoechst AG (1988 c) Permanent Gelb DHG N 23 Prüfung der akuten oralen Toxizität an der Wistar-Ratte. Bericht Nr. 88.1197, 09 Aug 1988, Hoechst AG Pharma Forschung, Frankfurt am Main, unveröffentlicht
- Hoechst AG (1989 a) Permanent Gelb DHG N 20 Prüfung auf Augenreizung am Kaninchen. Bericht 89.0097, 25 Jan 1989, Hoechst AG Pharma Forschung, Frankfurt am Main, unveröffentlicht
- Hoechst AG (1989 b) Permanent Gelb P-GRL neu Prüfung auf Augenreizung am Kaninchen. Bericht 89.1514, 30 Okt 1989, Hoechst AG Pharma Forschung, Frankfurt am Main, unveröffentlicht
- Hoechst AG (1989 c) Permanent Gelb P-GRL neu Prüfung auf Hautreizung am Kaninchen. Bericht 89.1468, 16 Okt 1989, Hoechst AG Pharma Forschung, Frankfurt am Main, unveröffentlicht
- Hoechst AG (1992 a) Novoperm Gelb HR 04 Test for primary dermal irritation in the rabbit. Report No 92.0270, 22 May 1992, Hoechst AG Pharma development corporate toxicology, Frankfurt am Main, unveröffentlicht
- Hoechst AG (1992 b) Novoperm Gelb HR 04 Test for primary eye irritation in the rabbit. Report No 92.0288, 19 May 1992, Hoechst AG Pharma development corporate toxicology, Frankfurt am Main, unveröffentlicht
- Hoechst AG (1995 a) Permanent Gelb DHG N 23 VP 2102 Test for primary dermal irritation in the rabbit. Report No 95.0013, 12 Jan 1995, Hoechst AG Pharma development corporate toxicology, Frankfurt am Main, unveröffentlicht
- Hoechst AG (1995 b) Permanent Gelb DHG N 23 VP 2102 Test for primary eye irritation in the rabbit. Report No 95.0024, 16 Jan 1995, Hoechst AG Pharma development corporate toxicology, Frankfurt am Main, unveröffentlicht
- Hoechst AG (1995 c) Permanent Gelb DHG N 23 VP 2102 Testing for acute oral toxicity in the male and female Wistar rat. Report No 95.0023, 25 Jan 1995, Hoechst AG Pharma development corporate toxicology, Frankfurt am Main, unveröffentlicht
- Hoechst AG (1996 a) Novoperm Gelb HR04 VP 2174 Test for primary dermal irritation in the rabbit. Report No 96.0634, 24 Sep 1996, Hoechst AG – Hoechst Marion Roussel, Preclinical Development Drug Safety, Frankfurt am Main, unveröffentlicht
- Hoechst AG (1996 b) Novoperm Gelb HR04 VP 2174 Test for primary eye irritation in the rabbit. Report No 96.0635, 30 Sep 1996, Hoechst AG – Hoechst Marion Roussel, Preclinical Development Drug Safety, Frankfurt am Main, unveröffentlicht
- Hofmann T, Schneider S, Wolterbeek A, van de Sandt H, Landsiedel R, van Ravenzwaay B (2015) Prenatal toxicity of synthetic amorphous silica nanomaterial in rats. *Reprod Toxicol* 56: 141–146. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.reprotox.2015.04.006>
- Kreyling WG (2013) Toxicokinetics of inhaled nanoparticles. In: Deutsche Forschungsgemeinschaft (Hrsg) *Nanomaterials*. Wiley-VCH, Weinheim, 32–36. DOI: <https://doi.org/10.1002/9783527673919.ch3>
- Leuschner F (1978) Carcinogenicity studies on different diarylide yellow pigments in mice and rats. *Toxicol Lett* 2(5): 253–260. DOI: [https://doi.org/10.1016/0378-4274\(78\)90022-X](https://doi.org/10.1016/0378-4274(78)90022-X)
- Lovell CR, Peachey RD (1981) Allergy to chalk dyes. *Contact Dermatitis* 7(6): 345. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1600-0536.1981.tb04106.x>
- Møller P (2001) Erratum: DNA damage in isolated rat hepatocytes exposed to C.I. pigment orange 5 and C.I. pigment yellow 12 by the alkaline comet assay; Peter Moller, Hakan Wallin, Niels Grunnet, Lotte Risom, and Lisbeth E. Knudsen; *Teratog Carcinog Mutagen* 18: 9–16 (1998). *Teratog Carcinog Mutagen* 21(1): 107. DOI: [https://doi.org/10.1002/1520-6866\(2001\)21:1<107::AID-TCM10>3.0.CO;2-J](https://doi.org/10.1002/1520-6866(2001)21:1<107::AID-TCM10>3.0.CO;2-J)
- Møller P, Wallin H, Grunnet N, Risom L, Knudsen LE (1998) DNA damage in isolated rat hepatocytes exposed to C.I. pigment orange 5 and C.I. pigment yellow 12 by the alkaline comet assay. *Teratog Carcinog Mutagen* 18(1): 9–16. DOI: [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1520-6866\(1998\)18:1<9::AID-TCM2>3.0.CO;2-K](https://doi.org/10.1002/(SICI)1520-6866(1998)18:1<9::AID-TCM2>3.0.CO;2-K)
- NICNAS (National Industrial Chemicals Notification and Assessment Scheme) (2017) Human health TIER II assessment for selected benzidine-congener-based pigments. NICNAS, Sydney. [https://www.industrialchemicals.gov.au/sites/default/files/Selected%20benzidine-congener-based%20pigments\\_Human%20health%20tier%20II%20assessment.pdf](https://www.industrialchemicals.gov.au/sites/default/files/Selected%20benzidine-congener-based%20pigments_Human%20health%20tier%20II%20assessment.pdf), abgerufen am 22 Feb 2017
- NOTOX B.V. (2001) Report: Combined repeated dose toxicity study with reproduction/developmental toxicity screening test with Pigment Yellow 12 administered by oral gavage in Wistar rats. NOTOX Proj. 297326, 03 May 2001, NOTOX B.V., 's-Hertogenbosch, unveröffentlicht
- NTP (National Toxicology Program) (1978) Bioassay of diarylanilide yellow for possible carcinogenicity. NTP technical report no 30. NTP, Bethesda, MD. [https://ntp.niehs.nih.gov/ntp/htdocs/lt\\_rpts/tr030.pdf](https://ntp.niehs.nih.gov/ntp/htdocs/lt_rpts/tr030.pdf), abgerufen am 18 Sep 2017
- NTP (National Toxicology Program) (1990) Toxicology and carcinogenesis studies of 3,3'-dimethoxybenzidinedihydrochloride in F344/N rats. NTP technical report no 372. NTP, Research Triangle Park, NC. [https://ntp.niehs.nih.gov/ntp/htdocs/lt\\_rpts/tr372.pdf](https://ntp.niehs.nih.gov/ntp/htdocs/lt_rpts/tr372.pdf), abgerufen am 18 Sep 2017
- OECD (Organisation for Economic Co-operation and Development) (2003) Pigment Yellow 12 (CAS No 6358-85-6), Pigment Yellow 13 (CAS No 5102-83-0), Pigment Yellow 83 (CAS No 5567-15-7). OECD SIDS Initial Assessment Report. OECD, Paris. <https://hpvchemicals.oecd.org/UI/handler.axd?id=a63e438e-8f83-4323-96f8-51ca69b9254f>, abgerufen am 17 Feb 2017
- Philbrook NA, Winn LM, Afroz ARMN, Saleh NB, Walker VK (2011) The effect of TiO<sub>2</sub> and Ag nanoparticles on reproduction and development of *Drosophila melanogaster* and CD-1 mice. *Toxicol Appl Pharmacol* 257(3): 429–436. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.taap.2011.09.027>

- Sagelsdorff P, Haenggi R, Heuberger B, Joppich-Kuhn R, Jung R, Weideli HJ, Joppich M (1996) Lack of bioavailability of dichlorobenzidine form diarylide azo pigments: molecular dosimetry for hemoglobin and DNA adducts. *Carcinogenesis* 17(3): 507–514. DOI: <https://doi.org/10.1093/carcin/17.3.507>
- Schmidt MU, Dinnebier RE, Kalkhof H (2007) Crystal engineering on industrial diaryl pigments using lattice energy minimizations and X-ray powder diffraction. *J Phys Chem B* 111(33): 9722–9732. DOI: <https://doi.org/10.1021/jp071731p>
- Thierbach MA, Geursen-Reitsma AM, van Joost T (1992) Sensitization to azo dyes: negative patch tests to yellow and red azo dyes in printed paper. *Contact Dermatitis* 27(1): 22–26. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1600-0536.1992.tb05193.x>
- Verband der Mineralfarbenindustrie e.V. (2019) Angaben zur Partikelgröße. E-Mail-Anhang, 09 Dez 2019
- Warheit DB, Boatman R, Brown SC (2015) Developmental toxicity studies with 6 forms of titanium dioxide test materials (3 pigment-different grade & 3 nanoscale) demonstrate an absence of effects in orally-exposed rats. *Regul Toxicol Pharmacol* 73(3): 887–896. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.yrtph.2015.09.032>
- Wesendorf A (2018) Eigenschaften von Farbstoffen und Pigmenten. <https://flexotiefdruck.de/dossiers/eigenschaften-von-farbstoffen-und-pigmenten/>, abgerufen am 25 Aug 2021
- Zeiger E, Anderson B, Haworth S, Lawlor T, Mortelmans K, Speck W (1987) Salmonella mutagenicity tests: III. Results from the testing of 255 chemicals. *Environ Mutagen* 9 Suppl 9: 1–109. DOI: <https://doi.org/10.1002/em.2860090602>