



universität
wien

DIPLOMARBEIT

Titel der Diplomarbeit

Risikobewertung von Azofarbstoffen in Kinderlebensmitteln

Verfasserin

Eva Wachter

angestrebter akademischer Grad

Magistra der Naturwissenschaften (Mag. rer. nat.)

Wien, 2012

Studienkennzahl lt. Studienblatt:

A 474

Studienrichtung lt. Studienblatt:

Diplomstudium Ernährungswissenschaften

Betreuerin:

Ao. Prof. Dr. Rosa Lemmens-Gruber

Danksagung

An erster Stelle möchte ich Frau Ao. Prof. Dr. Rosa Lemmens-Gruber für die Ermöglichung der Wahl dieses Diplomarbeitsthemas sowie für die Betreuung Dank sagen.

Danken möchte ich auch meinen Eltern für die Unterstützung während meiner Studienzeit.

Weiters bedanke ich mich bei all meinen Freunden, die mich durch diese Zeit begleiteten, mich stets unterstützten und motivierten und immer ein offenes Ohr für mich hatten.

Mein tiefster Dank aber gilt meiner Familie, meinem Mann Mathias und unseren Kindern Elias und Leo, die mit mir durch die Höhen und Tiefen der Studienzeit gingen, mir den nötigen Rückhalt, Kraft und Energie gaben und in all den Jahren stets unterstützend zur Seite standen.

Eidesstattliche Erklärung

Hiermit erkläre ich eidesstattlich, dass ich die vorliegende Arbeit mit dem Titel „Risikobewertung von Azofarbstoffen in Kinderlebensmitteln“ selbständig und ohne fremde Hilfe verfasst, keine anderen Quellen als die angegebenen benutzt und die verwendeten Quellen an den wörtlich oder inhaltlich entnommenen Stellen als solche kenntlich gemacht habe.

Wien, 2012

Eva Wachter

Inhaltsverzeichnis

Inhaltsverzeichnis	I
Abbildungsverzeichnis	IV
Tabellenverzeichnis	VII
Abkürzungsverzeichnis	IX
1 Einleitung und Fragestellung	1
2 Allgemeine Grundlagen der Lebensmitteltoxikologie	2
2.1 Lebensmittelzusatzstoffe	2
2.2 Zulassungsverfahren für Lebensmittelzusatzstoffe	3
2.2.1 <i>Toxikologische Prüfung</i>	3
2.2.1.1 Prüfung auf akute Toxizität	3
2.2.1.2 Prüfung auf subakute Toxizität	4
2.2.1.3 Prüfung auf subchronische Toxizität	4
2.2.1.4 Prüfung auf chronische Toxizität	4
2.2.2 <i>Festlegung des ADI-Werts</i>	6
3 Färbemittel – ein historischer Rückblick	8
4 Lebensmittelrechtliche Bestimmungen	13
4.1 ... in Österreich	13
4.2 ... in der Europäischen Union	13
5 Unterscheidung Farbe – Farbstoff	15
6 Physiologische Grundlagen zum Farbensehen	15
6.1 Anatomie des menschlichen Auges	15
6.2 Neurophysiologische Prozesse des Farbensehens	17
6.3 Signaltransduktion in den Sehzellen	19
7 Psychologische Grundlagen zur Farbwirkung	19
7.1 Wirkung von Farbe auf den Menschen	19
7.1.1 <i>Einfluss von Farbe auf den Geschmackssinn</i>	20
8 Lebensmittelfärbung – wozu?	25
9 Synthetische Lebensmittelfarbstoffe	27
9.1 Azofarbstoffe	28

9.1.1	<i>Allurarot AC (E129)</i>	31
9.1.1.1	Resorption, Ausscheidung, Reduktionsprodukte	32
9.1.1.2	Toxikologische Bewertung	33
9.1.2	<i>Amaranth (E123)</i>	36
9.1.2.1	Resorption, Ausscheidung, Reduktionsprodukte	37
9.1.2.2	Toxikologische Bewertung	39
9.1.3	<i>Azorubin (E122)</i>	41
9.1.3.1	Resorption, Ausscheidung, Reduktionsprodukte	42
9.1.3.2	Toxikologische Bewertung	42
9.1.4	<i>Cochenillerot A (E124)</i>	47
9.1.4.1	Resorption, Ausscheidung, Reduktionsprodukte	49
9.1.4.2	Toxikologische Bewertung	49
9.1.5	<i>Gelborange S (E110)</i>	52
9.1.5.1	Resorption, Ausscheidung, Reduktionsprodukte	53
9.1.5.2	Toxikologische Bewertung	55
9.1.6	<i>Tartrazin (E102)</i>	57
9.1.6.1	Resorption, Ausscheidung, Reduktionsprodukte	58
9.1.6.2	Toxikologische Bewertung	58
10	Hyperaktivität	65
10.1	Begriffsdefinition	65
10.2	Studien zur Hyperaktivität durch Azofarbstoffe	66
10.2.1	<i>Isle-of-Wight-Studie</i>	66
10.2.2	<i>Southampton-Studie</i>	67
10.2.3	<i>Weitere Studien</i>	70
11	Nahrungsmittelhypersensitivitäten	74
11.1	Begriffsdefinitionen	74
11.2	Studien zur Hypersensitivität durch Azofarbstoffe	78
12	Genetische Aspekte von Hypersensitivität und Hyperaktivität	80
13	Farbstoffe – ein buntes Risiko?	81
13.1	Wahrnehmung von Gesundheitsrisiken durch VerbraucherInnen	83
13.2	Die Rolle der Medien in der Risikokommunikation	87
14	Schlussbetrachtung	90

15	Zusammenfassung	95
16	Abstract	96
17	Literaturverzeichnis	97

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Einfluss der Dosis einer Substanz auf das Ausmaß der Toxizität	5
Abbildung 2: Ableitung des ADI-Wertes	7
Abbildung 3: Chemische Struktur von Indigo	8
Abbildung 4: Chemische Struktur von Purpur	9
Abbildung 5: Chemische Struktur von Alizarin	9
Abbildung 6: Chemische Struktur von Pikrinsäure	10
Abbildung 7: Chemische Struktur von Mauvein	10
Abbildung 8: Chemische Struktur von Fuchsin	11
Abbildung 9: Chemische Struktur von Bismarckbraun Y	11
Abbildung 10: Das menschliche Auge	16
Abbildung 11: Aufbau der Retina des menschlichen Auges	17
Abbildung 12: Normierte Farbtafel zur Erklärung der additiven Farbmischung	18
Abbildung 13: Assoziation des Orangengeschmacks zu verschiedenfarbigen Flüssigkeiten mit identischem Aroma	23
Abbildung 14: Assoziation des Erdbeergeschmacks zu verschiedenfarbigen Flüssigkeiten mit identischem Aroma	23
Abbildung 15: Prozentuale weltweite Marktaufteilung der unterschiedlichen Farbstoffgruppen	28
Abbildung 16: Reduktion der Azogruppe am Beispiel von Direkt Blue 15	29
Abbildung 17: Chemische Struktur von Allurarot AC	31
Abbildung 18: Metaboliten von Allurarot AC nach Abspaltung der Azogruppe	33
Abbildung 19: Effekt von Allurarot AC auf die Absorption von BSA und Nisin	35
Abbildung 20: Chemische Struktur von Amaranth	36
Abbildung 21: Metaboliten von Amaranth nach Spaltung der Azogruppe	38

Abbildung 22: Ausscheidung von Amaranth und Naphtionat über die Fäzes bei Mäusen	38
Abbildung 23: Chemische Struktur von Azorubin	41
Abbildung 24: Zusammenhang zwischen Azorubin-Aufnahme und verminderter Körpergewichtszunahme	45
Abbildung 25: Chemische Struktur von Cochenillerot A	47
Abbildung 26: Körpergewicht und Organgewicht nach Gabe von Azorubin und Cochenillerot A	51
Abbildung 27: Chemische Struktur von Gelborange S	52
Abbildung 28: Ausscheidung von Gelborange S und Sulfanilsäure über die Fäzes bei Mäusen	54
Abbildung 29: Reduktion der Azogruppe von Gelborange S	54
Abbildung 30: Chemische Struktur von Tartrazin	57
Abbildung 31: Metaboliten von Tartrazin nach Spaltung der Azogruppe	58
Abbildung 32: Effekt von Tartrazin und Sulfanilsäure auf die Glucosekonzentration im Blutplasma von Ratten	62
Abbildung 33: Effekt von Tartrazin und Sulfanilsäure auf die Kreatininkonzentration im Blutplasma von Ratten	62
Abbildung 34: Bildung von Echinozyten unter Einwirkung von Tartrazin und Sulfanilsäure	63
Abbildung 35: Einteilung von Hypersensitivitätsreaktionen gegenüber Lebensmitteln	75
Abbildung 36: Häufigkeit tatsächlicher bzw. vermeintlicher Lebensmittelintoleranzen	77
Abbildung 37: Symptomverstärkung bei Urticaria, Asthma und ADHS im Zusammenhang mit Azofarbstoffen und HNMT-Polymorphismen	81
Abbildung 38: Stufen der Risikoanalyse nach AGES	82
Abbildung 39: Einschätzung von Ernährungsrisiken durch VerbraucherInnen	85
Abbildung 40: ExpertInnenbefragung zum Thema gesundheitliche Risiken der VerbraucherInnen	85

Abbildung 41: VerbraucherInnenbefragung zum Thema gesundheitliche Risiken der VerbraucherInnen	86
Abbildung 42: Die Bedeutung der Medien für die Risikowahrnehmung bei einer Auswahl von Ernährungsthemen	88
Abbildung 43: Informationsmedien zu VerbraucherInnenschutzthemen	88

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Geschmacksassoziationen zu verschiedenfarbigen Flüssigkeiten	22
Tabelle 2: Reduktion der Azofarbstoffe durch ausgewählte Bakterienstämme	30
Tabelle 3: Mittlere tägliche Allurarot AC-Aufnahme von kuwaitischen Kindern in Prozent des ADI-Werts	32
Tabelle 4: Effekt von Amaranth auf kultivierte menschliche Lymphozyten	40
Tabelle 5: Effekt von Azorubin auf die Konzentration von ALT, AST, ALP, Gesamtprotein, Albumin und Globulin bei Ratten	44
Tabelle 6: Effekt von Azorubin auf die Konzentration von Harnstoff, Kreatinin, Gesamtcholesterin, Triglycerid, HDL-Cholesterin und LDL-Cholesterin bei Ratten	44
Tabelle 7: Effekt von Azorubin auf SOD, Katalase, GSH und MDA bei Ratten	45
Tabelle 8: Effekt unterschiedlicher mit Aromastoffen kombinierter Farbstoffe auf das Körpergewicht, die Wachstumsrate und die Nahrungsaufnahme der Versuchstiere und auf den Wirkungsgrad der Fütterung	46
Tabelle 9: Geschätzte Aufnahmemengen von Cochenillerot A durch österreichische Vorschulkinder im Vergleich zur tolerierbaren täglichen Aufnahmemenge (berechnet mit durchschnittlichen Gehalten)	48
Tabelle 10: Geschätzte Aufnahmemengen von Cochenillerot A durch österreichische Vorschulkinder im Vergleich zur tolerierbaren täglichen Aufnahmemenge (berechnet mit Maximalgehalten)	48
Tabelle 11: Geschätzte tägliche Aufnahmemengen von Gelborange S bei österreichischen Vorschulkindern im Vergleich zur tolerierbaren täglichen Aufnahmemenge (berechnet mit durchschnittlichen Gehalten)	53
Tabelle 12: Geschätzte tägliche Aufnahmemengen von Gelborange S bei österreichischen Vorschulkindern im Vergleich zur tolerierbaren täglichen Aufnahmemenge (berechnet mit Maximalgehalten)	53
Tabelle 13: Effekt von Tartrazin auf die Konzentration von ALT, AST, ALP, Gesamtprotein, Albumin und Globulin im Blutserum von Ratten	59

Tabelle 14: Effekt von Tartrazin auf die Konzentration von Harnstoff, Kreatinin, Gesamtcholesterin, Triglycerid, HDL-Cholesterin und LDL-Cholesterin bei Ratten	60
Tabelle 15: Effekt von Tartrazin auf die Aktivität von SOD, Katalase und GSH und auf die Bildung von MDA bei Ratten	60
Tabelle 16: Signifikante Tartrazin-induzierte Körpergewichtsabnahme bei Mäusen	61
Tabelle 17: Versuchsanordnung der Southampton-Studie	68
Tabelle 18: Versuchsanordnung der Studie von Pollock und Warner	71
Tabelle 19: Bewertung des kindlichen Verhaltens durch die Eltern mittels M.J.Connors Hyperaktivitätsindex und Erfassung körperlicher Symptome	72
Tabelle 20: Symptome einer Lebensmittelallergie	75

Abkürzungsverzeichnis

ADHS	Aufmerksamkeitsdefizit-/Hyperaktivitätsstörung
ADI	Acceptable Daily Intake
AFC	Panel on Food Additives, Flavourings, Processing Aids and Food Contact Materials
AGES	Österreichische Agentur für Gesundheit und Ernährungssicherheit
ALT	Alanin-Aminotransferase
AST	Aspartat-Aminotransferase
ALP	Alkalische Phosphatase
BfR	Bundesinstitut für Risikobewertung
BMGFJ	Bundesministerium für Gesundheit, Familie und Jugend
BSA	Bovine Serum Albumin (Rinderserumalbumin)
CT- DNA	Calf Thymus DNA
COT	Committee on Toxicity of Chemicals in Food, Consumer Products and the Environment
d	Tag
DBPCFC	Doppelblinde, Placebokontrollierte Nahrungsmittelprovokation
EFSA	European Food Safety Authority
EU	Europäische Union
FAO	Food Agriculture Organization
FDA	Food and Drug Administration
GHA-Wert	Global Hyperactivity Aggregate-Wert
GIT	Gastrointestinaltrakt
GRAS	Generally Recognized As Safe
GSH	Gluthation
HKS	Hyperkinetische Störung
HDL	High Density Lipoprotein
HNMT	Histamin-N-Methyltransferase
Ig	Immunglobulin
JECFA	Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives

kDa	Kilodalton
kg	Kilogramm
KG	Körpergewicht
KiGGS	Kinder- und Jugendgesundheitsstudie
LD ₅₀	Letale Dosis 50 %
LDL	Low Density Lipoprotein
LMBG	Lebensmittel- und Bedarfsgegenständegesetz
MCS	Multiple Chemical Sensitivity
MDA	Malondialdehyd
mg	Milligramm
µg	Mikrogramm
NOAEL	No Observed Adverse Effect Level
NPC	Neuronale Progenitorzellen
PAGE	Polyacrylamid-Gelelektrophorese
SCF	Scientific Committee on Food
SOD	Superoxid-Dismutase
WHO	World Health Organization
ZNS	Zentralnervensystem

1 Einleitung und Fragestellung

Schon seit jeher spielt das Aussehen von Nahrungsmitteln eine wichtige Rolle in der Ernährung des Menschen. Natürlich färbende Substanzen werden Lebensmitteln schon seit langem zugesetzt, um diese haltbar zu machen bzw. optisch zu verbessern. Seit aber die Möglichkeit zum Einsatz synthetischer Lebensmittelfarbstoffe existiert, ist zugleich eine steigende Verunsicherung auf Seiten der VerbraucherInnen evident. Auch die Informationsflut aus dem Internet trägt eher zur Verwirrung als zur Aufklärung der Bevölkerung bei, da die wenigsten KonsumentInnen das nötige Hintergrundwissen zu diesem komplexen Thema besitzen, um korrekte Aussagen von falschen Behauptungen unterscheiden zu können.

Brennende Fragen zur Nahrungsmittelsicherheit wollen dennoch beantwortet sein: Warum kommen synthetische Farbstoffe in der Lebensmittelproduktion überhaupt zum Einsatz? Inwieweit hängen Farbe und Geschmack zusammen? Welche Farbstoffe müssen als bedenklich eingestuft werden? Welche Effekte haben synthetische Lebensmittelfarbstoffe speziell auf Kinder? Können künstliche Farbstoffe bei Kindern Hyperaktivität auslösen?

Diese und ähnliche Fragen sind Ausgangspunkt der vorliegenden Arbeit, deren Ziel es ist, durch einen qualitativen Vergleich wissenschaftlicher Studien das toxikologische Gefährdungspotential von ausgewählten Azofarbstoffen, die in Kinderlebensmitteln eingesetzt werden, zu bewerten.

Dabei reicht die Betrachtung weit über die Beschreibung des chemischen Charakters farbiger Substanzen hinaus und tangiert physikalische, medizinische und physiologische Aspekte ebenso wie psychologische.

Die wichtige Rolle der Medien bei der Risikokommunikation wird ebenso diskutiert wie die Unterschiede in der Risikowahrnehmung zwischen VerbraucherInnen und ExpertInnen.

2 Allgemeine Grundlagen der Lebensmitteltoxikologie

2.1 Lebensmittelzusatzstoffe

Lebensmittelzusatzstoffe sind nach § 2 des Lebensmittel- und Bedarfsgegenständegesetzes (LMBG) Stoffe oder Stoffgemische, die Lebensmitteln in geringen Mengen zugesetzt werden dürfen, um diese in ihrer Beschaffenheit zu beeinflussen oder bestimmte Wirkungen zu erzielen [Elmadfa und Leitzmann, 1998; Steinberg, 2010].

Die Regelung zum Einsatz der Zusatzstoffe erfolgt über das LMBG sowie über Rechtsverordnungen. Es dürfen nur solche Stoffe Verwendung finden, die in den betreffenden Verordnungen genannt werden. Die Anwendung anderer als in dieser Positivliste enthaltene Zusatzstoffe ist verboten. Aber auch dann ist der Zusatz bestimmter Stoffe nur erlaubt, wenn er technisch notwendig und gesundheitlich unbedenklich ist und nicht zu einer Irreführung der VerbraucherInnen führt. Die Kennzeichnung der Zusatzstoffe erfolgt europaeinheitlich über E-Nummern [Biesalski und Grimm, 2004].

Zur Gruppe der Lebensmittelzusatzstoffe zählen unter anderem jene Lebensmittelfarbstoffe, die in synthetischer oder natürlicher Form zur Färbung von Lebensmitteln eingesetzt werden. Beide Arten zugelassener Lebensmittelfarbstoffe müssen am Produkt mit der Aufschrift „mit Lebensmittelfarbstoff“ oder „mit Farbstoff“ deklariert werden und sind mit E-Nummern der 100er-Reihe zu kennzeichnen. Synthetische Farbstoffe müssen mit Einzelbezeichnung und E-Nummer deklariert werden, im Gegensatz dazu ist für natürliche Farbstoffe nur die Einzelbezeichnung vorgeschrieben, die E-Nummer aber nicht zwingend erforderlich [Ebermann und Elmadfa, 2008; <http://www.ris.bka.gv.at/GeltendeFassung/Bundesnormen/10010991/Farbstoffverordnung%2c%20Fassung%20vom%2028.08.2012.pdf>, 2012].

2.2 Zulassungsverfahren für Lebensmittelzusatzstoffe

Voraussetzung für die Zulassung einer Substanz ist die gesundheitliche Unbedenklichkeit, wodurch hohe Anforderungen an die Sicherheit eines Stoffes notwendig werden. Um das gesundheitliche Risiko ermitteln und minimieren zu können, wurden Tests entwickelt, welche die akute und chronische Toxizität sowie die Cancerogenität, Mutagenität, Teratogenität, Gentoxizität, Immuntoxizität etc. erfassen [Ebermann und Elmadfa, 2008].

2.2.1 Toxikologische Prüfung

Das Ziel einer toxikologischen Prüfung ist, gesundheitsschädigende Wirkungen eines Stoffes auf den menschlichen Organismus zu ermitteln und quantitativ abzuschätzen. Da das Ausmaß der Wirkung von der aufgenommenen Menge eines Stoffes abhängt, werden Dosis-Wirkung-Beziehungskurven eruiert (siehe Abbildung 1). Je höher die aufgenommene Konzentration einer Substanz, desto höher ihr toxisches Potential. Eine gründliche Risikobewertung eines Zusatzstoffes vor der Zulassung ist daher unerlässlich [Steinberg, 2010].

Die Toxizitätstests werden heute nicht mehr nur mit Versuchstieren, sondern auch mithilfe von Zellkulturen durchgeführt [Hauber-Schwenk und Schwenk, 2000].

2.2.1.1 Prüfung auf akute Toxizität

Den Versuchstieren wird eine einmalige Dosis der Testsubstanz verabreicht, wobei die mittlere letale Dosis (LD_{50}) in mg/kg Körpergewicht (KG) ermittelt wird. Die LD_{50} ist jene Substanzmenge, die bei 50 % der Versuchstiere tödlich wirkt. Sie liefert einen Hinweis auf akute Toxizität, das Vergiftungsbild und auf Spätwirkungen bei den überlebenden Tieren [Hauber-Schwenk und Schwenk, 2000].

2.2.1.2 Prüfung auf subakute Toxizität

Die Versuchstiere erhalten die Testsubstanz zwei bis vier Wochen lang. Diese Prüfungen dienen dazu, die Zielorgane der toxischen Wirkung zu ermitteln sowie den Einfluss des Stoffes auf bestimmte Körperfunktionen [Hauber-Schwenk und Schwenk, 2000].

2.2.1.3 Prüfung auf subchronische Toxizität

Die zu prüfende Substanz wird den Versuchstieren 90 Tage lang einmal täglich in ansteigender Konzentration verabreicht, wobei die höchste Konzentration im akut toxischen Bereich liegen sollte. Dabei werden die Gewichtsentwicklung, der Futter- und Wasserverbrauch, das Allgemeinverhalten und einige biochemische Parameter (Blutbild, Urin, etc.) beobachtet. Diese Prüfung dient der Dosierungsfindung für die darauf folgenden Langzeitversuche [Hauber-Schwenk und Schwenk, 2000].

2.2.1.4 Prüfung auf chronische Toxizität

Die Versuchstiere werden ein bis zwei Jahre mit der zu testenden Substanz belastet, die in drei bis fünf unterschiedlichen Konzentrationen dem Futter oder Trinkwasser zugesetzt wird, wobei die höchste Konzentration in der subchronischen Prüfung schwach toxische Effekte und die niedrigste Konzentration keine Wirkung gezeigt haben sollte. Ziel ist es, jene Substanzmenge zu ermitteln, die von der empfindlichsten Tierart ohne jegliche Schädigung ein Leben lang konsumiert werden kann. Dieser Wert wird als NOAEL (No-Observed-Adverse-Effect-Level) bezeichnet (siehe Abbildung 1) [Hauber-Schwenk und Schwenk, 2000].

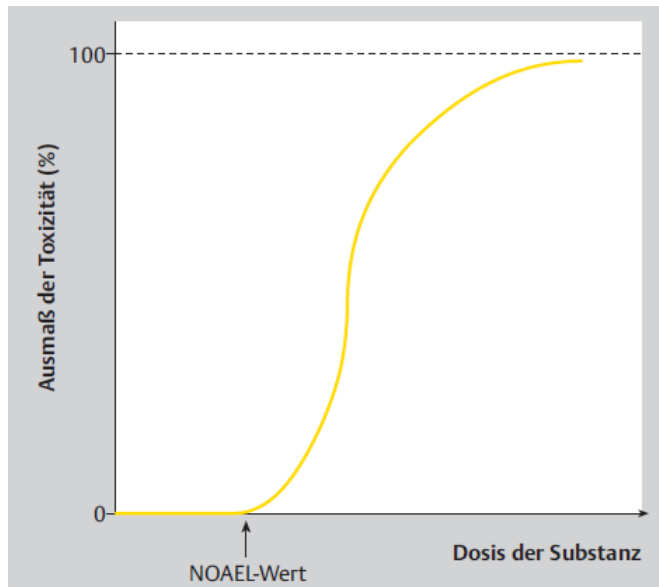


Abbildung 1: Einfluss der Dosis einer Substanz auf das Ausmaß der Toxizität [Steinberg, 2010]

Um Schädigungen des Erbgutes bei nachfolgenden Generationen zu verhindern, werden Lebensmittelinhaltsstoffe zum einen auch hinsichtlich ihres Einflusses auf die Fertilität der Elterntiere untersucht, zum anderen auf eventuelle Fruchtschäden und Missbildungen bei den Nachkommen. Die Testsubstanz wird auch hinsichtlich ihres gentoxischen Potentials untersucht, da gentoxische Stoffe das Erbgut in den Organen und/oder in den Keimzellen verändern können [Hauber-Schwenk und Schwenk, 2000].

Testverfahren, die zur Ermittlung der Gentoxizität von Azofarbstoffen angewendet werden, sind unter anderem der Schwesterchromatidaustausch, die DNA-Sequenzierung, der Mikrokerntest, der Chromosomenaberrationstest, der Ames-Test, der Comet-Assay, und der UDS-Test (unscheduled DNA synthesis) [Poul et al., 2009].

2.2.2 Festlegung des ADI-Werts

Der ADI-Wert (Acceptable Daily Intake) bzw. DTA-Wert (Duldbare tägliche Aufnahmemenge) ist jene Substanzmenge in mg/kg KG, die ein Mensch täglich zu sich nehmen darf, ohne Gesundheitsrisiken befürchten zu müssen. Abgeleitet wird dieser Wert vom NOAEL (siehe Abschnitt 2.2.1.4), wobei ein Sicherheitsfaktor 10 für Risiken bei der Übertragung von Tierversuchsergebnissen auf den Menschen aufgrund unterschiedlicher Stoffwechselaktivität verwendet wird und ein weiterer Faktor 10 für Empfindlichkeitsunterschiede gegenüber toxischen Stoffen bei unterschiedlichen Personengruppen, beispielsweise Risikogruppen wie Kindern, älteren Menschen, Kranken usw. (siehe Abbildung 2). Somit beträgt der ADI-Wert 1 % des NOAEL.

Allerdings handelt es sich bei den ADI-Werten um keine verbindlichen Festsetzungen, sondern ausschließlich um Empfehlungen [Elmadfa und Leitzmann, 2004; Ebermann und Elmadfa, 2008].

Für die Festsetzung des ADI-Werts verantwortlich sind internationale ExpertInnengremien, wie etwa die EFSA (Europäische Behörde für Lebensmittelsicherheit), das SCF (Scientific Committee on Food) und der gemeinsame Sachverständigenausschuss für Lebensmittelzusatzstoffe der WHO (World Health Organization) und FAO (Food and Agriculture Organization), auch als JECFA-Committee (Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives) bezeichnet [Elmadfa und Leitzmann, 2004; Ebermann und Elmadfa, 2008].

Da sich ADI-Werte auf lebenslange Expositionen beziehen, stellen einmalige oder kurzfristige Überschreitungen keine Gefährdung für den Menschen dar [Steinberg, 2010].

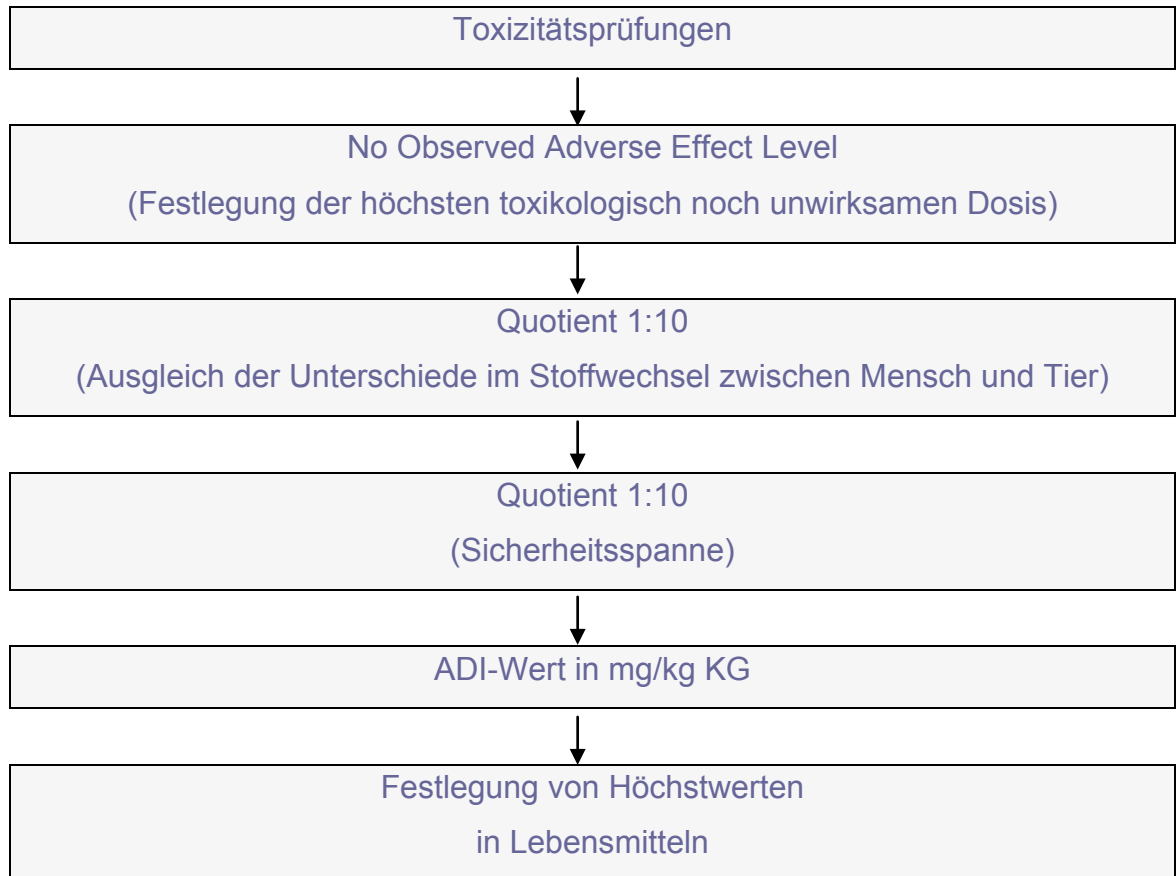


Abbildung 2: Ableitung des ADI-Wertes [Steinberg, 2010]

Zu bedenken sind bei der Anwendung des ADI-Konzepts Wechselwirkungen bestimmter Substanzen mit anderen Inhaltsstoffen eines Lebensmittels, so genannte Kombinationseffekte also, die sich synergistisch (gegenseitig verstärkend) oder antagonistisch (gegenseitig hemmend) auswirken können, sowie ein eventuell vorhandenes allergenes Potential eines Zusatzstoffs [Elmadfa und Leitzmann, 2004; Ebermann und Elmadfa, 2008].

In den USA existiert eine eigene Liste für Substanzen, die als sicher anzusehen sind. Diese Liste beinhaltet ca. 700 Stoffe, die als GRAS (Generally Recognized As Safe) bezeichnet und von der FDA (Food and Drug Administration) aufgelistet werden [Elmadfa und Leitzmann, 2004; Ebermann und Elmadfa, 2008].

3 Färbemittel – ein historischer Rückblick

Schon zu Zeiten Julius Cäsars (100 – 44 v. Chr.) kamen natürliche Färbemittel zum Einsatz. So bemalten sich die Kelten bei Kämpfen mit dem aus dem Färberwaid (*Isatis tinctoria*) gewonnenen blauen Farbstoff Indigo (siehe Abbildung 3), der sie furchterregender wirken ließ [Otterstätter, 2007].

Waid war im Mittelalter die wichtigste Färbepflanze etwa im heutigen Gebiet der Bundesrepublik Deutschland. Besonders in Thüringen wurde der Färberwaid wirtschaftlich genutzt, wo er auch heute noch in verwilderter Form anzutreffen ist. Nach 1650 wurde der Waid von der Indigopflanze (*Indigofera tinctoria*) abgelöst, die einen höheren Farbstoffanteil besitzt [Brita, 2003] und aus Indien, Ostasien und Ägypten nach Europa importiert wurde [Otterstätter, 2007]. 1778/79 gelang es erstmals nachzuweisen, dass Waid und Indigo chemisch identisch sind [Brita, 2003].

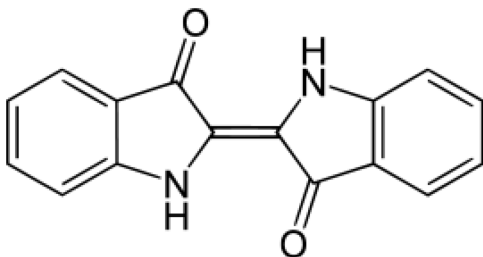


Abbildung 3: Chemische Struktur von Indigo [Otterstätter, 2007]

Ein weiterer Farbstoff, den sich schon die Phönizier in der Antike zunutze machten, war das Purpur (6,6'-Dibromindigo; siehe Abbildung 4), gewonnen aus der Purpurschnecke (*Murex brandaris*) [Otterstätter, 2007]. Purpur war sehr kostbar und teuer, denn für 1 g Farbstoff wurden 8.000 bis 12.000 Schnecken benötigt. Die Farbe Purpur galt als Symbol höchster Würde und durfte daher nur von Gekrönten getragen werden. Der Berg Monte Testaceo in Tarent (Italien), der fast ausschließlich aus Purpurschneckenschalen besteht, zeugt noch heute von der Beliebtheit dieser Farbe in früheren Zeiten [Brita, 2003].

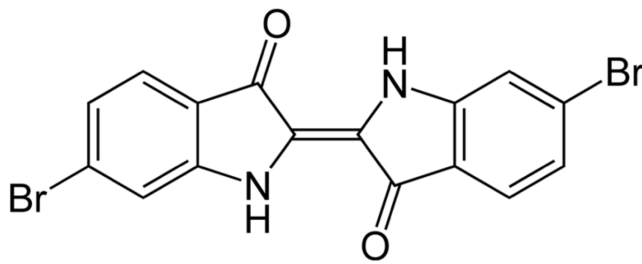


Abbildung 4: Chemische Struktur von Purpur (6,6'-Dibromindigo) [Otterstätter, 2007]

Im 18. und 19. Jahrhundert war die Krapp-Pflanze von großer Bedeutung. Der aus ihr gewonnene Farbstoff Alizarin (siehe Abbildung 5) wurde hauptsächlich zur Färbung roter Uniformen verwendet [Otterstätter, 2007].

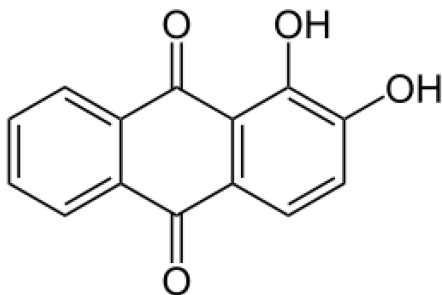


Abbildung 5: Chemische Struktur von Alizarin [Otterstätter, 2007]

Große Bedeutung hatte auch bereits in der Antike der Farbstoff Safran, der aufgrund der aufwändigen Kultivierung und Ernte der Pflanze schon immer sehr wertvoll war. Aus der Blüte der Safranpflanze (*Crocus sativus*) müssen die Narben händisch entfernt werden. Für ein Kilogramm Safran benötigt man ca. 100.000 bis 200.000 Blüten. Heute wird Safran als Gewürz, zum Färben von Teigwaren, Likören, Back- und Zuckerwerk, aber auch als Duftspender und Heilmittel verwendet [Brita, 2003]. Große Mengen an Safran können toxisch sein [Ebermann und Elmadfa, 2008].

Mit der Herstellung von Pikrinsäure (siehe Abbildung 6), die aus einer Reaktion von Indigo mit Salpeter entsteht, leitete Peter Woulfe 1771 das Zeitalter der synthetischen Färbemittel ein [Otterstätter, 2007].

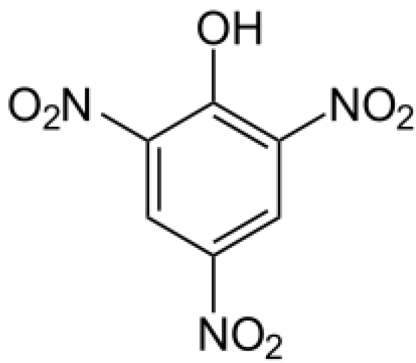


Abbildung 6: Chemische Struktur von Pikrinsäure [Otterstätter, 2007]

Im Jahr 1856 stellte William Henry Perkins aus Anilin das Mauvein (siehe Abbildung 7) her, einen synthetischen Farbstoff, der Seide wunderschön violett färbt und anfangs so teuer war wie Platin [Brita, 2003].

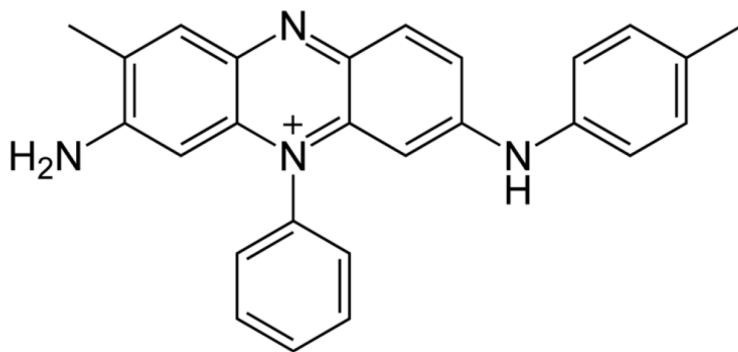


Abbildung 7: Chemische Struktur von Mauvein

[<http://de.wikipedia.org/w/index.php?title=Datei:Mauveine-A-2D-skeletal.png&filetimestamp=20070519015507>, 2012]

Ein ebenso bedeutender synthetischer Farbstoff jener Zeit war das rote Fuchsin (siehe Abbildung 8), das 1858 von François-Emanuel Verguin entdeckt wurde. In England als Magenta bezeichnet, wurde Fuchsin damals zur Färbung von Likören und Marmeladen eingesetzt. Aufgrund der hohen Nachfrage kam es zu vielen Betriebsgründungen und schon um 1880 betrug die Jahresproduktion von Fuchsin 750 Tonnen [Brita, 2003].

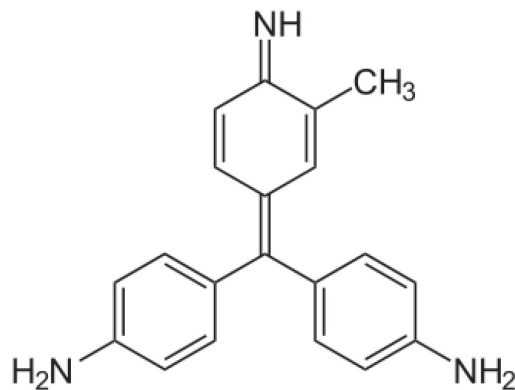


Abbildung 8: Chemische Struktur von Fuchsin

[<http://de.wikipedia.org/w/index.php?title=Datei:Fuchsin.svg&filetimestamp=20080209191718>, 2012]

Die Entdeckung der Azoverbindungen durch Peter Griess im Jahr 1858 markiert einen Meilenstein in der Geschichte der synthetischen Farbstoffe. Eine große Zahl der heute verwendeten Lebensmittelfarbstoffe leitet sich von diesen Azoverbindungen ab.

Der erste Diazofarbstoff, das Bismarckbraun Y (siehe Abbildung 9), wurde 1863 von Carl Alexander von Martius hergestellt [Otterstätter, 2007].

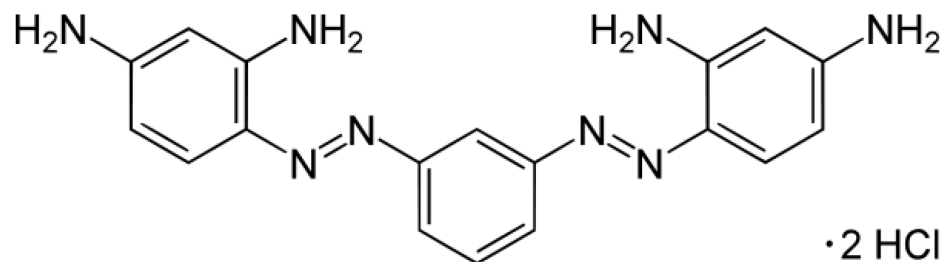


Abbildung 9: Chemische Struktur von Bismarckbraun Y

[http://de.wikipedia.org/w/index.php?title=Datei:Bismarck_Brown_Y.svg&filetimestamp=20090102184106, 2012]

Schon bald wurden immer mehr neue Azofarbstoffe synthetisiert, die schon Ende des 19. Jahrhunderts als Lebensmittelfarben Verwendung fanden. Einige dieser Stoffe wurden aufgrund ihres toxischen Potentials wieder vom Markt genommen, wie z.B. Dimethylaminoazobenzol, das so genannte Buttergelb [Ebermann und Elmadfa, 2008].

1949 wurde in Deutschland die „Fachkommission zur Bearbeitung des Lebensmittelfarbstoffproblems“ gegründet, die später zur „Farbstoffkommission“ umbenannt wurde. Ihre Aufgabe ist es, wissenschaftliche Grundlagen zur Sicherheit von Lebensmittelfarbstoffen zu erarbeiten [Deutsche Forschungsgemeinschaft, 1962, Mitteilung 11].

1963 erstellte Hermann Druckrey [1963], Vorsitzender der Farbstoffkommission von 1952 bis 1974, eine toxikologische Bewertung von Lebensmittelfarbstoffen. Dabei gab er zu bedenken, dass selbst erfahrene ToxikologInnen eine Substanz anhand von Tierversuchsmodellen niemals als gänzlich ungiftig bewerten könnten, da sich der menschliche Organismus vom tierischen in den physiologischen Bedingungen grundlegend unterscheidet. So forderte er, den Zusatz von Lebensmittelfarbstoffen zum Schutz der VerbraucherInnen auf ein vernünftiges Maß zu begrenzen [Druckrey, 1963].

Im selben Jahr noch gründeten die FAO und die WHO den Codex Alimentarius mit der Codex-Kommission als oberstem Beschlussorgan, um die Basis für ein internationales Lebensmittelrecht zu schaffen [<http://www.forum-ernaehrung.at/cms/feh/basis.html?ctx=CH0114>, 2012]. Auch der in Österreich vom Bundesministerium für Gesundheit, Familie und Jugend (BMGFJ) herausgegebene Codex Alimentarius Austriacus (Österreichisches Lebensmittelbuch) enthält unter anderem Richtlinien für das Inverkehrbringen von Waren sowie objektive Sachverständigengutachten. Als Richtlinie zur Lebensmittelüberwachung hat er allerdings keine Gesetzesfunktion [http://bm.gv.at/home/Schwerpunkte/VerbraucherInnengesundheit/Lebensmittel/Oesterreichisches_Lebensmittelbuch/, 2012].

4 Lebensmittelrechtliche Bestimmungen ...

4.1 ... in Österreich

Das österreichische Lebensmittelgesetz 1975 (BGBl. Nr. 86/1975) wurde am 21. Jänner 2006 durch das neue Lebensmittelsicherheits- und Verbraucherschutzgesetz (LMSVG, BGBl. I Nr.13/2006 idgF) abgelöst. Dieses berücksichtigt zum ersten Mal alle Stufen der Lebensmittelkette und wurde außerdem an die EU-Richtlinien angepasst [Aicher, 2009]. Die Verwendung von Lebensmittelfarbstoffen wird in Österreich durch die „Verordnung der Bundesministerin für Gesundheit und Konsumentenschutz über den Zusatz von Farbstoffen zu Lebensmitteln (Farbstoffverordnung) StF: BGBl. Nr. 541/1996 (CELEX-Nr.: 394L036, 395L045 und 395L002)“ geregelt. Die Grundlage dafür bildet die „Verordnung (EG) Nr. 1333/2008 über Lebensmittelzusatzstoffe“ [<http://www.ris.bka.gv.at/GeltendeFassung/Bundesnormen/10010991/Farbstoffverordnung%2c%20Fassung%20vom%2028.08.2012.pdf>, 2012].

4.2 ... in der Europäischen Union

Aufgrund der Warenverkehrsfreiheit innerhalb der Europäischen Union war es notwendig geworden, rechtliche Bestimmungen für den gesamten EU-Raum zu erarbeiten. So entwickelte sich das Europäische Lebensmittelrecht. Auf dem Urteil des Europäischen Gerichtshofs (EuGH) vom 20.2.1979 in der Causa „Cassis-de-Dijon“ fußt das „Cassis-de-Dijon“-Prinzip, das besagt, dass Produkte, die in einem EU-Land vorschriftsmäßig hergestellt werden, auch in anderen Mitgliedsstaaten ungehindert verkauft werden dürfen [Aicher, 2009].

Die Rechtsvorschriften der Europäischen Union für Lebensmittelzusatzstoffe umfassen Richtlinien, die durch nationale Gesetze umgesetzt werden müssen, und Verordnungen, die für alle Länder der EU gleichermaßen gelten. Die erste diesbezügliche Richtlinie, die Richtlinie 89/107/(EWG), trat am 28.12.1988 in Kraft. Es folgten spezifische Richtlinien über Farbstoffe (94/36/EG),

Süßungsmittel (94/35/EG) und andere Lebensmittelzusatzstoffe (95/2/EG) [Baltes und Matissek, 2011].

Das Weißbuch zur Lebensmittelsicherheit, das im Jahr 2000 von der EU-Kommission vorgelegt wurde, diente als Grundlage für die Lebensmittelpolitik der EU. Ziel war es, ein einheitliches Konzept zu schaffen, nach dem Motto „vom Acker auf den Teller“ [Baltes und Matissek, 2011].

Die Verordnung (EG) Nr. 178/2002, die so genannte Basisverordnung, wurde im Jänner 2002 erlassen. Diese Verordnung, die seit 1. Jänner 2005 für alle Mitgliedsstaaten verbindlich ist, regelt allgemein den Umgang mit Lebens- und Futtermitteln, wobei der Schutz der VerbraucherInnen im Vordergrund steht. Ebenso 2002 kam es zur Gründung der EFSA, die heute noch eine wichtige Rolle in der unabhängigen wissenschaftlichen Beratung der EU spielt und hierin zur Risikobewertung herangezogen wird. Da sie kein vollzugsausführendes Organ darstellt, existiert eine klare Trennung zwischen Risikobewertung und Risikomanagement [Aicher, 2009; Baltes und Matissek, 2011].

Am 16.12.2008 wurden erneut zwei Verordnungen des Europäischen Parlaments und des Europäischen Rates verabschiedet, nämlich die Verordnung (EG) Nr. 1333/2008 über Lebensmittelzusatzstoffe und die Verordnung (EG) Nr. 1331/2008 über ein einheitliches Zulassungsverfahren für Lebensmittelzusatzstoffe, -enzyme und -aromen [EU, 2008].

Die jüngste EU-Verordnung zu den Lebensmittelzusatzstoffen, die Verordnung (EU) Nr. 257/2010, trat im Jänner 2010 in Kraft und dient der Zusammenführung aller bisherigen Rechtsvorschriften der EU. Nach dieser neuen Rechtsvorschrift muss die EFSA alle vor dem 20. Jänner 2009 zugelassenen Lebensmittelzusatzstoffe bis zum Jahr 2020 neu bewerten. Anträge auf Zulassung neuer Zusatzstoffe müssen direkt bei der EU-Kommission eingereicht und gleichzeitig an die EFSA weitergeleitet werden. Nach Überprüfung und positiver Bewertung bekommt der neue Stoff eine E-Nummer zugeteilt [<http://www.efsa.europa.eu/de/topics/topic/additives.htm>, 2012]. An die Zusatzstoffe werden strenge Anforderungen hinsichtlich gesundheitlicher Bedenken gestellt [Elmadfa und Leitzmann, 1998].

5 Unterscheidung Farbe – Farbstoff

Farbe ist ein durch das Auge vermittelter Sinneseindruck, der entsteht, wenn Licht mit einer Wellenlänge von ca. 400-750 nm auf die Netzhaut des Auges trifft [Thews, 1999].

Grundsätzlich unterscheidet man Körperfarben, welche Materialien und Gegenständen ihre Farbigkeit verleihen, und Lichtfarben, die durch selbst leuchtende Körper wie z.B. die Sonne entstehen und materiell nicht fassbar sind [Vollmar, 2010].

Farbstoffe sind in Wasser oder organischen Lösungsmitteln lösliche Farbmittel, die zum Färben von Textilien, Papier, Kunststoff, aber auch von Lebensmitteln verwendet werden. Nach DIN 55945 des Deutschen Instituts für Normung versteht man unter Farbmittel eine Sammelbezeichnung für alle farbgebenden Substanzen [Bertram, 1989].

Azofarbstoffe werden zur Lebensmittelfärbung am häufigsten verwendet [Otterstätter, 2007].

6 Physiologische Grundlagen zum Farbsehen

Im menschlichen Auge werden physikalische Reize mithilfe photochemischer Prozesse in elektrische Signale umgewandelt (photoelektrische Transduktion). Diese Spannungssignale werden über den Sehnerv an das Sehzentrum des Gehirns weitergeleitet [Thews, 1999].

6.1 Anatomie des menschlichen Auges

Das Auge (siehe Abbildung 10), bestehend aus dem *Bulbus oculi* (Augapfel) und dem Kern des Bulbus (Augapfelinhalt), stellt das für die Farbwahrnehmung relevante Sinnesorgan dar. Die Wand des Bulbus oculi besteht aus der *Tunica*

externa (äußeren Augenhaut), der *Tunica media* (mittleren Augenhaut) und der *Tunica interna* (inneren Augenhaut). Die *Tunica externa* besteht aus der undurchsichtigen *Sklera* (Lederhaut) und der durchsichtigen *Kornea* (Hornhaut). Die *Tunica media* wird unterteilt in die *Chorioides* (Aderhaut), den *Corpus ciliare* (Ziliarkörper) und die *Iris* (Regenbogenhaut). In der *Tunica interna* befindet sich die *Retina* (Netzhaut), die sich wiederum in einen vorderen, lichtundurchlässigen Abschnitt (*Pars caeca*) und einen hinteren, lichtdurchlässigen Abschnitt (*Pars optica*) unterteilen lässt. Im *Pars optica* befindet sich das *Stratum nervosum*, das den eigentlichen lichtempfindlichen Teil der Retina darstellt und aus drei Zellschichten, nämlich dem *Stratum neuroepitheliale*, dem *Stratum ganglionare retinae* und dem *Stratum ganglionare nervi optici*, besteht. Die Photosensoren (Sinneszellen) des *Stratum neuroepitheliale* lassen sich in Stäbchen und Zapfen unterteilen (siehe Abbildung 11) [Thews, 1999].

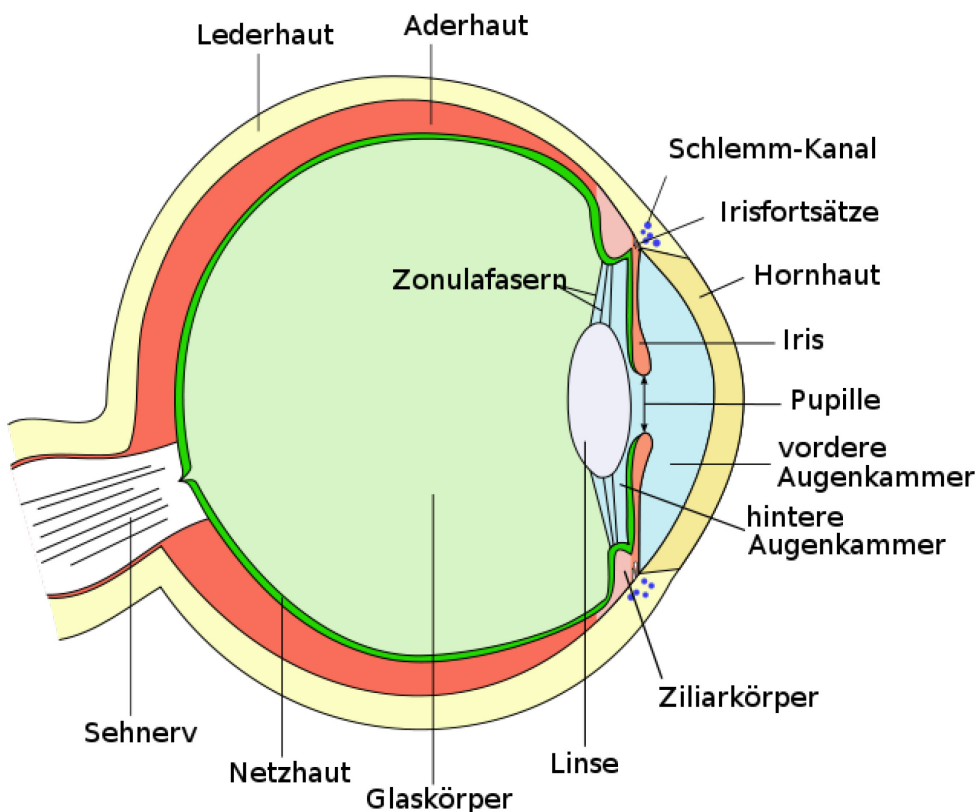


Abbildung 10: Das menschliche Auge

[http://de.wikipedia.org/w/index.php?title=Datei:Eye_scheme.svg&filetimestamp=20110403212625, 2012]

6.2 Neurophysiologische Prozesse des Farbensehens

Das menschliche Auge ist in der Lage, Farben im Wellenlängenbereich von 400-750 nm, im Bereich des sichtbaren Lichts also, wahrzunehmen. Ermöglicht wird dies durch spezielle Photosensoren, die sich in der Retina des menschlichen Auges befinden (siehe Abbildung 11). Verantwortlich für das Farbsehen und das Sehen bei Tageslicht sind die Zapfen. Im Unterschied dazu vermitteln die Stäbchen die Wahrnehmung von Helligkeitsunterschieden und ermöglichen somit auch das Dämmerungssehen. Die Fähigkeit, Farben unterscheiden zu können, wird auch als *photopisches* Sehen bezeichnet, das Wahrnehmen der Helligkeit als *skotopisches* Sehen. Diese beiden Formen des Sehens unterscheiden sich hinsichtlich der Empfindlichkeit gegenüber Licht verschiedener Wellenlänge: Das Empfindlichkeitsmaximum beim skotopischen Sehen liegt im Schwingungsbereich von 507 nm (Blaugrün), jenes des photopischen Sehens im Spektralbereich von 555 nm (Grüngelb) [Thews, 1999].

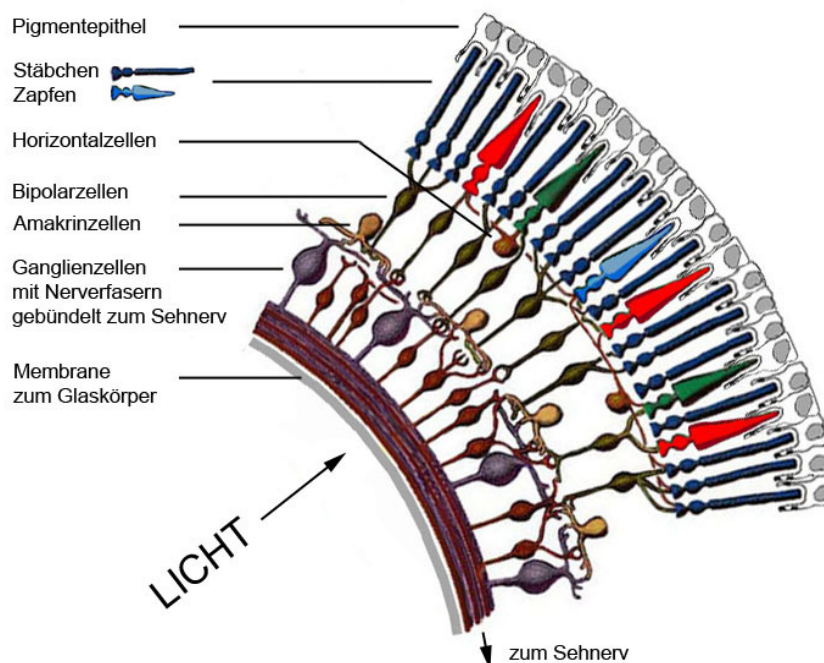


Abbildung 11: Aufbau der Retina des menschlichen Auges

[<http://www.dma.ufg.ac.at/app/link/Grundlagen%3AAllgemeine/module/16457?step=2>, 2012]

Für die Farbwahrnehmung relevant sind nach der Trichromatischen Theorie des Farbsehens nur drei Typen von farbspezifischen Zapfen, deren Absorptionsmaxima bei 565 nm (Rot), 535 nm (Grün) und 420 nm (Blau) liegen. Farben entstehen demnach durch die *additive Farbmischung*, d.h. Licht verschiedener Wellenlänge fällt auf ein und dieselbe Netzhautstelle und wird zu einem einheitlichen Farbeindruck verarbeitet. Die Ergebnisse der additiven Farbmischung lassen sich am besten durch das Farbdreieck (siehe Abbildung 12) darstellen. Die gesättigten Spektralfarben sind auf dem linken und auf dem rechten Schenkel des Dreiecks aufgetragen, nach der jeweiligen Wellenlänge sortiert, und die Mischfarben aus Rot und Blau auf dem unteren Schenkel. Zum Weißpunkt (E) hin nimmt die Farbsättigung ab, Farben deren Verbindungsgerade durch den Punkt E verlaufen, nennt man Komplementärfarben. So lassen sich alle Farbtöne durch additive Mischung aus den Primärfarben (Rot, Grün, Blau) herstellen [Thews, 1999].

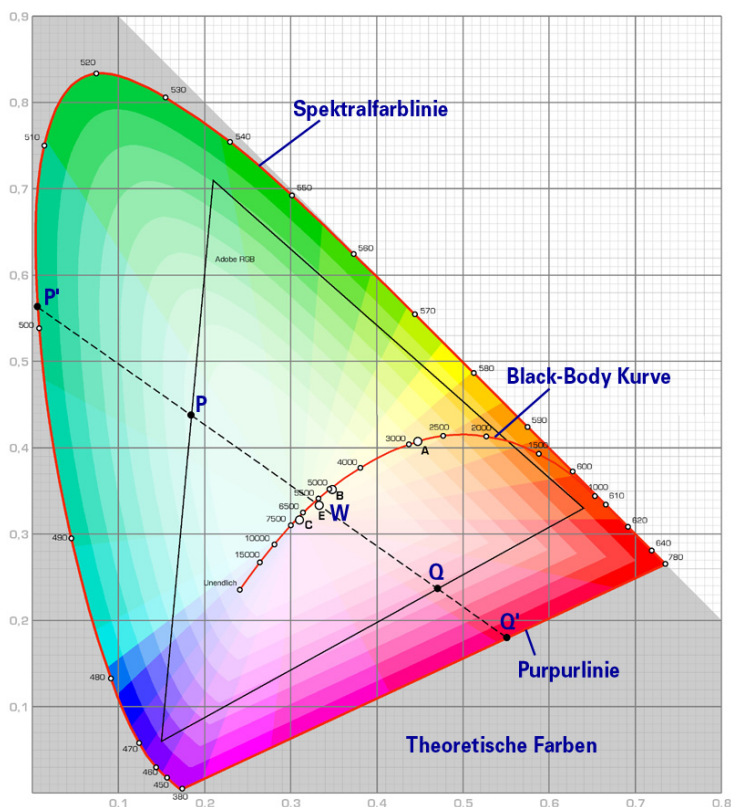


Abbildung 12: Normierte Farbtabelle zur Erklärung der additiven Farbmischung

[<http://de.wikipedia.org/w/index.php?title=Datei:CIE-Normfarbtabelle.png&filetimestamp=20110411013802>, 2012]

6.3 Signaltransduktion in den Sehzellen

Das Licht wird zunächst von Rhodopsin, dem Sehfärbstoff, absorbiert und in den Sehzellen in ein biochemisches Signal umgewandelt, welches sich in Bruchteilen einer Sekunde verteilt und eine Signalkettenkaskade in Gang setzt, die zur Änderung des elektrischen Potentials in der Plasmamembran führt. Die elektrischen Signale werden dann an das Zentralnervensystem weitergeleitet [Müller und Kaupp, 1998].

7 Psychologische Grundlagen zur Farbwirkung

7.1 Wirkung von Farbe auf den Menschen

Der visuelle Eindruck einer Farbe entsteht durch den Farbton, die Helligkeit und die Sättigung eines optischen Reizes. Mit dem Einsatz unterschiedlicher Farben kann man unterschiedliche Gefühle auslösen, Erwartungen erzeugen und Botschaften übermitteln, was sich beispielsweise die Werbung zunutze macht [Vollmar, 2010].

Da jedes Lebensmittel zunächst optisch wahrgenommen wird, spielt der Signalcharakter von Farben eine wichtige Rolle bei der Beurteilung von Lebensmitteln und deren Genießbarkeit. Eine frische, ansprechende Farbe wird mit guter Qualität assoziiert und weckt entsprechende Erwartungen an den Geschmack eines Produkts. Farbe stellt daher ein wichtiges Merkmal für die Akzeptanz und den Erfolg eines Lebensmittels bei VerbraucherInnen dar [Gagel, 2006].

Farben spielen aber auch in vielen weiteren Bereichen unseres Lebens eine wichtige Rolle, wie beispielsweise in den eigenen vier Wänden, im Garten oder auch bei der Kleidung. Die Farben, die uns umgeben, beeinflussen unsere Stimmung [Downham und Collins, 2000] und wirken auf unser Wohlbefinden und somit auf unsere psychische Gesundheit ein [Vollmar, 2010]. Farben

beeinflussen unser Gefühlsleben, indem sie Empfindungen hervorrufen. Der Kontext, in dem sie wahrgenommen werden, entscheidet darüber, wie sie auf uns wirken. Aber nicht zu jeder Farbe existiert eine spezielle Empfindung, da die Zahl der Gefühle die der Farben bei weitem übersteigt [Heller, 1999].

Neben Signalcharakter und psychologischer Wirkung hat Farbe auch kreative, traditionelle, kulturelle, politische und symbolische Bedeutung. Der symbolische Charakter einer Farbe entsteht durch Abstraktion von psychologischen Farbwirkungen. Dabei handelt es sich meist um jahrhundertealte Überlieferungen. So wird beispielsweise die Farbe „Grün“ mit Unreife assoziiert (unreifes Obst bzw. Gemüse) und verallgemeinert zur Farbe der Jugend (Grünschnabel) [Heller, 1999].

Sehr interessant in dem Zusammenhang ist auch der Aspekt, dass Menschen nicht alle gleich sehen. Wir gestalten unsere Wahrnehmung aktiv mit, indem wir bestrebt sind, nur das zu sehen, was wir sehen wollen. Bestimmte Farben sind, bewusst oder unbewusst, an bestimmte Vorstellungen gekoppelt. Ebenso spielen unsere Lieblingsfarben eine entscheidende Rolle bei der Farbwahrnehmung [Vollmar, 2010].

Farbtests, die Rückschlüsse auf die Persönlichkeit zulassen sollen, werden von der wissenschaftlichen Psychologie heute nicht mehr anerkannt, da die Ergebnisse als zu vage betrachtet werden, um als haltbare wissenschaftliche Aussagen gelten zu können. Ein und dieselbe Abfolge von Farben kann als Ergebnis eines Farbtests bei verschiedenen Testern zu völlig unterschiedlichen Interpretationen führen, da zu jeder Farbe unzählige Deutungen möglich sind [Heller, 1999].

7.1.1 Einfluss von Farbe auf den Geschmackssinn

Geschmack ist ein komplexer Sinneseindruck, der, ausgelöst durch Sinnesreize unterschiedlicher Sinnesorgane, bei der Nahrungsaufnahme entsteht. Die Summe all dieser Sinneseindrücke bildet eine Sinnesempfindung. Sobald diese

Sinnesempfindung durch Erfahrung oder Gelerntes gedeutet wird, spricht man von Wahrnehmung [Thews, 1999].

Die Wahrnehmung von Geschmacksreizen ist genetisch bedingt und individuell unterschiedlich. Wahrgenommen werden nicht nur das Aussehen, der Geruch und der Geschmack eines Nahrungsmittels, sondern ebenso seine Zusammensetzung und das Geräusch, welches durch Zerkauen von Nahrungsbestandteilen entsteht [Zampini et al., 2007]. Farbe weckt Erwartungen an sensorische Charakteristika von Lebensmitteln, beispielsweise wird eine hohe Farbintensität mit hoher Geschmacksintensität assoziiert. Farbe beeinflusst demnach unsere Erwartungen an ein Produkt sowie auch die Wahrnehmung desselben. So zeigt die Untersuchung von Wei et al. [2012] an Orangensäften, dass grünliche Säfte mit bitter und sauer in Verbindung gebracht werden (unreif), gelbliche und rötliche Säfte hingegen werden als süß und geschmacksintensiv empfunden (reif) [Wei et al., 2012].

Farbe stimuliert aber auch den Appetit auf eine Speise oder führt zur Ablehnung derselben [Downham und Collins, 2000]. Negative Erwartungen den Geschmack eines Produkts betreffend werden nicht unwesentlich von der Farbe beeinflusst. Eine Studie an 5-6 jährigen Kindern zeigt, dass untypische Gemüsefarben (z.B. gelbe oder schwarze statt grüne Bohnen) bei Kindern die Bereitschaft erhöhen, diese zu probieren. Festgefahrene negative Erwartungen an den Geschmack eines Lebensmittels können so möglicherweise überwunden werden [Poelman und Delahunty, 2011].

Die Studie von Zampini et al. [2007] zeigt, dass bestimmte Farben mit bestimmten Geschmacksrichtungen assoziiert werden. Die StudienteilnehmerInnen betrachteten im ersten Teil der Studie verschiedenfarbige Flüssigkeiten mit der Aufgabe, diese, ausgehend von diesem rein visuellen Eindruck, mit den für sie stimmigen Geschmacksrichtungen in Verbindung zu bringen (siehe Tabelle 1) [Zampini et al., 2007].

Farbe	Assoziation
Grün	Limette (69 %), Apfel (20 %), Melone (11 %)
Orange	Orange (91 %), Anis (5 %)
Gelb	Zitrone (89 %), Birne (5 %), Apfel (4 %)
Blau	Grüne Minze (86 %), Himbeere (9 %)
Rot	Erdbeere (46 %), Himbeere (27 %), Kirsche (27 %)
Farblos	Geschmacklos (51 %), Vanille (15 %)

Tabelle 1: Geschmacksassoziationen zu verschiedenfarbigen Flüssigkeiten [Zampini et al., 2007]

Im zweiten Teil der Studie kam es zur Verkostung der mit Aromen und Lebensmittelfarben versetzten Flüssigkeiten durch die TeilnehmerInnen. Die Aufgabe war es, den jeweils wahrgenommenen Geschmack der farbigen Lösungen zu benennen, wobei die verschiedenfarbigen Flüssigkeiten stets alle mit demselben Geschmack (z.B. Orange) versetzt waren. Alle Getränke einer Geschmacksrichtung wurden außerdem neben einer Standard-Farbintensität auch noch in einer höheren Farbintensität gereicht. Darüber hinaus fand sich bei jeder Geschmacksrichtung auch noch eine farblose Variante zur Geschmacksbestimmung. Die ProbandInnen wurden explizit darüber informiert, dass die Farbe der Flüssigkeit nicht unbedingt dem Geschmack entsprechen muss. 82 % der StudienteilnehmerInnen assoziierten schließlich – beim Beispiel der mit Orangenaroma versetzten Flüssigkeiten – die orange-farbige Flüssigkeit mit der Standard-Farbintensität mit dem Orangengeschmack, 79 % das orange-farbige Getränk mit der erhöhten Farbintensität und immerhin 69 % nahmen in der farblosen Flüssigkeit einen Orangengeschmack wahr (siehe Abbildung 13) [Zampini et al., 2007].

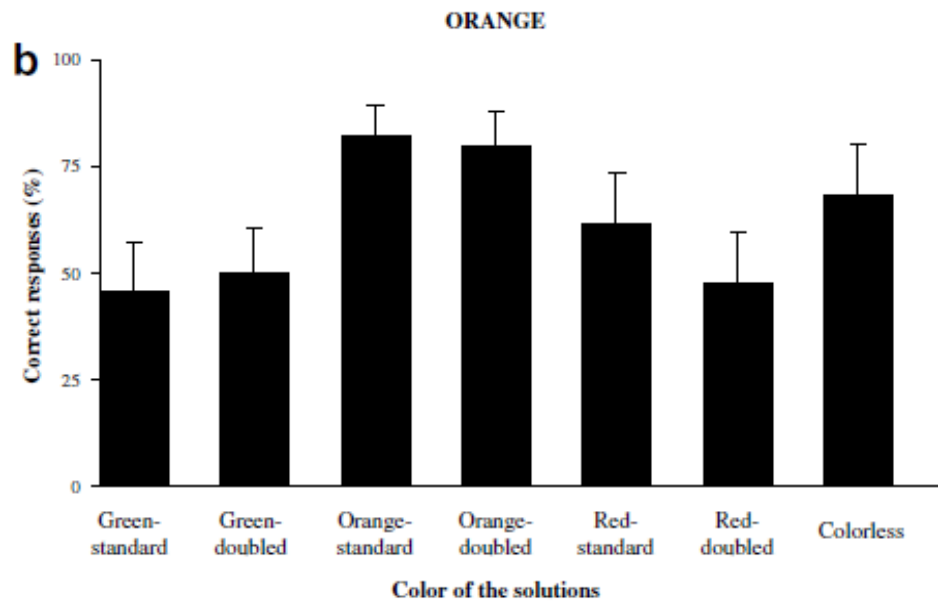


Abbildung 13: Assoziation des Orangengeschmacks zu verschiedenfarbigen Flüssigkeiten mit identischem Aroma [Zampini et al., 2007]

Interessant war das Ergebnis beim Erdbeergeschmack: Hier kam es zu keiner eindeutigen Geschmacksassoziation der StudienteilnehmerInnen zur rot gefärbten Flüssigkeit (siehe Abbildung 14) [Zampini et al., 2007].

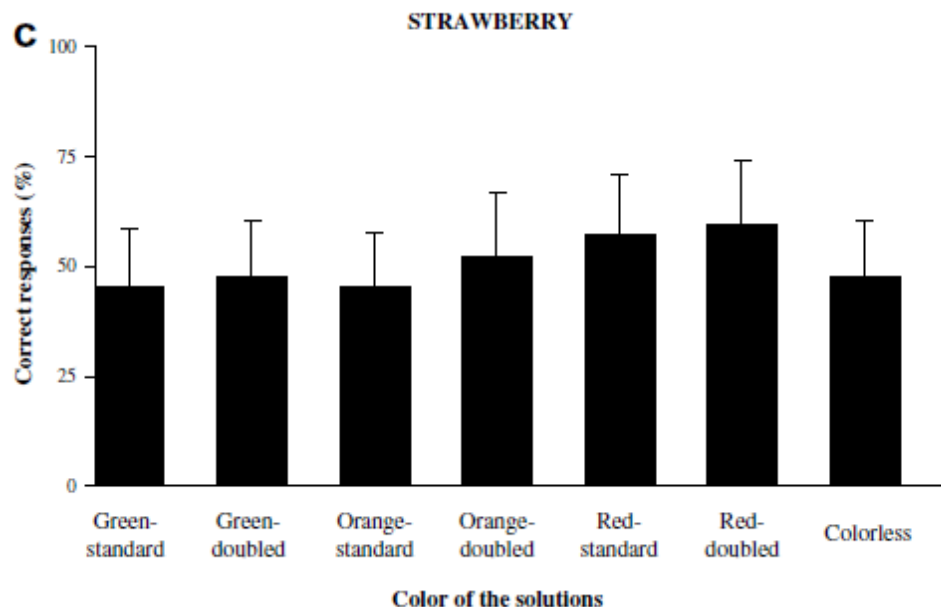


Abbildung 14: Assoziation des Erdbeergeschmacks zu verschiedenfarbigen Flüssigkeiten mit identischem Aroma [Zampini et al., 2007]

Auffallend war ebenso, dass bei dieser Untersuchung von den ProbandInnen kein intensiverer Geschmack bei intensiverer Färbung der Flüssigkeiten wahrgenommen wurde [Zampini et al., 2007]. Eine weitere Studie von Zampini et al. [2008] zeigte, dass es zu einer besseren Identifikation der Geschmacksrichtungen kommt, wenn den Fruchtsaftproben Fruchtsäure beigemischt wird. Vermutlich dient der Gehalt an Fruchtsäure, welcher natürlicherweise in Fruchtsäften enthalten ist, der besseren Zuordenbarkeit einer Geschmacksrichtung [Zampini et al., 2008].

Woods et al. [2010] konnten mit ihrer Untersuchung aufzeigen, dass die Geschmackserwartung sogar durch die gleich bleibende Farbe der Trinkbecher beeinflusst wird. Zwei unterschiedliche Lösungen wurden in Bechern gleicher Farbe angeboten. Dies führte dazu, dass die Probanden kaum Unterschiede zwischen den Becherinhalten feststellen konnten, obwohl der Zuckergehalt der darin befindlichen Lösungen beachtlich variierte [Woods et al., 2010].

Einen Zusammenhang zwischen Farbintensität von Lebensmitteln und deren Akzeptanz bei VerbraucherInnen stellten Chan und Kane-Martinelli [1997] fest. Untersucht wurden zwei Altersgruppen (20-30 Jährige und 60-90 Jährige) mittels Hühnersuppe und Schokoladepudding mit unterschiedlicher Farbintensität und Würzigkeit bzw. Süße. Bei der jüngeren Versuchsgruppe konnte ein Zusammenhang zwischen Farbintensität und Akzeptanz hergestellt werden, die Gruppe der älteren Personen hingegen zeigte keinen signifikanten Zusammenhang. Dies lässt auf einen Unterschied in der Wahrnehmung zwischen den beiden Altersgruppen schließen. Vermutlich spielt die Farbe der Nahrung für jüngere Personen eine größere Rolle als für ältere [Chan und Kane-Martinelli, 1997].

Interessant war zudem die Feststellung, dass die dargereichte Suppe mit mittlerer Farbintensität bei der Gruppe der 20-30 Jährigen am beliebtesten war und bei diesen den intensivsten Geschmackseindruck hinterließ, obwohl die farblose Suppe die meiste Würze enthielt. Letztere wurde also farbbedingt dennoch als weniger geschmacksintensiv empfunden [Chan und Kane-Martinelli, 1997].

Auch kulturelle Unterschiede dürften eine Rolle bei Farbe-Geschmack-Assoziationen spielen, wie die Studie von Shankar et al. [2010] zeigt. So assoziierten 70 % der britischen Probanden eine braune Probelösung mit „Cola“-Geschmack, wogegen 49 % der thailändischen Bevölkerung dieselbe Lösung mit „Trauben“-Geschmack in Verbindung brachten (0 % mit Cola-Geschmack). Unterschiedliche Farben können in unterschiedlichen Kulturgruppen demnach unterschiedliche Geschmackserwartungen erzeugen [Shankar et al., 2010].

Wie die Datenlage zeigt, hat Farbe einen immensen Einfluss auf den Geschmack eines Produkts und dieser wiederum auf die Lebensmittelauswahl der KonsumentInnen. Sensorische Attribute können daher als Schlüssel in der Lebensmittelproduktion angesehen werden [Clark, 1998].

8 Lebensmittelfärbung – wozu?

Wie schon in Abschnitt 7.1.1 erläutert, spielt die Farbe eines Lebensmittels in der menschlichen Ernährung eine große Rolle, da sie als eines der ersten wahrnehmbaren Merkmale unsere täglichen Entscheidungen hinsichtlich der Lebensmittelauswahl wesentlich beeinflusst [Wisker et al., 1980; Reyes et al., 1996].

Zum Thema „Lebensmittelfärbung – wozu?“ fand 1978 ein internationales Symposium in Basel statt, an dem sowohl VertreterInnen der Wissenschaft, der Industrie als auch von VerbraucherInnenverbänden teilnahmen. Diskutiert wurden neben toxikologischen Wirkungen, Rechtsvorschriften und Färbemethoden auch die psychologische Wirkung von Farben sowie die Rolle der sensorischen Farbbewertung von Lebensmitteln durch die VerbraucherInnen. Schon damals sorgte das Thema Lebensmittelfärbung für viel Diskussionsstoff bei ProduzentInnen, KonsumentInnen, PsychologInnen und ErnährungswissenschaftlerInnen [Brubacher und Schlierf, 1979].

Soziologische, technische und ökonomische Faktoren beeinflussten die Lebensmittelindustrie in den letzten Jahren besonders stark und veränderten auch den Lebensmittelmarkt. Die ProduzentInnen reagierten auf die Anforderungen, die durch „neue“ KonsumentInnen wie AlleinerzieherInnen oder arbeitende Mütter an sie gestellt wurden, und so kam es zu einem rapiden Anstieg an Convenience Produkten. Eine große Herausforderung für die Lebensmittelindustrie stellte die Herstellung dieser Produkte dar, die appetitlich aussehen, gut schmecken und den Erwartungen der VerbraucherInnen an Qualität und Preis entsprechen sollten [Downham und Collins, 2000].

Es schien notwendig, diesen Produkten Lebensmittelfarben zuzusetzen, um Farbe zu korrigieren, Farbverluste auszugleichen und farblose bzw. unansprechende Produkte optisch zu verbessern. Die zur Verfügung stehenden technischen Möglichkeiten dazu sind sehr vielfältig [Otterstätter, 2007].

Zwar stellt der Erhalt ansprechender und appetitlich aussehender Produkte das Ziel der Lebensmittelfärbung dar, da der Nährwert eines Lebensmittels aber von dessen Farbe nicht beeinflusst wird, ist der Zusatz von Farbstoffen aus ernährungsphysiologischer Sicht überflüssig [Wisker et al., 1980].

Noch viel mehr muss diese kritische Anmerkung für den Bereich der Kinderlebensmittel gelten, handelt es sich bei deren KonsumentInnen ja um eine sensible Personengruppe.

Eine Beschreibung des Begriffs Kinderlebensmittel wurde übrigens erstmals durch das Forschungsinstitut für Kinderernährung in Dortmund erarbeitet. Demnach sind Kinderlebensmittel Produkte, die mit dem Zusatz „Kinder“ oder „Kids“ gekennzeichnet sind, eine für Kinder attraktive Aufmachung besitzen (z.B. Comic-Helden, Sticker, etc.), kindgerecht portioniert sind, speziell geformt sind (z.B. Kekse mit Tiermotiven) bzw. gezielt für Kinder beworben werden [Lehner, 2005].

9 Synthetische Lebensmittelfarbstoffe

Grundsätzlich unterscheidet man bei den Färbemitteln anorganische unlösliche Pigmente, die ihre Farbwirkung durch Verteilung im Lebensmittel entfalten, sowie organische lösliche Farbstoffe, die durch das Auflösen im Produkt wirken. Anorganische und organische Farbstoffe werden wiederum in natürliche, naturidentische und synthetische (künstliche) unterteilt [Otterstätter, 2007].

Unter dem Begriff „Synthetische Farbstoffe“ werden einheitliche chemische Verbindungen zusammengefasst, die meist eine höhere Farbintensität aufweisen als natürliche Alternativen und aufgrund ihrer Struktur eine höhere Stabilität besitzen. In erster Linie wurden sie ursprünglich zum Färben von Textilien entwickelt, sie kommen heute aber auch zur Färbung von Lebensmitteln zum Einsatz [Ebermann und Elmadfa, 2008]. Die Einteilung der synthetischen Lebensmittelfarbstoffe erfolgt in Azofarbstoffe, Chinolinfarbstoffe, Indigofarbstoffe, Triarylmethanfarbstoffe und Xanthenfarbstoffe [Kashanian und Zeidali, 2010].

Obwohl heutzutage bevorzugt natürliche Farbstoffe zur Färbung von Kinderlebensmitteln eingesetzt werden, sind nach wie vor viele synthetische Farbstoffe zur Lebensmittelfärbung zugelassen [Ebermann und Elmadfa, 2008]. Die jährliche Wachstumsrate von synthetischen Farbstoffen liegt statistisch gesehen bei 3-5 %, im Gegensatz dazu liegt die prognostizierte jährliche Wachstumsrate für natürliche Alternativen bei 5-10 %. Die prozentuale Marktaufteilung der unterschiedlichen Farbstoffe lässt sich Abbildung 15 entnehmen [Downham und Collins, 2000].

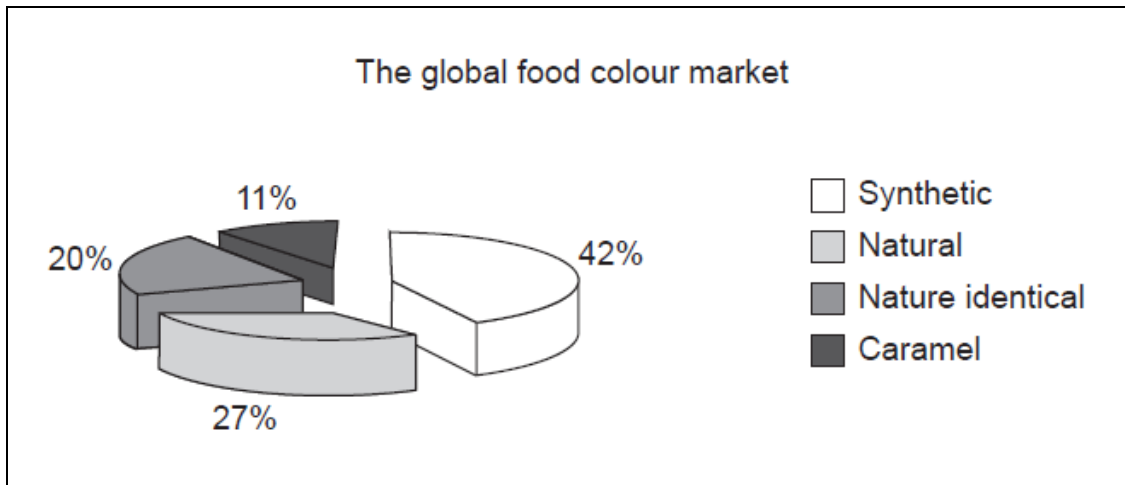


Abbildung 15: Prozentuale weltweite Marktaufteilung der unterschiedlichen Farbstoffgruppen [Downham und Collins, 2000]

Eine wachsende Forderung der KonsumentInnen nach mehr Natürlichkeit ist schon seit einigen Jahren zu beobachten. Lebensmittel, die mit Inhaltsstoffen der E-Reihe gekennzeichnet sind, werden von VerbraucherInnen skeptisch bewertet, im Gegensatz dazu werden Produkte mit natürlichen Inhaltsstoffen als unbedenklich eingestuft.

In diesem Zusammenhang ist aber auch interessant zu bemerken, dass die Akzeptanz für synthetische Lebensmittelfarbstoffe bei KonsumentInnen dann ansteigt, wenn die Farbstoffe mit Spaß, Lebensfreude und Genuss assoziiert werden. So genießen VerbraucherInnen das Speiseeis, die Torte oder bunte Süßigkeiten mit dem Wissen, dass diese möglicherweise hohe Konzentrationen an synthetischen Lebensmittelfarbstoffen enthalten [Gagel, 2006].

9.1 Azofarbstoffe

Azofarbstoffe sind sehr stabile und intensiv färbende synthetische Farbstoffe, welche als Chromophor eine oder mehrere Azogruppen ($-N=N-$) besitzen und mit über 2000 Verbindungen die größte Gruppe innerhalb der synthetischen Farbstoffe darstellen [Bertram, 1989].

Die Auswahl der Azofarbstoffe für diese Diplomarbeit erfolgte im Jahr 2010, als bei einer Überprüfung der Inhaltsstoffe aller angebotenen Kinderlebensmittel in

einem großen Wiener Lebensmittelgeschäft folgende Azofarbstoffe recherchiert werden konnten: Allurarot AC, Amaranth, Azorubin, Cochenillerot A, Gelborange S und Tartrazin. Nach erneuter Kontrolle der Zutatenliste derselben Lebensmittel im Jahr 2012 ließ sich feststellen, dass manche Hersteller die künstlichen Farbstoffe bereits durch naturidentische bzw. natürliche Farbstoffe ersetzt hatten.

Betrachtet man den Metabolismus von Azoverbindungen, so werden diese einerseits vom Intestinum (Dünndarm) resorbiert und gelangen so über den Blutkreislauf in die Leber, wo sie teilweise vom Enzym Cytochrom P 450 reduziert werden (reduktive Azospaltung) (siehe Abbildung 16), um schließlich über den Urin oder die Fäzes ausgeschieden zu werden. Andererseits werden Azofarbstoffe an das Colon (Dickdarm) weitergeleitet, wo die Substanzen von den vorhandenen Darmbakterien mithilfe der anaeroben Azoreduktase in ihre Ausgangsverbindungen zerlegt und mit den Fäzes ausgeschieden werden [Parkinson und Brown, 1981]. Die Spaltprodukte der bakteriellen Azoreduktase (beispielsweise aromatische Amine) können aber auch über das Colon resorbiert werden und so in den menschlichen Blutkreislauf gelangen [Shimanda et al., 2010; Parkinson und Brown, 1981].

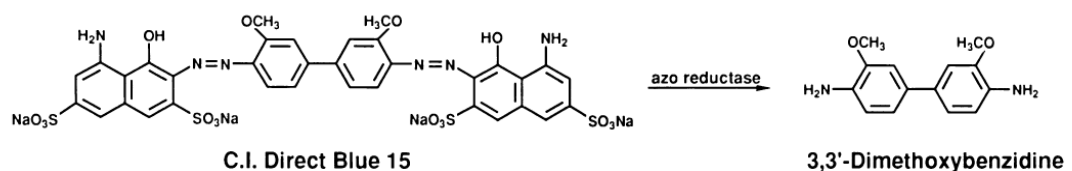


Abbildung 16: Reduktion der Azogruppe am Beispiel von Direkt Blue 15 [Rafii et al., 1990]

Um die Toxizität eines Azofarbstoffes voll erfassen zu können, müssen die bei der Reduktion entstandenen Metaboliten eruiert und auf ihr toxisches Potential hin untersucht werden. [Rafii et al., 1996; Rafii et al., 1990] Wie schon erwähnt, wird die Azoreduktion katalysiert durch Enzyme der Leber, aber auch durch Bakterien des GIT (Gastrointestinaltrakt), wobei die bakterielle Azoreduktase wesentlich aktiver ist als die hepatische [Rafii et al., 1996; Poul et al., 2009].

Manche Bakterienstämme wie z.B. *Bacteroides thetaiotaomicron*, *Citrobacter* sp. und *Fusobacterium* sp. 2 sind in der Lage, mehrere unterschiedliche Azofarbstoffe zu spalten, andere wiederum reduzieren nur einige wenige (siehe Tabelle 2) [Chung et al., 1978].

TABLE 1. Reduction of azo dyes by intestinal anaerobes

Organism	% Reduction (within 150 min)						
	Tartrazine	Ponceau SX	Sunset Yellow	Methyl orange	Orange II	Amaranth	Allura Red 40
<i>Coprococcus catus</i> (C20-4)	0	36	30	28	33	27	ND ^a
<i>Acidaminococcus fermentans</i> (C20-9)	4	6	9	66	72	5	0
<i>Fusobacterium prausnitzii</i> (C20-10)	2	0	4	80	74	30	33
<i>Bacteroides thetaiotaomicron</i> (C20-14)	67	62	60	100	— ^b	53	18
<i>Bifidobacterium infantis</i> (C20-21)	0	0	0	31	59	30	13
<i>Eubacterium biforme</i> (C20-26)	4	29	22	79	81	19	11
<i>Peptostreptococcus productus</i> II (C20-28)	0	0	8	13	—	10	0
<i>Citrobacter</i> sp. (C20-36)	16	52	56	97	94	66	28
<i>Peptostreptococcus productus</i> I (C20-44)	6	13	23	62	64	42	0
<i>Fusobacterium</i> sp. 2 (Finegold CA-8/c-18)	100	100	100	100	100	100	100

^a ND, Not determined.

^b —, Reduction observed; quantitation was difficult due to the significant absorption of color by cells.

Tabelle 2: Reduktion der Azofarbstoffe durch ausgewählte Bakterienstämme [Chung et al., 1981]

Ein wichtiges Kriterium bei der Metabolisierung eines Azofarbstoffs durch den menschlichen Organismus stellt die Transportzeit der Substanz und somit ihre Einwirkzeit auf bestimmte Zellen, Gewebe und Organe dar.

Shimanda et al. [2010] untersuchten die Passagezeit von Azofarbstoffen durch den GIT anhand von Brillant Blau FCF. Den Untersuchungen zufolge hatten 60% des Farbstoffs nach einer Stunde den Magen von Mäusen passiert. Etwa ein bis drei Stunden nach Einnahme des Farbstoffs hatte dieser bereits das Colon erreicht. DNA-Schädigungen des Colons waren zwei Stunden nach Eintreffen der Substanz zu verzeichnen und hielten bis zu 24 Stunden lang an [Shimanda et al., 2010].

9.1.1 Allurarot AC (E129)

Allurarot AC (6-Hydroxy-5-((2-Methoxy-5-Methyl-4-Sulfophenyl)-Azo)-2-Naphthalensulfonsäure; siehe Abbildung 17) ist ein roter, wasserlöslicher Diazofarbstoff, dessen Absorptionsmaximum in wässriger Lösung bei einer Wellenlänge von 504 nm liegt und der vor allem zur Färbung von Getränken, Süßigkeiten und Desserts eingesetzt wird [Fallico et al., 2011].

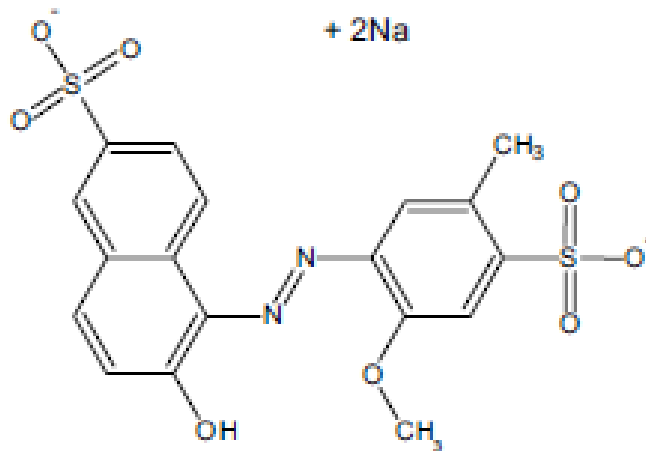


Abbildung 17: Chemische Struktur von Allurarot AC [Larsen, 2008]

Nach gründlicher Risikobewertung von SCF und JECFA wurde der ADI-Wert bei 0-7 mg/kg KG/d festgelegt [EFSA, 2009b; Downham und Collins, 2000; SCF, 1984]. Die Veröffentlichung der Southampton-Studie (siehe Abschnitt 10.2.2) von McCann et al. [2007] verlangte nach einer neuerlichen Überprüfung der dort verwendeten Farbstoffe. Die EFSA [2008] sah nach ausführlicher Risikobewertung von Allurarot AC keinen Grund, den ADI-Wert für diesen Farbstoff herabzusetzen [EFSA, 2008; EFSA 2009b].

Allerdings müssen alle Lebensmittel, die mit diesem Azofarbstoff versehen sind, seit 20.7.2010 den Warnhinweis „Kann Aktivität und Aufmerksamkeit von Kindern beeinflussen“ tragen [EU, 2008].

Die durchschnittliche realistische tägliche Aufnahme von Allurarot AC liegt bei europäischen Kindern (1-10 Jahre) bei 0,5-3 mg/kg KG/d, die theoretische Höchstmenge wird mit 9,4 mg/kg KG/d berechnet [EFSA, 2009b].

Husain et al. [2006] ermittelten tägliche Durchschnittswerte der Allurarot AC-Aufnahme (angegeben in Prozent des ADI-Werts) bei Kindern aus Kuwait (siehe Tabelle 3). Auffallend ist dabei die Überschreitung des ADI-Werts in jeder Altersstufe [Husain et al., 2006].

Alter	5	6	7	8	9	10
ADI (%)	133	499	345	194	485	286

Tabelle 3: Mittlere tägliche Allurarot AC-Aufnahme von kuwaitischen Kindern in Prozent des ADI-Werts [Husain et al., 2006]

Bei einer italienischen Studie, die den Farbstoffgehalt roter Getränke ermittelte, betrug die durchschnittliche realistische Allurarot AC-Aufnahme 0,3 -0,5 mg/kg KG/d, die durchschnittlichen Maximalgehalte lagen bei 6,5-13,9 mg/kg KG/d und stiegen im Höchstfall auf bis zu 33 mg/kg KG/d an. Die tatsächliche Aufnahme von Allurarot AC ist demnach stark vom Farbstoffgehalt der verzehrten Produkte abhängig [Fallico et al., 2011].

9.1.1.1 Resorption, Ausscheidung, Reduktionsprodukte

Es werden lediglich geringe Mengen von Allurarot AC im Instestinum resorbiert, metabolisiert und mit dem Urin ausgeschieden. Der Hauptanteil gelangt in das Colon, wird dort von unterschiedlichen Darmbakterien metabolisiert und entweder vom menschlichen Organismus aufgenommen oder mit den Fäzes wieder ausgeschieden [ESFA, 2009b].

Hauptmetaboliten, die als Zwischenprodukt beim Abbau von Allurarot AC entstehen, sind p-Kresidinsulfonsäure und 1-Amino-2-Hydroxynaphtalin-6-Sulfonsäure (siehe Abbildung 18) [Chung et al., 1981].

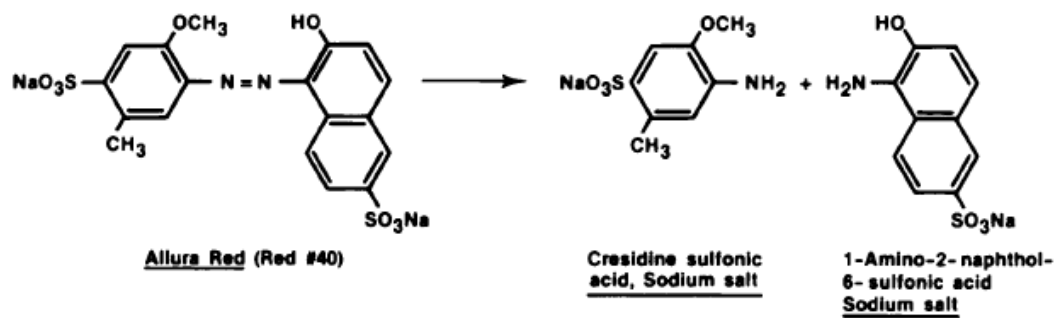


Abbildung 18: Metaboliten von Allurarot AC nach Abspaltung der Azogruppe [Chung et al., 1981]

Fehlende carcinogene Effekte von Allurarot AC [Sasaki et al., 2002; Tsuda et al., 2001] legen die Vermutung nahe, dass der Metabolit p-Kresidinsulfonsäure vom menschlichen Organismus nicht in die cancerogen wirkende Substanz p-Kresidin umgewandelt wird [EFSA, 2009b].

9.1.1.2 Toxikologische Bewertung

Sasaki et al. [2002] untersuchten das toxikologische Potential von Allurarot AC an Mäusen und legten den LD₅₀-Wert mit >2000 mg/kg KG fest [Sasaki et al., 2002]. Anderen Studien zufolge liegt der LD₅₀-Wert bei 10000 mg/kg KG (ermittelt an Ratten und Hasen) sowie bei 5000 mg/kg KG (ermittelt an Hunden) und weist auf eine geringe akute Toxizität von Allurarot AC hin [EFSA, 2009b].

Die Studie von Sasaki et al. [2002] zur Ermittlung des gentoxischen Potentials von Allurarot AC zeigte eine dosisabhängige DNA-Schädigung bei Mäusen. Nach Einnahme des Farbstoffes kam es zur DNA-Schädigung in Magen, Colon und Harnblase bei Konzentrationen ab 10 mg/kg KG/d. Allerdings konnten keine carcinogenen Effekte beobachtet werden [Sasaki et al., 2002]. Zu einem ähnlichen Ergebnis kam auch eine Studie von Tsuda et al. [2001], bei der ebenso DNA-Schädigungen im Colon bei trächtigen Mäusen ab Dosen von 10 mg/kg KG festgestellt wurden, nicht aber carcinogene Effekte [Tsuda et al., 2001]. Bei Ratten allerdings zeigte dieselbe Farbstoffkonzentration keinerlei Effekte. Eine mögliche Erklärung dafür dürfte die unterschiedliche

Stoffwechselaktivität der beiden Versuchstiere mit ihren artspezifischen Enzymen und Bakterien darstellen [Shimanda et al., 2010].

Um die unterschiedlichen Studienergebnisse bei Ratten und Mäusen auf den Menschen übertragen zu können, ist die Aufklärung des jeweils zugrundeliegenden Wirkmechanismus von großer Bedeutung.

Der Ames-Test, der selbst bei Verwendung des S9-Mix (= Mischung von Leberenzymen) immer wieder zu negativen Ergebnissen geführt hat, scheint für die komplexen metabolischen Prozesse bei Azofarbstoffen wenig geeignet. Vermutlich zeigen in-vivo-Tests bei Azoverbindungen eine größere Effektivität und sind daher eher zur Ermittlung des toxischen Potentials beim Menschen geeignet [Shimanda et al., 2010].

Eine Reihe von Studien zeigte keine gentoxischen Effekte [Rafii et al., 1997; Prival et al., 1988], weshalb das Panel on Food Additives, Flavourings, Processing Aids and Food Contact Materials (AFC) der EFSA in seinem Bericht von 2009 vermerkte, dass aufgrund der derzeitigen Datenlage keine gentoxischen Effekte von Allurarot AC zu erwarten seien. Allerdings müssten auch jene Studien berücksichtigt werden, welche ein mögliches gentoxisches Potential aufzeigen [EFSA, 2009b].

Kuno und Mizutani [2006] untersuchten die Auswirkungen von synthetischen Farbstoffen auf Phase-I- und Phase-II-Enzyme der Biotransformation. Allurarot AC führte zu keiner Inhibition der Cytochrom P 450 3A4 (CYP3A4)-Aktivität, des Enzyms mit der höchsten Phase-I-Aktivität. Ebenso kam es zu keiner signifikanten Hemmung des Phase-II-Enzyms UGT1A6. Allurarot AC dürfte demzufolge weder ein Substrat noch ein Inhibitor der Biotransformationsenzyme sein [Kuno und Mizutani, 2006].

Die von Reyes et al. [1996] publizierten in vitro Tests verzeichneten einen Einfluss unterschiedlicher Farbstoffe, unter anderem den von Allurarot AC, auf die Sauerstoffaufnahme in den Mitochondrien. Demzufolge kam es durch die Einwirkung von Allurarot AC auf Leber- und Nierenmitochondrien von Ratten zu einer Verminderung der Sauerstoffaufnahme [Reyes et al., 1996].

Allurarot AC zeigt außerdem eine hohe Bindungsaffinität zu unterschiedlichen Nahrungsproteinen wie z.B. Erdnussproteinen, Knoblauchproteinen und einer Mixtur aus verschiedenen Proteinen. Ermittelt wurde diese Bindungsaffinität mittels PAGE (Polyacrylamid-Gelelektrophorese) von Allurarot AC im Vergleich mit Coomassie-Brillant-Blau, das zum Anfärben von Proteinen verwendet wird. Allurarot AC führte bei dieser Untersuchung zu einer schnelleren Proteinfärbung als Coomassie-Brillant-Blau. Dieser Untersuchung zufolge kommt es zur Bildung eines Farbstoff-Protein-Komplexes, der zwar keine signifikante Auswirkung auf die Verdaulichkeit von BSA (bovine serum albumin) zeigt, allerdings zu einer Allurarot AC-induzierten Restriktion proteolytischer Enzyme bei der Nisin-Absorption führt (siehe Abbildung 19) [Abdullah et al., 2008].

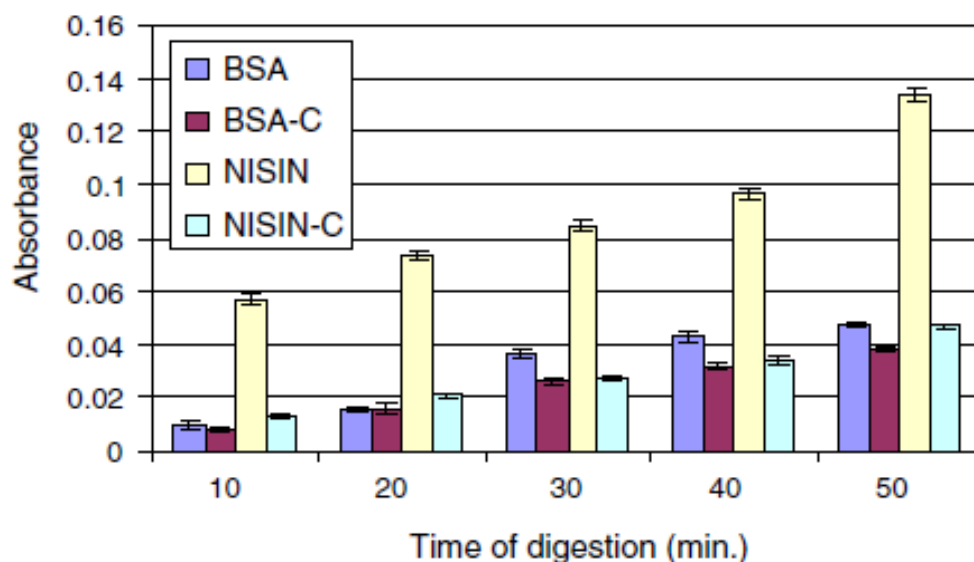


Abbildung 19: Effekt von Allurarot AC auf die Absorption von BSA und BSA-C (farbstoffgebundenes BSA) sowie Nisin und Nisin-C (farbstoffgebundenes Nisin) [Abdullah et al., 2008]

Park et al. [2009] untersuchten toxische Auswirkungen einzelner Farbstoffe und Farbstoffkombinationen auf Progenitorzellen (NPC, determinierte Stammzellen) des Zentralnervensystems (ZNS) bei Mäusen. Diese neuronalen Progenitorzellen dienen einerseits als Biomarker der Neurogenese (Bildung von Nervenzellen aus den Stammzellen) und können andererseits auf Veränderungen im adulten ZNS hinweisen.

Eine Kombination aus Allurarot AC und Amaranth reduzierte die NPC-Proliferation sowie die NPC-Funktionsfähigkeit beim sich entwickelnden ZNS der Mäuse. Die Untersuchungen zeigen, dass manche Farbstoffkombinationen, abhängig von der Farbstoffkonzentration, einen negativen Effekt auf die Entwicklung des ZNS und auf die adulte Neurogenese im Hippocampus ausüben [Park et al., 2009].

Die Studie von Vorheers et al. [1983] zur Ermittlung der Reproduktionstoxizität von Allurarot AC zeigte bei Ratten eine reduzierte Reproduktionsrate und ein verringertes Körpergewicht der Elterntiere sowie der Jungtiere. Dabei wurde dem Futter ein Allurarot AC-Anteil von bis zu 10 % beigemischt [Vorheers et al., 1983].

9.1.2 Amaranth (E123)

Amaranth besteht aus Trinatrium-2-Hydroxy-1-(4-Sulfo-1-Naphthylazo)-Naphthalin-3,6-Disulfonat (siehe Abbildung 20) und ist ein rot-brauner wasserlöslicher Monoazofarbstoff, der Lebensmitteln in Form von Pulver oder Granulat zugesetzt werden kann und vor allem als Natriumsalz, aber auch als Calcium- und Kaliumsalz Verwendung findet. Sein Absorptionsmaximum in wässriger Lösung liegt bei 520 nm [EU, 2009].

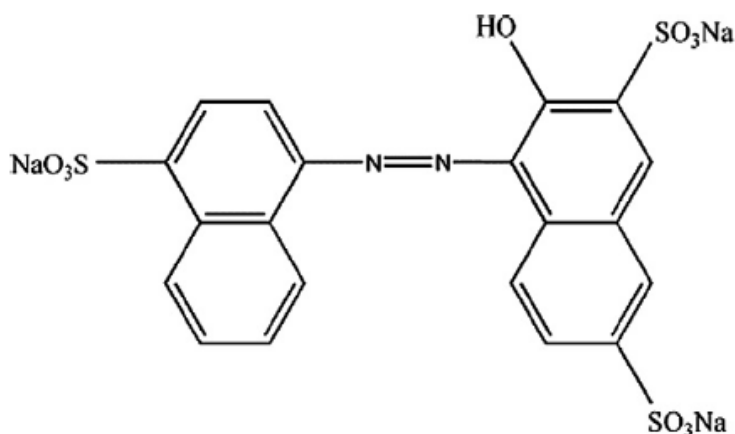


Abbildung 20: Chemische Struktur von Amaranth [Mqountoukas et al., 2010]

Der Farbstoff Amaranth wurde 1983 vom SCF und 1984 vom JECFA evaluiert. Dabei ermittelten beide Gremien unterschiedliche ADI-Werte infolge der Verwendung unterschiedlicher Studien als Grundlage für die jeweilige Evaluation. Die ermittelten Werte lagen bei 0,5 (SFC) bzw. 0,8 (JECFA) mg/kg KG/d.

Angesichts der unterschiedlichen Evaluierungsergebnisse kam es zu einer erneuten Überprüfung der Datenlage durch das AFC der EFSA. Dieses legte letztendlich den ADI-Wert mit 0,15 mg/kg KG/d fest.

Die in der EU zulässige Höchstmenge von Amaranth für Lebensmittel beträgt 30 mg/kg, für Getränke wurde eine obere Grenze von 100 mg/l festgesetzt. Der Farbstoff, der EU-weit verwendet werden darf, ist in den USA allerdings verboten [EFSA, 2010].

Die geschätzte Amaranth-Aufnahme europäischer Kinder (1-14 Jahre) liegt bei 0,0006-0,04 mg/kg KG/d, bei Erwachsenen beträgt sie 0,008-0,88 mg/kg KG/d [EFSA, 2010].

9.1.2.1 Resorption, Ausscheidung, Reduktionsprodukte

Amaranth wird in geringen Mengen vom menschlichen GIT resorbiert und hauptsächlich mit den Fäzes, aber auch mit dem Urin wieder ausgeschieden. Radomski und Mellinger [1962] verzeichneten bei Ratten bei einer einmaligen Gabe von 50 mg Amaranth eine Resorption des GIT von 2,8 % [EFSA, 2010]. Die Reduktion dieses Farbstoffs erfolgt hauptsächlich durch intestinale Bakterien und wird durch Kohlenmonoxid deutlich vermindert. Es konnte keine Akkumulation von Amaranth oder seinen Reduktionsprodukten im Gewebe der untersuchten Tierspezies (Ratten, Mäuse, Meerschweinchen) beobachtet werden. Der Stoffwechselweg von Amaranth im menschlichen Organismus aber ist weitgehend unbekannt [EFSA, 2010]. Die Sulfonatgruppen dieses Azofarbstoffs begünstigen vermutlich seine Aufnahme ins Intestinum [Shimada et al., 2010]. Hauptmetaboliten, die bei der Reduktion von Amaranth gebildet werden, sind 1-Amino-2-Naphthol-3,6-Disulfonsäure und Natrium-Naphthionat (siehe Abbildung 21) [Chung et al., 1981].

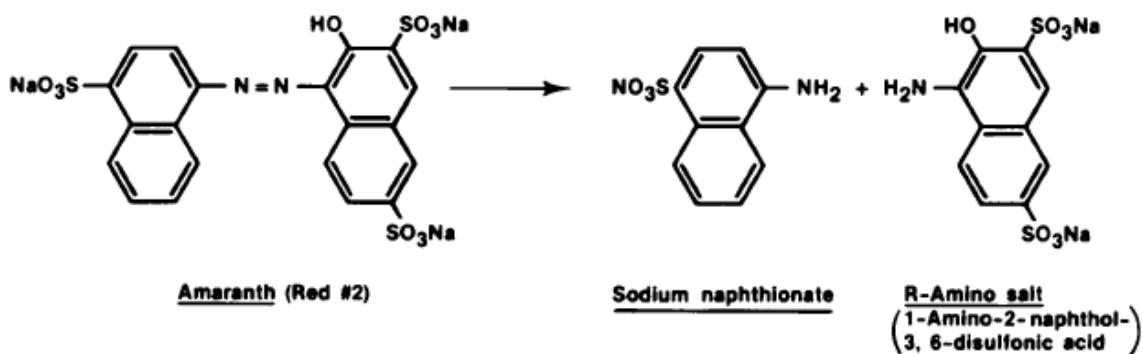


Abbildung 21: Metaboliten von Amarant nach Spaltung der Azogruppe [Chung et al., 1981]

Poul et al. [2009] dokumentierten die Ausscheidung von Amarant und Natrium-Naphthionat über die Fäzes bei Mäusen nach einmaliger oraler Gabe von 200 mg Amarant/kg KG und 1000 mg Amarant/kg KG innerhalb von 24 Stunden (siehe Abbildung 22) [Poul et al., 2009].

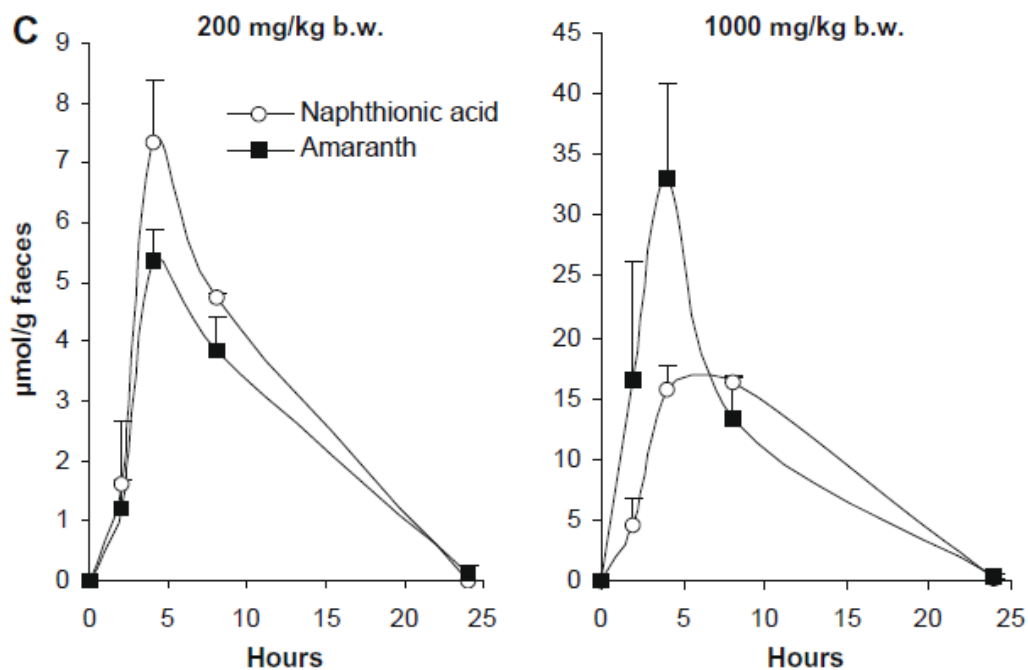


Abbildung 22: Ausscheidung von Amarant und Naphthionat über die Fäzes bei Mäusen nach oraler Gabe von 200 mg Amarant/kg KG und 1000 mg Amarant/kg KG [Poul et al., 2009]

9.1.2.2 Toxikologische Bewertung

Der LD₅₀-Wert für Amaranth liegt laut Galea et al. [1971] bei 6 g/kg KG für Ratten und bei >10 g/kg KG für Mäuse. Demnach ist die akute Toxizität dieses Azofarbstoffs relativ gering [EFSA, 2010].

Das gentoxische Potential von Amaranth sorgt aufgrund widersprüchlicher Studienergebnisse immer wieder für Diskussionsstoff in ExpertInnengremien. In den USA ist dieser Farbstoff aufgrund seines vermutlich cancerogenen Potentials verboten [Mpountoukas et al., 2010].

Die Hauptproblematik bei der Ermittlung des toxischen Potentials von Amaranth besteht in der Mannigfaltigkeit der Testverfahren, die oft zu sehr unterschiedlichen Studienergebnissen führen. Bei Anwendung des Ames-Tests sind immer wieder negative Resultate zu verzeichnen, ebenso beim Zelltransformationsassay. Zu positiven Ergebnissen hingegen führen beispielsweise Chromosomenaberrations- und Schwesternchromatidaustauschtests [Mpountoukas et al., 2010].

Der Comet-Assay von Sasaki et al. [2002] zeigte ab einer Einnahme von 10 mg Amaranth/kg KG/d eine dosisabhängige Schädigung der DNA des GIT bei Mäusen [Sasaki et al., 2002].

Mpountoukas et al. [2010] untersuchten das gentoxische, cytotoxische und cytostatische Potential von Amaranth an kultivierten menschlichen Lymphozyten. Ermittelt wurde das cytogenetische Potential mithilfe des Schwesternchromatidaustauschs, des Proliferationsrate- und Mitoserate-Index, der PCR (Polymerase Chain Reaction) und der Agarose-Gelelektrophorese. Diese Untersuchung zeigte im Gegensatz zu Sasaki et al. [2002] cytogenetische Effekte schon bei geringeren Amaranth-Dosen (siehe Tabelle 4). Den höchstsignifikanten cytotoxischen, cytostatischen und gentoxischen Effekt zeigte Amaranth bei einer Konzentration von 8 mM [Mpountoukas et al., 2010].

Cytogenetic effects of amaranth (AM) in cultured human lymphocytes.

Treatment	MI (%)	Mean SCEs/cell $\pm$ SEM (range)	Percent of cells in 1st, 2nd and subsequent (3rd+) divisions			PRI
			1st	2nd	3rd+	
(1) Control	47.0	6.09 $\pm$ 0.46 (0–13)	18.0	28.0	54.0	2.36
(2) AM 0.02 mM	46.4 ^{b,c}	8.63 $\pm$ 0.46 ^a (3–17)	13.0	30.0	57.0	2.44 ^{b,c}
(3) AM 0.2 mM	42.6 ^{b,c}	8.71 $\pm$ 0.52 ^a (1–17)	14.0	29.0	57.0	2.43 ^{b,c}
(4) AM 0.5 mM	42.2 ^{b,c}	8.74 $\pm$ 0.60 ^a (2–16)	15.0	30.0	55.0	2.40 ^{b,c}
(5) AM 1 mM	40.6 ^{b,c}	8.85 $\pm$ 0.59 ^a (1–15)	14.0	32.0	54.0	2.40 ^{b,c}
(6) AM 2 mM	39.4 ^{b,d}	9.11 $\pm$ 0.64 ^a (2–20)	17.0	28.0	55.0	2.38 ^b
(7) AM 4 mM	30.0 ^{a,b}	9.96 $\pm$ 0.49 ^a (4–19)	24.0	26.0	50.0	2.26 ^b
(8) AM 8 mM	7.0 ^a	10.12 $\pm$ 0.65 ^a (3–19)	32.0	43.0	25.0	1.93 ^a

The SCE frequency was based on 40 second division cells.

Results were based on three experiments with the same protocol.

A total of 300 metaphases were scored for the calculation of PRIs and 5000 activated lymphocytes were scored for MIs.

The suppression of PRIs was positively correlated with the reduction of MIs ($r = 0.970$; $p < 0.01$).

Tabelle 4: Effekt von Amaranth auf kultivierte menschliche Lymphozyten [Mpountoukas et al., 2010]

Hashem et al. [2010] untersuchten immuntoxische Auswirkungen von Amaranth auf Thymus, Milz und Blutzellen bei Ratten. Orale Gaben von 47 mg/kg KG/d führten dabei allerdings zu keiner Erhöhung des Körpergewichts und es konnte auch keine Gewichtszunahme von Milz und Thymus beobachtet werden. Die Gesamtleukozytenzahl blieb zwar unverändert, allerdings konnte eine signifikante Erhöhung der Lymphozyten und basophilen Granulozyten und eine Abnahme der Monozyten und neutrophilen Granulozyten beobachtet werden. Weiters konnte bei dieser Untersuchung eine Ödembildung in den Tatzen der Tiere nach intradermaler Injektion des Azofarbstoffs verzeichnet werden. Keine Auswirkungen zeigte der Farbstoff Amaranth auf die Gesamtprotein-, Albumin- und Globulinkonzentration [Hashem et al., 2010].

Sarikaya et al. [2012] untersuchten gentoxische Effekte von Amaranth bei der Schwarzbäuchigen Taufliege (*Drosophila Melanogaster*). Fütterungsversuche an 100 Fliegenlarven mit 1 mg, 12,5 mg, 25 mg und 50 mg Farbstoff/ml Versuchslösung zeigten nach der Metamorphose deutlich negative Effekte des Azofarbstoffs auf das flugfähige Insekt. Lediglich bei der niedrigsten Konzentration von 1 mg/ml waren keine negativen Effekte zu verzeichnen [Sarikaya et al., 2012].

Keine gentoxischen und cytotoxischen Effekte konnten Poul et al. [2009] bei Mäusen beobachten. Von zwei Versuchsgruppen erhielt die erste zwei orale Amaranth-Verabreichungen in einer Konzentration von 200 mg/kg KG im

Abstand von 24 Stunden. Bei der zweiten Versuchsgruppe lag der Wert bei 1000 mg/kg KG [Poul et al., 2009].

Positive gentoxische Effekte verzeichneten Tsuda et al. [2001] bei Untersuchungen an Mäusen. DNA-Schädigungen des Colons zeigten sich drei Stunden nach Einnahme des Farbstoffs Amaranth. Die niedrigste schädigende Dosis lag bei 10 mg/kg KG/d [Tsuda et al., 2001].

Auch bei einer Studie von Shimanda et al. [2010] kam es bei Amaranth-Konzentrationen ab 10 mg/kg KG/d zu einer dosisabhängigen DNA-Schädigung des Colons bei Mäusen. Bei Ratten hingegen konnten diese negativen Effekte nicht beobachtet werden [Shimanda et al., 2010].

9.1.3 Azorubin (E122)

Azorubin (Dinatrium-4-Hydroxy-3-(4-Sulfo-1-Naphthylazo)-Naphthalin-1-Sulfonat; siehe Abbildung 23), auch als Karmosin bezeichnet, ist ein roter bis kastanienbrauner wasserlöslicher Monoazofarbstoff, welcher vor allem zum Färben von Süßwaren, Desserts, Speiseeis, Puddings, Knabbergebäck und Sirup verwendet wird. Dabei findet er Anwendung als Natrium-, Calcium- oder Kaliumsalz und wird Lebensmitteln als Pulver oder Granulat zugesetzt. Azorubin besitzt in wässriger Lösung ein Absorptionsmaximum von 516 nm [EU, 2009].

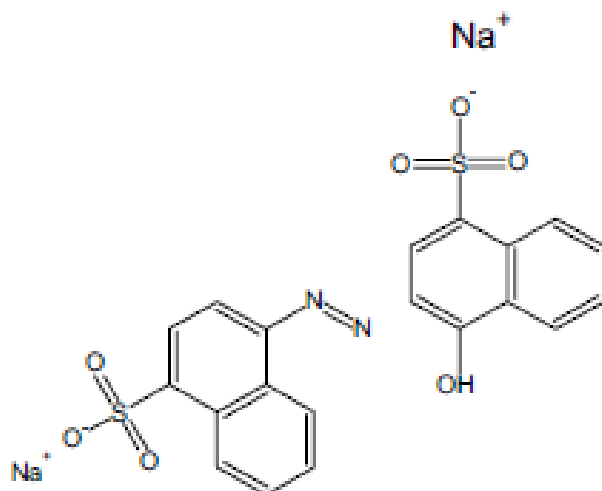


Abbildung 23: Chemische Struktur von Azorubin [Larsen, 2008]

Die Evaluation dieses Farbstoffs erfolgte 1983 durch das JECFA und 1984 durch das SCF, die den ADI-Wert von Azorubin mit 0-4 mg/kg KG/d festlegten. Die Ergebnisse der Southampton-Studie [McCann et al., 2007] (siehe Abschnitt 10.2.2) verlangten nach einer Neubewertung dieses Farbstoffes durch das AFC der EFSA, dieses konnte aber aufgrund der Datenlage keine Empfehlung zur Herabsetzung des ADI-Werts veröffentlichen [EFSA, 2009c]. Seit 20.7.2010 müssen aber auch Lebensmittel, die mit diesem Farbstoff, der in der Southampton-Studie [McCann et al., 2007] als Teil des Gemisches untersucht wurde, versehen sind, den Warnhinweis tragen „Kann die Aktivität und Aufmerksamkeit von Kindern beeinträchtigen“ [EU, 2008].

Das AFC der EFSA berechnete eine mittlere tägliche Azorubin-Aufnahme der europäischen Gesamtbevölkerung von 8,1 mg/kg KG/d [EFSA, 2009c].

9.1.3.1 Resorption, Ausscheidung, Reduktionsprodukte

Azorubin wird in geringen Mengen vom Körper resorbiert und in der Leber von Cytochrom P 450 in seine Ausgangsprodukte zerlegt. Die Reduktion erfolgt aber auch im Colon mittels anaerober Azoreduktase. Untersuchungen mit radioaktivem ^{14}C -Azorubin zeigten, dass die Verteilung von Azorubin im Gewebe rasch erfolgt, aber nicht einmal 10 % der zugeführten Menge resorbiert werden. Der größte Anteil des radioaktiven ^{14}C -Azorubin war bereits nach 24 Stunden mit den Fäzes oder dem Urin wieder ausgeschieden. Hauptmetaboliten von Azorubin sind Natrium-Naphthionat, 2-Amino-1-Naphthol-4-Sulfonsäure und 1,2-Naphthochinon-4-Sulfonat [EFSA, 2009c].

9.1.3.2 Toxikologische Bewertung

Die akute Toxizität von Azorubin ist vermutlich gering, der LD_{50} -Wert liegt unterschiedlichen Studien zufolge bei >8000 mg/kg KG bzw. >10000 mg/kg KG [EFSA, 2009c].

In der Studie von Amin et al. [2010] wurden hepatotoxische Effekte von Azorubin und Tartrazin (siehe Abschnitt 9.1.6.2) im Blutserum junger Ratten

ermittelt. Als Biomarker dienen die Leberenzyme ALT (Alanin-Aminotransferase), AST (Aspartat-Aminotransferase) und ALP (Alkalische Phosphatase). Eine erhöhte Aktivität dieser Enzyme ist ein wichtiges Indiz für Leberschädigungen.

Beim Abbau von Azorubin in den Hepatozyten werden als Reduktionsprodukte aromatische Amine gebildet, die in weiterer Folge mit Nitrit oder Nitrat zu reaktiven Sauerstoffspezies (ROS) wie z.B. Hyperoxid-Anion, Hydroxyl-Radikal oder Hydroperoxid reagieren können. Erhöhte ROS in der Leber verursachen unter Umständen Autoxidationen und können in weiterer Folge zu erhöhter Permeabilität und somit zur Schädigung des Lebergewebes führen [Amin et al., 2010].

Die Untersuchung von Amin et al. [2010] zeigte bei einer hohen Azorubin-Dosis von 100 mg/kg KG/d einen signifikanten Anstieg der ALT-, AST- und ALP-Aktivität im Blutserum. Eine niedrigere Azorubin-Dosis von 8 mg/kg KG/d zeigte lediglich eine signifikante Erhöhung der ALT- und ALP-Aktivität.

Infolge der unterschiedlichen Lokalisierung der Leberenzyme (ALT im Cytoplasma und AST hauptsächlich in den Organellen) kann es zur Schädigung der Leberzellen und derer Zellorganellen (z.B. Mitochondrien) kommen [Amin et al., 2010].

Weiters beobachteten Amin et al. [2010] bei einer Einnahme von 100 mg Azorubin/kg KG/d einen signifikanten Anstieg der Albumin-, Globulin- und Gesamtproteinkonzentration im Serum der Ratten (siehe Tabelle 5).

Vermutlich kommt es aufgrund der Schädigung des Lebergewebes durch den Farbstoff Azorubin zu einer vermehrten Protein-Biosynthese und folglich zur Erhöhung der Proteinkonzentration im Blut. Gleichzeitig führen geschädigte Gewebsstrukturen zum Anstieg der Immunglobulin-Konzentration, die für Hypersensitivitätsreaktionen verantwortlich sein könnten [Amin et al., 2010].

	Kontrollgruppe	Niedrige Azorubin-Gabe	Hohe Azorubin-Gabe
ALT (u/l)	8,91 $\pm$ 0,27	14,2 $\pm$ 1,19	17,2 $\pm$ 0,94
AST (u/l)	47,85 $\pm$ 2,70	47,68 $\pm$ 2,41	52,91 $\pm$ 2,54
ALP (iu/l)	87,56 $\pm$ 2,79	114,16 $\pm$ 3,85	115,45 $\pm$ 2,89
Gesamtprotein g/dl	5,59 $\pm$ 0,12	5,71 $\pm$ 0,26	6,16 $\pm$ 0,10
Albumin (g/dl)	3,81 $\pm$ 0,14	3,94 $\pm$ 0,03	4,27 $\pm$ 0,27
Globulin (g/dl)	1,77 $\pm$ 0,005	1,8 $\pm$ 0,07	1,89 $\pm$ 0,05

Tabelle 5: Effekt von Azorubin auf die Konzentration von ALT, AST, ALP, Gesamtprotein, Albumin und Globulin bei Ratten [Amin et al., 2010]

Weiters konnte bei der Studie von Amin et al. [2010] ein signifikanter Anstieg der Harnstoff- und Kreatininkonzentration verzeichnet werden, der durch eine Beeinträchtigung der renalen Funktion erklärt werden kann. In dieser Untersuchung konnten außerdem erniedrigte Gesamtcholesterinspiegel und reduzierte HDL- und LDL-Werte beobachtet werden sowie erhöhte Triglycerid-Werte (siehe Tabelle 6) [Amin et al., 2010].

	Kontrollgruppe	Niedrige Azorubin-Gabe	Hohe Azorubin-Gabe
Harnstoff (mg/dl)	17,54 $\pm$ 0,68	37,76 $\pm$ 2,05	42,15 $\pm$ 1,03
Kreatinin (mg/dl)	1,32 $\pm$ 0,06	1,55 $\pm$ 0,05	1,56 $\pm$ 0,09
Gesamtcholesterin (mg/dl)	143,41 $\pm$ 4,32	121,71 $\pm$ 4,68	118,2 $\pm$ 3,31
Triglyceride (mg/dl)	130,6 $\pm$ 3,98	132,95 $\pm$ 2,8	144,6 $\pm$ 3,01
HDL (mg/dl)	87,11 $\pm$ 1,47	71,33 $\pm$ 2,89	59,93 $\pm$ 1,01
LDL (mg/dl)	34,18 $\pm$ 1,52	28,18 $\pm$ 1,91	17,83 $\pm$ 1,30

Tabelle 6: Effekt von Azorubin auf die Konzentration von Harnstoff, Kreatinin, Gesamtcholesterin, Triglycerid, HDL-Cholesterin und LDL-Cholesterin bei Ratten [Amin et al., 2010]

Das Ausmaß des oxidativen Stresses wurde anhand von SOD (Superoxid-Dismutase), GSH (Glutathion), Katalase und MDA (Malondialdehyd) ermittelt. So führte eine hohe Azorubin-Dosis zu einer Erniedrigung der SOD-Aktivität, hohe und niedrige Dosen zeigten eine erniedrigte Katalase und GSH-Aktivität sowie eine erhöhte MDA-Bildung (siehe Tabelle 7). Der zugrundeliegende Mechanismus dürfte nicht in der N-Hydroxylierung und Veresterung begründet sein, sondern in der Bildung von radikalen Sauerstoffspezies nach Reduktion der Azofarbstoffe durch das Darmbakterium *Enterococcus faecalis* und

anschließender Interaktion der entstandenen aromatischen Amine mit Nitrit oder Nitrat. Die dabei entstandenen Nitrosamine erhöhen in weiterer Folge den oxidativen Stress [Amin et al., 2010].

	Kontrollgruppe	Niedrige Azorubin-Gabe	Hohe Azorubin-Gabe
SOD (u/g)	70,68 $\pm$ 1,50	69,3 $\pm$ 1,91	50,18 $\pm$ 2,36
Katalase ($k \times 10^{-2}$)	47,03 $\pm$ 2,01	36,15 $\pm$ 1,44	27,25 $\pm$ 1,86
GSH (nmol/100mg)	72,9 $\pm$ 1,41	66,25 $\pm$ 1,83	61,12 $\pm$ 1,07
MDA (nmol/g/h)	4,82 $\pm$ 0,41	6,27 $\pm$ 0,44	8,32 $\pm$ 0,36

Tabelle 7: Effekt von Azorubin auf SOD, Katalase, GSH und MDA bei Ratten [Amin et al., 2010]

Die Untersuchung zeigte auch eine verminderte Körpergewichtszunahme in Abhängigkeit von der zugeführten Dosis von Azorubin im Vergleich zur Kontrollgruppe (Abbildung 24). Die reduzierte Zunahme des Körpergewichts stellt einen sensitiven Indikator für die Toxizität von Azorubin dar [Amin et al., 2010].

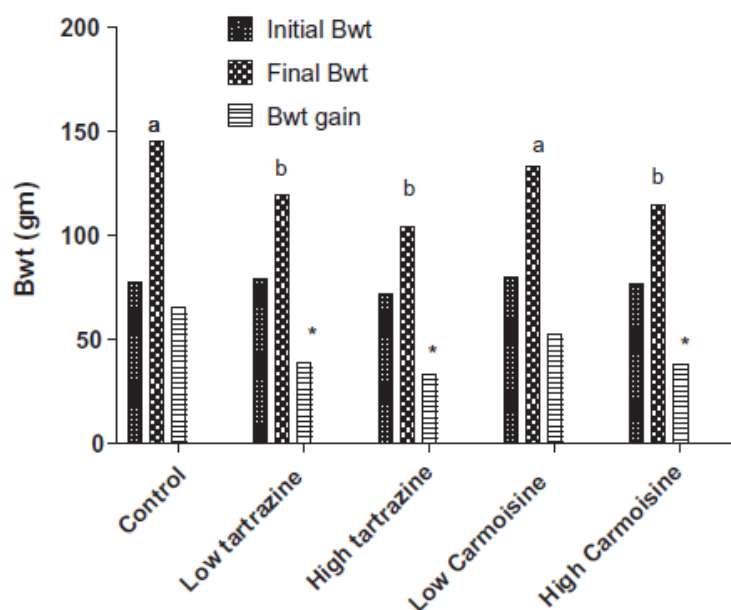


Abbildung 24: Zusammenhang zwischen Azorubin („Carmoisine“)-Aufnahme und verminderter Körpergewichtszunahme [Amin et al., 2010]

Zu ähnlichen Ergebnissen kamen auch El-Wahab und Moram [2012]. Sie untersuchten bei Ratten die Auswirkungen mehrerer Farbstoffe (in Kombination mit Aromastoffen). Wie aus Tabelle 8 hervorgeht, hat die Aufnahme aller

untersuchten Farbstoffe (mit oder ohne Aromastoffe) im Vergleich zur Kontrollgruppe eine reduzierte Körpergewichtszunahme zur Folge. Die verminderte Gewichtszunahme war in allen Versuchsgruppen signifikant. Ebenso konnte bei der Aufnahme aller eingesetzten Farbstoffe (egal ob sie mit Aromastoffen kombiniert wurden oder nicht) eine Wachstumsretardierung der männlichen Tiere festgestellt werden. Erklärt werden diese Wachstumsverzögerungen durch eine mögliche Bindung der Farbstoffe an die Oberfläche von intestinalen Bakterien, wodurch die Bakterien inhibiert werden und es weiters zur Verminderung der Absorptionskapazität von Nahrungspartikeln kommt [El-Wahab und Moram, 2012]. Die Untersuchungsergebnisse von El-Wahab und Moram [2012] decken sich mit jenen von Amin et al. [2010], nicht aber mit den Ergebnissen von Mehedi et al. [2009].

In der Studie von El-Wahab und Moram [2012] konnte trotz verminderter Körpergewichtszunahme in allen Versuchsgruppen sogar eine Erhöhung der Nahrungsaufnahme beobachtet werden, weshalb bei dieser Untersuchung auch der Wirkungsgrad der Fütterung dokumentiert wurde (Gewichtszunahme / Gesamtnahrungsaufnahme).

Die Studienergebnisse zeigen weiters, dass die Inhibition der Resorption der Nahrungsbestandteile dann am größten ist, wenn die Farbstoffe mit Aromastoffen kombiniert werden [El-Wahab und Moram, 2012].

Animal groups fed	Body weight gain (g)	Growth rate (%)	Total feed intake (g) in 42 days	Feed efficiency ratio
Basal diet (control)	+112 ⁱ ± 1.31	+91	482 ^f ± 1.11	+0.232
Basal diet + Br. blue	-23 ^b ± 1.05	-17	525 ^b ± 1.27	-0.04
Basal diet + carmoisine	-24 ^b ± 1.11	-22.4	494 ^c ± 1.23	-0.048
Basal diet + tartrazine	-10 ^e ± 0.55	-7.7	497 ^c ± 1.06	-0.02
Basal diet + propylene glycol	-28 ^c ± 0.89	-22.3	501 ^c ± 1.33	-0.055
Basal diet + trans-anethole	-43 ^g ± 0.66	-35.3	569 ^d ± 1.12	-0.075
Basal diet + vanillin	-30 ^d ± 1.02	-23.1	571 ^d ± 1.57	-0.05
Basal diet + Br. blue + propylene glycol	-29 ^{c,d} ± 1.13	-23.5	496 ^c ± 1.22	-0.058
Basal diet + carmoisine + anethole	-45 ^h ± 0.55	-34.2	535 ^b ± 1.89	-0.084
Basal diet + tartrazine + vanillin	-34 ^f ± 0.89	-28.7	591 ^e ± 1.33	-0.057
LSD, $p < 0.05$	0.921		1.031	
LSD, $p < 0.01$	1.362		2.0721	

LSD: least significant difference.

^aValues given as mean of 10 rats ± SD. Means with the same superscript letters are not significant.

Tabelle 8: Effekt unterschiedlicher mit Aromastoffen kombinierter Farbstoffe auf das Körpergewicht, die Wachstumsrate und die Nahrungsaufnahme der Versuchstiere und auf den Wirkungsgrad der Fütterung [El-Wahab und Moram, 2012]

Sharma et al. [2008] konnten mit ihrer Untersuchung nephro-, hepato- und gametotoxische Effekte bei Farbstoffmischungen von Azorubin und Cochenillerot A nachweisen (siehe Abschnitt 9.1.4.2) [Sharma et al., 2008].

Gaunt et al. [1996], die in ihrer Studie Ferkel 90 Tage lang mit Azorubin-Konzentrationen von 0, 250, 500 und 1000 mg/kg KG/d fütterten, verzeichneten keinerlei toxische oder pathologische Effekte sowie keine signifikanten Unterschiede zwischen der Azorubin-Gruppe und der Kontrollgruppe [EFSA, 2009c].

9.1.4 Cochenillerot A (E124)

Cochenillerot A (7-Hydroxy-8-((4-Sulfo-1-Naphthalenyl)-Azo)-1,3-Naphtalendisulfonsäure; siehe Abbildung 25) wird Lebensmitteln meist in Form von Natriumsalz zugesetzt, seltener als Calcium- oder auch als Kaliumsalz. Cochenillerot A ist ein scharlachroter, wasserlöslicher Monoazofarbstoff, der vor allem zur Färbung von Getränken, Fruchtgelees und Süßigkeiten verwendet wird. Sein Absorptionsmaximum liegt im wässrigen Milieu bei einer Wellenlänge von 505 nm [EU, 2009].

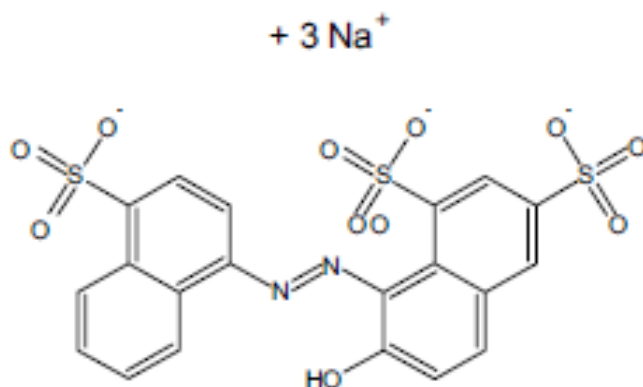


Abbildung 25: Chemische Struktur von Cochenillerot A [Larsen, 2008]

Der ADI-Wert für Cochenillerot A wurde auf Empfehlung der EFSA [2009a] von der Europäischen Kommission mittels Verordnung Nr. 232/2012 von 4 mg/kg KG/d auf 0,7 mg/kg KG/d gesenkt [EFSA, 2009a; EU, 2012]. Seit 20.7.2010 muss jedes Lebensmittel, dem dieser Farbstoff zugesetzt ist, den Warnhinweis „Kann die Aktivität und Aufmerksamkeit von Kindern beeinträchtigen“ tragen, da

auch Cochenillerot A im Farbstoffgemisch der Southampton-Studie [McCann et al., 2007] enthalten war [EU, 2008].

Die AGES [2010] veröffentlichte geschätzte Aufnahmemengen von Cochenillerot A bei österreichischen Vorschulkindern auf Grundlage nationaler Verzehrsstudien (siehe Tabellen 9 und 10) [AGES, 2010].

	Verzehr (MW, g/d)	Aufnahme (mg/kg KG)	% ADI	Verzehr (95.Perz., g/d)	Aufnahme (mg/kg KG)	% ADI
Süßwaren	0,0265	0,03	4,1	0,072	0,08	11,2
Getränke	0,192	0,15	20,8	0,65	0,49	70,6
Konditorwaren	0,0399	0,03	3,9	0,08	0,05	7,6
Gesamt		0,20	28,9		0,63	89,4

Tabelle 9: Geschätzte Aufnahmemengen von Cochenillerot A bei österreichischen Vorschulkindern im Vergleich zur tolerierbaren täglichen Aufnahmemenge (berechnet mit durchschnittlichen Gehalten) [AGES, 2010]

	Verzehr (MW, g/d)	Aufnahme (mg/kg KG)	% ADI	Verzehr (95.Perz., g/d)	Aufnahme (mg/kg KG)	% ADI
Süßwaren	0,0265	0,10	15,0	0,072	0,28	40,7
Getränke	0,192	0,47	66,8	0,65	1,58	226,1
Konditorwaren	0,0399	0,05	7,5	0,08	0,10	14,5
Gesamt		0,62	89,2		1,97	281,3

Tabelle 10: Geschätzte Aufnahmemengen von Cochenillerot A bei österreichischen Vorschulkindern im Vergleich zur tolerierbaren täglichen Aufnahmemenge (berechnet mit Maximalgehalten) [AGES, 2010]

Wie aus Tabelle 10 hervorgeht, kam es bei der Berechnung der Cochenillerot A-Aufnahme bei sehr hohem Verzehr von mit diesem Farbstoff versetzten Getränken zur Überschreitung des ADI-Werts. Da sich der ADI-Wert aber auf lebenslange Expositionen bezieht, besteht bei gelegentlichem Überschreiten dieses Werts kein Gesundheitsrisiko für den Menschen. Die Aufnahmemengen bei durchschnittlichem Verzehr lagen unter dem ADI-Wert. Die Durchschnittswerte des Farbstoffgehalts, welche für die in Tabelle 10 veranschaulichten Berechnungen herangezogen wurden, lagen bei 21,81 mg/kg (Süßwaren), bei 15,20 mg/l (Getränke) und bei 13,74 mg/kg (Konditorwaren). Die Maximalkonzentrationen hingegen lagen bei 79 mg/kg (Süßwaren), bei 48,7 mg/l (Getränke) und bei 26,3 mg/kg (Konditorwaren) [AGES, 2010].

9.1.4.1 Resorption, Ausscheidung, Reduktionsprodukte

Orale Gaben von Cochenillerot A werden vom Körper in geringen Mengen resorbiert und über Urin und Galle, hauptsächlich aber mit den Fäzes wieder ausgeschieden. Zu den Hauptmetaboliten zählen Naphthionat und 7-Hydroxy-8-Aminonaphtalen-1,3-Disulfonsäure [EFSA, 2009a]. Die Untersuchung von Phillips et al. [1982] mit radioaktiv markiertem ¹⁴C-Cochenillerot A an Mäusen, Ratten und Meerschweinchen zeigte eine vollständige Exkretion nach 72 Stunden. Weiters konnte keine Akkumulation in den Geweben der Versuchstiere beobachtet werden. In der Studie konnte zudem beobachtet werden, dass trächtige Ratten eine geringe Dosis von Cochenillerot A an ihre Nachkommen weitergeben [Phillips et al., 1982].

9.1.4.2 Toxikologische Bewertung

Die akute Toxizität von Cochenillerot A ist mit LD₅₀-Werten von 8000 mg/kg KG/d bzw. >8000 mg/kg KG/d wie bei den vorangegangenen Azofarbstoffen ebenfalls gering [EFSA, 2009a].

Brantom et al. [1987a] untersuchten an drei Generationen von Ratten, die täglich mit Konzentrationen von 0 (Kontrollgruppe), 50, 500 bzw. 1250 mg

Cochenillerot A/kg KG gefüttert wurden, die Auswirkungen dieses Azofarbstoffs auf die intrauterine Entwicklung der Jungen, die nachgeburtliche Entwicklung, das Körpergewicht, das Organgewicht sowie die Entwicklung des Körperskeletts. Auf all diese Parameter konnten keine signifikanten negativen Effekte von Cochenillerot A verzeichnet werden. Ziel dieser Studie war die Ermittlung des NOAEL, das diesen Untersuchungsergebnissen zufolge bei 1250 mg Cochenillerot A/kg KG/d liegt [Brantom et al., 1987a]. In einer weiteren Studie von Brantom et al. [1987b] wurde ebenfalls das teratogene Potential von Cochenillerot A bei Ratten ermittelt. Auf der Suche nach einer Cochenillerot A-Dosis, bei der keinerlei negative Effekte zu erwarten sind, wurden erneut Konzentrationen von 0 (Kontrollgruppe), 50, 500 bzw. 1250 mg Cochenillerot A/kg Kg/d verabreicht. Die Gruppe mit der höchsten Cochenillerot A-Konzentration (1250 mg/kg KG/d) wies eine verminderte Körpergewichtszunahme im Vergleich zur Kontrollgruppe auf. Ebenso kam es zur erhöhten Wasseraufnahme der Tiere in dieser Versuchsgruppe und bei den weiblichen Versuchstieren zudem zu einer erhöhten Proteinkonzentration im Urin. Dieser Studie zufolge liegt jene Cochenillerot A-Konzentration, bei der noch keine negativen Effekte zu erwarten sind, bei 500 mg/kg KG/d [Brantom et al., 1987b].

Eine Studie von Tanaka [2006b] untersuchte die Reproduktionstoxizität von Cochenillerot A bei zwei Generationen von Mäusen, wobei der Farbstoff dem Futter mit einem Anteil von 0,12 %, 0,24 % bzw. 0,48 % beigemischt und der F₀-Generation ab einem Alter von fünf Wochen verabreicht wurde. Die Cochenillerot A-Gabe erfolgte solange, bis die F₁-Generation neun Wochen alt war, wobei dieser Generation der Farbstoff von Geburt an in derselben Konzentration wie den Eltern verabreicht wurde. Es konnte weder in der F₀-Generation noch in der F₁-Generation eine negative Auswirkung von Cochenillerot A auf die Nahrungsaufnahme verzeichnet werden. In der Elterngeneration war zudem kein negativer Effekt auf das Körpergewicht der Versuchstiere nachzuweisen. Bei den Nachkommen konnten zwar keine Auswirkungen auf das Geburtsgewicht, die Wurfanzahl sowie das Geschlechterverhältnis festgestellt werden, allerdings kam es in jener Gruppe,

welche die höchste Cochenillerot A-Gabe erhielt, zu einer signifikanten Erhöhung des Körpergewichts der Nachkommen [Tanaka, 2006b].

Sharma et al. [2008] untersuchten die chronische Toxizität von Cochenillerot A bei Mäusen mithilfe eines Farbstoffgemisches aus Cochenillerot A und Azorubin. Verabreicht wurden 4 mg/kg KG/d und 6 mg/kg KG/d der Azorubin-Cochenillerot A-Mischung über einen Zeitraum von 42 Tagen. Wie aus Abbildung 26 hervorgeht, kam es zu einer signifikanten Körpergewichtszunahme im Vergleich zur Kontrollgruppe sowie zur Erhöhung des Lebergewichts. Die Untersuchung zeigte allerdings eine signifikante Abnahme des Nieren- und Hodengewichts.

Die Körper- und Lebergewichtszunahme kann möglicherweise durch eine Wasserretention in den Geweben erklärt werden, ausgelöst durch eine Wasserintoxikation infolge der toxischen Wirkung von Cochenillerot A. Diese Studienergebnisse weisen auf hepatotoxische, nephrotoxische und gametotoxische Effekte dieses Farbstoffes hin [Sharma et al., 2008].

Groups	Body weight (g)		Organ weight (g/100 g of body weight)		
	Initial	Final	Liver	Kidneys	Testes
Group I (control)	25.20 ± 0.37	26.80 ± 0.58	4.35 ± 0.05	1.67 ± 0.03	1.44 ± 0.02
Group II	25.80 ± 0.37	35.00 ± 0.70***	5.32 ± 0.03***	1.57 ± 0.03*	0.99 ± 0.04***
Group III (control)	25.40 ± 0.37	28.00 ± 0.70	4.38 ± 0.07	1.59 ± 0.03	1.35 ± 0.03
Group IV	24.40 ± 0.50	38.00 ± 0.44***	7.17 ± 0.05***	1.10 ± 0.06***	0.37 ± 0.03***

Values ± S.E.M. of five individual observations: * $p \leq 0.05$ almost significant; ** $p \leq 0.01$ significant; *** $p \leq 0.001$ highly significant.

Abbildung 26: Körpergewicht und Organgewicht nach Gabe von 2 mg bzw. 6 mg Azorubin-Cochenillerot A-Mischung/kg KG/d im Vergleich zur Kontrollgruppe [Sharma et al., 2008]

Shimanda et al. [2010] konnten bei Cochenillerot A-Dosen ab 10 mg/kg KG/d eine Colon-spezifische DNA-Schädigung bei Mäusen nachweisen. Allerdings konnten diese Ergebnisse bei Ratten nicht bestätigt werden [Shimanda et al., 2010]. Auch die Ergebnisse von Tsuda et al. [2001] zeigten eine Colon-spezifische DNA-Schädigung bei Mäusen nach einmaliger Cochenillerot A-Gabe von 2000 mg/kg KG, andere Organe waren allerdings nicht betroffen [Tsuda et al., 2001].

9.1.5 Gelborange S (E110)

Gelborange S (Dinatrium-2-Hydroxy-1-(4-Sulfophenylazo)-Naphthalin-6-Sulfonat; siehe Abbildung 27) ist ein orangeroter Monoazofarbstoff, der Lebensmittelprodukten als Natrium-, Calcium- oder Kaliumsalz (in Pulverform oder als Granulat) zugesetzt wird. Das Absorptionsmaximum dieses Farbstoffes liegt in wässriger Lösung bei einer Wellenlänge von 485 nm [EU, 2009].

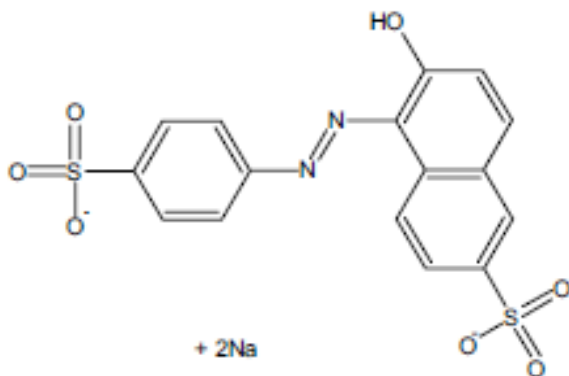


Abbildung 27: Chemische Struktur von Gelborange S [Larsen, 2008]

Der ADI-Wert von Gelborange S wurde durch die Verordnung Nr.232/2012 der Europäischen Kommission von 2,5 mg/kg KG/d auf 1 mg/kg KG/d gesenkt [EU, 2012]. Grund dafür war die Bewertung des Farbstoffes durch das AFC der EFSA und die daraus resultierende Empfehlung zur Senkung des ADI-Wertes [EFSA, 2009d].

Wie bei allen in der Southampton-Studie [McCann et al., 2007] untersuchten Azofarbstoffen, müssen auch Lebensmittel, denen Gelborange S beigemischt ist, seit 20.7.2010 den Warnhinweis „Kann die Aktivität und Aufmerksamkeit von Kindern beeinträchtigen“, tragen [EU, 2008].

Schätzungen der Aufnahmemengen von Gelborange S durch österreichische Vorschulkinder wurden von der AGES [2010] veröffentlicht und können den Tabellen 11 und 12 entnommen werden. Selbst bei höchstmöglicher täglicher Aufnahme konnte keine Überschreitung des ADI-Wertes verzeichnet werden. Für die Berechnung herangezogen wurde der durchschnittliche Gehalt von

Gelborange S in Lebensmitteln mit einem Wert von 25,16 mg/kg und in Getränken mit einem Wert von 1,40 mg/l. Die Durchschnittswerte für Maximalgehalte in Lebensmitteln lagen bei 66,5 mg/kg und in Getränken bei 5,4 mg/l [AGES, 2010].

	Verzehr (MW, g/d)	Aufnahme (mg/kg KG)	% ADI	Verzehr (95.Perz., g/d)	Aufnahme (mg/kg KG)	% ADI
Süßwaren	0,0265	0,03	3,3	0,072	0,09	9,1
Getränke	0,192	0,01	1,3	0,65	0,05	4,6
Gesamt		0,05	4,7		0,14	13,6

Tabelle 11: Geschätzte tägliche Aufnahmemengen von Gelborange S durch österreichische Vorschulkinder im Vergleich zur tolerierbaren täglichen Aufnahmemenge (berechnet mit durchschnittlichen Gehalten) [AGES, 2010]

	Verzehr (MW, g/d)	Aufnahme (mg/kg KG)	% ADI	Verzehr (95.Perz., g/d)	Aufnahme (mg/kg KG)	% ADI
Süßwaren	0,0265	0,09	8,8	0,072	0,24	24,0
Getränke	0,192	0,05	5,2	0,65	0,18	17,6
Gesamt		0,14	14,0		0,42	41,5

Tabelle 12: Geschätzte tägliche Aufnahmemengen von Gelborange S durch österreichische Vorschulkinder im Vergleich zur tolerierbaren täglichen Aufnahmemenge (berechnet mit Maximalgehalten) [AGES, 2010]

9.1.5.1 Resorption, Ausscheidung, Reduktionsprodukte

Gelborange S wird im Darm von Ratten und Mäusen in geringen Mengen resorbiert und hauptsächlich mit den Fäzes (siehe Abbildung 28) wieder ausgeschieden [Chung et al., 1981]. Hauptmetaboliten, die von Darmbakterien

und dem Enzym Cytochrom P 450 gebildet werden, sind Sulfanilsäure, Metanilsäure [Eisenbrand und Lang, 1960] und Naphthionsäure [Poul et al., 2009]. Ein weiteres Zwischenprodukt beim Abbau von Gelborange S stellt die 1-Amino-2-Hydroxy-6-Naphthalensulfonsäure dar (siehe Abbildung 29) [Eisenbrand und Lang, 1960].

Poul et al. [2009] untersuchten Reduktionsprodukte von Gelborange S nach einmaliger oraler Gabe von 200 mg/kg KG/d bzw. 1000 mg/kg KG/d [Poul et al., 2009].

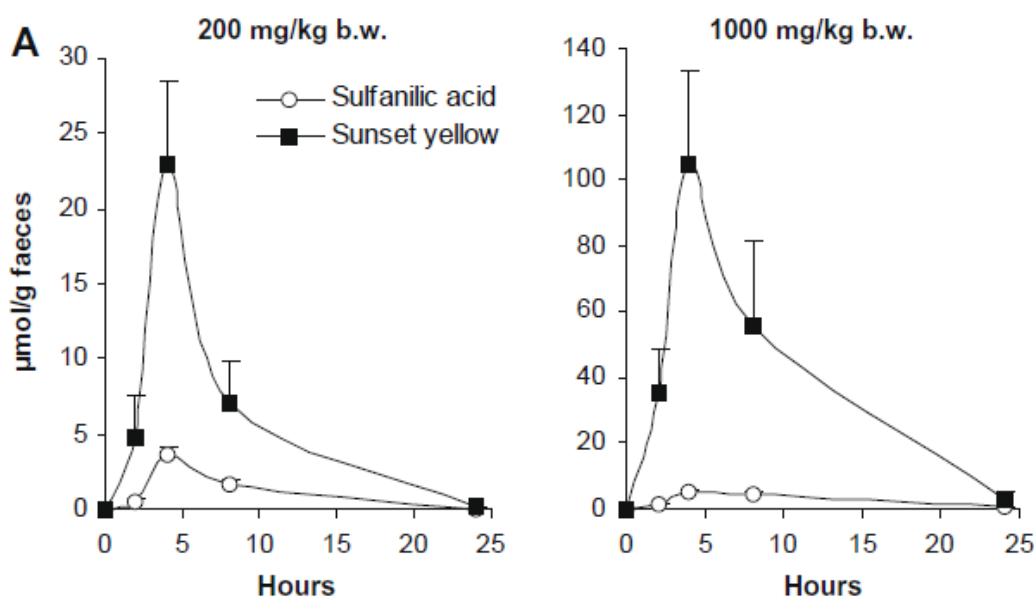


Abbildung 28: Ausscheidung von Gelborange S und Sulfanilsäure über die Fäzes nach oraler Gabe von 200 mg Gelborange S/kg KG bzw. 1000 mg Gelborange S/kg KG bei Mäusen [Poul et al., 2009]

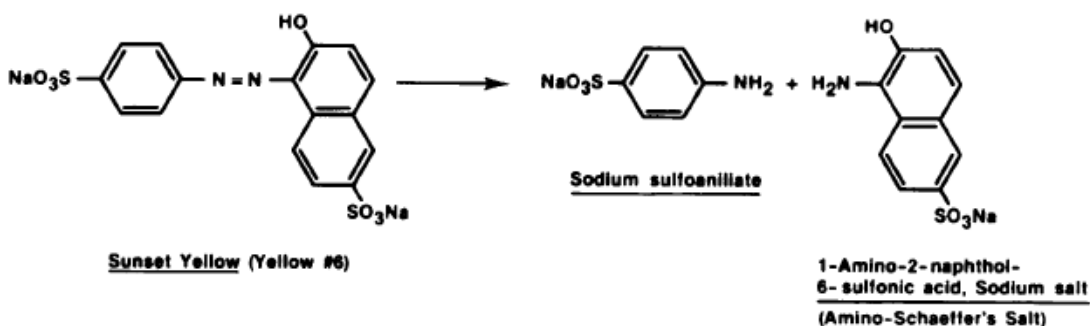


Abbildung 29: Reduktion der Azogruppe von Gelborange S [Chung et al., 1981]

9.1.5.2 Toxikologische Bewertung

Mit einem LD₅₀-Wert von >2000 mg/kg KG ist die akute Toxizität von Gelborange S sehr gering [Sasaki et al., 2002].

Eisenbrand und Lang [1960] untersuchten die Auswirkungen der Reduktionsprodukte ausgewählter Azofarbstoffe auf die Hemmung der Säureproduktion von Milchsäurebakterien (Gärung). Reduktionsprodukte von Gelborange S zeigten dabei eine deutliche Inhibition der Milchsäureproduktion. Während Sulfanilsäure und Metanilsäure keine toxikologischen Auswirkungen auf die Säureproduktion zeigten, dürften weitere Metaboliten wie Aminonaphtalensulfonsäuren, Amino-Hydroxy-Naphthalensulfonsäuren oder Aminobenzolsulfonsäuren toxisch wirksame Stoffwechselprodukte darstellen [Eisenbrand und Lang, 1960].

Fütterungsversuche von Ershoff [1977] an Ratten führten bei einem Gelborange S-Anteil von 5 % zu Wachstumsretardierungen, verminderter Körpergewichtszunahme sowie zu einem Fellverlust der Tiere [Ershoff, 1977].

Untersuchungen von Sayed et al. [2012] an Mäusen nahmen mögliche protektive Wirkungen von Selen sowie den antioxidativ wirkenden Vitaminen A, C und E unter die Lupe. Verabreicht wurden dabei in der einen Versuchsanordnung einmalige Dosen von Gelborange S (pur oder in Kombination mit Selen und ACE) in den Konzentrationen 0,325, 0,65 und 1,3 mg/kg KG. In einer anderen Versuchsanordnung wurde über 1, 2 bzw. 3 Wochen eine Konzentration von 0,325 mg/kg KG/d verabreicht (wiederum pur oder in Kombination mit Selen und ACE). Die Ergebnisse zeigten eindeutig, dass die gentoxischen und gametotoxischen Effekte von Gelborange S durch die kombinierte Gabe mit Antioxidantien signifikant verringert werden. Der zugrundeliegende Mechanismus ist zwar weitgehend unbekannt, die protektiven Wirkungen von Selen und Vitamin A, C und E dürften aber eine wichtige Rolle in der Chemoprävention spielen [Sayed et al., 2012].

Orale Gaben von 315 mg/kg KG/d bei Ratten führten bei einer Untersuchung von Hashem et al. [2010] zu keiner Beeinflussung des Körper- und des

Milzgewichts im Vergleich zur Kontrollgruppe, allerdings kam es bei den Versuchstieren zu einer signifikanten Gewichtszunahme der Thymusdrüse [Hashem et al., 2010].

Poul et al., [2009] verzeichneten bei Gelborange S-Gaben von 200 mg/kg KG bzw. 1000 mg/kg KG/d keine gentoxischen Effekte bei Mäusen [Poul et al., 2009].

Helal [2001] wiederum zeigte schon bei geringen Dosen von Gelborange S (0,5 mg/kg KG/d) in Kombination mit dem Konservierungsmittel Natriumnitrit (10 mg/kg KG/d) negative Effekte bei Ratten. Dabei kam es zur Reduktion des Körpergewichts, allerdings ohne Auswirkungen auf das Gewicht der untersuchten Organe. Das erniedrigte Körpergewicht wurde als Folge erhöhter katabolischer Prozesse gedeutet.

Weiters konnten erniedrigte Hämoglobin- und Hämatokrit-Werte verzeichnet werden, vermutlich bedingt durch Nitrit, das Fe^{2+} in Fe^{3+} umwandelt.

Der Anstieg der Schilddrüsenhormone T_3 (Triiodthyronin) und T_4 (Tetraiodthyronin bzw. Thyroxin) im Serum liegt möglicherweise in der Interaktion zwischen Natriumnitrit und Gelborange S begründet, die dabei eine neue Verbindung eingehen und als solche stimulierend auf die Schilddrüse wirken könnten. Je höher die Konzentration von Schilddrüsenhormonen im Blut ist, umso mehr Globulin wird für deren Bindung benötigt, was eine mögliche Erklärung für die reduzierte Globulinkonzentration im Blutserum sein könnte. Hohe Konzentrationen von Schilddrüsenhormonen können einerseits die Blut-Hirn-Schranke überwinden und dabei Symptome wie Reizbarkeit oder Unruhe auslösen, andererseits auch zur Hyperthyreose führen. Auswirkungen auf ALT und AST konnten in dieser Studie jedoch nicht beobachtet werden [Helal, 2001].

Eine Untersuchung von Helal et al. [2000] an Ratten zeigte eine im Vergleich zur Kontrollgruppe verminderte Körpergewichtszunahme nach Einnahme von 5 mg GelborangeS/kg KG/d über einen Zeitraum von 30 Tagen ebenso wie eine signifikante Erhöhung von ALT und AST im Serum [Helal et al., 2000].

9.1.6 Tartrazin (E102)

Tartrazin (Trinatrium-3-Carboxy-5-Hydroxy-1-p-Sulfophenyl-4-p-Sulfophenylazopyrazol; siehe Abbildung 30) ist ein gelboranger, wasserlöslicher Monoazofarbstoff, der seit etwa dreißig Jahren vor allem zur Färbung von Getränken und Süßigkeiten verwendet wird. Der Farbstoff wird den Produkten meist als Natriumsalz, aber auch als Calcium- oder Kaliumsalz (in Form von Pulver oder Granulat) zugesetzt. Sein Absorptionsmaximum liegt bei 426 nm [Elhkim et al., 2007; EU, 2009].

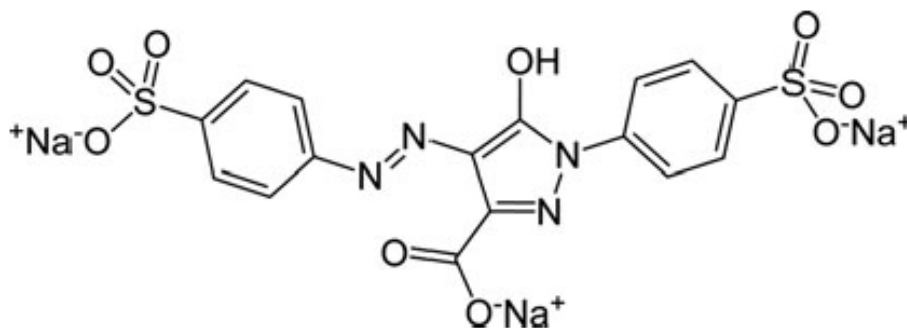


Abbildung 30: Chemische Struktur von Tartrazin [Kashanian und Zeidali, 2010]

Die erste Risikobewertung von Tartrazin wurde im Jahr 1964 unter der Leitung des JECFA und des SCF durchgeführt, dabei wurde das toxikologische Potential ermittelt und der ADI-Wert mit 0-7,5 mg/kg KG/d festgelegt [Elhkim et al., 2007; Walten et al., 1999]. Auch Tartrazin wurde nach der Veröffentlichung der Studie von McCann et al. [2007] einer toxikologischen Bewertung durch die EFSA [2008] unterzogen, mit dem Ergebnis, dass keine Änderung des ADI-Werts vorgenommen wurde. Allerdings darf dieser Farbstoff Lebensmitteln seit 20.7.2010 nur mehr mit dem Warnhinweis „Kann die Aktivität und Aufmerksamkeit von Kindern beeinträchtigen“ beigemischt werden [EFSA, 2008].

Die tägliche Aufnahmemenge von Tartrazin beträgt, abhängig vom jeweiligen Land, zwischen 0,000671 und 14 mg/Person [Elhkim et al., 2007]. Die Berechnungen der EFSA [2009e] ergeben eine theoretische maximale Aufnahme von 8.1 mg/kg KG für Erwachsene und 13,1 mg/kg KG für ein durchschnittliches 3-jähriges Kind [EFSA, 2009e].

9.1.6.1 Resorption, Ausscheidung, Reduktionsprodukte

Nur etwa 2 % der aufgenommenen Menge an Tartrazin werden im menschlichen GIT resorbiert, der überwiegende Teil aber wird durch Darmbakterien abgebaut und mit den Fäzes wieder ausgeschieden [Elhkim et al., 2007].

Zu den Hauptreduktionsprodukten zählen die Sulfanilsäure (4-Aminobenzol-sulfonsäure) [Amin et al., 2010; Moutinho, 2005] sowie Aminopyrazolone [Elhkim et al., 2007] wie beispielsweise 1-p-Sulfophenyl-3-Carboxy-4-Amino-5-Pyrazolon (siehe Abbildung 31) [Eisenbrand und Lang, 1960].

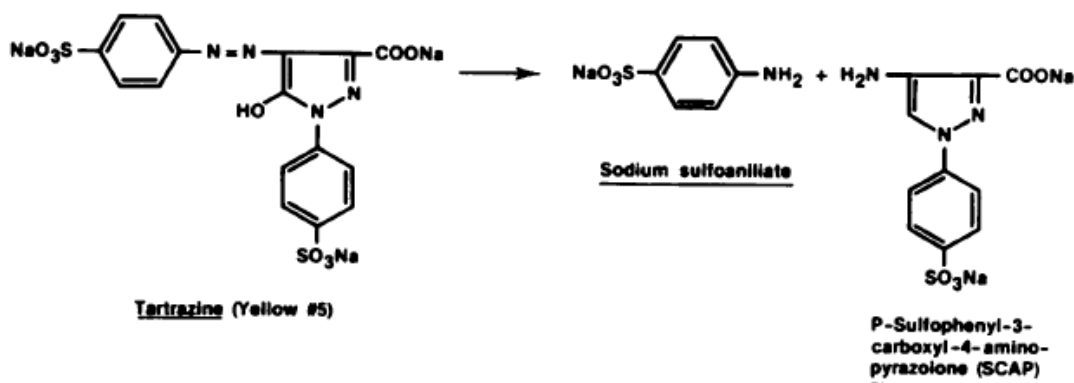


Abbildung 31: Metaboliten von Tartrazin nach Spaltung der Azogruppe [Chung et al., 1981]

9.1.6.2 Toxikologische Bewertung

Die akute Toxizität von Tartrazin wurde bei Mäusen durch Sasaki et al. [2002] mit einem LD_{50} -Wert von $>2000 \text{ mg/kg KG}$ ermittelt. Demzufolge ist die akute Toxizität von Tartrazin gering [Sasaki et al., 2002].

Eine ganze Reihe von Studien zur chronischen Toxizität beschäftigte sich mit dem hepatotoxischen, cytotoxischen und nephrotoxischen Potential dieses Farbstoffs. Untersucht wurden dabei die Auswirkung von Tartrazin auf das Leber- und Nierengewebe, das Körpergewicht, die Blutwerte und die Aktivität von Leberenzymen [Elhkim et al., 2007].

Amin et al. [2010] untersuchten die genannten toxischen Effekte bei jungen Ratten (60-80g). Dabei wurde im Zeitraum von 30 Tagen Tartrazin in zwei unterschiedlichen Konzentrationen verabreicht, wobei die niedrigere bei 15 mg/kg KG/d und die höhere bei 500 mg/kg KG/d lag. Evaluiert wurden die Auswirkungen auf Niere, Leber, Blutglucosespiegel, Blutlipide sowie das Körpergewicht. Als biochemische Parameter der Leber dienten die Enzyme ALT, AST und ALP.

Wie aus Tabelle 13 ersichtlich, kam es bei beiden verabreichten Dosen zur Erhöhung der ALT-, AST- und ALP-Aktivität und der Gesamtprotein-, Albumin- und Globulinkonzentration im Vergleich zur Kontrollgruppe. Da eine Steigerung der Aminotransferaseaktivität Hinweise auf eine Schädigung von Leberzellen liefert und die Studie von Amin et al. [2010] schon bei geringer Tartrazin-Konzentration, wie sie bei Kindern durchaus realistisch erscheint, eine ebensolche aufzeigt, sind weitere Prüfungen dieses Farbstoffes dringend geboten, um jedes gesundheitliche Risiko ausschließen zu können [Amin et al., 2012].

	Kontrollgruppe	Niedrige Tartrazin-Gabe	Hohe Tartrazin-Gabe
ALT (u/l)	8,91 $\pm$ 0,27	10,78 $\pm$ 0,65	15,4 $\pm$ 0,80
AST (u/l)	47,85 $\pm$ 2,70	48,96 $\pm$ 0,96	33,38 $\pm$ 1,0
ALP (iu/l)	87,56 $\pm$ 2,79	117,16 $\pm$ 2,3	119 $\pm$ 2,93
Gesamtprotein g/dl	5,59 $\pm$ 0,12	6,66 $\pm$ 0,18	6,70 $\pm$ 0,18
Albumin (g/dl)	3,81 $\pm$ 0,14	4,57 $\pm$ 0,08	4,76 $\pm$ 0,13
Globulin (g/dl)	1,77 $\pm$ 0,005	1,88 $\pm$ 0,08	2,13 $\pm$ 0,04

Tabelle 13: Effekt von Tartrazin auf die Konzentration von ALT, AST, ALP, Gesamtprotein, Albumin und Globulin im Blutserum von Ratten [Amin et al., 2010]

Tabelle 14 zeigt einen Tartrazin-induzierten Anstieg der Harnstoff- und Kreatininkonzentration sowie erhöhte Cholesterin- und Triglyceridwerte im Vergleich zur Kontrollgruppe. Lediglich die HDL- und LDL-Konzentration zeigte einen gegenteiligen Effekt [Amin et al., 2010].

	Kontrollgruppe	Niedrige Tartrazin-Gabe	Hohe Tartrazin-Gabe
Harnstoff (mg/dl)	17,54 $\pm$ 0,68	37,41 $\pm$ 1,59	37,46 $\pm$ 0,94
Kreatinin (mg/dl)	1,32 $\pm$ 0,06	1,65 $\pm$ 0,05	1,80 $\pm$ 0,05
Gesamtcholesterin (mg/dl)	143,41 $\pm$ 4,32	115,86 $\pm$ 4,03	104,1 $\pm$ 2,009
Triglyceride (mg/dl)	130,6 $\pm$ 3,98	143,5 $\pm$ 1,50	144 $\pm$ 3,24
HDL (mg/dl)	87,11 $\pm$ 1,47	65,63 $\pm$ 1,68	58,11 $\pm$ 1,14
LDL (mg/dl)	34,18 $\pm$ 1,52	17,45 $\pm$ 0,91	15,78 $\pm$ 1,43

Tabelle 14: Effekt von Tartrazin auf die Konzentration von Harnstoff, Kreatinin, Gesamtcholesterin, Triglycerid, HDL-Cholesterin und LDL-Cholesterin bei Ratten [Amin et al., 2010]

Weiters konnten bei Amin et al. [2010] die Auswirkungen von Tartrazin auf den oxidativen Stress bei den Versuchstieren beobachtet werden. Als biochemische Parameter dafür dienten einerseits die Aktivität von Katalase, SOD und GSH und andererseits die Bildung von MDA. Wie aus Tabelle 15 ersichtlich, kam es zur Abnahme der Katalase-, SOD- und GSH-Aktivität und zur vermehrten Bildung von MDA [Amin et al., 2010].

	Kontrollgruppe	Niedrige Tartrazin-Gabe	Hohe Tartrazin-Gabe
SOD (u/g)	70,68 $\pm$ 1,50	64,8 $\pm$ 0,68	53,0 $\pm$ 1,27
Katalase ($k \times 10^{-2}$)	47,03 $\pm$ 2,01	46,01 $\pm$ 1,83	34,2 $\pm$ 1,16
GSH (nmol/100mg)	72,9 $\pm$ 1,41	70,21 $\pm$ 3,85	67,37 $\pm$ 2,73
MDA (nmol/g/h)	4,82 $\pm$ 0,41	4,93 $\pm$ 0,23	6,63 $\pm$ 0,16

Tabelle 15: Effekt von Tartrazin auf die Aktivität von SOD, Katalase und GSH und auf die Bildung von MDA bei Ratten [Amin et al., 2010]

Weiters zeigte die Untersuchung von Amin et al. [2010] eine signifikante Tartrazin-induzierte Körpergewichtsabnahme (siehe Tabelle 16) [Amin et al., 2010], die als möglicher Indikator toxischer Effekte betrachtet werden kann. Diese Gewichtsabnahme resultiert möglicherweise aus einer Bindung von

Tartrazin an intestinale Zellen, was eine Reduktion der Nährstoffabsorptionskapazität im Intestinum zur Folge hat [El-Wahab und Moram, 2012].

Auch Sharma et al. [2009] verzeichneten bei Mäusen, denen über 35 Tage Tartrazin ins Futter beigemischt worden war, eine signifikante Körpergewichtsabnahme. Die zugeführten Konzentrationen des Farbstoffs betrugen 0,2 und 0,4 mg/kg KG/d. Tabelle 16 zeigt die Tartrazin-induzierte Körpergewichtsabnahme der Versuchstiere im Vergleich zur Kontrollgruppe [Sharma et al., 2009].

Groups	Body weight (g) (mean $\pm$ S.E.M)		% changes in body weight
	Initial	Final	
Group I Control (LD)	25.5 $\pm$ 0.53	25.62 $\pm$ 0.37	0.48% $\uparrow$
Group II (LD)	25.87 $\pm$ 0.48 (P<0.6)	22.75 $\pm$ 0.49*** (P<0.0004)	12.06% $\downarrow$
Group III Control (HD)	25.37 $\pm$ 0.42	27.00 $\pm$ 0.37	6.42% $\uparrow$
Group IV (HD)	24.5 $\pm$ 0.37 (P<0.25)	19.00 $\pm$ 0.37*** (P<0)	22.45% $\downarrow$

*** Highly significant (P<0), ** Significant (P<0.05), * Almost significant (P<0.01-0.04), ^{ns} Non-significant (P<0.1) compare to control.

Tabelle 16: Signifikante Tartrazin-induzierte Körpergewichtsabnahme bei Mäusen [Sharma et al., 2009]

Hinweise auf mögliche hämolytische Prozesse infolge einer Tartrazinaufnahme liefert die Studie von El-Wahab und Moram [2012], in der ein Anstieg von Bilirubin, einem Abbauprodukt der roten Blutkörperchen, verzeichnet wird [El-Wahab und Moram, 2012].

Himri et al. [2010] beobachteten bei ihren Untersuchungen an Ratten einen erhöhten Blutglucosespiegel und eine erhöhte Kreatininkonzentration im Blutplasma. Die verabreichten Tartrazin-Konzentrationen reichten von 5 mg/kg KG/d (Gruppe 1) über 7,5 mg/kg KG/d (Gruppe 2; ADI-Wert) bis hin zu 10 mg/kg KG/d (Gruppe 3). Die vierte Versuchsgruppe (Gruppe A.S.) erhielt 3,75

mg/kg KG/d Sulfanilsäure (siehe Abbildung 32 und Abbildung 33) [Himri et al., 2010].

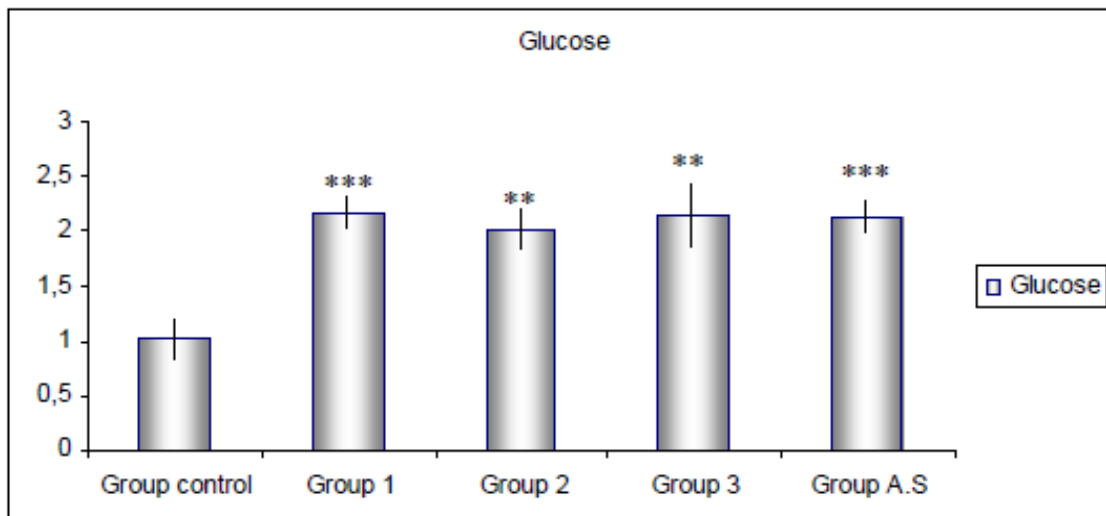


Abbildung 32: Effekt von Tartrazin (Group 1-3) und Sulfanilsäure (Group A.S.) auf die Glucosekonzentration im Blutplasma von Ratten [Himri et al., 2011]

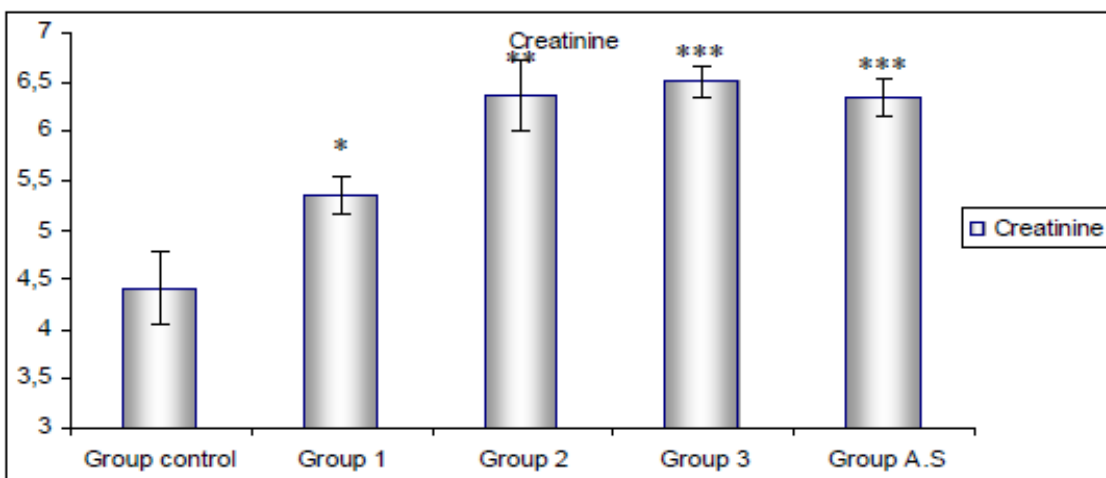


Abbildung 33: Effekt von Tartrazin (Gruppe 1-3) und Sulfanilsäure (Gruppe A.S.) auf die Kreatininkonzentration im Blutplasma von Ratten [Himri et al., 2011]

Himri et al. [2010] konnten allerdings keine Effekte von Tartrazin auf das Körpergewicht der Versuchstiere feststellen. Sie beobachteten aber eine Bildung von Echinozyten (deformierten roten Blutkörperchen) unter Einwirkung von Tartrazin (siehe Abbildung 34) [Himri et al., 2010].

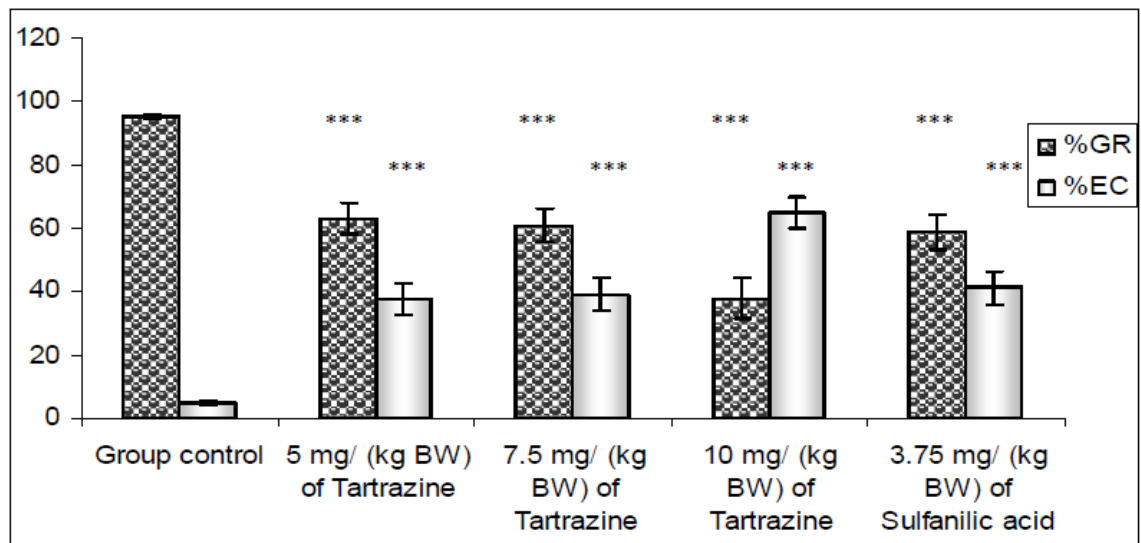


Abbildung 34: Bildung von Echinozyten unter Einwirkung von Tartrazin und Sulfanilsäure [Himri et al., 2011]

Eine von Tanaka [2006a] publizierte Studie befasste sich mit dem teratogenen Potential von Tartrazin. Untersucht wurden die durchschnittliche Gewichtszunahme und die durchschnittliche Nahrungsaufnahme bei Mäusen der F₀- und der F₁-Generation. Bei der F₀-Generation zeigten sich keine negativen Effekte auf Fortpflanzung, Gestation und Laktation, bei der F₁-Generation waren keine signifikanten negativen Effekte auf das Geburtsgewicht, die Körpergröße oder das Geschlechterverhältnis nach der Geburt zu beobachten. Allerdings war das mittlere Geburtsgewicht der männlichen Nachkommen in der Gruppe der höchsten Tartrazinkonzentration signifikant erhöht sowie das der weiblichen Nachkommen in der Gruppe der mittleren Dosierung. Auswirkungen auf die Nahrungsaufnahme konnten weder bei der F₀- noch bei der F₁-Generation beobachtet werden [Tanaka, 2006a].

Auch in der von Collins et al. [1992] durchgeführten Studie an Ratten zeigten sich keine teratogenen Effekte von Tartrazin [Collins et al., 1992].

Eine Studie von Mehedi et al. [2009] an Mäusen wies einen Einfluss von Tartrazin auf die Anzahl und die Qualität der Spermien nach. Dieses Ergebnis legt die Vermutung nahe, dass ein hoher Tartrazin-Konsum einen negativen Einfluss auf das Reproduktionsvermögen männlicher Versuchstiere haben könnte [Mehedi et al., 2009].

Kashanian und Zeidali [2011] untersuchten mögliche DNA-schädigende Wirkungen von Tartrazin, das dabei in vitro eine hohe Bindungsaffinität zur verwendeten Calf-Thymus-DNA (CT-DNA) zeigte. Amino- und Hydroxylgruppen sind in der Lage Wasserstoffbrücken auszubilden und können dadurch zu einer Hyperchromasie (gesteigerten Anfärbbarkeit von zellulären Strukturen, insbesondere des Zellkerns) und somit zu einer Zellschädigung führen. Weiters konnte eine direkte Bindung von Tartrazin an die DNA-Helix der CT-DNA durch Wasserstoffbrücken und Van-der-Waals-Kräfte nachgewiesen werden [Kashanian und Zeidali, 2011]. Diese Ergebnisse decken sich mit Untersuchungen von Mpountoukas et al. [2010], die ebenfalls eine direkte Bindung von Tartrazin an die CT-DNA feststellen konnten.

Die erwähnten gentoxischen Effekte waren allerdings nur bei CT-DNA zu beobachten und konnten bei Untersuchungen an menschlichen Blutzellen in vitro nicht bestätigt werden [Mpountoukas et al., 2010].

Ab einer Dosis von 10 mg/kg KG Tartrazin/d verzeichneten Sasaki et al. [2002] eine dosisabhängige DNA-schädigende Wirkung auf den GIT von Ratten. Weitere Einflussfaktoren neben der Dosis stellen Alter, Geschlecht, Ernährungsstatus und Erbanlagen dar [Sasaki et al., 2002].

Keine mutagenen Effekte von Tartrazin konnten bei Rafii et al. [1996] nachgewiesen werden. Untersucht wurde mithilfe des Ames-Tests unter anderem Tartrazin jeweils vor und nach Reduktion durch Clostridien-Spezies im menschlichen Intestinaltrakt. Ähnliche Ergebnisse erzielten auch Chung et al. [1981] wiederum mithilfe des Ames-Tests [Chung et al., 1981].

Moutinho et al. [2007] konnten keine carcinogenen Veränderungen im GIT von Ratten feststellen, allerdings kam es bei ihren Versuchen zu einer Erhöhung der Lymphozyten- und Eosinophilenanzahl in der Magenhöhlenmucosa. Die verabreichte Dosis lag bei 7,5 mg/kg Kg/d (ADI-Wert) über einen Zeitraum von 46 Wochen [Moutinho et al., 2007].

Auch Maekawa et al. [1987] konnten in einer Langzeitstudie an Ratten keine carcinogenen Effekte von Tartrazin feststellen [Maekawa et al., 1987].

Collins et al. [1992] verzeichneten bei der Aufnahme von Tartrazin über das Trinkwasser weder toxische noch teratogene Effekte bei Ratten [Collins et al., 1992].

Reyes et al. [1996] konnten bei in vitro-Tests mit aus Rattenlebern und -nieren isolierten Mitochondrien eine Hemmung der Sauerstoffaufnahme verzeichnen. Von den elf getesteten Farbstoffen zeigte Tartrazin allerdings die geringste Inhibition. Diese Ergebnisse müssen mit in vivo-Tests erst bestätigt werden [Reyes et al., 1996].

Wie im Abschnitt 9.1.1.2 erwähnt, führen bestimmte Farbstoffkombinationen zu toxischen Effekten im ZNS. Die Kombination von Tartrazin und Brillant Blau FCF führt zu einer Supprimierung der Proliferationsrate von NPCs in der adulten Neurogenese im Hippocampus [Park et al., 2009].

Die hier dargestellten oft sehr unterschiedlichen Studienergebnisse verlangen nach weiteren Untersuchungen des Farbstoffes Tartrazin, um mögliche carcinogene, cytotoxische und immunsuppressive Wirkungen umfassend erforschen zu können [Moutinho et al., 2007]. Sasaki et al. [2002] fordern einheitlichere Tests zur Ermittlung des toxischen Potentials von Tartrazin und dessen Metaboliten, um eine bessere Vergleichbarkeit der unterschiedlichen Studien zu ermöglichen [Sasaki et al., 2002].

10 Hyperaktivität

10.1 Begriffsdefinition

Hyperaktivität ist eine bereits im Kindesalter beginnende Erkrankung, die bei den betroffenen Personen als Überaktivität wahrgenommen und als Aufmerksamkeitsdefizit-/Hyperaktivitätsstörung (ADHS) oder Hyperkinetische Störung (HKS) bezeichnet wird. Sie äußert sich durch ein gemeinsames Auftreten von Aufmerksamkeitsproblemen, Impulsivität und Hyperaktivität. Etwa 3-7 % der Schulkinder zeigen die erwähnten Symptome, wobei Buben häufiger

betroffen sind als Mädchen [Cormier, 2008]. Im Rahmen der Kinder- und Jugendgesundheitsstudie (KiGGS) durch das Robert-Koch-Institut (Berlin) wurde im Zeitraum von Mai 2003 bis Mai 2006 die Prävalenz von ADHS bei Kindern in Deutschland eruiert. Der KiGGS zufolge sind Jungen mit einer Prävalenz von 7,9 % signifikant häufiger betroffen als Mädchen (1,8 %). Die Häufigkeit nimmt mit dem Alter zu und steigt von 1,5 % (3-6 Jahre) über 5,3% (7-10 Jahre) bis auf 7,1 % (11-13 Jahre) [Schlack et al., 2007].

10.2 Studien zur Hyperaktivität durch Azofarbstoffe

Nachdem schon vor über dreißig Jahren Ben Feingold synthetische Farbstoffe mit auffälligem Verhalten von Kindern in Zusammenhang gebracht hatte [Tuomaa, 1994], befassten sich auch in den Jahren 2004 [Bateman et al., 2004] und 2007 [McCann et al., 2007] zwei groß angelegte Studien mit Effekten von Azofarbstoffen auf das kindliche Verhalten. Diese beiden Studien werden in den folgenden Abschnitten (10.2.1 und 10.2.2) näher erläutert.

10.2.1 Isle-of-Wight-Studie

Hinweise auf einen negativen Effekt von synthetischen Lebensmittelfarbstoffen auf das kindliche Verhalten fanden Bateman et al. [2004].

Untersucht wurden 1873 Kinder in einer randomisierten, doppelblinden, placebokontrollierten Studie. Die Einteilung erfolgte in vier Gruppen, in denen hyperaktive, nicht-hyperaktive, allergische und nicht-allergische StudienteilnehmerInnen unterschieden wurden. Vor Beginn der Studie erhielten die Kinder eine Woche lang eine Diät frei von synthetischen Farbstoffen und vom Konservierungsmittel Natriumbenzoat (E 211). In den darauf folgenden drei Wochen erhielten sie täglich 300 ml Fruchtsaft, der entweder ohne künstliche Farbstoffe und ohne Natriumbenzoat verabreicht wurde (Placebo) oder mit 7,5 mg Tartrazin, 5 mg Gelborange S, 2,5 mg Azorubin und 5 mg Cochenillerot A (insg. 20 mg/d) und 45 mg/d Natriumbenzoat versetzt war. Das kindliche Verhalten wurde von den Eltern täglich protokolliert und einmal pro Woche

mithilfe klinischer Testverfahren durch Psychologen evaluiert. Zu beobachten war eine signifikante Zunahme der Hyperaktivität bei 3-jährigen Kindern [Bateman et al., 2004].

Aufgrund kritischer ExpertInnenstimmen zum Studiendesign führte dieselbe Gruppe von WissenschaftlerInnen wenige Jahre später eine adaptierte Studie zum selben Thema durch, die Southampton-Studie [McCann et al., 2007].

10.2.2 Southampton-Studie

Die Southampton-Studie von McCann et al. [2007] kam erneut zum Schluss, dass ein Gemisch aus verschiedenen Farbstoffen und Natriumbenzoat zu verstärkter Hyperaktivität bei 3-jährigen Kindern führt. Diese ebenso wie die Isle-of-Wight-Studie randomisierte, doppelblinde, placebokontrollierte Studie schloss nun aber auch 8/9-jährige Kinder ein, um den bei Bateman et al. [2004] beobachteten Effekt auch bei dieser Altersstufe zu untersuchen.

Die Kinder mussten über sechs Wochen Fruchtsäfte zu sich nehmen (3-Jährige: 300 ml/d / 8/9-Jährige: 625 ml/d), wobei in den Wochen 2, 4 und 6 die erste Versuchsgruppe eine Fruchtsaftmischung mit den Farbstoffen Gelborange S, Azorubin, Tartarzin und Cochenillerot A sowie dem Konservierungsmittel Natriumbenzoat erhielt (Gemisch A). Bei den 3-Jährigen waren 20 mg/d Farbstoffe und 45 mg/d Natriumbenzoat beigemischt, bei den 8/9-Jährigen 24,98 mg/d der Substanz und 45 mg/d Natriumbenzoat.

Die zweite Versuchsgruppe erhielt in den erwähnten Versuchswochen Gemisch B mit den Farbstoffzusätzen Gelborange S, Azorubin, Chinolingelb und Allurarot AC. Bei beiden Altersgruppen waren wieder 45 mg/d Natriumbenzoat zugesetzt, in dieser Gruppe enthielt das Fruchtsaftgemisch der 3-Jährigen aber 30 mg/d Farbstoffe, jenes der 8/9-Jährigen 62,4 mg/d.

Der dritten Versuchsgruppe wurden über die gesamten sechs Wochen ausschließlich Placebos verabreicht. In den Wochen 1,3 und 5 erhielten alle Versuchsgruppen Flüssigkeiten ohne Farbstoffe und Natriumbenzoat (siehe Tabelle 17).

Woche	1	2	3	4	5	6
Fruchtsaft-Inhalt	Placebo	Gemisch A oder Gemisch B oder Placebo	Placebo	Gemisch A oder Gemisch B oder Placebo	Placebo	Gemisch A oder Gemisch B oder Placebo

Tabelle 17: Versuchsanordnung der Southampton-Studie [COT, 2007]

Eine neue Messgröße wurde kreiert und als „Global Hyperactivity Aggregate“-Wert (GHA-Wert) bezeichnet. Dieser GHA-Wert setzte sich aus drei bzw. vier Teilen zusammen: aus Einschätzungen des Schülerverhaltens durch die LehrerInnen, weiters aus Schülerverhaltensbeurteilungen durch schulexterne ExpertInnen, die die Kinder in den Klassen beobachteten, und aus der Beurteilung des Verhaltens der SchülerInnen zu Hause durch die Eltern. Als vierte Komponente des GHA-Werts wurden die 8/9-Jährigen darüber hinaus auch noch einem Aufmerksamkeitstest unterzogen.

Die AutorInnen der Studie kamen zum Schluss, dass der Verzehr künstlicher Farbstoffe zu einer Steigerung der Hyperaktivität sowohl bei 3-jährigen als auch bei 8/9-jährigen Kindern in der allgemeinen Bevölkerung führt. [McCann et al., 2007]

Bewertet wurde die Southampton-Studie von McCann et al. [2007] unter anderem durch das AFC der EFSA [2008]. Dieses kam zum Ergebnis, dass die Studie nur begrenzte Hinweise darauf liefert, dass die getesteten Farbstoffgemische einen geringen Effekt auf die Aktivität und Aufmerksamkeit einiger aus der Bevölkerung ausgewählter Kinder hat, der allerdings nicht statistisch signifikant ist. Die Effekte zeigten sich nicht bei allen Kindern einer Gruppe, nicht in allen Altersgruppen und auch nicht übereinstimmend bei beiden Gemischen.

Die Ergebnisse könnten für besonders empfindliche Personen, die schon ausgeprägte Hyperaktivitätssymptome zeigen, relevant sein. Es ist allerdings noch nicht möglich, die Prävalenz der Hypersensitivität auf Azofarbstoffe in der Gesamtbevölkerung festzustellen, da keine zuverlässigen Daten verfügbar sind.

Laut EFSA [2008] hinterlässt die Southampton-Studie [McCann et al., 2007] eine Reihe von Ungeklärtheiten, wie z.B. die eingeschränkte Einheitlichkeit in Bezug auf Alter und Geschlecht der Kinder sowie die Wahl der Eltern als BeobachterInnen. Weitere Fragen wirft aufgrund der unbekannten klinischen Relevanz die neu eingeführte Messgröße (GHA-Wert) auf. Auch die Tatsache, dass die Studie die Wirkung einer Mischung von Farbstoffen untersucht, nicht aber die Wirkung der einzelnen Farbstoffe, wird kritisch betrachtet, da somit die beobachteten Effekte nicht den Einzelverbindungen zugeschrieben werden können.

Einen weiteren Kritikpunkt stellt die mangelnde Datenlage dar, die keine Dosis-Wirkung-Beziehung zulässt. Zudem liefert die Southampton-Studie keine Erklärung des biologischen Mechanismus, der hinter der Induktion der beobachteten Verhaltenseffekte durch diese Lebensmittelzusatzstoffe steht. Weiters berücksichtigt die Studie von McCann et al. [2007] zwar das Alter, nicht aber das Körpergewicht der ProbandInnen, weshalb keine Dosis-Anpassung an das jeweilige Körpergewicht erfolgte. Aufgrund des Fehlens einer vorgeschriebenen Tageszeit für die Einnahme der Substanzen variierte zudem der Abstand zwischen der Aufnahme des Zusatzstoffes und der Bewertung des Verhaltens der Kinder.

Diese Befunde führten das Gremium zum Schluss, dass die Studie von McCann et al. [2007] nicht als Grundlage zur Änderung des ADI-Werts für die betreffenden Lebensmittelfarbstoffe herangezogen werden könne [EFSA, 2008].

Da die Studie von McCann et al. [2007] mithilfe bestimmter Neurotransmittersysteme auch den genetischen Status untersuchte, kam es diesbezüglich im September 2007 zu einer Stellungnahme durch das COT (Committee on Toxicity of Chemicals in Food, Consumer Products and the Environment), das hinsichtlich zweier genetischer Parameter einen statistisch signifikanten Zusammenhang zwischen dem Auftreten von Hyperaktivität und der Einnahme der in der Southampton-Studie [McCann et al., 2007] verwendeten Substanzen vermerkte. Eine mögliche genetische Disposition ist demnach nicht zur Gänze auszuschließen, die in der vorliegenden Studie

beobachteten Effekte sind aber zu gering, um Risikogruppen identifizieren zu können [COT, 2007].

Eine irische Studie kam im Rahmen einer nationalen Datenerhebung zum Schluss, dass die in der Southampton-Studie [McCann et al., 2007] verwendeten Farbstoffkonzentrationen weit über der täglichen Aufnahmemenge irischer Kinder liegen. Die Einnahme der untersuchten Farbstoffe erfolgt in der Praxis zudem selten gleichzeitig [Connolly et al., 2010].

Trotz der geringen Evidenz eines Zusammenhangs zwischen Hyperaktivität und Azofarbstoffen, beobachten Eltern immer wieder negative Effekte verschiedener synthetischer Farbstoffe auf das Verhalten ihrer Kinder. Es scheint für Eltern nahe liegend zu sein, den Auslöser der Hyperaktivität ihrer Kinder eher Lebensmitteln zuzuschreiben als komplexere psychosoziale Faktoren in Erwägung zu ziehen, da diese oft schwieriger zu evaluieren und zu lösen sind [Cruz und Bahna, 2006].

Die Einschätzungen der Eltern, das auffällige Verhalten ihrer Kinder betreffend, lassen sich durch randomisierte, doppelblinde, placebokontrollierte Studien in der Regel nicht bestätigen [Cruz und Bahna, 2006; Wilson und Bahna, 2005].

Ein wichtiger Punkt in der Risikokommunikation ist daher die Aufklärung der Eltern. Es ist erforderlich, den Eltern die komplexe Entstehung hyperaktiven Verhaltens zu verdeutlichen und darauf hinzuweisen, dass die derzeitige Datenlage lediglich einen geringen Hinweis auf einen möglichen Zusammenhang zwischen Azofarbstoffen und Hyperaktivität bei Kindern liefert [Pollock and Warner, 1990].

10.2.3 Weitere Studien

1984 zeigte eine Studie von Kantor et al. [1984] bei Ratten keine signifikanten farbstoffbedingten Veränderungen des ZNS. Untersucht wurde unter anderem die Auswirkung der Azofarbstoffe Allurarot AC, Tartrazin und Gelborange S auf die Neurotransmitter Serotonin, Noradrenalin und Dopamin sowie auf Pyridoxal-5-Phosphat, ein wichtiges Co-Substrat im Serotonin- und Catecholamin-

Metabolismus. Ziel dabei war es, eine mögliche neuronale Ursache für die kindliche Hyperaktivität zu finden [Kantor et al., 1984].

Heute geht man eher von genetischen Polymorphismen in HMNT-Gen-Regionen in Verbindung mit der Aufnahme von Azofarbstoffen aus, wodurch die Manifestation von ADHS begünstigt werden könnte (siehe Abschnitt 12) [Stevenson, 2010]. Weiters könnte ein Eingriff von Azofarbstoffen auf den Stoffwechsel von Neurotransmittern (z.B. Dopamin) ebenso eine mögliche Erklärung für den Zusammenhang zwischen Azofarbstoffen und ADHS darstellen [Kamel und El-Iethy, 2011].

Pollock und Warner [1990] führten eine doppelblinde, placebokontrollierte Studie an Kindern durch. Über einen Zeitraum von sieben Wochen wurden die Azofarbstoffe Azorubin (25 mg/d), Tartrazin (50 mg/d), Gelborange S (25 mg/d) und Amaranth (25 mg/d) verabreicht bzw. Lactose als Placebo (siehe Tabelle 18).

Woche	1	2	3	4	5	6	7
Sequenz	A	W	P	P	A	W	P
	P	P	A	W	P	P	A

Tabelle 18: Versuchsanordnung der Studie von Pollock und Warner [1990]

A (Active Week; Farbstoffgabe); W (Wash-out-Phase; Lactosegabe); P (Placebo; Laktosegabe)

Das Verhalten der Kinder wurde anhand von Elternfragebögen (M.J.Connors Hyperaktivitätsindex; in Punkten) bewertet. Wie aus Tabelle 19 hervorgeht, kam es in Zeiten der Farbstoffgabe generell zu einer etwas höheren Punkteanzahl als in Zeiten der Placebogabe. Allerdings lag bei nahezu allen untersuchten Fällen der Hyperaktivitätsindex bei unter 15 Punkten, nur bei zwei Kindern hingegen bei über 15 Punkten, jener Marke, die als Kriterium für Hyperaktivität gilt.

Case No	Mean daily behaviour score		Mean daily somatic symptom score	
	Active	Placebo	Active	Placebo
1	9.50	8.05	0.64	0.66
2	8.00	8.70	0.07	0.18
5	1.25	0.10	3.42	0.86
6	1.15	0.77	1.79	1.57
7	13.20	8.33	0.07	0
10	3.25	0.33	1.00	1.18
11	2.30	0.35	6.50	1.00
12	7.75	6.85	0.93	0.71
15	9.80	7.53	5.86	3.25
16	7.70	2.68	0.57	0
18	16.00	14.35	0.14	0.39
19	3.95	5.70	15.00	15.50
20	1.20	0.13	0	0.14
22	1.50	0	32.00	9.60
23	1.50	1.37	1.71	1.52
24	0.95	0.23	0.50	0.32
28	10.85	3.27	1.50	0.69
39	15.95	13.63	2.29	0.86
40	13.90	11.45	0.29	1.21

Tabelle 19: Bewertung des kindlichen Verhaltens durch die Eltern mittels M.J.Connors Hyperaktivitätsindex und Erfassung körperlicher Symptome [Pollock und Warner, 1990]

Da die Punktezahl bei Farbstoffgabe von Tag 1 bis Tag 7 („Active Week“) konstant blieb und sich während der Auswaschphase („Wash-out-Phase“) schnell wieder auf die Ausgangswerte („Placebo“) einpendelte, kamen die Studienautoren zum Schluss, dass es zu keiner Akkumulation der Azofarbstoffe im menschlichen Gewebe kommt. Weiters zeigten die Ergebnisse keinen Zusammenhang zwischen der Hyperaktivität bei den beobachteten Kindern und dem Auftreten körperlicher Symptome.

Interessanterweise konnten die allermeisten Eltern jene Wochen, in denen ihre Kinder die Farbstoffmischung verabreicht bekommen hatten, nicht als solche identifizieren, obwohl sie vor der Studie angegeben hatten, erkennen zu können, zu welchem Zeitpunkt ihre Kinder eine erhöhte Hyperaktivität zeigen [Pollock und Warner, 1990].

Osman et al. [2004] untersuchten in vitro (im menschlichen Blutplasma sowie in den Erythrozyten) und in vivo (an Ratten) mögliche Effekte von Azorubin und Naphthionat auf Acetylcholinesterase und Pseudocholinesterase. In vitro führten Azorubin und Naphthionat zur Hemmung der Aktivität beider Cholinesterasen (ChE), wobei Naphthionat eine stärkere Hemmwirkung zeigte

als Azorubin. In vivo führten sie ebenfalls zu einer signifikanten Erniedrigung der Enzymaktivitäten. Ob veränderte ChE-Levels eine Verhaltensänderung bewirken können, bleibt aber unklar [Osman et al., 2004].

Kamel und El-Iethy [2011] verzeichneten negative Auswirkungen von Tartrazin auf das Verhalten von Ratten. Möglicherweise lässt sich die dabei beobachtete Tartrazin-induzierte Hyperaktivität durch eine Komplexbildung mit Zink erklären und den daraus resultierenden Mangel dieses Spurenelements. Eine weitere mögliche Erklärung wäre der Eingriff von Tartrazin in den Dopamin-Stoffwechsel im ZNS [Kamel und El-Iethy, 2011].

Helal et al. [2000] beobachteten nach Gelborange S-Gabe von 5 mg/kg KG/d über 30 Tage hinweg ein aktiveres, nervöseres und aggressiveres Verhalten bei Ratten [Helal et al., 2000].

Tanaka [2006b] konnte in einer Studie an zwei Mäusegenerationen, deren Futter Cochenillerot A mit einem Anteil von 0,12 %, 0,24 % bzw. 0,48 % beigemischt wurde, bei der höchsten Cochenillerot A-Konzentration negative Effekte auf das Verhalten der männlichen Nachkommen verzeichnen [Tanaka, 2006b]. Auch in einer weiteren Studie konnten Tanaka et al. [2008] negative Effekte auf das Verhalten von Mäusen bei oraler Gabe von Tartrazin beobachten. Der Azofarbstoff wurde dem Futter mit einem Anteil von 0 % (Kontrollgruppe), 0,05 %, 0,15 % bzw. 0,45 % beigemischt. Der Effekt war dosisabhängig und bei den männlichen Nachkommen signifikant [Tanaka et al., 2008].

Trotz der geringen Evidenz im Zusammenhang mit etwaigen Korrelationen zwischen Azofarbstoffen und Verhaltensauffälligkeiten bei Kindern [EFSA, 2008] beschloss das Europäische Parlament, dass alle Lebensmittel, welche die Farbstoffe Allurarot AC, Azorubin, Chinolingelb, Cochenillerot A, Gelborange S und Tartrazin beinhalten, mit dem Warnhinweis „Kann Aktivität und Aufmerksamkeit von Kindern beeinflussen“ zu versehen sind. Seit 20.7.2010 müssen Produkte, die diese Farbstoffe beinhalten, daher diese Aufschrift tragen [EC, 2008; EU, 2008].

11 Nahrungsmittelhypersensitivitäten

11.1 Begriffsdefinitionen

Entgegen der landläufigen Meinung sind Lebensmittelallergien (immunologisch bedingte Hypersensitivitätsreaktionen) nicht erst ein Phänomen der modernen Konsumgesellschaft, denn schon in der Antike berichteten Ärzte von Lebensmittelunverträglichkeiten, die nach heutigem Wissensstand zu den allergischen Reaktionen zählen könnten. Der Begriff „Allergie“ wurde erst 1906 vom Wiener Kinderarzt Clemens von Pirquet eingeführt und als eine immunologische Reaktion des Organismus definiert. Heute wird unter einer Allergie eine nicht toxische, immunvermittelte Überempfindlichkeitsreaktion verstanden, welcher eine Reaktion zwischen einem Allergen und IgE-Antikörpern zugrunde liegt. Bei diesen Allergenen handelt es sich um Proteine oder Glykoproteine mit einer Molekülmasse von ca. 10 bis 90 Kilodalton (kDa) [Paschke, 2010].

Die Klassifizierung von Lebensmittelallergien erfolgt in vier Kategorien, wobei die Typ-I-Reaktion (Soforttyp-Reaktion) am häufigsten auftritt und spezifisch für das Auftreten von Immunglobulin (Ig) E Antikörpern ist. Die spezifischen Antikörper für die Typ-II- (antikörperabhängige cytotoxische Überempfindlichkeitsreaktion) und die Typ-III-Reaktion (Immunkomplexreaktion) stellen die Immunglobulinklassen G und M dar. Reaktionstyp IV dagegen führt zur Ausbildung immunreaktiver Lymphozyten. Die Prävalenz von Lebensmittelallergien liegt bei Erwachsenen bei 1-2 % und bei Kindern bei bis zu 8 % [Paschke, 2010].

Die Symptome der Lebensmittelallergie sind sehr breit gefächert, ebenso variiert die Intensität und Ausprägung innerhalb der Personengruppen. Meist treten die Symptome schon nach 30 bis 60 min auf und manifestieren sich hauptsächlich an den Organen Haut, Atemwege und Magen-Darm-Trakt. Seltener kommt es zu Herz-Kreislauf-Störungen (siehe Tabelle 20). In sehr

schweren Fällen der allergischen Reaktion kann es zum anaphylaktischen Schock kommen [Paschke, 2010].

Haut	Urticaria, Ekzeme	45 %
Atemwege	Asthma, Rhinitis	25 %
Magen-Darm-Trakt	Durchfall, Erbrechen, Kolik	20 %
Herz/Kreislauf-System	Anaphylaktischer Schock	10 %

Tabelle 20: Symptome einer Lebensmittelallergie [Paschke, 2010]

Von den Lebensmittelallergien abzugrenzen sind die Lebensmittelintoleranzen (nicht immunologische Hypersensitivitätsreaktionen), die mit allergieähnlichen Symptomen einhergehen, sich aber durch ihren nicht immunologischen Auslösemechanismus von diesen unterscheiden. Zu den Intoleranzreaktionen zählen Enzymopathien, pharmakologische Reaktionen [Paschke, 2010], sowie Hypersensitivitätsreaktionen mit unbekanntem Wirkmechanismus (siehe Abbildung 35). Da sie mit allergieähnlichen Symptomen einhergehen, wurden sie früher auch als pseudoallergische Reaktionen bezeichnet [Wüthrich, 2009].

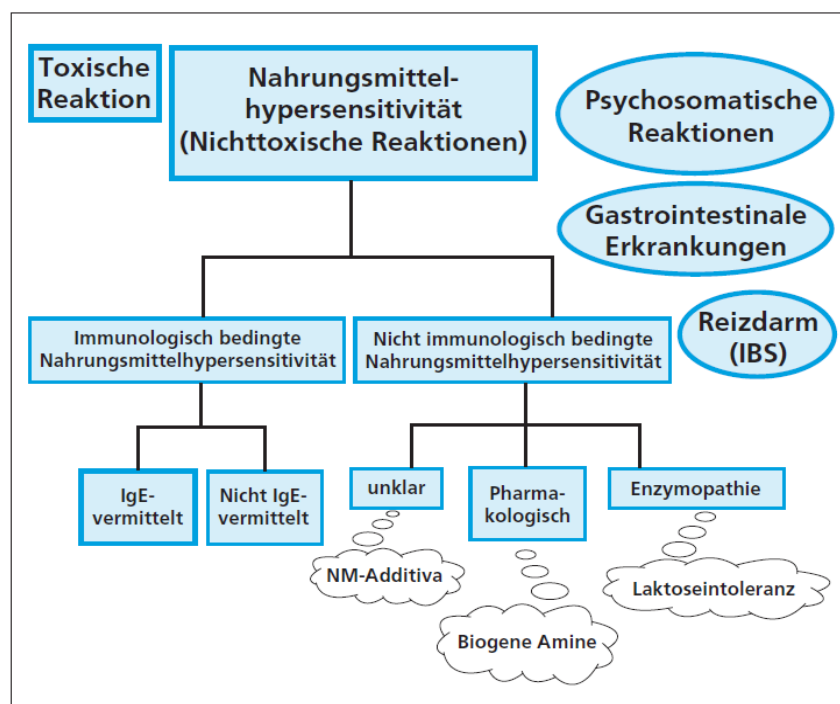


Abbildung 35: Einteilung von Hypersensitivitätsreaktionen gegenüber Lebensmitteln [Wüthrich, 2009]

Hypersensitivität auf Additiva (Zusatzstoffe) wird häufig in Zusammenhang gebracht mit Krankheitsbildern wie beispielsweise dem rezidivierenden Angioödem, dem nicht allergischen Asthma sowie der chronischen Urtikaria. [Reese, 2008] Untersuchungen zeigen, dass Menschen mit einer bestehenden chronischen Erkrankung (z.B. chronischer Urtikaria) sensibler auf Lebensmittelzusatzstoffe reagieren als Menschen ohne solche Erkrankungen. Zudem kann es bei Personen mit chronischer Urtikaria, kombiniert mit einer Aspirin-Unverträglichkeit, bei Aufnahme synthetischer Farbstoffe zu einer Verstärkung der Krankheitssymptome kommen [Kurek und Grubska-Suchanek, 2001; Hong et al., 1989]. Der zugrundeliegende Wirkmechanismus ist aber weitgehend unbekannt [Wüthrich, 1999].

Synthetische Lebensmittelfarbstoffe können keinesfalls als Ursache der chronischen Erkrankung angesehen werden. Sie stellen lediglich einen möglichen Faktor im Auftreten von allergieähnlichen Symptomen dar [Wüthrich, 1999].

Neben den bereits erwähnten Hypersensitivitätsreaktionen existieren auch psychosomatische Allergien oder Intoleranzen. Diese werden von Personen subjektiv wahrgenommen, können aber durch wissenschaftlich anerkannte Methoden nicht nachgewiesen werden [Wüthrich, 1999].

Die Inzidenz von Lebensmittelzusatzstoffintoleranzen in der Gesamtbevölkerung ist sehr gering und liegt einer englischen Studie zufolge bei 0.003-0,49 %, bei Kindern mit Atopie allerdings bei 2 %. Diese Studie zeigt eine große Diskrepanz zwischen von PatientInnen wahrgenommenen Intoleranzen gegenüber Zusatzstoffen und den Ergebnissen der Provokationstests (siehe Abbildung 36) [Young, 1997].

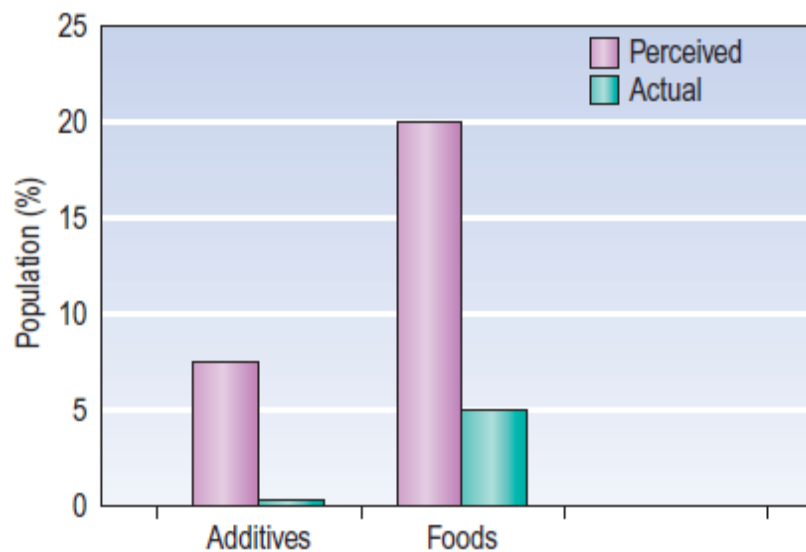


Abbildung 36: Häufigkeit tatsächlicher (actual) bzw. vermeintlicher (perceived) Lebensmittelintoleranzen [Warner, 2012]

Bisher konnte bei Kindern nach Aufnahme synthetischer Lebensmittelfarbstoffe keine IgE-vermittelte, sondern lediglich eine IgD-vermittelte Immunreaktion nachgewiesen werden [Weliky, 1979].

Da ein plausibler Wirkmechanismus zwischen Azofarbstoffen und Allergien bis heute unbekannt ist, existiert auch kein objektives Testverfahren, mit dem allergische Reaktionen auf synthetische Farbstoffe nachweisbar sind [Warner, 2012].

Grundsätzlich kann sowohl ein positiver IgE-Antikörper-Nachweis als auch ein positiver Hauttest lediglich als Zeichen einer Sensibilisierung einem Stoff gegenüber angesehen werden, nicht aber als Beweis für eine klinische Relevanz. Auch IgG- und IgG4-Bestimmungen eignen sich nicht als Nachweis einer Nahrungsmittelallergie, da nahrungsspezifische IgG-Antikörper auch bei gesunden Personen und zudem bei vielen entzündlichen Darmerkrankungen als Epiphänomen auftreten. Nur eine korrekt durchgeführte doppelblinde, placebokontrollierte Nahrungsmittelprovokation (DBPCFC) gilt als wissenschaftlich akzeptierter Nachweis einer Nahrungsmittelallergie [Wüthrich, 2009].

11.2 Studien zur Hypersensitivität durch Azofarbstoffe

Es zeigte sich immer wieder, dass synthetische Farbstoffe, unter anderem auch Allurarot AC, Symptome von chronischen Erkrankungen wie z.B. Urtikaria oder Angioödeme verstärken können [Reese, 2008]. Auch ein Zusammenhang zwischen allergieähnlichen Symptomen und der Aufnahme von Azofarbstoffen konnte bereits anhand zahlreicher Studien nachwiesen werden. Bisher konnte aber bei den Untersuchungen an Mensch und Tier kein zugrundeliegender immunologischer Mechanismus entdeckt werden, der die Entstehung allergieähnlicher Symptome infolge Azofarbstoffkonsums erklären könnte. Da bisher keine Ig-E-Antikörper im menschlichen Blut nachgewiesen werden konnten, wird davon ausgegangen, dass solche Symptome nicht durch eine Allergie, sondern vielmehr durch eine bestehende Hypersensitivität gegenüber Azofarbstoffen ausgelöst werden. Bei empfindlichen Personen sind dazu bereits Dosen um den ADI-Wert ausreichend [EFSA, 2009].

Ganz allgemein werden Hypersensitivitätsreaktionen auf Azofarbstoffe kontrovers betrachtet. Während manche Untersuchungen keinen eindeutigen Zusammenhang zwischen der Aufnahme von Farbstoffen und der Verstärkung von Hypersensitivitätsreaktionen feststellen [Park et al., 2008; Nettis et al., 2003], sehen andere diesen sehr wohl bestätigt [Kurek und Grubsa-Suchanek, 2001; Hong et al., 1989], wobei Letztere meist von einem Zusammenspiel multipler Faktoren ausgehen, die zu Hypersensitivitätssymptomen (z.B. bei chronischer Urtikaria) führen [Wüthrich, 1999].

Die folgenden Studien bestätigen eine geringe Prävalenz von Unverträglichkeitsreaktionen gegenüber Azofarbstoffen in der Gesamtbevölkerung.

Einen eindeutigen Zusammenhang zwischen einer bestehenden Überempfindlichkeit gegenüber Aspirin einerseits und Unverträglichkeitsreaktionen auf synthetische Farbstoffe andererseits stellten Hong et al. [1989] fest. Personen mit einer bestehenden Aspirin-Unverträglichkeit reagieren demnach häufig auch sensibel auf bestimmte Azofarbstoffe [Hong et al., 1989].

Nettis et al. [2003] untersuchten 102 StudienteilnehmerInnen mit akuter Urtikaria, von denen lediglich eine Person – und zwar bereits 15 Minuten nach Einnahme von 5 mg Tartrazin – allergieähnliche Symptome (Gesichtsschwellungen, starker Juckreiz mit Hautausschlag an den Extremitäten, Nausea, abdominale Beschwerden und Hypotonie) zeigte [Nettis et al., 2003].

Devlin und David [1992] untersuchten 12 atopische Kinder im Alter von 1-6 Jahren, denen über drei aufeinanderfolgende Wochen täglich 50 mg Tartrazin verabreicht wurden. Auch bei dieser Studie zeigte sich bei einem Kind eine Verschlimmerung des atopischen Ekzems [Devlin und David, 1992].

Die von Inomata et al. [2006] publizierte Fall-Studie eines 5-jährigen Mädchens, das unter multiplen Unverträglichkeiten (MCS, Multiple Chemical Sensitivity) litt und regelmäßig mit Antihistaminika und Corticosteroiden behandelt wurde, zeigte einen eindeutigen Zusammenhang zwischen der Aufnahme von Tartrazin und Brillantblau FCF einerseits und dem Auftreten allergieähnlicher Symptome andererseits. Aufzeichnungen im Ernährungstagebuch des Mädchens belegten zunächst eindeutig eine zeitliche Korrelation zwischen dem Verzehr von bunt gefärbten Süßigkeiten (jellybeans) und dem Auftreten der Symptome. Bei einem daraufhin durchgeführten oralen Provokationstest reagierte das Kind auf die Einnahme von 300 µg Tartrazin und 210 µg Brillantblau FCF mit Symptomen wie abdominalen Schmerzen, Kurzatmigkeit, Urticaria und Kopfschmerzen. Ein Pricktest allerdings fiel negativ aus. Demnach lösen die beiden verabreichten Azofarbstoffe bei MCS zwar keine allergische Reaktion aus, sie sind aber möglicherweise Elicitoren allergieähnlicher Symptome [Inomata et al., 2006].

12 Genetische Aspekte von Hypersensitivität und Hyperaktivität

Neben genetischen Aspekten wie beispielsweise der Ausprägung von Gen-Polymorphismen [Swanson et al., 1998; Stevenson et al., 2010] werden auch Konservierungsmittel und Farbstoffe [McCann et al., 2007; Bateman et al., 2004] im Zusammenhang mit ADHS diskutiert.

Genetische Faktoren jedenfalls beeinflussen nachweislich die Manifestation von ADHS. Der zugrundeliegende Wirkmechanismus ist zwar weitgehend unbekannt, möglicherweise führen aber Polymorphismen in bestimmten Genregionen in Verbindung mit der Aufnahme synthetischer Farbstoffe zu einer Symptomverstärkung von ADHS, Asthma und Urtikaria. Vermutlich sind jene Gene, die für das Enzym Histamin-N-Methyltransferase (HNMT) codieren, nämlich HNMT Thr105Ile und HNMT T939C, betroffen. Diese Polymorphismen führen zu einer erniedrigten HNMT-Aktivität und damit zu einem verlangsamten Abbau von Histamin im menschlichen Organismus. Durch die Histamin-Anhäufung im Körper kommt es in weiterer Folge zu Vergiftungserscheinungen mit Symptomen wie Nesselausschlag, Erbrechen, Durchfall, Kopfschmerzen, Rötung der Haut, Atemnot etc. Möglicherweise bewirkt diese Histamin-Überdosierung auch eine Änderung des kindlichen Verhaltens (siehe Abbildung 37) [Stevenson et al., 2010].

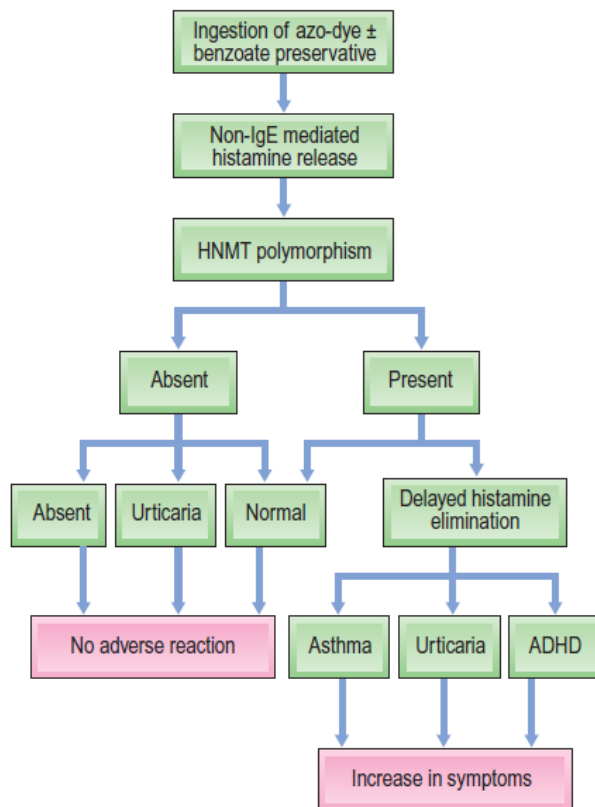


Abbildung 37: Symptomverstärkung bei Urticaria, Asthma und ADHS im Zusammenhang mit Azofarbstoffen und HNMT-Polymorphismen [Warner, 2012]

13 Farbstoffe – ein buntes Risiko?

Der Begriff Gesundheitsrisiko wird aus ernährungswissenschaftlicher Sicht definiert als die zu erwartende Häufigkeit unerwünschter Effekte, hervorgerufen durch Lebensmittelinhaltsstoffe, sowie negativer Auswirkungen auf die menschliche Gesundheit [Elmadfa et al., 2009].

Durch eine umfassende Analyse von ernährungsbezogenen Risiken (siehe Abbildung 38) lässt sich das gesundheitliche Gefährdungspotential für die Bevölkerung, das von Lebensmitteln und deren Inhaltsstoffen ausgehen kann, eruieren und minimieren.

Grundsätzlich kann diese Risikoanalyse in drei Kategorien unterteilt werden, die stets in einem Zusammenhang zu betrachten sind:

- 1) Risikobewertung (Risk Assessment): Eine wissenschaftliche Datenanalyse dient der Identifizierung und Charakterisierung der Gefahr, der Expositionsbewertung sowie der Einschätzung der Gefahr.
- 2) Risikomanagement (Risk Management): Es gilt Entscheidungen zu treffen bezüglich des Handlungsbedarfs hinsichtlich der gebotenen Risikoreduzierung, wobei ökonomische und soziologische Aspekte zu berücksichtigen sind. Konkret geht es dabei um politische Regulierungsmaßnahmen (Verordnungen, Anwendungsbeschränkungen, Verbote, Empfehlungen) mit dem Ziel, die Bevölkerung vor Gefahren unerwünschter Stoffe zu schützen.
- 3) Risikokommunikation (Risk Communication): Hierbei geht es zum einen um die Aufklärung der Öffentlichkeit über die Resultate der Risikobewertung, zum anderen aber auch um einen Informationsaustausch unter WissenschaftlerInnen und UnternehmerInnen [WHO, 2006; Krämer, 2011].

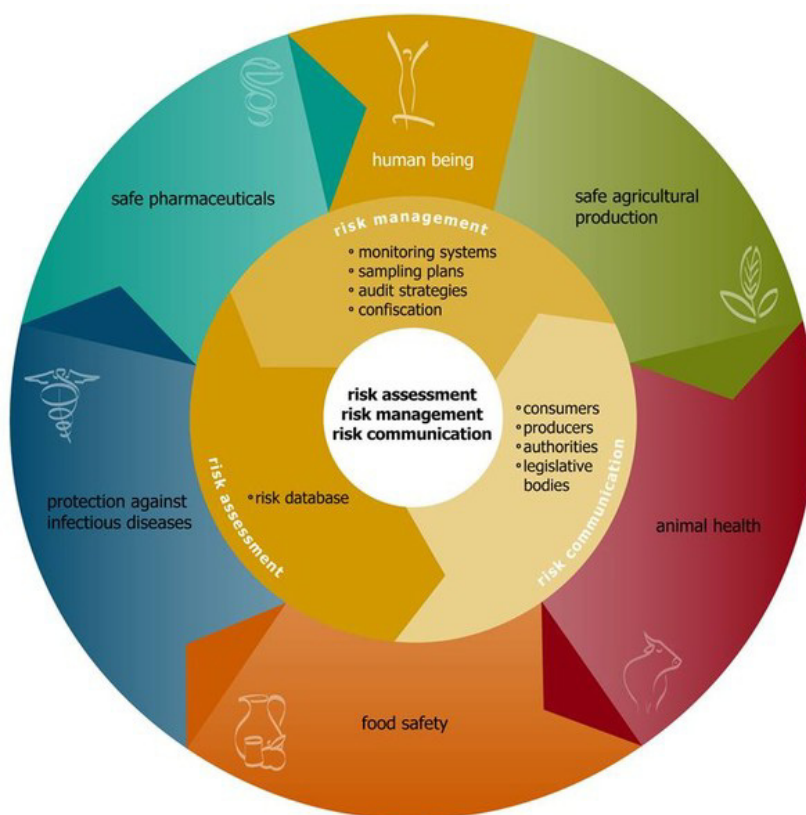


Abbildung 38: Stufen der Risikoanalyse nach AGES

[[http://www.ages.at/ages/risiko bewertung/risikobewertung](http://www.ages.at/ages/risiko_bewertung/risikobewertung), 2012]

13.1 Wahrnehmung von Gesundheitsrisiken durch VerbraucherInnen

Aus dem häufig zu beobachtenden Umstand, dass KonsumentInnen einen unhinterfragten und selbstverständlichen Umgang mit Lebensmitteln bevorzugen, resultiert eine gewisse Gedankenlosigkeit vornehmlich in Bezug auf eventuelle Gesundheitsrisiken, ist doch das Nachdenken über Risiken einer intendierten Behaglichkeit und einem uneingeschränkten Genuss in kulinarischen Belangen wenig zuträglich [Epp et al., 2007].

Doch selbst für kritische VerbraucherInnen ergibt sich eine schwierige Ausgangslage: Eine Fülle von widersprüchlichen Informationen über Lebensmittelinhaltsstoffe führt zur Verunsicherung auf Seiten der KonsumentInnen und auch die mangelnde Einblicksmöglichkeit in Lebensmittelerzeugungsprozesse führt dazu, dass sich die Sicherheit der Lebensmittel der persönlichen Kontrolle jeder/s Einzelnen entzieht [Simons, 2010].

Die Wahrnehmung von ernährungsbezogenen Risiken erfolgt nach bestimmten – objektiven und subjektiven – Kriterien. Beruhen die Risiken auf naturwissenschaftlich messbaren Kriterien, so handelt es sich um ein objektives Risiko, die Eintrittswahrscheinlichkeit eines Schadens also, die in erster Linie vom Gefährdungspotential und der Exposition abhängig ist. Zur Berechnung eines objektiven Risikos werden unter anderem die Ubiquität, die Persistenz und die Reversibilität eines potentiellen Schadens oder etwa auch Verzögerungseffekte (Latenz zwischen der Einnahme eines toxischen Stoffes und dem Schadenseintritt) berücksichtigt. Davon zu unterscheiden sind die subjektiven Kriterien zur Risikoeinschätzung, die sich an Parametern wie der Wahlmöglichkeit, der Kontrollierbarkeit, dem Risiko-Nutzen-Verhältnis, der persönlichen Betroffenheit, der Schrecklichkeit eines Schadens, dem Vertrauen in die Informationsquelle, der Verantwortlichkeit für einen Schaden und die Art des Schadenseintritts orientieren [Böl, 2010a, Böl, 2010b].

Für KonsumentInnen spielt es eine entscheidende Rolle, ob sie sich einem Risiko ausgeliefert fühlen oder aber eine gewisse Kontrollmacht über die

Situation besteht. Findet die Exposition freiwillig statt, so besteht die Möglichkeit, sich dem Risiko zu entziehen, und es entsteht ein Gefühl der Beherrschbarkeit der Gefahr. Sicherer fühlen sich VerbraucherInnen auch, wenn toxikologische Wirkungsmechanismen wissenschaftlich erforscht sind und das Ausmaß eines Schadens lokal begrenzt und reversibel ist. Ein Gefühl der Ohnmacht hingegen entsteht dann, wenn die Wirkungsmechanismen unbekannt sind, das Schadensausmaß hoch und irreversibel ist und die Exposition unfreiwillig erfolgt [Simons, 2010].

Im Unterschied zu ErnährungswissenschaftlerInnen, die bewertungsorientiert agieren müssen, handeln KonsumentInnen immer auch entscheidungsorientiert, d.h. sie beziehen neben dem damit verbundenen Risiko immer auch den Nutzen in ihre täglich etwa 200 Entscheidungen zur Nahrungsauswahl mit ein. Wissenschaftliche Erkenntnisse werden von VerbraucherInnen einer intuitiven Bewertung unterzogen, worauf in Abschätzung persönlicher Konsequenzen bestimmte Ernährungsstrategien gebildet werden. Auf alle Fälle aber ist Essen weit mehr als nur eine Risikoabschätzung [Simons, 2010].

In einer Studie des deutschen BfR (Bundesinstitut für Risikobewertung) wurden Ernährungsrisiken ermittelt, die von VerbraucherInnen konkret gefürchtet werden (siehe Abbildung 39). Dieser Umfrage zufolge wissen VerbraucherInnen durchaus, dass Zusatzstoffe mit E-Nummern, also auch Azofarbstoffe, als weniger gefährlich einzustufen sind als z.B. bakterielle Verunreinigungen wie Salmonellen [Simons, 2010].

Während für ErnährungsexpertInnen eine ungesunde Lebensweise mit einseitiger Ernährung und Bewegungsmangel als gesundheitliches Risiko an oberster Stelle steht (siehe Abbildung 40), stellen für VerbraucherInnen Umweltverschmutzung, Strahlung, Klimawandel und Lebensmittel die größten Gefahrenquellen für die Gesundheit dar (siehe Abbildung 41) [Böl, 2010a].

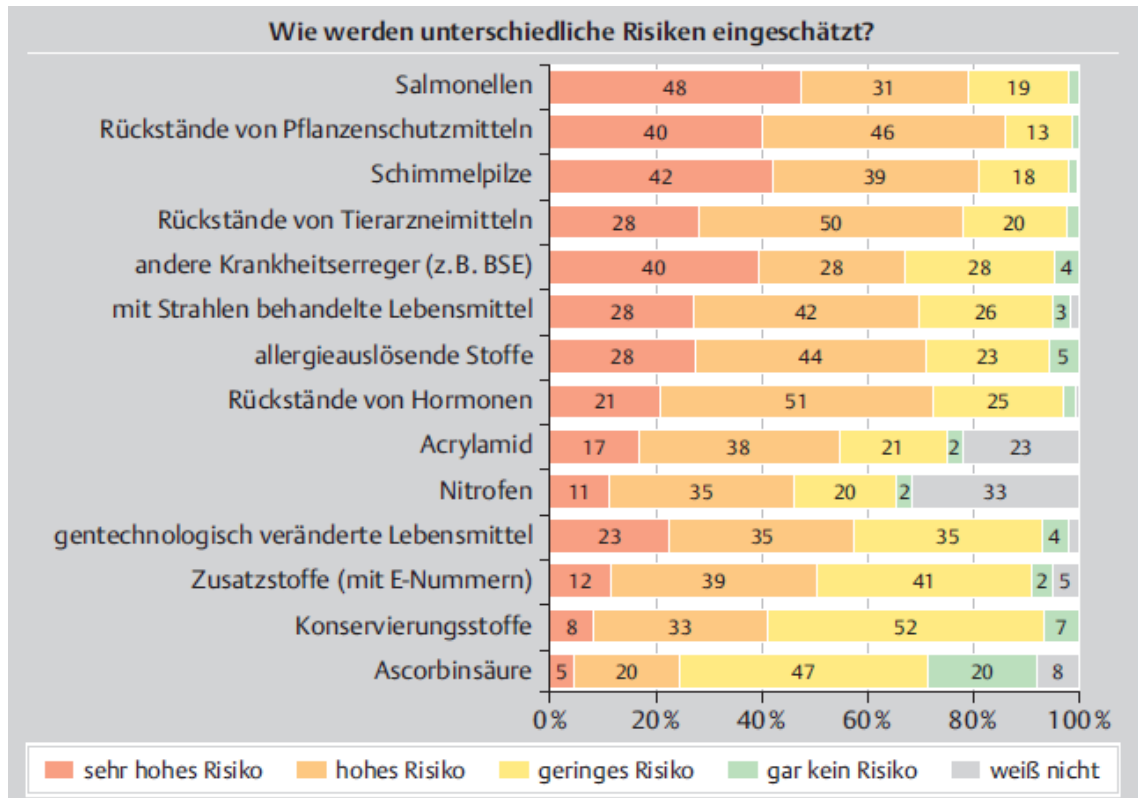


Abbildung 39: Einschätzung von Ernährungsrisiken durch VerbraucherInnen [Simons, 2010]

Welche Themen sind für Sie persönlich die größten gesundheitlichen Risiken des Verbrauchers?

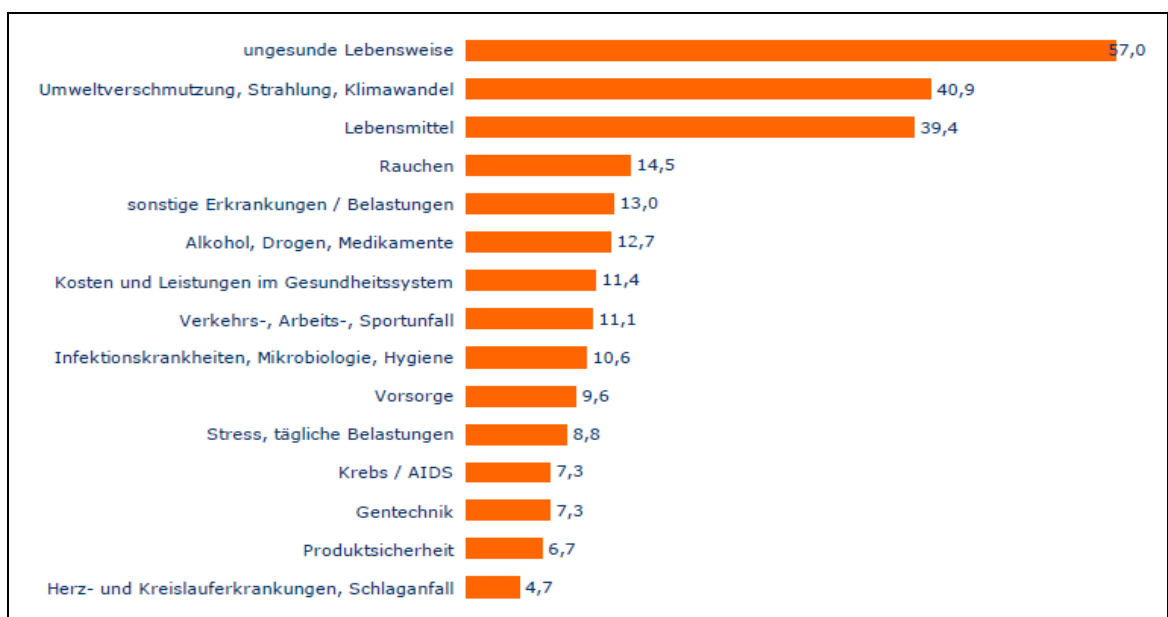


Abbildung 40: ExpertInnenbefragung zum Thema gesundheitliche Risiken der VerbraucherInnen [BfR, 2008]

Welche Themen sind für Sie persönlich die größten gesundheitlichen Risiken des Verbrauchers?

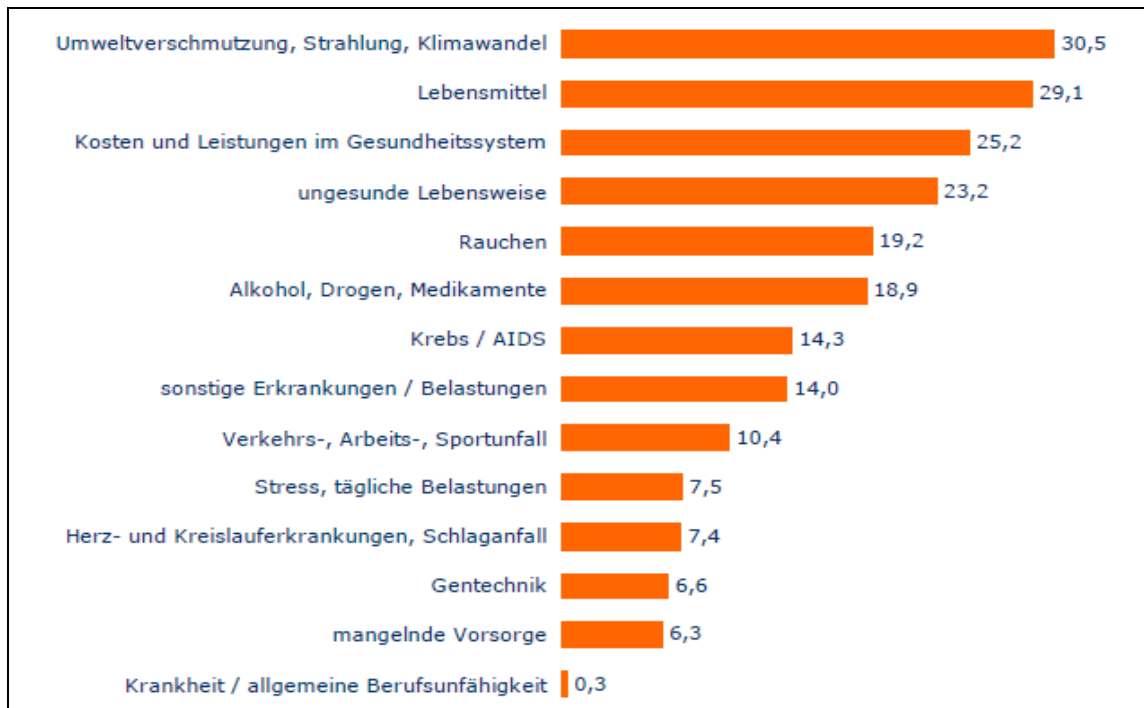


Abbildung 41: VerbraucherInnenbefragung zum Thema gesundheitliche Risiken der VerbraucherInnen [BfR, 2008]

Den oft sehr unterschiedlichen Umgang von VerbraucherInnen mit Lebensmittelrisiken zeigt eine Studie zum VerbraucherInnenverhalten in Bezug auf Risiken von Acrylamid in Lebensmitteln. Das deutsche BfR ermittelte in einer repräsentativen Befragung und Einzelinterviews folgende Verbraucher-Innentypisierung:

Typ 1: *Leugnung*: „Ich kenne niemanden, der an Acrylamid gestorben ist“ (6 % der Befragten leugnen jede Gefahr und zeigen wenig Interesse an Informationen über Lebensmittelrisiken)

Typ 2: *Naivität*: „Noch nie etwas von Acrylamid gehört...“ (10 % der Befragten legen dieses Thema ganz vertrauensvoll in die Hände von ExpertInnen. Die Wissenschaft werde sich schon um alles kümmern...)

Typ 3: *Schuldzuweisung*: „Wenn die nur wollten, dann...“ („...könnten sie auch Chips ohne Acrylamid herstellen“ – 22 % der Befragten verneinen ganz genau zu wissen, wer schuld am Acrylamid-Problem ist: die Medien, die Wissenschaft, die Politik...)

Typ 4: *Resignative Relativierung*: „Früher oder später bekommt man ohnehin Krebs“ (19 % der Befragten vergleichen Probleme und Gefahren miteinander und meinen, es sei egal, woran man schließlich stirbt)

Typ 5: *Überforderung*: „Jetzt weiß ich überhaupt nicht mehr, was ich noch essen darf“ (10 % der Befragten)

Typ 6: *Pragmatische Reaktion*: „Bei uns wird nichts mehr über 170°C zubereitet“ (7 % der Befragten reagieren pragmatisch, indem sie ihre Ernährungsweise oder Kochgewohnheiten gezielt aufgrund ihrer Kenntnisse ändern)

Typ 7: *Rechtfertigende Bilanz*: „Wir essen so gut wie keine Chips“ (26 % der Befragten)

Die meisten Befragten wechseln je nach Situation oder medialer Berichterstattung zwischen den einzelnen Argumentationsmustern. [Böl, 2010b; BfR, 2007]

Die obige VerbraucherInnentypisierung anhand von Risiken von Acrylamid in Lebensmitteln lässt sich selbstverständlich auch auf andere potentiell gesundheitsgefährdende Lebensmittelinhaltsstoffe wie z.B. Azofarbstoffe anwenden.

13.2 Die Rolle der Medien in der Risikokommunikation

Eine positive Assoziation zwischen Ernährungswissen und Ernährungsqualität zeigt die Wichtigkeit der Risikokommunikation im Ernährungsbereich auf [Beydoun und Wang, 2008].

Einen bedeutenden Einfluss der Medien auf die Risikowahrnehmung der VerbraucherInnen belegt eine 2008 durchgeführte Umfrage des deutschen BfR. Die Ergebnisse unterstreichen die große Verantwortung, die den Medien bei der Risikokommunikation zukommt, stellen doch diese für den überwiegenden Teil der Befragten (je nach nachgefragtem Ernährungsthema zwischen 88 und 98%) die wichtigste Informationsquelle dar. Eine weitaus geringere Rolle für die Konfrontation mit den in der Umfrage angeführten Ernährungsthemen spielen das soziale und berufliche Umfeld der Befragten (4 - 12 %) sowie Fachmedien (2 - 4 %) (siehe Abbildung 42) [Böl, 2010b].

Wo und durch wen haben Sie von der Thematik gehört oder gelesen?

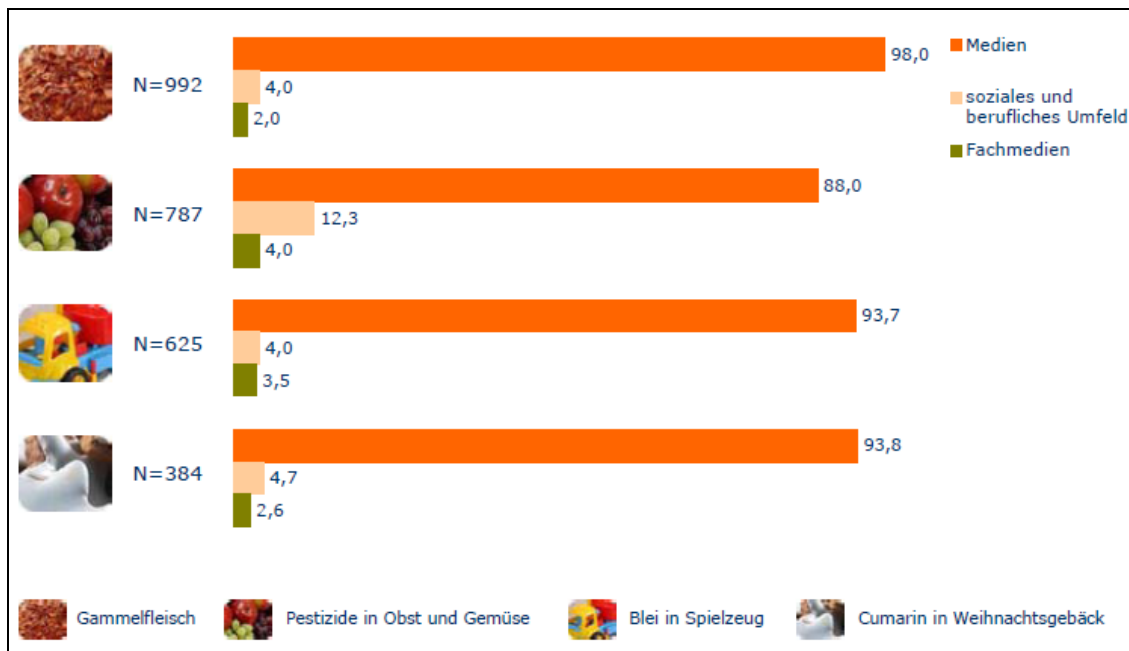


Abbildung 42: Die Bedeutung der Medien für die Risikowahrnehmung bei einer Auswahl von Ernährungsthemen [BfR, 2008]

Die mediale Hauptinformationsquelle stellt dieser BfR-Studie zufolge das Fernsehen dar (90 %), gefolgt von Tageszeitungen (70 %) und dem Internet (44%) (siehe Abbildung 43) [BfR, 2008].

Welches sind Ihre wichtigsten Informationsmedien in Bezug auf Verbraucherschutzthemen?

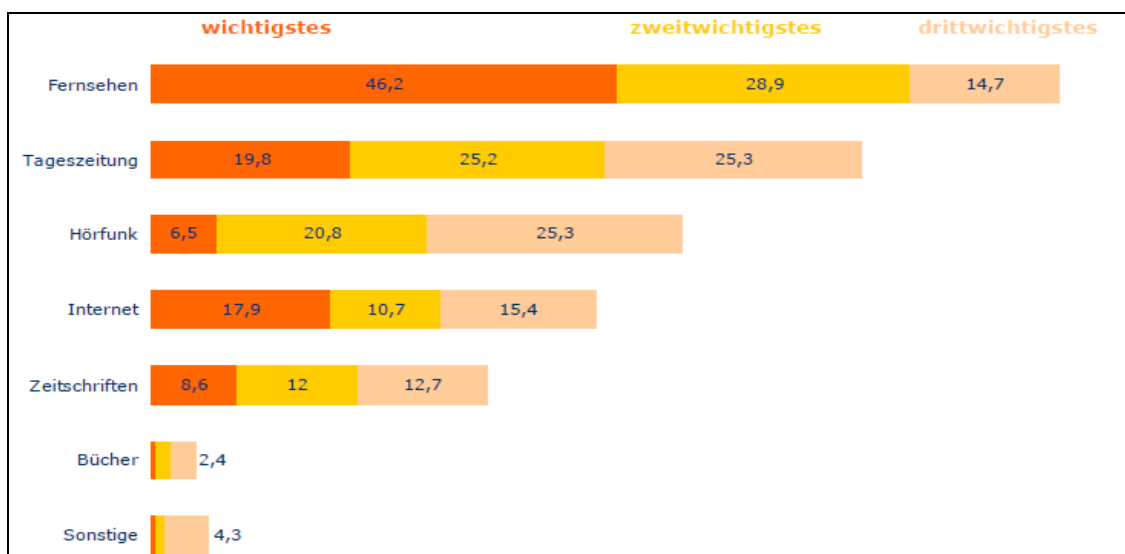


Abbildung 43: Informationsmedien zu VerbraucherInnenschutzthemen [BfR, 2008]

Aufgrund der komplexen Informationslage, oft sehr widersprüchlichen wissenschaftlichen Aussagen sowie der Unüberschaubarkeit von Lebensmittelrisiken sind KonsumentInnen kaum selbst in der Lage, die Verlässlichkeit von Informationen zu überprüfen. Dennoch sind sie auf die Bereitstellung von Informationen angewiesen. Da für die Akzeptanz von Informationen das Vertrauen in die Kompetenz der Informationsquelle eine entscheidende Rolle spielt, genießen unabhängige Institutionen wie Stiftung Warentest oder VerbraucherInnenzentralen das größte Vertrauen in der Bevölkerung, gefolgt von WissenschaftlerInnen, ÄrztInnen und Umweltorganisationen. Wenig vertrauenswürdig hingegen erscheinen den KonsumentInnen Politiker und Führungskräfte aus der Wirtschaft [BfR, 2007].

Zusammenfassend kann festgehalten werden: Die Frage, ob Farbstoffe in Lebensmitteln ein „buntes Risiko“ darstellen, ist nicht einfach mit ja oder nein zu beantworten, sondern muss im Gesamtkontext Risikobewertung, Risikomanagement und Risikokommunikation betrachtet werden. Hier darf es im Rahmen einer Risikoanalyse von Azofarbstoffen keinerlei Versäumnisse in einer oder mehreren dieser drei Kategorien geben und es ist von entscheidender Bedeutung, die richtigen Schlüsse aus den vorliegenden Forschungsergebnissen politisch adäquat umzusetzen und den Menschen etwaige Gefahren aus dem Konsum bestimmter Lebensmittelzusatzstoffe verständlich zu vermitteln. In der Risikokommunikation liegt eine große Verantwortung bei den Medien, allen voran beim Fernsehen.

Dennoch wird das tatsächliche persönliche Ernährungsverhalten wohl nur zum Teil von den medial zu vermittelnden objektiven Einschätzungen des Gefährdungspotentials von Lebensmittelinhaltsstoffen abhängen, eine – bewusste oder unbewusste – subjektive Risikoeinschätzung führt auf Seiten der KonsumentInnen zu oft sehr unterschiedlichen Strategien im Umgang mit Lebensmittelrisiken.

Handelt es sich bei den KonsumentInnen darüber hinaus auch noch um Kinder, so stehen Wissenschaft, Politik und Medien wohl noch stärker in der Pflicht, besonders verantwortungsvoll und sorgsam mit dem Thema Nahrungsmittelsicherheit umzugehen.

14 Schlussbetrachtung

Farben kommt in der Ernährung des Menschen eine entscheidende Rolle zu. Schon die Auswahlentscheidung beim Lebensmittelerwerb wird stark von den Farben der Produkte beeinflusst [Clark, 1998]. Zudem kann die Farbe eines Lebensmittels der Beurteilung der Genießbarkeit desselben dienen, wobei eine frische, ansprechende Farbe mit guter Qualität assoziiert wird [Gagel, 2006]. Farben erzeugen aber auch Erwartungen an den Geschmack eines Produkts [Zampini et al., 2007], stimulieren oder hemmen den Appetit auf eine Speise [Downham und Collins, 2000] und wirken zudem auf unser psychisches Wohlbefinden und somit auf unsere Gesundheit ein [Vollmar, 2010].

Gerade synthetische Lebensmittelfarbstoffe aber bergen auch das Risiko einer möglichen toxischen Wirkung in sich. Obwohl dieses Gefährdungspotential noch nicht ausreichend erforscht ist, werden künstliche Farbstoffe, unter anderem aus der Gruppe der Azofarbstoffe, auch Kinderlebensmitteln zugesetzt.

Kinder haben ein Grundrecht auf Gesundheit und brauchen speziellen Schutz, da sie aufgrund ihrer Unerfahrenheit noch leicht beeinflussbar sind. Die Verantwortung liegt daher einerseits bei den Eltern, andererseits aber auch beim Gesetzgeber und bei Herstellern und Anbietern von Kinderlebensmitteln [Lehner, 2005].

Die Fülle von widersprüchlichen Informationen über Lebensmittelinhaltsstoffe und die Komplexität der Materie überhaupt führen zur Verunsicherung auf Seiten der KonsumentInnen. Dennoch sind diese auf die Bereitstellung von Informationen über die Medien angewiesen, was wiederum die wichtige Rolle von Medien bei der Kommunikation von Ernährungsrisiken unterstreicht [BfR, 2007].

Jeder Zulassung eines Lebensmittelzusatzstoffes geht eine gründliche Risikobewertung voraus [Steinberg, 2010], mit dem Ziel, die akute und die chronische Toxizität sowie die Cancerogenität, Mutagenität, Teratogenität,

Gentoxizität, Immuntoxizität etc. zu erfassen [Ebermann und Elmadfa, 2008]. Auf der Grundlage von Risikobewertungen wird auch für Azofarbstoffe die jeweils tolerierbare tägliche Aufnahmemenge (ADI) ermittelt, die sich vom NOAEL ableitet. Da sich ADI-Werte auf lebenslange Expositionen beziehen, stellen einmalige oder kurzfristige Überschreitungen keine Gefährdung für den Menschen dar [Steinberg, 2010].

Manche Studienergebnisse aber belegen, dass die realistische tägliche Aufnahmemenge verschiedener Azofarbstoffe bei europäischen Kindern sehr wohl auch längerfristig den ADI-Wert übersteigen kann [Fallico et al., 2011; AGES, 2010], und da die bei der Reduktion von Azofarbstoffen durch den menschlichen Organismus als Zwischenprodukt entstehenden aromatischen Amine ein cancerogenes Potential besitzen [Chung et al., 1981], stellen diese Farbstoffe folglich auch ein Risiko für den kindlichen Organismus dar.

Andere europäische Studien wiederum kommen zum Ergebnis, dass Kinder die tolerierbare tägliche Aufnahmemenge einzelner Azofarbstoffe bei weitem nicht überschreiten [AGES, 2010; Connolly et al., 2010].

Während sämtlichen untersuchten Studien zufolge, die an diversen Tierspezies die *akute* Toxizität von Azofarbstoffen erforschten, ebendiese als gering zu betrachten ist [Sasaki et al., 2002; EFSA, 2009a; EFSA, 2009b], stößt man bei der Analyse von Studien zur *chronischen* Toxizität auf sehr unterschiedliche Ergebnisse: Zeigen sich in den einen Langzeitstudien keine negativen Effekte dieser synthetischen Farbstoffe auf ausgewählte Parameter [Poul et al., 2009; Rafii et al., 1997], die im Hauptteil dieser Arbeit eingehend beschrieben werden, so stellen die anderen toxikologischen Untersuchungen sehr wohl negative chronische Effekte teils schon bei niedrigen Konzentrationen (um den ADI-Wert) [Himri et al., 2011], teils aber auch erst bei hohen Farbstoffdosen fest [Amin et al., 2010].

So konnte beispielsweise an Versuchstieren ein Zusammenhang zwischen der Aufnahme von Azofarbstoffen und Leberschädigungen nachgewiesen werden, wobei erhöhte ALT-, AST- [Helal et al., 2000] und ALP-Aktivitäten, erhöhte

Albumin-, Globulin- und Gesamtproteinkonzentrationen sowie erniedrigte Cholesterinspiegel zu verzeichnen waren [Amin et al., 2010].

Untersuchungen zeigten auch eine dosisabhängige DNA-schädigende Wirkung von Azofarbstoffen auf den GIT von Versuchstieren [Sasaki et al., 2002; Tsuda et al., 2001] und eine Steigerung des oxidativen Stresses, die sich in einer Erhöhung der SOD-, GSH- und Katalaseaktivität sowie einer vermehrten Bildung von MDA äußerte. Der Grund für den gesteigerten oxidativen Stress liegt vermutlich im Abbau von Azofarbstoffen zu aromatischen Aminen, die in weiterer Folge mit Nitrit bzw. Nitrat zu reaktiven ROS wie z.B. Hyperoxid-Anion, Hydroxyl-Radikal oder Hydroperoxid reagieren können. Erhöhte ROS in der Leber verursachen unter Umständen Autoxidationen und können in weiterer Folge zu erhöhter Membranpermeabilität und somit zur Schädigung des Lebergewebes führen [Amin et al., 2010].

Weitere Studien konnten eine Körpergewichtsabnahme der Versuchstiere nach Farbstoffgabe verzeichnen, die vermutlich in der Bindung der Farbstoffe an die Oberfläche intestinaler Bakterien begründet liegt, wodurch es im GIT zur Inhibition der Bakterienaktivität und somit zur Verminderung der Absorptionskapazität von Nahrungspartikeln kommt [El-Wahab und Moram, 2012].

Andere Studien wiederum kamen zu einem völlig konträren Ergebnis: Anstelle einer Körpergewichtsabnahme beobachteten diese eine Zunahme des Körpergewichts der Versuchstiere, die sich möglicherweise mit einer Wasserretention in den Geweben erklären lässt, ausgelöst durch eine Wasserintoxikation durch bestimmte Azofarbstoffe [Sharma et al., 2008].

Ein weiteres Untersuchungsergebnis zur chronischen Toxizität von Azofarbstoffen an Versuchstieren belegt, dass manche Farbstoffkombinationen, abhängig von der Farbstoffkonzentration, einen negativen Effekt auf die Entwicklung des ZNS und auf die adulte Neurogenese im Hippocampus ausüben [Park et al., 2009].

Weiters konnten wissenschaftliche Untersuchungen negative Auswirkungen von Azofarbstoffen auf menschliche Blutzellen verzeichnen. So führte die Farbstoffaufnahme zur Bildung von Echinozyten (deformierten roten

Blutkörperchen) [Himri et al., 2010], zum Anstieg von Bilirubin [El-Wahab und Moram, 2012] und zur Erhöhung der Lymphozyten und basophilen Granulozyten bei gleichzeitiger Abnahme der Monozyten und neutrophilen Granulozyten und konstant bleibender Gesamtleukozytenzahl [Hashem et al., 2010].

In-vitro-Tests belegten zwar eine direkte Bindung von Azofarbstoffen an die CT-DNA, an menschlichen Blutzellen aber konnte diese Bindungsart nicht bestätigt werden [Kashanian und Zeidali, 2011].

Weitere gentoxische Effekte von Azofarbstoffen wurden in anderen Tierversuchen ebenso nachgewiesen, allerdings konnten diese durch Kombinationsgabe von Selen und den Vitaminen A, C und E verringert werden [Sayed et al., 2012].

Verzeichnet werden konnte bei Versuchstieren auch eine farbstoffbedingte Verminderung der Sauerstoffaufnahme in den Mitochondrien [Reyes et al., 1996].

Auch die Bildung eines Farbstoff-Protein-Komplexes, der aber zu keiner verminderten Proteinaufnahme führen dürfte, war das Ergebnis einer weiteren Studie über toxikologische Effekte von Azofarbstoffen [Abdullah et al., 2008].

Neben dem in den oben zusammengefassten Studienergebnissen nachgewiesenen toxischen Gefährdungspotential werden Azofarbstoffe auch mit Verhaltensauffälligkeiten bei Kindern in Zusammenhang gebracht [McCann et al., 2007; Bateman et al., 2004] und auch als möglicher Auslöser von Hypersensitivitätsreaktionen betrachtet [Kurek und Grubska-Suchanek, 2001; Hong et al., 1989], wobei neueren wissenschaftlichen Erkenntnissen zufolge genetische Prädispositionen wie z.B. Polymorphismen eine entscheidende Rolle spielen dürften [Warner, 2012; Stevenson, 2010].

Zusammenfassend kann also festgehalten werden, dass zahlreiche Studien den Nachweis für eine chronische Toxizität von Azofarbstoffen liefern, doch gilt es bei einer Bewertung all dieser Studien auch noch weitere Fakten zu bedenken, die unter Umständen als Relativierung dieser Studienergebnisse interpretiert werden können:

So überstiegen die in vielen der untersuchten Studien verwendeten Farbstoffdosen die tolerierbare tägliche Aufnahmemenge deutlich. Negative Effekte traten bei den Versuchen also in den meisten Fällen erst bei sehr hohen Farbstoffkonzentrationen auf [Hashem et al., 2010; Brantom et al., 1987a].

Infolge der relativ geringen Passagezeit durch den GIT ist außerdem von einer entsprechend kurzen Einwirkzeit der potentiell toxischen Farbstoffe auszugehen [Shimanda et al., 2010].

Ein wichtiges Faktum für die Bewertung des toxischen Gefährdungspotentials ist auch die Tatsache, dass es zu keiner Akkumulation von Azofarbstoffen im menschlichen Gewebe kommt [Pollock und Warner, 1990].

Ein weiterer Einwand betrifft die Darreichungsform der in den Studien untersuchten Einzelfarbstoffe. Da in der Lebensmittelproduktion synthetische Farbstoffe häufig als Farbstoffgemische eingesetzt werden, waren in den meisten Studien nicht *einzelne* Azofarbstoffe, sondern ebensolche Mischungen Untersuchungsgegenstand, was teils nur unzulängliche Erkenntnisse zur toxikologischen Wirkung der einzelnen Azofarbstoffe lieferte. [Sharma et al., 2008].

Des Weiteren ist es fraglich, ob die Studienergebnisse überhaupt auf den Menschen übertragbar sind, wenn in manchen Untersuchungen negative Effekte von Azofarbstoffen zwar an Mäusen zu beobachten waren, diese sich schon an Ratten bislang aber nicht nachweisen haben lassen [Shimanda et al., 2010]. Anhand von Tierversuchsmodellen können selbst erfahrene ToxikologInnen eine Substanz niemals als gänzlich ungiftig bewerten, da sich der menschliche Organismus vom tierischen in den physiologischen Bedingungen grundlegend unterscheidet [Druckrey, 1963].

Ganz allgemein gilt es zu bedenken, dass der Nährwert eines Lebensmittels nicht von dessen Farbe beeinflusst wird. Aus ernährungsphysiologischer Sicht ist der Zusatz von Farbstoffen daher überflüssig [Wisker et al., 1980].

Überhaupt stellt sich die Frage nach der Notwendigkeit von Azofarbstoffen in der Lebensmittelproduktion, speziell wenn es um Produkte geht, die von Kindern verzehrt werden [Sharma et al., 2008]. Ziel sollte es sein, die Kinder vor einem Konsum dieser Substanzen zu schützen [Helal et al., 2000].

15 Zusammenfassung

Farben spielen im Zusammenhang mit Lebensmitteln eine wichtige Rolle.

Zur Erhaltung der Farbe von Lebensmitteln und zur Optimierung ihres Aussehens werden bei der industriellen Färbung von Produkten häufig synthetische Farbstoffe wie z.B. Azofarbstoffe eingesetzt, die aufgrund ihrer Struktur eine höhere Stabilität und Farbtintensität aufweisen als natürliche Alternativen.

Allerdings werden künstliche Lebensmittelfarbstoffe von KonsumentInnen hinsichtlich ihrer gesundheitlichen Unbedenklichkeit zunehmend kritisch betrachtet und deren Notwendigkeit immer mehr hinterfragt.

Vor allem für Kinderlebensmittel müssen besonders hohe Sicherheitsstandards gelten, stellen Kinder doch eine sensible Personengruppe dar.

Im Rahmen der vorliegenden Arbeit wurde das toxikologische Potential einer Auswahl von Azofarbstoffen ausführlich bewertet, die auch zur Färbung von Kinderlebensmitteln zugelassen sind: Allurarot AC, Amaranth, Azorubin, Cochenillerot A, Gelborange S und Tartrazin.

Die im menschlichen Körper bei der Reduktion der erwähnten Farbstoffe entstehenden Metaboliten stehen im Verdacht, cancerogenes Potential zu besitzen. Manche Studien zeigen an Versuchstieren einen eindeutigen Zusammenhang zwischen der Aufnahme von Azofarbstoffen und toxischen Effekten, andere Untersuchungen hingegen bestätigen diesen Zusammenhang nicht.

Darüber hinaus stehen Azofarbstoffe im Verdacht, bei Kindern Hyperaktivität auszulösen sowie somatische Hypersensitivitätsreaktionen zu verstärken. Dabei dürften aktuellen wissenschaftlichen Erkenntnissen zufolge genetische Prädispositionen wie z.B. Polymorphismen eine entscheidende Rolle spielen. Die Wirkungsmechanismen von Azofarbstoffen auf den menschlichen Organismus sind aber nach wie vor weitgehend unbekannt.

16 Abstract

Colours are very important for human nutrition.

To preserve the colours of food and to optimise their appearance synthetic dyes, as for example azo dyes, which show a higher stability and colour intensity than natural alternatives because of their structure, are often used for the industrial dyeing of food products. Nevertheless it is a fact that consumers are more and more critical of food colourants and scrutinise their necessity. Especially child food requires very strict safety standards, children being a very delicate consumer group.

Within the scope of the present thesis the toxicological potential of a sample of azo dyes also licenced for the dyeing of child food was evaluated in detail: allura red AC, amaranth, carmoisine, ponceau 4R, sunset yellow and tartrazine.

Metabolites originating from the reduction of these dyes in the human body are suspected of having carcinogenic potential. Some studies with animal testings have revealed a clear causality between the ingestion of azo dyes and toxic effects, whereas other studies did not confirm a causality. Furthermore, azo dyes are suspected of provoking hyperactivity as well as increasing somatic hypersensitivity in children. According to the latest scientific achievements, genetic predispositions, e.g. polymorphisms, might play an important part. However, the modes of action of azo dyes within the human organism are still mostly unknown.

17 Literaturverzeichnis

Abdullah SU, Badaruddin M, Sayeed AS, Ali R, Riaz MN. Binding ability of allura red with food proteins and its impact on protein digestibility. Food Chemistry 2008; 110:605-610.

AGES (Österreichische Agentur für Gesundheit und Ernährungssicherheit GmbH), 2010. Abschätzung der Aufnahmemenge von Farbstoffen über Erfrischungsgetränke und Süßwaren in Österreich. Internet: http://www.ages.at/uploads/media/Farbstoffe_DSR1_03.PDF (24.7.2012)

Aicher H. Überblick über das neue Lebensmittelrecht. Kontrolle und Strafbarkeit. Wirtschaftskammer Wien, 2009. Internet: <http://www.wkw.at/docextern/Rgp/Publikationen/LM-Recht.pdf> (18.6.2012)

Amin KA, Abdel Hameid H, Abd Elsttar AH. Effect of food azo dyes tartrazine and carmosine on biochemical parameters related to renal, hepatic function and oxidative stress biomarkers in young male rats. Food and Chemical Toxicology 2010; 48:2994-2999.

Baltes W, Matissek R.: Lebensmittelchemie. 7. Auflage, Springer-Verlag, Berlin Heidelberg; 2011; 566-567.

Bateman B, Warner JO, Hutchinson E, Dean T, Rowlandson P, Gant C, Grundy J, Fitzgerald C, Stevenson J. The effects of a double blind, placebo controlled, artificial food colourings and benzoate preservative challenge on hyperactivity in a general population sample of preschool children. Archives of Disease in Childhood 2004; 89:506-511.

Bertram B.: Farbstoffe in Lebensmitteln und Arzneimitteln. Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft mbH, Stuttgart; 1989; 15;84.

Beydoun MA, Wang Y. Do nutrition knowledge and beliefs modify the association of socio-economic factors and diet quality among US adults? Preventive Medicine 2008; 46:145-153.

BfR, 2007. Acrylamid in Lebensmitteln – Ändert Risikokommunikation das Verbraucherverhalten? (Epp A, Hertel R, Böhl G-F) BfR-Wissenschaft, BfR-Hausdruckerei Dahlem, Berlin, 2007. Internet: http://www.bfr.bund.de/cm/350/acrylamid_in_lebensmitteln_aendert_risikokommunikation_das_verbraucherverhalten.pdf (2.7.2012)

BfR, 2008. Zweitevaluation der Bekanntheit des Bundesinstituts für Risikobewertung. Berlin 2008; Internet: http://www.bfr.bund.de/cm/343/zweitevaluation_der_bekanntheit_des_bfr_abschlussbericht_2008.pdf (2.7.2012)

Biealski HK, Grimm P.: Taschenatlas der Ernährung. 3. Auflage, Verlag Georg Thieme, Stuttgart; 2004; 284.

Böhl G-F. Wahrnehmung von Ernährungsrisiken. Ernährung und Medizin 2010a; 25:119-122.

Böhl G-F. Zwischen Furcht und Fakten. Probleme und Strategien der Risikokommunikation. Aktuelle Ernährungsmedizin 2010b; 35(1):53-57.

Brantom PG, Stevenson BI, Ingram AJ. A three-generation reproduction study of ponceau 4R in the rat. Food and Chemical Toxicology 1987a; 25(12):963-968.

Brantom PG, Stevenson BI, Wright MG. Long-term toxicity study of ponceau 4R in rats using animals exposed in utero. Food and Chemical Toxicology 1987b; 25(12):955-962.

Brita W. Geschichte der Farbstoffchemie und Farbstoffindustrie. Wissenschaftliche Zeitschrift, Technische Universität Dresden, Applica 2003; 5:4-16.

Brubacher G, Schlierf G.: Lebensmittelfärbung – wozu? Internationales Symposium 1978 in Basel. Verlag Georg Thieme, Stuttgart; 1979.

Chan MM und Kane-Martinelli C. The effect of color on perceived flavor intensity and acceptance of foods by young adults and elderly adults. Journal of the American Dietetic Association 1997; 97:657-659.

Chung KT, Fulk GE, Andrews AW. Mutagenicity testing of some commonly used dyes. *Applied and Environmental Microbiology*. 1981; 42(4):641.

Chung KT, Fulk GE, Egan M. Reduction of azo dyes by intestinal anaerobes. *Applied and Environmental Microbiology* 1978; 35(3):558.

Clark JE. Taste and flavour: their importance in food choice and acceptance. *Proceedings of the Nutrition Society* 1998; 57:639-643.

Collins TFX, Black TN, O'Donnell MW, Bulhack P. Study of the teratogenic potential of FD & C Yellow No. 5 when given in drinking water. *Food and Chemical Toxicology* 1992; 30(4):263-8.

Connolly A, Hearty A, Nugent A, McKevitt A, Boylana E, Flynn A, Gibney MJ. Pattern of intake of food additives associated with hyperactivity in Irish children and teenagers. *Food Additives and Contaminants* 2010; 27(4):447-456.

Cormier E. Attention Deficit/Hyperactivity Disorder: A Review and Update. *Journal of Pediatric Nursing* 2008; 23(5):345-357.

COT, 2007. Committee on toxicity of chemicals in food, consumer products and the environment. Statement on research project (T07040) investigating the effect of mixtures of certain food colours and a preservative on behaviour in children. 2007. Internet: <http://cot.food.gov.uk/pdfs/colpreschil.pdf> (15.6.2012)

Cruz NV, Bahna SL. Do food additives cause behavior disorders? *Psychiatric Annals* 2006; 36(10):724-732.

Deutsche Forschungsgemeinschaft (DFG): Farbstoff-Kommission: Mitteilung 11. Franz Steiner Verlag GmbH, Wiesbaden; 1962.

Downham A, Collins P. Colouring our foods in the last and next millennium. *International Journal of Food Science and Technology* 2000, 35:5-22.

Druckrey H. Toxikologische Bewertung von Lebensmittelfarbstoffen. *Zeitschrift für Lebensmitteluntersuchung und -Forschung A* 1963. 120(5):375-381.

Ebermann R., Elmadfa I.: Lehrbuch der Lebensmittelchemie und Ernährung. Verlag Springer, Wien; 2008; 645;579-580;256;650.

EC, 2008. Regulation (EC) No. 1333/2008 of the European Parliament and of the Council of 16 December 2008 on food additives. Official Journal of the European Union 2008. L354/16. Internet: <http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=OJ:L:2008:354:0016:0033:en:PDF> (24.7.2012)

EFSA, 2008. Assessment of the results of the study by McCann et al. (2007) on the effect of some colours and sodium benzoate on children's behaviour. Scientific opinion of the Panel on food additives, flavourings, processing aids and food contact materials (AFC). The EFSA Journal 2008; 660:1-53. Internet: <http://www.efsa.europa.eu/en/efsajournal/doc/660.pdf> (5.6.2012)

EFSA, 2009a. Scientific opinion of the panel on food additives and nutrient sources added to food (ANS) on a request from the commission related to the re-evaluation on the safety of ponceau 4R as a food additive. The EFSA Journal 2009; 7(11):1328. Internet: http://www.efsa.europa.eu/en/efsa_journal/doc/1328.pdf (24.7.2012)

EFSA, 2009b. Scientific opinion on the re-evaluation of allura red AC (E 129) as a food additive. EFSA panel on food additives and nutrient sources added to food (ANS). The EFSA Journal 2009; 7(11):1327. Internet: <http://www.efsa.europa.eu/de/efsajournal/doc/1327.pdf> (4.7.2012)

EFSA, 2009c. Scientific opinion on the re-evaluation of azorubine/Carmoisine (E 122) as a food additive. EFSA panel on food additives and nutrient sources added to food (ANS). The EFSA Journal 2009; 7(11):1332. Internet: <http://www.efsa.europa.eu/en/efsajournal/doc/1332.pdf> (4.7.2012)

EFSA, 2009d. Scientific opinion on the re-evaluation of sunset yellow FCF (E 110) as a food additive. EFSA panel on food additives and nutrient sources added to food (ANS). The EFSA Journal 2009; 7(11):1330. Internet: <http://www.efsa.europa.eu/de/efsajournal/doc/1330.pdf> (4.7.2012)

EFSA, 2009e. Scientific opinion on the re-evaluation tartrazine (E 102). EFSA Panel on food additives and nutrient sources added to food (ANS). The EFSA Journal 2009; 7(11):1331. Internet: http://www.efsa.europa.eu/en/efsa_journal/doc/1331.pdf (21.6.2012)

EFSA, 2010. Scientific Opinion on the re-evaluation of amaranth (E 123) as a food additive. EFSA panel on food additives and nutrient sources added to food (ANS). The EFSA Journal 2010; 8(7):1649. Internet: <http://www.efsa.europa.eu/de/efsajournal/doc/1649.pdf> (14.8.2012)

Eisenbrand J, Lang E. Beeinflussung der Säureproduktion von Milchsäurebakterien durch Azofarbstoffe. European food research and technology 1960; 113(1):48-52.

Elhkim MO, Héraud F, Bemrah N, Gauchard F, Lorino T, Lambré C, Frémy JM, Poul JM. New considerations regarding the risk assessment on tartrazine. An update toxicological assessment, intolerance reactions and maximum theoretical daily intake in France. Regulatory Toxicology and Pharmacology 2007; 47(3):308-16.

Elmadfa I, Freisling H, Nowak V, Hofstädter D, et al. Österreichischer Ernährungsbericht 2008. 1. Auflage, Wien; 2009.

Elmadfa I, Leitzmann C.: Ernährung des Menschen. 4. Auflage, Verlag Eugen Ulmer, Stuttgart; 2004; 422-427.

El-Wahab HMFA, Moram GS. Toxic effects of some synthetic food colorants and/or flavor additives on male rats. Toxicology and Industrial Health 2012; (ahead of print)

Ershoff BH. Effects of diet on growth and survival of rats fed toxic levels of tartrazine (FD&C Yellow No. 5) and sunset yellow FCF (FD&C Yellow No. 6). The Journal of Nutrition 1977; 107(5):822-8.

EU, 2008. Verordnung (EG) Nr. 1333/2008 des Europäischen Parlaments und des Rates vom 16. Dezember 2008 über Lebensmittelzusatzstoffe. Amtsblatt

der Europäischen Union 31.12.2008; L 354/16; Internet: <http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=OJ:L:2008:354:0016:0033:de:PDF> (24.7.2012)

EU, 2009. Richtlinie 2008/128/EG der Kommission vom 22. Dezember 2008 zur Festlegung spezifischer Reinheitskriterien für Lebensmittelfarbstoffe. Amtsblatt der Europäischen Union 10.1.2009; L 6/20; Internet: <http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=OJ:L:2009:006:0020:0063:DE:PDF> (8.7.2012)

EU, 2012. Verordnung (EU) Nr. 232/2012 der Kommission vom 16. März 2012 zur Änderung des Anhangs II der Verordnung (EG) Nr. 1333/2008 des Europäischen Parlaments und des Rates hinsichtlich der Verwendungsbedingungen und Verwendungsmengen für Chinolingelb (E 104), Gelborange S (E 110) und Cochenillerot A (Ponceau 4R) (E 124). Amtsblatt der Europäischen Union 17.3.2012; L 78/1; Internet: <http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=OJ:L:2012:078:0001:0012:DE:PDF> (24.7.2012)

Fallico B, Chiappara E, Arena E, Ballistreri G. Assessment of the exposure to allura red colour from the consumption of red juice-based and red soft drinks in Italy. Food Additives and Contaminants 2011; 28(11):1501-1515.

Hashem MM, Atta AH, MS, Nada SA, Asaad GF. Immunological studies on amaranth, sunset yellow and curcumin as food colouring agents in albino rats. Food and Chemical Toxicology 2010; 48:1581-1586.

Hauber-Schwenk G, Schwenk M.: dtv-Atlas Ernährung. Deutscher Taschenbuch Verlag GmbH & Co, München; 2000; 117.

Helal EGE. Progressive effects of the interaction of sodium nitrite and sunset yellow on different physiological parameters in albino rats. The Egyptian Journal of Hospital Medicine 2001; 2:23-46.

Helal EGE, Zaahkouk SAM, Mekkawy HA. Effect of some food colorants (synthetic and natural products) of young albino rats. The Egyptian Journal of Hospital Medicine 2000; 1:103-113.

Heller E.: *Wie Farben wirken*. Rowohlt Taschenbuch Verlag, Reinbek bei Hamburg; 1999; 13-15.

Himri I, Bellahcen S, Souana F, Belmekki F, Aziz M, Bnouham M, Zoheir J, Berkia Z, Mekhfi H, Saalaoui E. A 90 day oral toxicity study of tartrazine, a synthetic food dye, in wistar rats. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences* 2011; 3(3): 159-169.

Hong SP, Park HS, Lee MK, Hong C-S. Oral provocation tests with aspirin and food additives in asthmatic patients. *Yonsei Medical Journal* 1989; 30(4):339-345.

Inomata N, Osuna H, Fujita H, Ogawa T, Ikezawa Z. Multiple chemical sensitivities following intolerance to azo dye in sweets in a 5-year-old girl. *Allergology International* 2006; 55(2):203-205.

Kamel MM, El-Iethy HS. The potential health hazard of tartrazine and levels of hyperactivity, anxiety-like symptoms, depression and anti-social behaviour in rats. *Journal of American Science* 2011; 7(6):1211-1218.

Kashanian S, Zeidali SH. DNA binding studies of tartrazine food additive. *DNA & Cell Biology* 2011; 30(7):499-505.

Krämer J.: *Lebensmittel-Mikrobiologie*. Verlag Eugen Ulmer KG, Stuttgart; 2011; 358-359.

Kurek M, Grubska-Suchanek E. Challenge tests with food additives and aspirin in the diagnosis of chronic urticaria. *Revue Française d'Allergologie et d'Immunologie Clinique* 2001; 41:463-9.

Kuno N, Mizutani T. Influence of synthetic and natural food dyes on activities of CYP2A6, UGT1A6, and UGT2B7. *Journal of Toxicology and Environmental Health* 2005, Part A 68(16):1431-1444.

Larsen JC. Legal and illegal colours. *Trends in Food Science & Technology* 2008; 19:64-69.

Lehner P. Kinderlebensmittel – Schein und Sein. Ernährungswissenschaftliche Bewertung anhand der Nährstoffangaben und kritische Analyse der Werbeaussagen. AK-Studie Wien. 2005; 83. Internet: <http://www.arbeiterkammer.at/bilder/d34/kinderlebensmittel2005.1.pdf> (8.1.2012)

Maekawa A, Matsuoka C, Onodera H, Tanigawa H, Furuta K, Kanno J, Jang JJ, Hayashi Y, Ogiu T. Lack of carcinogenicity of tartrazine (FD & C Yellow No.5) in the F344 rat. Food and Chemical Toxicology 1987; 25(12):891-6.

McCann D, Barrett A, Cooper A, Crumpler D, Dalen L, Grimshaw K, Kitchin E, Lok K, Porteous L, Prince E, Sonuga-Barke E, Warner JO, Stevenson J. Food additives and hyperactive behaviour in 3-year-old and 8/9-year-old children in the community: a randomised, double-blinded, placebo-controlled trial. The Lancet 2007; 370:1560-67.

Mehedi N, Ainad-Tabet S, Mokrane N, Addou S, Zaoui C, Kheroua O, Saidi D. Reproductive toxicology of tartrazine (FD and C Yellow No. 5) in swiss albino mice. American Journal of Pharmacology and Toxicology 2009; 4(4):128-133.

Müller F, Kaupp UB. Signaltransduktion in Sehzellen. Naturwissenschaften 1998; 85(2):49-61.

Mqountoukas P, Pantazaki A, Kostareli E, Christodoulou P, Kareli D, Poliliou S, Mourelatos C, Lambropoulou V, Lialiaris T. Cytogenetic evaluation and DNA interaction studies of the food colorants amaranth, erythrosine and tartrazine. Food and Chemical Toxicology 2010; 48:2934-2944.

Nettis E, Colanardi MC, Ferrannini A, Tursi A. Suspected tartrazine-induced acute urticaria/angioedema is only rarely reproducible by oral rechallenge. Clinical and Experimental Allergy 2003; 33:1725-1729.

Osman MY, Sharaf IA, Osman HM, El-Khouly ZA, Ahmed EI. Synthetic organic food colouring agents and their degraded products: effects on human and rat cholinesterases. British Journal of Biomedical Science 2004; 61(3):128-32.

Otterstätter G.: Färbung von Lebensmitteln, Arzneimitteln, Kosmetika. B. Behr's Verlag GmbH & Co. KG, Hamburg; 2007; 10-11;13-15;20;1704.

Park H-W, Park C-H, Park S-H, Park JY, Park HS, Yang HJ, Ahn K-M, Kim K-H, Oh J-W, Kim K-E, Pyun B-Y, Lee H-B, Min K-U. Dermatologic adverse reactions to 7 common food additives in patients with allergic diseases: A double-blind, placebo-controlled study. *Journal of Allergy and Clinical Immunology* 2008; 121(4):1059-1061.

Park M, Park HR, Kim SJ, Kim M-S, Kong KH, Kim HS, Gong EJ, Kim ME, Kim HS, Lee BM, Lee J. Risk assessment for the combinational effects of food color additives: neural progenitor cells and hippocampal neurogenesis. *Journal of Toxicology and Environmental Health* 2009; 72(Part A):1412-1423.

Parkinson TM, Brown JP. Metabolic Fate of food colorants. *Annual Review of Nutrition* 1981; 1:175-205.

Phillips JC, Bex CS, Gaunt IF. The metabolic disposition of ¹⁴C-labelled Ponceau 4R in the rat, mouse and guinea-pig. *Food and Chemical Toxicology* 1982; 20(5):499-505.

Poelman AAM, Delahunty CM. The effect of preparation method and typicality of colour on children's acceptance for vegetables. *Food Quality and Preference* 2011; 22:355-364.

Pollock I, Warner JO. Effect of artificial food colours on childhood behaviour. *Archives of Disease in Childhood* 1990; 65:74-77.

Poul M, Jarry G, Elhkim MO, Poul J-M. Lack of genotoxic effect of food dyes amaranth, sunset yellow and tartrazine and their metabolites in the gut micronucleus assay in mice. *Food and Chemical Toxicology* 2009; 47:443-448.

Rafii F, Hall JD, Cerniglia CE. Mutagenicity of azo dyes used in foods, drugs and cosmetics before and after reduction by clostridium species from the human intestinal tract. *Food and Chemical Toxicology* 1997; 35:897-901.

Reyes FGR, Valim MFCFA, Vercesi AE. Effect of organic synthetic food colours on mitochondrial respiration. *Food Additives and Contaminants* 1996; 13(1):5-11.

Sarikaya R, Selvi M, Erkoç F. Evaluation of potential genotoxicity of five food dyes using the somatic mutation and recombination test. *Chemosphere* 2012; 88: 974-979.

Sasaki YF, Kawaguchi S, Kamayaa A, Ohshita M, Kabasawa K, Iwamaa K, Taniguchi K, Tsuda S. The comet assay with 8 mouse organs: results with 39 currently used food additives. *Mutation Research* 2002; 519:103-119.

Sayed HM, Fouad D, Atayad FS, Hassanf NHA, Fahmy MA. The modifying effect of selenium and vitamins A, C, and E on the genotoxicity induced by sunset yellow in male mice. *Mutation Research* 2012; 744:145-153.

SCF. Reports of the Scientific Committee for Food (14th Series); 1984. Internet: http://ec.europa.eu/food/fs/sc/scf/reports/scf_reports_14.pdf (4.7.2012)

Schlack R, Hölling H, Kurth B-M, Huss M. Die Prävalenz der Aufmerksamkeitsdefizit-/Hyperaktivitätsstörung (ADHS) bei Kindern und Jugendlichen in Deutschland. Erste Ergebnisse aus dem Kinder- und Jugendgesundheitsurvey (KiGGS). *Bundesgesundheitsblatt-Gesundheitsforschung-Gesundheitsschutz* 2007; 50:827-835. Internet: http://www.kinderumweltgesundheit.de/index2/pdf/gbe/6201_1.pdf (12.9.2012)

Shankar MU, Levitan CA, Spence C. Grape expectations: The role of cognitive influences in color-flavor interactions. *Consciousness and Cognition* 2010; 19:380-390.

Sharma S, Goyal RP, Chakravarty G, Sharma A. Toxicity of tomato red, a popular food dye blend on male albino mice. *Experimental and Toxicologic Pathology* 2008; 60:51-57.

Simons J. Gesunde Skepsis oder blinde Ängste? Die Sicherheit von Lebensmitteln aus VerbraucherInnensicht. Aktuelle Ernährungsmedizin 2010; 35(1):2-6.

Stevenson J, Sonuga-Barke E, McCann D, Grimshaw K, Parker KM, Rose-Zerilli MJ, Holloway JW, Warner JO. The role of histamine degradation gene polymorphisms in moderating the effects of food additives on children's ADHD symptoms. The American Journal of Psychiatry 2010; 167:1108-1115.

Swanson JM, Sergeant JA, Taylor E, Sonuga-Barke EJS, Jensen PS, Cantwell DP. Attention-deficit hyperactivity disorder and hyperkinetic disorder. The Lancet 1998; 351:429-33.

Tanaka T. Reproductive and neurobehavioural toxicity study of tartrazine administered to mice in the diet. Food and Chemical Toxicology 2006a; 44:179-187.

Tanaka T. Reproductive and neurobehavioural toxicity study of ponceau 4R administered to mice in the diet. Food and Chemical Toxicology 2006b; 44:1651-1658.

Tanaka T, Takahashi O, Oishi S, Ogata A. Effects of tartrazine on exploratory behavior in a three-generation toxicity study in mice. Reproductive Toxicology 2008; 26:156-163.

Thews G, Mutschler E, Vaupel P.: Anatomie, Physiologie, Pathophysiologie des Menschen. Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft mbH, Stuttgart; 1999; 729-731;737-738;744;702.

Tsuda S, Murakami M, Matsusaka N, Kano K, Taniguchi K, Sasaki YF. DNA damage induced by red food dyes orally administered to pregnant and male mice. Toxicological Sciences 2001; 61:92-99.

Tuormaa TE. The adverse effects of food additives on health: a review of the literature with special emphasis on childhood hyperactivity. Journal of Orthomolecular Medicine 1994; 9(4):225-243.

Vollmar K.: Das große Buch der Farben. Königsfurt-Urania Verlag GmbH, Krummwisch; 2010; 10;11.

Vorhees CV, Butcher RE, Brunner RL, Wootten V, Thomas J. Sobotka TJ. Developmental toxicity and psychotoxicity of FD and C red dye no. 40 (Allura red AC) in rats. *Toxicology* 1983; 28(3):207-217.

Walton K, Walker R, Van de Sandt JJM, Castell JV, Knapp AGAA, Kozianowski G, Roberfroid M, Schilter B. The application of in vitro data in the derivation of the acceptable daily intake of food additives. *Food & Chemical Toxicology* 1999; 37:1175-1197.

Warner JO. Diagnostic and Therapeutic Dilemmas: Adverse Reactions to Food Additives, Pharmacologic Food Reactions, Psychological Considerations Related to Food Ingestion. In: *Food Allergy* (James JM, Burks W, Eigenmann P, Hrsg). Elsevier Edinburgh, London, New York, Oxford, Philadelphia, St Louis, Sydney, Toronto; 2012; 287-295.

Wei S-T, Ou L-C, Luo MR, Hutchings JB. Optimisation of food expectations using product colour and appearance. *Food Quality and Preference* 2012; 23:49-62.

Weliky N, Heiner DC, Tamura H, Anderson S, Stenius-Aarniala B, German DF, Hawley CD, Lockey SD. Correlation of tartrazine hypersensitivity with specific serum IgD levels. *Immunological Communications* 1979; 8(1):65-71.

WHO. Food Safety risk analysis. A guide for national food safety authorities, FAO Food and Nutrition Paper, 87, World Health Organisation – Food and Agricultural Organization 2006; Rome.

Wilson BG, Bahna SL. Adverse reactions to food additives. *Annals of Allergy Asthma and Immunology* 2005; 95(6):499-507.

Wüthrich B. Lebensmittelzusatzstoffe und Genfood – eine Gefahr für Allergiker? *Praxis* 1999; 88:609-618.

Wüthrich B. Kann es an der Nahrung liegen? Nahrungsmittelallergie, Nahrungsmittelintoleranz oder funktionell? Mini-Review. Praxis 2009; 98:375-387.

Young E. Prevalence of intolerance to food additives. Environmental Toxicology and Pharmacology 1997; 4:111-114.

Zampini M, Sanabria D, Phillips N, Spence C. The multisensory perception of flavor: Assessing the influence of color cues on flavor discrimination responses. Food Quality and Preference 2007; 18:975-984.

Zampini M, Wantling E, Phillips N, Spence C. Multisensory flavor perception: Assessing the influence of fruit acids and color cues on the perception of fruit-flavored beverages. Food Quality and Preference 2008; 19:335-343.

<http://www.ris.bka.gv.at/GeltendeFassung/Bundesnormen/10010991/Farbstoffverordnung%2c%20Fassung%20vom%2028.08.2012.pdf> (28.8.2012)

<http://de.wikipedia.org/w/index.php?title=Datei:Mauveine-A-2D-skeletal.png&filetimestamp=20070519015507> (3.7.2012)

<http://de.wikipedia.org/w/index.php?title=Datei:Fuchsin.svg&filetimestamp=20080209191718> (30.6.2012)

http://de.wikipedia.org/w/index.php?title=Datei:Bismarck_Brown_Y.svg&filetimestamp=20090102184106 (3.7.2012)

<http://www.forum-ernaehrung.at/cms/feh/basis.html?ctx=CH0114> (22.6.2012)

http://bmg.gv.at/home/Schwerpunkte/VerbraucherInnenengesundheit/Lebensmittel/Oesterreichisches_Lebensmittelbuch/ (22.6.2012)

<http://www.efsa.europa.eu/de/topics/topic/additives.htm> (21.6.2012)

http://de.wikipedia.org/w/index.php?title=Datei:Eye_scheme.svg&filetimestamp=20110403212625 (24.7.2012)

<http://www.dma.ufg.ac.at/app/link/Grundlagen%3AAllgemeine/module/16457?step=2> (21.6.2012)

<http://de.wikipedia.org/w/index.php?title=Datei:CIE-Normfarbtafel.png&filetimestamp=20110411013802> (21.6.2012)

<http://www.ages.at/ages/risikobewertung/risikobewertung> (7.10.2012)

Curriculum Vitae

Persönliche Daten

Name: Eva Wachter
Wohnort: Lingenau (Vorarlberg)
E-Mail: eva.wachter77@gmail.com



Schulbildung

2002-heute: Studium der Ernährungswissenschaften, Wien
1991-1996: Bundesbildungsanstalt für Kindergartenpädagogik, Hartberg
Matura am 20. Juni 1996
1983-1991: Volksschule, Hauptschule Feldbach

Studienrelevante Tätigkeiten

10/2008: MA 38, Lebensmitteluntersuchungsanstalt der Stadt Wien (Praktikum)
6/2007: Institut für Ernährungswissenschaften, Universität Wien (Praktikum)