

Bernsteinsäure

| | |
|---|---|
| MAK-Wert (2016) | 2 mg/m³ E |
| Spitzenbegrenzung (2016) | Kategorie I, Überschreitungsfaktor 2 |
| Hautresorption | – |
| Sensibilisierende Wirkung | – |
| Krebserzeugende Wirkung | – |
| Fruchtschädigende Wirkung (2016) | Gruppe C |
| Keimzellmutagene Wirkung | – |
| BAT-Wert | – |
| Synonyma | 1,4-Butandisäure Succinylsäure |
| Chemische Bezeichnung | 1,2-Ethandicarbonsäure |
| CAS-Nr. | 110-15-6 |
| Formel | HOOC–CH ₂ –CH ₂ –COOH C ₄ H ₆ O ₄ |
| Molmasse | 118,09 g/mol |
| Schmelzpunkt | 190,3°C (ECHA 2014); 188°C (US EPA 2008) |
| Siedepunkt bei 1013 hPa | 235°C (US EPA 2008) |
| Dampfdruck bei 25°C | 2,53 × 10 ⁻⁷ hPa (US EPA 2008) |
| log K _{OW} | –0,59 (ECHA 2014; US EPA 2008) |
| Löslichkeit bei 25°C | 83 g/l Wasser (ECHA 2014; US EPA 2008) |
| pKa-Wert | 4,21 (SRC 2013; US EPA 2008) 4,207 und 5,635 (ECHA 2014) 4,67 (ECHA 2014) |
| pH-Wert | 2,7 als 0,1 M wässrige Lösung (O'Neil 2001) |
| Stabilität | vollständig bioabbaubar, Hydrolyse oder Photolyse werden nicht erwartet (US EPA 2008) |

76 MAK Value Documentations

| | |
|------------------|---|
| Herstellung | <p>katalytische Hydrierung von Maleinsäure, Maleinsäureanhydrid oder Fumarsäure, wobei verschiedene Katalysatoren eingesetzt werden können (Ni, Cu, NiO, CuZnCr, Pd-Al₂O₃, Pd-CaCO₃) (Cukolovic und Stevens 2008);</p> <p>Oxidation von 1,4-Butandiol; Hydrocarboxylierung von Acetylglykol, katalysiert über RhCl₃-Pentachlorthiophenol, Acetylen, Acrylsäure, 1,4-Dioxan oder Propiolacton (Cornils und Lappe 2014);</p> <p>biotechnologisch durch Fermentation aus Kohlehydraten, insbesondere aus Stärke und verschiedenen Oligosacchariden (C6- und C5-Zucker) (Werpy et al. 2006)</p> |
| Reinheit | 99,1 bis 99,7% (EFSA 2012 a) |
| Verunreinigungen | k. A. |
| Verwendung | <p>als Lebensmittelzusatzstoff E 363 (Geschmacksverstärker, Säureregulator mit mildem sauren Geschmack) (BMJV 2012);</p> <p>als Baustein von Kunststoffen wie Polyamiden oder Polyester (Sahm et al. 2013);</p> <p>zur Herstellung von Alkydharzen, für Farbstoffe, Pharmazeutika, Pestizide, sowie nach Veresterung als Weichmacher und Schmierstoff (Cornils und Lappe 2014);</p> <p>in Beschichtungen, Anstrichen, Verdünnern, Farbentfernern, als Laborreagenz, als Monomer zur Herstellung von thermoplastischen Kunststoffen, Herstellung von Massenchemikalien (einschließlich Mineralölprodukte), Herstellung von Feinchemikalien, pH-Regulator (ECHA 2014)</p> |

Die Begründung basiert im Wesentlichen auf einer Bewertung der US EPA (2008) sowie den öffentlich verfügbaren Registrierungsdaten im Rahmen von REACH (ECHA 2014).

Bernsteinsäure ist in der EU als Lebensmittelzusatzstoff mit der Nummer E 363 zugelassen. Ein ADI ist nicht festgelegt. Vorgeschriebene Höchstmengen, die nicht überschritten werden dürfen, sind 6 g/kg in Desserts, 5 g/kg in Suppen oder Brühen

und 3 g/l in Pulver für die Herstellung von Getränken in privaten Haushalten (BMJV 2012).

Für die Bewertung systemischer Effekte werden auch Studien mit Salzen der Bernsteinsäure verwendet, da für systemische Effekte das Anion verantwortlich ist.

1 Allgemeiner Wirkungscharakter

Bernsteinsäure ist Bestandteil des Citratzyklus, in dem sie zu Fumarsäure metabolisiert wird und anschließend der Fettsäure- β -Oxidation unterliegt. Am Kaninchenauge ist Bernsteinsäure stark reizend und verursacht irreversible Hornhauttrübungen. Hingegen zeigt sich in validen Untersuchungen keine hautreizende Wirkung beim Kaninchen. Systemisch führt das Succinatanion in einer 90-Tage-Trinkwasserstudie an Ratten bei Dosierungen ab etwa 1900 mg/kg KG und Tag zu verminderter Körpergewichtszunahme, in noch höheren Dosierungen zu Abmagerung. Bei Schlundsondengabe tritt in einer Screeningstudie an Ratten ab 130 mg/kg KG und Tag ein erhöhter Proteingehalt im Urin auf, ein Hinweis auf Nierentoxizität, jedoch gibt es keine histopathologischen Befunde. Zur entwicklungsstoxischen Wirkung von Bernsteinsäure fehlen aussagekräftige Studien. Eine Screeningstudie mit Dinatriumsuccinat-Hexahydrat gibt keine Hinweise auf fertilitätsmindernde Effekte bei Ratten.

Bernsteinsäure ist bei Meerschweinchen und Mäusen nicht hautsensibilisierend. Mutagenitätstests an *Salmonella typhimurium* mit und ohne Zusatz metabolischer Aktivierung sind ebenso negativ wie ein Chromosomenaberrationstest an Lungenzellen des Chinesischen Hamsters (CHL). Untersuchungen zur genotoxischen Wirkung von Bernsteinsäure in vivo liegen nicht vor. In einer 2-Jahre-Kanzerogenitätsstudie an F344-Ratten ist bei Gabe von etwa 1000 mg/kg KG und Tag mit dem Trinkwasser das Körpergewicht um 10% reduziert. Die Inzidenz der C-Zell-Adenome in der Schilddrüse ist erhöht, überschreitet aber nicht die der historischen Kontrolle. C-Zell-Karzinome werden nicht induziert.

2 Wirkungsmechanismus

Hierzu liegen keine spezifischen Untersuchungen mit Bernsteinsäure vor.

Die starke Reizwirkung am Auge ist durch die Säurefunktion bedingt.

Die orale Gabe des Dimethylesters der Bernsteinsäure, der nach Aufnahme durch Carboxylesterasen zur Monosäure gespalten wird, führte bei Ratten zu einem schnellen Anstieg des Insulinspiegels und teils auch zu einem Abfall der Glucosekonzentration im Plasma. In vitro wurde die Freisetzung von Insulin in Untersuchungen mit Inselzellen des Pankreas von Ratten gezeigt. Auch in Rattenhepatozyten wurde ein Anstieg der Gluconeogenese nach Inkubation mit Bernsteinsäuredimethylester beobachtet (siehe Begründung „Dicarbonsäure(C4–C6)-dimethylester“ 2007).

3 Toxikokinetik und Metabolismus

3.1 Aufnahme, Verteilung, Ausscheidung

Es liegen keine speziellen Untersuchungen vor.

Die unter Abschnitt 5.2.2 beschriebenen Untersuchungen an Ratten zeigen, dass eine orale Aufnahme der Bernsteinsäure stattfindet.

Ausgehend von einer gesättigten wässrigen Bernsteinsäure-Lösung ergeben sich mit den Modellen von Guy und Potts (1993), Wilschut et al. (1995) bzw. Fiserova-Bergerova et al. (1990) dermale Fluxe von 0,011; 0,021 bzw. 0,065 mg/cm² und Stunde. Das entspricht bei einer einstündigen Exposition von beiden Händen und Unterarmen (ca. 2000 cm²) einer Gesamtaufnahme von 21,9; 41,5 bzw. 129 mg Bernsteinsäure.

3.2 Metabolismus

Einfache aliphatische Dicarbonsäuren (Bernstein- und Fumarsäure) werden über die Fettsäure- β -Oxidation oder den Tricarbonsäurezyklus (Citratzyklus) metabolisiert (EFSA 2012 a). Bernsteinsäure wird im Citratzyklus zu Fumarsäure metabolisiert. Als einer der Intermediärmetabolite des Zitronensäurezyklus führt Bernsteinsäure zu einer Synthese von Glucose und anderen Zuckern sowie von Fettsäuren (ECHA 2014).

4 Erfahrungen beim Menschen

Hierzu liegen keine Angaben vor.

5 Tierexperimentelle Befunde und In-vitro-Untersuchungen

5.1 Akute Toxizität

5.1.1 Inhalative Aufnahme

Hierzu liegen keine Untersuchungen vor.

5.1.2 Orale Aufnahme

Drei bis fünf Ratten (k. w. A) pro Dosisgruppe erhielten mit der Schlundsonde 400, 800, 1600 oder 3200 mg Bernsteinsäure/kg KG und wurden 14 Tage lang nachbeobachtet. Die LD₅₀ betrug 2260 mg/kg KG (US EPA 2008).

Jeweils vier männliche bzw. weibliche F344-Ratten erhielten 500, 1000, 2000, 4000 oder 8000 mg/kg KG und wurden zehn Tage lang nachbeobachtet. Außer Blutfülle

in den Lungen bei höheren Dosierungen (k. A.) traten keine eindeutigen Zeichen von Toxizität auf. Die LD₅₀ war größer als 8000 mg/kg KG (US EPA 2008; ECHA 2014).

Eine Untersuchung mit einem Salz der Bernsteinsäure (Dinatriumsuccinat Hexahydrat, CAS-Nr. 6106-21-4) an männlichen und weiblichen F344-Ratten ergab eine LD₅₀ von über 8000 mg/kg KG (entsprechend über 3400 mg Bernsteinsäure/kg KG). In der zehntägigen Nachbeobachtungszeit wurden keine behandlungsbedingten Effekte beobachtet (Maekawa et al. 1990).

5.1.3 Dermale Aufnahme

Hierzu liegen keine Angaben vor.

5.2 Subakute, subchronische und chronische Toxizität

5.2.1 Inhalative Aufnahme

Hierzu liegen keine Untersuchungen mit Bernsteinsäure vor.

5.2.2 Orale Aufnahme

In einer 13-wöchigen Trinkwasserstudie aus den 1990er Jahren, die nach OECD-Prüfrichtlinie 408 an männlichen und weiblichen F344-Ratten durchgeführt wurde, wurde ein Salz der Bernsteinsäure (Natriumhydrogensuccinat, CAS-Nr 2922-54-5) als Testsubstanz eingesetzt. Die Konzentrationen im Trinkwasser betragen 0; 0,3; 0,6; 1,25; 2,5; 5 oder 10% (ca. 270; 540; 1125; 2250; 4500; 9000 mg/kg KG und Tag, Umrechnungsfaktor 0,09 (subchronisch) nach EFSA 2012 b). Pro Gruppe wurden jeweils zehn männliche und zehn weibliche Tiere eingesetzt. Der NOAEL der Studie betrug 1125 mg Natriumhydrogensuccinat/kg KG und Tag, ab 2250 mg/kg KG und Tag wurde eine verminderte Körpergewichtszunahme beobachtet. Eine Dosis von 9000 mg/kg KG und Tag war in den ersten vier Wochen der Studie letal für alle Tiere, die starke Abmagerung aufwiesen und weniger Trinkwasser aufnahmen als die Kontrolltiere. Substanzbedingte histopathologische Befunde oder Effekte auf hämatologische oder klinisch-chemische Parameter traten nicht auf (ECHA 2014, US EPA 2008). Studiendetails fehlen. Es liegen keine Daten vor, ob eine Urinanalyse durchgeführt wurde. Umgerechnet auf Bernsteinsäure betrug der NOAEL ca. 950 mg/kg KG und Tag.

In einer nach OECD-Prüfrichtlinie 422 durchgeführten kombinierten Studie zur Toxizität nach wiederholter Gabe und zur Reproduktionstoxizität wurde Dinatriumsuccinat-Hexahydrat mit der Schlundsonde in Dosierungen von 0, 100, 300 oder 1000 mg/kg KG und Tag an Sprague-Dawley-Ratten verabreicht. Die männlichen Tiere erhielten die Substanz 52 Tage lang, beginnend 14 Tage vor der Verpaarung. Die weiblichen Tiere waren ebenfalls ab 14 Tage vor der Verpaarung und bis zum 4. Laktationstag exponiert. Bei den weiblichen Tieren der hohen Dosisgruppe waren die Blut-Harnstoff-Stickstoff-Werte erhöht. Bei den männlichen Tieren war die Anzahl der Tiere mit erhöhtem Urin-Proteinwert ab 300 mg/kg KG erhöht, was auf eine toxische Wirkung auf die Nieren hinweist. Histopathologische

80 MAK Value Documentations

Veränderungen traten nicht auf. Der NOAEL der Untersuchung betrug 100 mg/kg KG und Tag für die männlichen und 300 mg/kg KG und Tag für die weiblichen Tiere (OECD 2003). Diese Dinatriumsuccinat-Hexahydrat-Dosierungen entsprechen etwa 45 bzw. 130 mg Bernsteinsäure/kg KG und Tag. Der im Vergleich zur 13-wöchigen Trinkwasserstudie wesentlich niedrigere NOAEL ist eventuell auf die Bolusgabe zurückzuführen.

5.2.3 Dermale Aufnahme

Hierzu liegen keine Angaben vor.

5.3 Wirkung auf Haut und Schleimhäute

5.3.1 Haut

In einer Studie nach OECD-Prüfrichtlinie 404 mit vierstündiger semiokklusiver Applikation von 0,5 g angeteigter Bernsteinsäure bei drei Neuseeländer-Kaninchen wurde die Haut der Tiere eine Stunde, 24, 48 und 72 Stunden nach Entfernung der Testsubstanz befundet. Der Reizwert betrug 0 von maximal 4. Es wurden weder Erytheme noch Ödeme beobachtet und die Substanz wurde als nicht reizend bewertet (ECHA 2014).

Bernsteinsäure ist leicht hautreizend (k. w. A.; US EPA 2008).

5.3.2 Auge

In einer Studie nach OECD-Prüfrichtlinie 405 wurde einem Neuseeländer-Kaninchen 0,1 ml (ca. 100 mg) Bernsteinsäure in den Bindehautsack eines Auges appliziert und nach 24 Stunden ausgewaschen. Die Befundung fand eine Stunde, 24, 48 und 72 Stunden nach Instillation der Testsubstanz sowie nach 6, 8, 10, 13, 15 und 21 Tagen statt. Für die Trübung der Cornea betrug der Reizwert nach 24 und 72 Stunden sowie am 21. Tag 4 von maximal 4. Für die Iris war der Reizwert nach 24 und 72 Stunden 2 von maximal 4. Die Befunde konnten nach 21 Tagen aufgrund der Trübungen der Cornea nicht abgelesen werden. Für die Rötung der Konjunktiven betrug der Reizwert nach 24 und 72 Stunden sowie am 21. Tag 3 von maximal 3. Die Schwellung der Konjunktiven hatte einen Reizwert von 3,7 von maximal 4 nach 24 und 72 Stunden und war bis zum 15. Tag reversibel. Zusammengefasst verursachte Bernsteinsäure am Kaninchenauge eine starke, nicht reversible Schädigung (ECHA 2014).

Bernsteinsäure war stark reizend am Kaninchenauge und verursachte Schäden an der Cornea sowie starke Nekrosen (k. w. A.; US EPA 2008).

5.4 Allergene Wirkung

5.4.1 Hautsensibilisierende Wirkung

Ein Maximierungstest mit Bernsteinsäure-Zubereitungen in Baumwollsamensamenöl führte bei weiblichen Dunkin-Hartley-Meerschweinchen zu einem negativen Ergebnis.

Für die intradermale und die topische Induktionsbehandlung wurden eine 0,5%ige bzw. eine 25%ige Zubereitung verwendet. Bei der Auslösebehandlung mit einer 10%igen Zubereitung zeigte jeweils eines der zehn Tiere nach 24 Stunden sowie nach 72 Stunden eine Reaktion, aber keines der Tiere nach 48 Stunden. Eine wiederholte Auslösebehandlung führte bei keinem der zehn Tiere zu einer Reaktion (ECHA 2015).

Bernsteinsäure erwies sich bis zu einer Konzentration von 25% auch in einem validen Local Lymph Node Assay mit weiblichen CBA-Mäusen als nicht sensibilisierend. Die Applikation von 5%, 10% oder 25% Bernsteinsäure führte in diesem Versuch zu einem Stimulationsindex von 1,2; 1,2 bzw. 1,3. Somit wurde mit keiner der Testkonzentrationen eine Verdreifachung der Lymphozytenstimulation erreicht. Der Index für das Lymphknotengewicht betrug für alle Testkonzentrationen etwa 1,1 (ECHA 2015).

Auch ein Gemisch mit 18,6% Bernsteinsäure, 23,8% Adipinsäure und 50,9% Glutarinsäure führte in einem Maximierungstest bei weiblichen Hartley-Meerschweinchen zu einem negativen Ergebnis. Die intradermale und die topische Induktionsbehandlung erfolgten mit einer 0,1%igen bzw. einer 10%igen Zubereitung des Gemisches in physiologischer Kochsalzlösung und die Auslösebehandlung mit einer 5%igen Zubereitung im gleichen Vehikel. Bei der Ablesung nach 24 und 48 Stunden zeigte jeweils eines der zehn Tiere eine diskrete erythematöse Reaktion (ECHA 2015).

5.4.2 Atemwegssensibilisierende Wirkung

Hierzu liegen keine Angaben vor.

5.5 Reproduktionstoxizität

5.5.1 Fertilität

In einer Studie aus den 1940er Jahren wurden die östrogenen Eigenschaften der Bernsteinsäure und ihre Wirkung auf die Reproduktionsorgane an zwei Monate alten ovariectomierten Ratten (k. A. zum Stamm) untersucht, denen drei Wochen lang täglich subkutan 5 mg Bernsteinsäure in Sesamöl (etwa 31 mg Bernsteinsäure/kg KG und Tag) injiziert wurde. Bei den fünf Tieren wurden täglich vaginalabstriche genommen und am Ende des dreiwöchigen Versuchs Uterushorn, Gebärmutterhals und Vagina histopathologisch untersucht. Im Vergleich zu nicht behandelten Kontrolltieren zeigten sich keine Veränderungen (ECHA 2014).

In einer nach OECD-Prüfrichtlinie 422 durchgeführten kombinierten Studie zur Toxizität nach wiederholter Gabe und Reproduktionstoxizität wurde Dinatriumsuccinat-Hexahydrat mit der Schlundsonde in Dosierungen von 0, 100, 300 oder 1000 mg/kg KG und Tag an Sprague-Dawley-Ratten verabreicht (siehe auch Abschnitt 5.2.2). Die männlichen Tiere erhielten die Substanz 52 Tage lang, beginnend 14 Tage vor der Verpaarung. Die weiblichen Tiere wurden ebenfalls ab 14 Tage vor der Verpaarung und bis zum 4. Laktationstag exponiert. Substanzbedingte Effekte auf den Östruszyklus, Verpaarungsindex, Fertilitätsindex, Trächtigkeitsdauer, Anzahl der Gelbkörper und Implantationen wurden nicht beobachtet. Bei den

82 MAK Value Documentations

Nachkommen waren die Anzahl und das Geschlechterverhältnis pro Wurf nicht durch die Exposition verändert. Der NOAEL für Fertilität beträgt somit 1000 mg/kg KG und Tag (OECD 2003), was etwa 440 mg Bernsteinsäure/kg KG und Tag entspricht.

5.5.2 Entwicklungstoxizität

In der nach OECD-Prüfrichtlinie 422 durchgeführten kombinierten Studie zur Toxizität nach wiederholter Gabe und Reproduktionstoxizität mit Dinatriumsuccinat-Hexahydrat an Sprague-Dawley-Ratten (siehe Abschnitt 5.5.1) waren bei den Nachkommen die Überlebenszeit bis zum 4. Laktationstag und das Körpergewicht nicht durch die Exposition beeinträchtigt. Bei einem Nachkommen der mittleren Dosisgruppe trat Anophthalmus und Polydaktylie auf. Für diese Befunde lag keine Dosisabhängigkeit vor. Zudem treten sie auch vereinzelt in historischen Kontrollen auf und werden daher als zufällig und nicht substanzbedingt gewertet. Der NOAEL für Fetotoxizität beträgt somit 1000 mg/kg KG und Tag (OECD 2003), was etwa 440 mg Bernsteinsäure/kg KG und Tag entspricht.

Untersuchungen zur Teratogenität liegen nicht vor.

5.6 Genotoxizität

5.6.1 In vitro

In einer Publikation von 1984 wird ein Mutagenitätstest an *Salmonella typhimurium* TA98, TA100, TA1535 und TA1537 mit und ohne Zusatz eines metabolischen Aktivierungssystems durch Rattenleber-S9-Mix in Konzentrationen von 5000 µg Bernsteinsäure/Platte beschrieben. Der Versuch wurde mit 20-minütiger Präinkubation durchgeführt. Bernsteinsäure erwies sich in diesem Versuch als nicht mutagen (ECHA 2014; US EPA 2008).

In einer Studie aus dem Jahr 1975 wurde Bernsteinsäure an *Salmonella typhimurium* TA1535, TA1537 und TA1538 in Konzentrationen von 0; 0,00035; 0,0007 oder 0,0014% und an *Saccharomyces cerevisiae* D4 in den Konzentrationen von 0; 0,00025; 0,0005 oder 0,001% getestet. Die Versuchsansätze waren jeweils mit und ohne Zusatz eines metabolischen Aktivierungssystems (S9-Mix von Maus, Ratte oder Makaken) und die Konzentrationen der Testsubstanz wurden vorab durch Ermittlung der Löslichkeit und Toxizitätsgrenze festgelegt. Positivkontrollen wurden mitgeführt. Im Versuch war keine der ausgewählten Testkonzentrationen zytotoxisch. Beim *Salmonella*-typhimurium-Stamm TA1535 unter Zusatz des Rattenleber-S9-Mix war eine etwa zweifache Erhöhung der Revertanzahl im Vergleich zur Kontrolle zu beobachten. Der Test wurde insgesamt als negativ gewertet (ECHA 2014).

Auch ein Mutagenitätstest an *Salmonella typhimurium* TA98, TA100, TA1535, TA1537 und *Escherichia coli* WP2 uvrA mit dem Bernsteinsäure-Salz Dinatriumsuccinat-Hexahydrat verlief negativ. In dieser Untersuchung, die nach OECD-Prüfrichtlinie 471 durchgeführt wurde, wurden Konzentrationen von bis zu 5000 µg/

Platte mit und ohne Zusatz eines metabolischen Aktivierungssystems getestet (OECD 2003).

Eine Untersuchung aus den 1980er Jahren auf Chromosomenaberrationen an CHL-Zellen (Fibroblasten des Chinesischen Hamsters) verlief mit Bernsteinsäure-Konzentrationen von bis zu 0,001 mg/ml negativ. Die Zellen wurden 24 und 48 Stunden ohne metabolische Aktivierung inkubiert und 100 Metaphasen analysiert. Daten zur Zytotoxizität fehlen (ECHA 2014; US EPA 2008).

Ebenso negativ war ein Chromosomenaberrationstest nach OECD-Prüfrichtlinie 473 mit Dinatriumsuccinat-Hexahydrat in Konzentrationen von bis zu 5000 µg/ml mit und ohne Zusatz eines metabolischen Aktivierungssystems. Es wurden weder strukturelle Aberrationen noch Polyploidien in CHL/IU-Zellen des Chinesischen Hamsters induziert (OECD 2003).

5.6.2 In vivo

Hierzu liegen keine Angaben vor.

5.7 Kanzerogenität

Entsprechend einem Bericht aus dem Jahr 1990 erhielten in einer 2-Jahre-Kanzerogenitätsstudie jeweils 50 männliche und 50 weibliche F344-Ratten pro Dosisgruppe Natriumhydrogensuccinat in einer Konzentration von 0, 1 oder 2% mit dem Trinkwasser. Nach 104 Wochen erhielten die Tiere für weitere neun Wochen Trinkwasser ohne Testsubstanz und wurden nach 113 Wochen untersucht. Die Aufnahme der Testsubstanz betrug bei 1 und 2% im Trinkwasser 196 bzw. 437 mg/Ratte und Tag für die männlichen Tiere und 146 bzw. 309 mg/Ratte und Tag für die weiblichen Tiere. Aus den Konzentrationen im Trinkwasser lassen sich Dosen von ca. 500 bzw. 1000 mg/kg KG und Tag abschätzen (Umrechnungsfaktor 0,05 nach EFSA 2012 b). Untersucht wurde das Körpergewicht der Tiere, die Futter- und Wasseraufnahme während der Studie, und es fand eine histopathologische Untersuchung der Organe aller Tiere statt. Daten zur Hämatologie oder klinischen Chemie liegen nicht vor. Behandlungs- und dosisabhängig zeigte sich eine um 10% verminderte Körpergewichtszunahme. Bei beiden Geschlechtern war im Vergleich zu den Kontrolltieren kein statistisch signifikanter Unterschied der Überlebenszeit der exponierten Tiere zu beobachten. Eine spezifische Toxizität durch Natriumhydrogensuccinat wurde nicht gefunden. Die Inzidenz der C-Zell-Adenome (siehe Tabelle 1) der Schilddrüse war bei den weiblichen Tieren der hohen Dosisgruppe, verglichen mit derjenigen der Kontrolltiere erhöht und nicht signifikant im Chi-Quadrat-Test, aber mit einem Alters-adjustierten Peto-Test wurde ein positiver Trend ermittelt. C-Zell-Karzinome wurden nicht induziert (Maekawa et al. 1990). C-Zell-Adenome zählen zu den häufigeren spontanen Tumoren bei männlichen F344-Ratten (durchschnittlich 13%, im Zeitraum von 1990-1997) (Haseman et al. 1998). Es zeigten sich keine signifikanten Unterschiede bei präneoplastischen Veränderungen der Schilddrüse zwischen den exponierten und den nicht-exponierten weiblichen Tieren (C-Zell-Hyperplasien bei 10, 6 und 10 Tieren bei 0, 1 bzw. 2% im Trinkwasser). Zudem war die Inzidenz der C-Zell-Tumoren in der Kontrollgruppe niedriger als in historischen Kontrollen

84 MAK Value Documentations

Tab. 1. Inzidenz der C-Zell-Adenome in der Schilddrüse von F344-Ratten nach 2-jähriger Gabe von Natriumhydrogensuccinat (Maekawa et al. 1990)

| | männliche Tiere | | | weibliche Tiere | | |
|---|-----------------|----|----|-----------------|----|----|
| Konzentration (%) im Trinkwasser | 0 | 1 | 2 | 0 | 1 | 2 |
| Anzahl der Tiere | 50 | 48 | 50 | 49 | 48 | 49 |
| Tiere mit C-Zell-Adenomen der Schilddrüse | 12 | 11 | 6 | 2 | 4 | 7 |

des Labors (7 bis 19%). Daher wurde geschlossen, dass der Anstieg der Tumorzinzenz in der hohen Dosisgruppe und der positive Trend vermutlich ein Resultat der experimentellen Variabilität ist und nicht substanzbedingt verursacht wurde (Maekawa et al. 1990).

6 Bewertung

Kritischer Effekt ist die lokal reizende Wirkung am Auge.

MAK-Wert. Es liegen keine Untersuchungen zur Wirkung nach inhalativer Aufnahme der Bernsteinsäure vor. Systemisch führt Bernsteinsäure, verabreicht als Mononatriumsalz mit dem Trinkwasser, ab etwa 1900 mg/kg KG und Tag zu verminderter Körpergewichtszunahme, der NOAEL beträgt 950 mg/kg KG und Tag. In einer nach OECD-Prüfrichtlinie 422 durchgeführten kombinierten Studie zur Toxizität nach wiederholter Gabe und Reproduktionstoxizität mit Dinatriumsuccinat-Hexahydrat und Schlundsondengabe weisen erhöhte Blut-Harnstoff-Stickstoff-Werte bei weiblichen Tieren (NOAEL 130 mg Bernsteinsäure/kg KG und Tag) und ein Anstieg der Urin-Proteinwerte bei männlichen Tieren (NOAEL 45 mg Bernsteinsäure/kg KG und Tag) auf eine nierentoxische Wirkung hin. Der im Vergleich zur 13-wöchigen Trinkwasserstudie wesentlich niedrigere NOAEL ist vermutlich auf die Bolusgabe zurückzuführen.

Zur toxikokinetischen Übertragung des NOAEL von 950 mg Bernsteinsäure/kg KG und Tag in eine Konzentration in der Luft am Arbeitsplatz werden berücksichtigt: die tägliche Exposition der Tiere im Vergleich zur fünftägigen Exposition pro Woche am Arbeitsplatz (7:5), der dem toxikokinetischen Unterschied zwischen der Ratte und dem Menschen entsprechende speziesspezifische Korrekturwert (1:4), die angenommene orale Resorption (100%), das Körpergewicht (70 kg) und das Atemvolumen (10 m³) des Menschen sowie die angenommene 100%ige inhalative Resorption. Damit errechnet sich eine entsprechende Konzentration von über 2000 mg Bernsteinsäure/m³. Diese Konzentration ist in Anbetracht der ätzenden Wirkung am Auge und im Vergleich zu Grenzwerten anderer starker Säuren für einen Arbeitsplatz-Grenzwert zu hoch.

Für Bernsteinsäure kann in Analogie zur Phosphorsäure ein MAK-Wert aufgestellt werden, so wie auch für Weinsäure (Begründung „Weinsäure“ 2015) und Adipinsäure (Begründung „Adipinsäure“ 2016) verfahren wurde. Zur Bewertung der lokalen Wirkung am Atemtrakt wird auf Daten ähnlicher Säuren zurückgegriffen. Die

Bernsteinsäure ähnelt bezüglich des pKa-Wertes und der Struktur der Weinsäure, die wie die Bernsteinsäure ein Feststoff ist. Der MAK-Wert für die Weinsäure ist in Analogie zur Phosphorsäure mit $2 \text{ mg/m}^3 \text{ E}$ abgeleitet worden (Begründung „Weinsäure“ 2015). Die Phosphorsäure hat einen MAK-Wert von $2 \text{ mg/m}^3 \text{ E}$, abgeleitet aus einer NOAEC von $37,5 \text{ mg Phosphorsäure/m}^3$ aus einer 13-Wochen-Inhalationsstudie an Ratten (Begründung „Phosphorsäure“ 2006).

Die Bernsteinsäure ist im Vergleich zur Weinsäure eine etwas schwächere Säure mit pKa-Werten von 4,207 und 5,635 für Bernsteinsäure im Vergleich zu 2,98 und 4,34 für die Weinsäure (Begründung „Weinsäure“ 2015). Der pKa-Wert der Phosphorsäure beträgt 2,2 (sauerstes Proton) (Begründung „Phosphorsäure“ 2006).

Daher wird ebenfalls in Analogie zur Phosphorsäure (MAK-Wert $2 \text{ mg Phosphorsäure/m}^3 = 0,02 \text{ mmol/m}^3 = 2,36 \text{ mg Bernsteinsäure/m}^3$) bis zum Vorliegen geeigneter Daten ein MAK-Wert von $2 \text{ mg/m}^3 \text{ E}$ festgelegt, welcher für die Bernsteinsäure aufgrund der schwächeren Azidität eher als „Worst Case“ anzusehen ist.

Eine systemische Wirkung der Bernsteinsäure ist erst bei Konzentrationen weit oberhalb des MAK-Wertes zu erwarten (siehe oben).

Spitzenbegrenzung. Wegen der kritischen lokalen Wirkung wird der Stoff der Kurzzeitwert-Kategorie I zugeordnet. Aufgrund der Analogie zu Phosphorsäure erfolgt die Spitzenbegrenzung wie bei dieser mit einem Überschreitungsfaktor von 2.

Fruchtschädigende Wirkung. In einer Screeningstudie nach OECD-Prüfrichtlinie 422 mit Dinatriumsuccinat-Hexahydrat an Sprague-Dawley-Ratten (siehe Abschnitt 5.5.1) trat bei einem Nachkommen der mittleren Dosisgruppe Anophthalmus und Polydaktylie auf. Da dieser Befund vereinzelt auch in historischen Kontrollen auftritt, wurde er als zufällig und nicht substanzbedingt gewertet. Der NOAEL für Fetotoxizität beträgt somit 1000 mg/kg KG und Tag (OECD 2003), was etwa $440 \text{ mg Bernsteinsäure/kg KG}$ und Tag entspricht. Untersuchungen zur Teratogenität liegen nicht vor, dies würde eine Zuordnung zur Schwangerschaftsgruppe D bedeuten. Allerdings ist Bernsteinsäure eine endogen vorkommende Substanz.

Zur toxikokinetischen Übertragung des NOAEL für Fetotoxizität von 440 mg/kg KG und Tag in eine Konzentration in der Luft am Arbeitsplatz werden berücksichtigt: der dem toxikokinetischen Unterschied zwischen der Ratte und dem Menschen entsprechende speziesspezifische Korrekturwert (1:4), die angenommene orale Resorption (100%), das Körpergewicht (70 kg) und das Atemvolumen (10 m^3) des Menschen sowie die angenommene 100%ige inhalative Resorption. Damit errechnet sich eine entsprechende Konzentration von $770 \text{ mg Bernsteinsäure/m}^3$, die einen 385-fachen Abstand zum MAK-Wert von $2 \text{ mg/m}^3 \text{ E}$ hat.

Bei Exposition in Höhe des MAK-Werts würden $20 \text{ mg Bernsteinsäure/Tag}$ aufgenommen werden. Da Bernsteinsäure pro Tag in großen Mengen im Citratzyklus des Körpers gebildet wird (geschätzt ca. 100 bis 2000 g/Tag ; Rechenberger und Benndorf 1957), ist erst bei sehr viel höheren Expositionen als dem MAK-Wert von 2 mg/m^3 mit einer Erhöhung der endogenen Belastung zu rechnen. Solange die endogene Belastung nicht gestört wird, ist auch keine teratogene Wirkung zu erwarten. Zudem liegen der NOAEL für Nierentoxizität ($45 \text{ mg Bernsteinsäure/kg KG}$ und Tag) und der NOAEL für Fetotoxizität (siehe oben) weit oberhalb des MAK-Wertes. Deswegen wird Bernsteinsäure der Schwangerschaftsgruppe C zugeordnet.

Krebs erzeugende Wirkung. Die vorliegenden Untersuchungen zur Genotoxizität *in vitro* geben keinen Hinweis auf ein genotoxisches Potenzial. *In-vivo*-Studien zur Genotoxizität liegen nicht vor. In einer 2-Jahre-Kanzerogenitätsstudie an F344-Ratten war bei Trinkwasser-Gabe von etwa 1000 mg/kg KG und Tag das Körpergewicht um 10% reduziert und die Inzidenz der C-Zell-Adenome erhöht. Der positive Trendtest dieses Ergebnisses resultiert vermutlich aus der eher niedrigen Kontrollinzidenz der C-Zell-Adenome, die bei diesem Rattenstamm altersbedingt spontan auftreten. Da bei weiblichen F344-Ratten sich der Anstieg der Inzidenz von C-Zell-Adenomen innerhalb der historischen Kontrolle bewegte, und da die Bernsteinsäure keine C-Cell-Karzinome induzierte, erfolgt keine Zuordnung zu einer Kategorie für Kanzerogene.

Keimzellmutagene Wirkung. Mutagenitätstests an *Salmonella typhimurium* mit und ohne Zusatz eines metabolischen Aktivierungssystems sind ebenso wie ein Chromosomenaberrationstest an CHL-Zellen negativ verlaufen. Untersuchungen zur genotoxischen Wirkung von Bernsteinsäure *in vivo* liegen nicht vor. Es erfolgt daher keine Zuordnung zu einer Kategorie für Keimzellmutagene.

Hautresorption. Zur dermalen Penetration von Bernsteinsäure liegen keine Daten vor. Basierend auf Modellberechnungen würde bei einstündiger Exposition beider Hände und Unterarme eine maximale Penetrationsmenge von 129 mg resultieren. Basis für die Abschätzung eines systemischen NOAEL für den Menschen ist der systemische NOAEL in einer 90-Tage-Trinkwasserstudie an Ratten mit 950 mg/kg KG und Tag (s. oben). Zur toxikokinetischen Übertragung dieses NOAEL auf den Menschen werden berücksichtigt: die tägliche Exposition der Tiere im Vergleich zur fünf-tägigen Exposition pro Woche am Arbeitsplatz (7:5), der dem toxikokinetischen Unterschied zwischen der Ratte und dem Menschen entsprechende speziesspezifische Korrekturwert (1:4), die mögliche Wirkungsverstärkung bei chronischer Exposition (1:2), die Übertragung vom Tier auf den Menschen (1:2) und das Körpergewicht des Menschen (70 kg). Daraus errechnet sich eine systemisch tolerable Dosis von 5819 mg. Damit liegt die Aufnahme über die Haut bei weniger als 25% der systemisch tolerablen Menge. Deshalb wird Bernsteinsäure nicht mit H markiert.

Sensibilisierende Wirkung. Es liegen keine klinischen Befunde zur sensibilisierenden Wirkung von Bernsteinsäure und keine experimentellen Untersuchungen am Tier zur atemwegssensibilisierenden Wirkung vor. Nach gültigen Prüfrichtlinien durchgeführte Untersuchungen lieferten keine Hinweise auf eine kontaktsensibilisierende Wirkung bei Meerschweinchen und Mäusen. Es erfolgt daher weder eine Markierung mit „Sh“ noch mit „Sa“.

7 Literatur

BMJV (Bundesministerium der Justiz und für Verbraucherschutz) (2012) Verordnung über die Zulassung von Zusatzstoffen zu Lebensmitteln zu technologischen Zwecken (Zusatzstoff-Zulassungsverordnung), Ausfertigungsdatum: 29.01.1998, geändert zuletzt durch Art. 3 V v. 21.5.2012, http://www.gesetze-im-internet.de/bundesrecht/zzulv_1998/gesamt.pdf

- Cornils B, Lappe P (2014) Dicarboxylic acids, aliphatics. In: Ullmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry, Wiley-VCH, Weinheim, DOI: 10.1002/14356007.a08_523.pub3
- Cukolovic A, Stevens CV (2008) Feasibility of production methods for succinic acid: a marriage of renewable resources and chemical technology. *Biofuels, Bioprod Biorefining* 2: 505–529
- ECHA (2014) Information on Registered Substances. Dataset on succinic acid (CAS Number 110-15-6), joint submission, first publication 17.01.2012, last modification 12.06.2014, <http://echa.europa.eu/web/guest/information-on-chemicals>
- ECHA (2015) Information on Registered Substances. Dataset on Carboxylic acids, di-, C4-6 (CAS Number 68603-87-2), joint submission, first publication 01.04.2011, last modification 08.06.2015, <http://echa.europa.eu/web/guest/information-on-chemicals>
- EFSA (European Food Safety Authority) (2012 a) Scientific Opinion on the safety and efficacy of primary aliphatic saturated or unsaturated alcohols/aldehydes/acids/acetal/esters with a second primary, secondary or tertiary oxygenated functional group including aliphatic lactones (chemical group 9) when used as flavourings for all animal species. Panel on Additives and Products or Substances used in Animal Feed (FEEDAP), EFSA Journal 10: 2928, <http://www.efsa.europa.eu/de/efsajournal/doc/2928.pdf>
- EFSA (2012 b) Scientific opinion: Guidance on selected default values to be used by the EFSA scientific Committee, scientific panels and units in the absence of actual measured data. EFSA J 10: 2579, <http://www.efsa.europa.eu/de/efsajournal/doc/2579.pdf>
- Fiserova-Bergerova V, Pierce JT, Droz PO (1990) Dermal absorption potential of industrial chemicals: criteria for skin notation. *Am J Ind Med* 17: 617–635
- Guy RH, Potts RO (1993) Penetration of industrial chemicals across the skin: a predictive model. *Am J Ind Med* 23: 711–719
- Haseman JK, Hailey JR, Morris RW (1998) Spontaneous neoplasm incidences in Fischer 344 rats and B6C3F1 mice in two-year carcinogenicity studies: a National Toxicology Program update. *Toxicol Pathol* 26: 428–441
- Maekawa A, Todate A, Onodera H, Matsushima Y, Nagaoka T, Shibutani M, Ogasawara H, Kodama Y, Hayashi Y (1990) Lack of toxicity/carcinogenicity of monosodium succinate in F344 rats. *Food Chem Toxicol* 28: 235–241
- OECD (Organisation of Economic Co-operation and Development) (2003) Disodium succinate, CAS Nr. 150-90-3, OECD SIDS Initial Assessment Report, UNEP (United Nations Environment Programme), Genf, www.inchem.org/documents/sids/sids/150903.pdf
- O'Neil MJ (2001) The Merck Index - an encyclopedia of chemicals, drugs, and biological, 13th edition, Merck and Co., Inc., Whitehouse Station, NJ, 1580
- Rechenberger J, Benndorf S (1957) Über den Citronensäure Spiegel des Blutes. I. Methodik, Normalwerte, sowie das Verhalten beim Diabetes mellitus. *Z Klin Med* 154: 648–659
- Sahm H, Antranikian G, Stahmann K-P, Takors R (2013) Industrielle Mikrobiologie, Springer Spektrum, Berlin Heidelberg, 1–295
- SRC (Syracuse Research Corporation) (2013) Succinic Acid (110-15-6), PhysProp database, <http://esc.syrres.com/fatepointer/webprop.asp?CAS=110156>
- US EPA (US Environmental Protection Agency) (2008) Supporting documents for risk-based prioritization, supporting documents for initial risk-based prioritization of high production volume, chemical/category: dicarboxylic acids category, 3/18/2008. US EPA, Washington, DC, USA
- Werpy T, Frye J, Holladay J (2006) Succinic Acid – A Model Building Block for Chemical Production from Renewable Resources. In: Kamm B, Gruber PR, Kamm M (Hrsg): Biorefineries – Industrial Processes and Products, Status Quo and Future Directions, Bd 2, Wiley-VCH Verlag, Weinheim, 367–379
- Wilschut A, ten Berge WF, Robinson PJ, McKone TE (1995) Estimating skin permeation. The validation of five mathematical skin permeation models. *Chemosphere* 30: 1275–1296

abgeschlossen am 24.02.2016