

# Diacetyl

<b>MAK-Wert (2014)</b>	<b>0,02 ml/m<sup>3</sup> ≙ 0,07 mg/m<sup>3</sup></b>
<b>Spitzenbegrenzung (2014)</b>	<b>Kategorie II, Überschreitungsfaktor 1</b>
<b>Hautresorption (2014)</b>	<b>H</b>
<b>Sensibilisierende Wirkung (2014)</b>	<b>Sh</b>
<b>Krebserzeugende Wirkung (2014)</b>	<b>Kategorie 3B</b>
<b>Fruchtschädigende Wirkung (2014)</b>	<b>Gruppe C</b>
<b>Keimzellmutagene Wirkung</b>	<b>–</b>
<b>BAT-Wert</b>	<b>–</b>
Synonyma	2,3-Butandion 2,3-Diketobutan Dimethylglyoxal 2,3-Dioxobutan
Chemische Bezeichnung	Butan-2,3-dion
CAS-Nr.	431-03-8
Formel	CH <sub>3</sub> -CO-CO-CH <sub>3</sub> C <sub>4</sub> H <sub>6</sub> O <sub>2</sub>
Molmasse	86,09 g/mol
Schmelzpunkt	–2,4°C (European Commission 2013)
Siedepunkt bei 1011 hPa	88°C (European Commission 2013)
Dichte bei 20°C	0,99 g/cm <sup>3</sup> (European Commission 2013)
Dampfdruck bei 25°C	7,6 hPa (European Commission 2013)
log K <sub>OW</sub>	–1,34 (SRC 2014)
Löslichkeit	200 g/l Wasser (European Commission 2013)
<b>1 ml/m<sup>3</sup> (ppm) ≙ 3,52 mg/m<sup>3</sup></b>	<b>1 mg/m<sup>3</sup> ≙ 0,279 ml/m<sup>3</sup> (ppm)</b>


**D**

Diacetyl ist als natürlicher Geschmacksstoff in vielen Lebensmitteln enthalten. Da Diacetyl Lebensmitteln einen butterartigen Geschmack verleiht, wird synthetisches Diacetyl als künstlicher Geschmacksstoff in einer breiten Palette an Lebensmitteln einge-

## 2 Diacetyl

setzt. Dazu gehören Tiefkühl- und Fertiggerichte (z. B. Mikrowellen-Popcorn) sowie Margarine, Schmelzkäse, Backmischungen, Salatsaucen, Kuchenglasuren und weitere industriell verarbeitete Lebensmittel und Getränke (ACGIH 2012; European Commission 2013; IUF 2007; NTP 2007). In der Lebensmittelindustrie wird Diacetyl in flüssiger Form verwendet. Auch in Deutschland wird Diacetyl bei der Margarineproduktion eingesetzt.

Diacetyl gehört zu den flüchtigen organischen Substanzen, die bei dem Vorgang des Aromatisierens von Lebensmitteln mit Buttergeschmacksstoffen freigesetzt werden können (NTP 2007).

Zigarettenrauch enthält 250 bis 361 ml Diacetyl/m<sup>3</sup> im Hauptstromrauch mit einer mittleren kumulativen Exposition eines Packungsjahres von 1,1 bis 1,9 ml/m<sup>3</sup> × Jahr (Pierce et al. 2014). Diacetyl wurde in Feinstaubpartikeln (PM 2,5) aus Verbrennungsmotoren nachgewiesen (European Commission 2013).

Die vorliegende Begründung basiert auf der Zusammenstellung toxikologischer Daten der European Commission (2013).

## 1 Allgemeiner Wirkungscharakter

Diacetyl wirkt beim Menschen reizend an Augen, Haut, Nase und Rachen.

Nach Inhalation von Diacetyl ist das Zielorgan beim Menschen die Lunge. Die forcierte Einsekundenkapazität (FEV<sub>1</sub>) ist signifikant reduziert, und es treten schwere entzündliche interstitielle Lungenerkrankungen wie Bronchiolitis obliterans auf.

Bei Mäusen werden nach inhalativer Exposition ab 50 ml/m<sup>3</sup> peribronchiolare lymphozytäre Entzündungen und ab 25 ml/m<sup>3</sup> Läsionen im Nasenepithel und minimal ausgeprägte peribronchiale lymphozytäre Entzündungen beobachtet.

Befunde beim Menschen und positive Ergebnisse aus tierexperimentellen Untersuchungen zeigen ein kontaktallergenes Potential von Diacetyl. Zur atemwegssensibilisierenden Wirkung liegen keine Befunde beim Menschen vor.

Aus einer Studie zur Entwicklungstoxizität an Hamstern, Mäusen und Ratten ergeben sich für Diacetyl keine die Reproduktion oder die Entwicklung der Nachkommen beeinträchtigenden Wirkungen.

In vitro ist Diacetyl im bakteriellen und TK<sup>+/-</sup>-Mutationstest mutagen und ruft SCE hervor. In vivo führt die einmalige intragastrale Diacetyl-Gabe an Ratten lokal zu positiven Ergebnissen im UDS-Test, während im Knochenmark und im Blut von Mäusen und Ratten nach intraperitonealer Diacetyl-Gabe oder Inhalation kein Anstieg an Mikronuklei zu verzeichnen ist.

Es liegen keine validen Kanzerogenitätsstudien vor.

## 2 Wirkungsmechanismus

Die Elektronenaffinität des Diacetyls ähnelt der von Chinonen und Dinitrophenol, die ebenfalls Elektronenakzeptoren sind. Die zwei benachbarten Carbonylgruppen begünstigen die Delokalisation des Elektrons des entstehenden Radikalanions. Carbonylver-

bindungen können über Elektronen-Transfer-Prozesse reaktive Sauerstoffspezies (ROS) bilden. So ist Diacetyl in der Lage an Biomoleküle zu binden und mit primären Aminen konjugierte Imine zu bilden (Kovacic und Cooksy 2010). Diacetyl reagiert mit der Guanidgruppe des Arginin und bildet dabei sowohl offenkettige als auch cyclische Addukte. Diese Modifikation des Arginins stellt eine Hapten-Bildung dar und kann zu einer spezifischen Antikörper-Antwort führen (Mathews et al. 2010). Weiterhin reagiert Diacetyl mit Cystein unter Bildung cyclischer Produkte wie Thiazol, Thiazolin, Oxazol und Pyrazin (Marchand et al. 2011). Diacetyl kann Protein-Protein-Crosslinks bewirken (Kovacic und Cooksy 2010). Mit 2-Desoxyguanosin bildet Diacetyl Addukte; dies wurde an isolierten Nukleosiden und Einzelstrang-DNA gezeigt. Dieser Prozess wurde für die dosisabhängige, verstärkte Apoptoserate in humanen Neuroblastom-Zellen (SH-SY5Y) nach Diacetyl-Inkubation verantwortlich gemacht. So verhindern entsprechend die Carbonyl-Fänger Metformin, 2-Thiobarbitursäure und D-Penicillamin im MTT-Test auf Zellvitalität die zytotoxische Wirkung von Diacetyl in humanen Neuroblastom-Zellen (SH-SY5Y) (More et al. 2012 a).

Diacetyl löst in der Lunge eine Entzündung aus, die zu einer irreversiblen Atemwegs-obstruktion führen kann, die vermutlich auf die oben genannte reaktive Wirkung des Diacetyls zurückzuführen ist. Nach Ansicht der Kommission sind keine systemischen Effekte zu erwarten, da aufgrund der hohen Reaktivität des Diacetyls zu vermuten ist, dass es an der Oberfläche der Lunge abreagiert. Bei Beschäftigten in Betrieben der Lebensmittelindustrie, die Diacetyl-enhaltende Butter-Aromastoffe zusetzen, wurde mehrfach eine Bronchiolitis obliterans diagnostiziert (siehe Abschnitt 4; European Commission 2013).

### 3 Toxikokinetik und Metabolismus

#### 3.1 Aufnahme, Verteilung, Ausscheidung

In einem Strömungssimulations-PBPK-Modell wurden die Diacetyl-Resorption und die Gewebekonzentration im Atemtrakt von männlichen F344-Ratten und von Menschen berechnet. Demnach gelangte bei einer Expositions-Konzentration von  $1 \text{ ml/m}^3$  bei der Ratte weniger als 2% durch die kleinen Bronchien in die Bronchiolen, beim Menschen im Ruhezustand und bei Nasenatmung 8%, bei leichter Tätigkeit und der damit verbundenen Mundatmung 24%. Es wurde berechnet, dass beim Menschen im Vergleich zur Ratte die bronchioläre Diacetyl-Gewebekonzentration im Ruhezustand bei Nasenatmung um das Fünffache und bei Mundatmung um das Siebenfache höher ist, bei leichten Tätigkeiten und Mundatmung ca. um das Vierzigfache. Das Atemminutenvolumen des Menschen wurde im Ruhezustand mit 9 Liter und bei erhöhter Atemtätigkeit mit 25 Liter pro Minute angenommen (Gloede et al. 2011). Nach diesem Modell ist ein arbeitender Mensch maximal 40-mal höher belastet als die Ratte.

Hinsichtlich der Konzentrationen im Bronchiolarepithel ist das Modell nicht validiert und gilt laut den Autoren auch nur für die ersten Minuten einer Exposition, da die Rückverteilung von Diacetyl mit dem Blut nicht berücksichtigt wurde.

## 4 Diacetyl

Für die Ableitung eines MAK-Wertes wird von einem Atemvolumen von 20,8 l/min ausgegangen, damit wäre der arbeitende Mensch maximal 32-mal höher belastet als die Ratte.

Die Gabe einer einmaligen Dosis von 1,58; 15,8 oder 158 mg radioaktiv markiertem  $^{14}\text{C}$ -Diacetyl/kg KG an Fischer-344-Ratten mit der Schlundsonde führte nach 72 Stunden zu einer Abatmung von 82,0; 72,7 und 54,3% der zugeführten Dosis als  $\text{CO}_2$ . Im Urin fanden sich 6,86; 15,7 und 34,1% der applizierten Radioaktivität. Eine Ausscheidung als Diacetyl mit dem Atem und den Faeces war mit 0,8 bzw. 2,25% sehr gering. In den Knochen und im Gewebe hatten sich 6 bis 7% angereichert. Bereits nach 24 Stunden fanden sich in den Faeces, dem Urin und der ausgeatmeten Luft 86 bis 87% der aufgenommenen Menge an Radioaktivität. Damit wird Diacetyl schnell metabolisiert und ausgeschieden (European Commission 2013; NTP 2007).

Diacetyl reichert sich weniger stark im Gehirn an als die beiden anderen Metaboliten des Acetaldehyds Butandiol und Acetoin (Otsuka et al. 1996).

Zur dermalen Aufnahme liegen keine Daten vor. Mit den Modellen von Fiserova-Bergerova et al. (1990), Guy und Potts (1993) sowie Wilschut et al. (1995) und einem  $\log K_{\text{OW}}$  von -1,34 und einer Wasserlöslichkeit von 200 g/l würden sich bei einstündiger Exposition von 2000  $\text{cm}^2$  Hautoberfläche gegen eine gesättigte wässrige Lösung eine aufgenommene Mengen von 303, 24 bzw. 70 mg ergeben. Es ist unklar, ob diese Konzentration wie unverdünntes Diacetyl noch hautreizend wirkt.

Eine 25%ige Diacetyl-Lösung in einem 4:1-Gemisch aus Aceton und Olivenöl wirkt nicht hautreizend bei Mäusen (NTP 2014).

### 3.2 Metabolismus

Diacetyl ist in Säugetieren ein Metabolit des Acetaldehyds (European Commission 2013).

Diacetyl und Acetoin können endogen durch eine Decarboxylierungsreaktion von Acetaldehyd und Pyruvat gebildet werden (NTP 2007).

An männlichen Wistar-Ratten wurde gezeigt, dass Diacetyl in Rattenleber-Homogenaten, bei Leberperfusion und in vivo zu 2,3-Butandiol reduziert wird. 2,3-Butandiol ist neben Acetoin (und Diacetyl) ein weiterer Metabolit von Acetaldehyd. Eine Oxidation der Acetaldehyd-Metaboliten Acetoin und 2,3-Butandiol zu Diacetyl wurde kaum beobachtet. Die Autoren schließen daraus, dass Diacetyl in der Leber zu 2,3-Butandiol reduziert wird (Otsuka et al. 1996).

## 4 Erfahrungen beim Menschen

Bei Expositionen in Betrieben der Lebensmittelindustrie, in denen Butter-Aromastoffe eingesetzt wurden, traten Erkrankungen des Atemtraktes auf, die durch eine irreversible Atemwegsobstruktion („fixed airway obstruction“) charakterisiert sind und von einem trockenen Husten und Kurzatmigkeit nach körperlicher Anstrengung begleitet werden. Bei vielen Beschäftigten wurde eine Bronchiolitis obliterans diagnostiziert (European Commission 2013). Die aufgetretenen Atemwegserkrankungen wurden auch unter „popcorn worker’s lung“ und „popcorn packers’ workers’ lung“ bekannt (NTP 2007).

### Bronchiolitis obliterans

Die Bronchiolitis obliterans zeichnet sich durch eine irreversible Atemwegsobstruktion aus. Diese beruht auf einer Verengung des bronchiolaren Lumens, die durch eine submukosale Fibrose nach einer Entzündungsreaktion entsteht. Die Einengung des Lumens bei der Bronchiolitis obliterans ist nicht auf granuläre Gewebspfropfen zurückzuführen („intraluminal granulation plugs“), wie es bei der Lungenentzündung beschrieben ist. Die Bronchiolitis obliterans ist eine progrediente bronchiale Obstruktion und äußert sich in Atemnot, Husten und Auswurf. Die Einschränkung der Lungenfunktion ist dauerhaft und kann in schweren Fällen zum Tode führen oder eine Lungentransplantation erforderlich machen (European Commission 2013).

Die exakte Diagnose der Bronchiolitis obliterans erfolgt histologisch. Eine klinische Diagnose der Bronchiolitis obliterans wird meist aufgrund einer reduzierten forcierten Einsekundenkapazität (FEV1) zusammen mit radiologisch sichtbaren Veränderungen gestellt. In der hochauflösenden Computertomographie sind radiologisch Veränderungen zu sehen. Sind radiologisch keine Veränderungen beobachtet worden, sollte von einer (meist fixierten) Atemwegsobstruktion („fixed airway obstruction“) gesprochen werden (European Commission 2013).

Die histologische Bewertung von Lungenbiopsien konnte nicht immer die klinische Diagnose bestätigen (Akpınar-Elci et al. 2004; Kreiss et al. 2002; Van Rooy et al. 2007). Die Verwendung des Terms Bronchiolitis obliterans bei histologisch nicht bestätigten Fällen ist daher nicht immer korrekt (European Commission 2013; Galbraith und Weill 2009).

### Messanalytik

Die in den Studien fast ausschließlich verwendete Diacetyl-Messmethode NIOSH 2557, bei der Kohlenstoff-Molekularsieb-Sorptionsröhrchen eingesetzt werden, kann durch unterschiedliche Raumluftfeuchtigkeit während der Messung, durch die Dauer der Lagerung der Sorptionsröhrchen vor der Extraktion sowie durch die vorhandene Diacetyl-Konzentration selbst beeinflusst werden. Aufgrund dieser Einflussfaktoren unterschätzt die Messmethode NIOSH 2557 die tatsächliche Diacetyl-Konzentration. Vergleichsmessungen mit bekannten Diacetyl-Konzentrationen führten nicht zur Ableitung eines festen Korrekturfaktors. Bereits durchgeführte Messungen können daher nicht nachträglich korrigiert werden. Die Autoren empfehlen, die Methode NIOSH 2557 in Zukunft nicht mehr einzusetzen (Cox-Ganser et al. 2011).

Die in den Studien verwendeten Messmethoden NIOSH 2557 sowie OSHA 1012 und 1013 zur Bestimmung der Diacetyl-Konzentrationen in der Raumluft zeigten in einer vergleichenden Messung unterschiedliche Ergebnisse. Die NIOSH-Methode 2557 führte zu einer Unterschätzung der tatsächlichen Konzentrationen um den Faktor 1 bis 13 mit einem mittleren Faktor von 3 bis 4. Die Ergebnisse erlauben jedoch ebenfalls nicht die Etablierung eines festen Korrekturfaktors (Ashley et al. 2008; European Commission 2013).

Wie in Abschnitt 4.2 beschrieben verwendeten White et al. (2010) einen Korrekturfaktor von 2, um die durch die Methode NIOSH 2557 ermittelten Konzentrationen zu korrigieren. Da den Autoren die Details der Messung bekannt waren, konnten die Messdaten individuell korrigiert werden.

### 4.1 Einmalige Exposition

Hohe Inhalationsexpositionen können zu Schäden des zentralen Nervensystems führen (k. w. A.; European Commission 2013).

Bei einem 36-jährigen Mann, einem Nichtraucher mit normalen Lungenfunktionswerten und einer normalen Serum  $\alpha$ 1-Antitrypsin-Konzentration, wurden nach mehreren Stunden Arbeit mit einer erhitzten, Diacetyl enthaltenden Mischung gerötete und entzündete Augen mit einer klebrigen Sekretion der Bindehaut beobachtet. Nach Behandlung mit Steroiden und Antihistaminika klangen die Symptome nach einigen Tagen ab. Einige Monate später entwickelte dieser Beschäftigte bei Belastung eine übermäßige Atemnot. Lungenfunktionsmessungen ergaben neun Monate später eine mäßig schwere, fixierte Atemwegsobstruktion, wie sie auch bei einer Bronchiolitis obliterans beobachtet wird. Der forcierte expiratorische Fluss zwischen 75% und 25% der Vitalkapazität betrug nur 30% des erwarteten Wertes (Hendrick 2008).

### 4.2 Wiederholte Exposition

Im Jahr 1994 wurde bei einem Beschäftigten eines Betriebes, der Mikrowellen-Popcorn herstellte, eine Bronchiolitis obliterans diagnostiziert. In den folgenden Jahren wurde von weiteren Fällen von Bronchiolitis obliterans und obstruktiven Lungenerkrankungen in solchen Betrieben berichtet. Es kam bis zum Jahr 2000 zu drei Todesfällen (European Commission 2013), danach wird von einem weiteren Todesfall berichtet (Halldin et al. 2013).

NIOSH führte im Jahr 2000 eine Evaluation bei 135 Beschäftigten einer Mikrowellen-Popcorn-Firma in Missouri durch. Die von erfahrenen medizinisch-technischen Assistenten durchgeführten spirometrischen Tests und die Messung der Kohlenmonoxid-Diffusionskapazität entsprachen Standard-Richtlinien. Die erhobenen Daten wurden mit spirometrischen Referenzwerten und dem 95%-KI des dritten National Health and Nutrition Examination Survey (NHANES III) abgeglichen. Als Atemwegsobstruktion wurde ein niedriger Quotient  $FEV_1/FVC$  zusammen mit einem erniedrigten, nicht reversiblen  $FEV_1$  eingestuft. Als erniedrigt wurden alle Werte unterhalb des Sollgrenzwertes betrachtet („lower limits of normal“ LLN). Die Reversibilität der Obstruktion wurde mit einem Bronchodilatator überprüft. Röntgenaufnahmen wurden zwei weiteren Gutachtern vorgelegt. Mithilfe eines Fragebogens wurden Daten zu Symptomen an den Atemwegen, der Schleimhaut, ebenso zu konstitutionellen Symptomen sowie der Beschäftigungsdauer und dem Einsatzbereich in dem Betrieb („work history“) erhoben. Die Antworten wurden verglichen mit den Daten identischer Fragen des NHANES III. Eine Auswertung der Daten konnte für 117 Beschäftigte erfolgen. Die Arbeiter dieser Firma waren gegen eine Kombination von über 100 flüchtigen organischen Verbindungen exponiert, darunter waren Diacetyl, Methylethylketon, Acetoin, 2-Nonanon und Essigsäure. Diacetyl war das überwiegend vorkommende Keton. Zur Expositionsbestimmung des Diacetyls wurde die NIOSH-Methode 2557 verwendet. Für jeden Beschäftigten wurde die kumulative Diacetylbelastung  $\times$  Jahr nach Länge des Aufenthaltes in den einzelnen Arbeitsbereichen und der dort gemessenen Exposition geschätzt. Dann wurden die Beschäftigten nach ihrer kumulativen Diacetylbelastung  $\times$

Jahr in vier gleich große Gruppen unterteilt (Quartile:  $<0,65 \text{ ml/m}^3 \times \text{Jahr}$ ;  $0,65\text{--}4,5 \text{ ml/m}^3 \times \text{Jahr}$ ;  $4,5\text{--}11 \text{ ml/m}^3 \times \text{Jahr}$ ;  $>11\text{--}126 \text{ ml/m}^3 \times \text{Jahr}$ ). Die Prävalenz an obstruktiven Ventilationsstörungen erhöhte sich mit einer ansteigenden kumulativen Exposition an Diacetyl. Die beobachtete dosisabhängige Abnahme der forcierten Einsekundenkapazität ( $\text{FEV}_1$ ) wird als advers angesehen. Es konnte eine Beziehung zwischen den Quartilen der geschätzten kumulativen Diacetylkonzentrations-Exposition und der Prävalenz und dem Ausmaß an Atemwegsobstruktionen hergestellt werden. Die Daten sind in Tabelle 1 dargestellt. Die Autoren folgern aus der hohen Rate an Lungenkrankungen und Lungenfunktionseinschränkungen sowie der Beziehung zwischen Expositionshöhe und Erkrankungshäufigkeit, dass das berufsbedingte Auftreten von Bronchiolitis obliterans auf die Inhalation volatiler Buttergeschmacksstoffe zurückzuführen ist. Ferner weisen sie auf die Möglichkeit eines Healthy-Worker-Effektes hin (Akpinar-Elci et al. 2004; Kreiss et al. 2002). Ein kumulativer NOAEL von  $0,65 \text{ ml Diacetyl/m}^3 \times \text{Jahr}$  kann aus dieser Studie abgeleitet werden (nicht korrigierter Diacetylkonzentrations-Wert, bestimmt nach der NIOSH Mess-Methode 2557). In dem beschriebenen Betrieb lag der Median der Beschäftigungsdauer bei 3,4 Jahren (0,1–17,6 Jahre).

In einer Querschnittstudie konnte eine Dosis-Wirkungs-Beziehung zwischen dem Auftreten einer obstruktiven Ventilationsstörung bzw. einer abnehmenden forcierten Einsekundenkapazität ( $\text{FEV}_1$ ) und einer kumulativen Diacetyl-Exposition bei 725 Vollzeit-Beschäftigten in vier Mikrowellen-Popcorn produzierenden Betrieben der Firma ConAgra nachgewiesen werden. Die Daten von weiteren 40 Beschäftigten konnten aufgrund von Asthmaerkrankungen vor Beschäftigungsbeginn, kardiovaskulären Erkrankungen und nicht verwertbaren Tests nicht aufgenommen werden. Spirometrische Tests wurden nach den Richtlinien der American Thoracic Society und der European Respiratory Society durchgeführt. Die nach Alter, Größe, Geschlecht und Ethnie adjustierten spirometrischen Referenzwerte sind NHANES III entnommen. Wenn  $\text{FEV}_1$  und der Quotient aus  $\text{FEV}_1$  und FVC unterhalb des Sollgrenzwerts (LLN) lagen, wurde die Ventilationsstörung als obstruktiv eingestuft. Die Tests wurden zwischen 2005 und 2006 in drei Durchläufen, die im Mittel 4,8 Monate auseinander lagen, durchgeführt. Drei Testdurchläufe fanden bei 56%, zwei bei 26% und ein Testdurchlauf bei 18% der Beschäftigten statt. Die Beschäftigten wurden in vier Gruppen eingeteilt, 400 Männer und 208 Frauen nicht-asiatischer Abstammung sowie 52 Männer und 65 Frauen asiatischer Abstammung. In diesen Gruppen befanden sich jeweils 24, 8, 7 bzw. 0 Beschäftigte, die bereits vor der Einführung einer Schutzmaßnahme (gebläseunterstützter Atemschutz, „powered air-purifying respirator“ PAPR) an diesem Arbeitsplatz tätig waren (pre PAPR-Mixer). Die Anzahl der nach der Einführung des PAPR-Schutzes nur im Mischsaal, dem Arbeitsplatz mit der höchsten Exposition, Beschäftigten betrug 16, 3, 1 bzw. 0 (PAPR-Mixer). Die Gruppe der „Mixer“ verbrachte etwa die Hälfte ihrer Arbeitszeit im Mischsaal. Die Gruppe „Nonmixer“ wurde definiert als Beschäftigte, die den Mischsaal nicht betreten oder nur selten mit Anwesenheitszeiten unter 30 Minuten. „Nonmixer“ arbeiteten in den Bereichen allgemeine Produktion, Lager, Aus- und Anlieferung. Seit April 2003 wurden alle Personen, die den Mischsaal betraten, aufgefordert PAPR-Atemschutz zu tragen. Die jeweiligen Luftkonzentrationen (personenbezogene Probenahme, 7 bis 9 Stunden lang, Messgerät außerhalb des Atemschutzes) wurden nach der NIOSH Methode 2557 bestimmt, deren untere Bestimmungsgrenze  $0,007 \text{ ml/m}^3$  beträgt. Die Abschätzungen der Arbeitsplatz-Expositionen beruhen auf folgen-

## 8 Diacetyl

den Parametern/Informationen: der Beschäftigungsdauer in der Popcorn-Industrie, der Beschäftigungsdauer nach Einführung von Diacetyl (1994), der Einteilung in fünf Expositionsgruppen nach Berufsbezeichnung und Tätigkeit („Nonmixer“, pre PAPR-Mixer, PAPR-Mixer, sporadischer PAPR-Mixer, Qualitätskontrolle) und der individuell bestimmten kumulativen Diacetyl-Exposition. Die Berechnung der individuellen Diacetyl-Belastung einzelner Beschäftigter ergibt sich aus der Beschäftigungsdauer und der mittleren Diacetyl-Konzentration in der jeweiligen Expositionsgruppe. Die Expositionsdaten und die Lungenfunktionswerte sind in Tabelle 1 dargestellt. Die in der Tabelle angegebenen Diacetyl-Konzentrationen sind arithmetische Mittelwerte. Die Expositions-Konzentrationen wurden für die vier Betriebe einzeln ermittelt; die jeweils niedrigsten und höchsten Konzentrationen sind in der Tabelle angegeben. Zahlreiche Arbeiter im Mischsaal waren vor Einführung des PAPR-Schutzes Diacetyl-Expositionen von bis zu  $8 \text{ ml/m}^3 \times \text{Jahr}$  ausgesetzt. Unterschiede zwischen ethnischen Gruppen ließen sich nicht ableiten. Basierend auf der kumulativen Diacetyl-Exposition wurden die Untersuchten in eine Gruppe mit hohen ( $\geq 0,8 \text{ ml/m}^3 \times \text{Jahr}$ ) und eine Gruppe mit niedrigen ( $< 0,8 \text{ ml/m}^3 \times \text{Jahr}$ ) Expositions-Konzentrationen unterteilt. Die gewählte Trenngrenze stellt die höchste Konzentration dar, denen Beschäftigte in den weniger belasteten Bereichen „Nonmixer“, Qualitätskontrolle, sporadisches Mischen und Mischen mit PAPR-Schutz ausgesetzt waren (Lockey et al. 2009). In der Gruppe mit niedriger Expositions-konzentration von  $0,8 \text{ ml/m}^3 \times \text{Jahr}$  zeigten sich keine Effekte, daher kann dieser Wert als NOAEL angesehen werden. Nur die hohe Exposition im Mischsaal führte vor Einführung des PAPR-Schutzes zu den abnehmenden FEV<sub>1</sub>-Werten, verglichen mit den für die US-Bevölkerung angegebenen Werten. Da die Grenze von  $0,8 \text{ ml/m}^3 \times \text{Jahr}$  nach Arbeitsbereichen festgelegt wurde, kann der tatsächliche NOAEL höher liegen. Dazu kommt, dass die nach der NIOSH Methode 2557 ermittelten Werte nicht korrigiert wurden und die tatsächlichen Expositionen noch höher waren. In dieser Kohorte kann es aber durch den Healthy-Worker-Effekt auch zu einer Unterschätzung der Lungeneffekte gekommen sein.

In einer weiteren Querschnittstudie werden die Daten von sechs Mikrowellen-Popcorn herstellenden Betrieben beschrieben. In diese Studie ist auch der Betrieb in Missouri, dargestellt in der Studie von Kreiss et al. (2002), mit erweiterten Daten aufgenommen worden. Die Versuchsdurchführung entspricht dem Standard, der bei Kreiss et al. (2002) und Lockey et al. (2009) bereits beschrieben wurde. Die Größe der Betriebe und die Anzahl der Beschäftigten variieren stark; der Produktionsprozess der einzelnen Betriebe ist jedoch vergleichbar. Die Diacetyl-Expositionen liegen in den fünf neu dargestellten Betrieben deutlich unter den Expositionen, die in dem Betrieb in Missouri gemessen wurden. In der Tabelle 1 sind die Diacetyl-Expositions-Konzentrationen und die Fälle an Bronchiolitis obliterans und Atemwegsobstruktionen aufgeführt. Die Autoren weisen darauf hin, dass kurzzeitige Spitzenexpositionen beim Öffnen der Tanks sowohl im Mischsaal als auch im Verpackungsbereich vorkommen. Eine Messung der Expositionshöhe von kurzzeitigen Spitzenkonzentrationen wurde nicht durchgeführt. Die hohe Anzahl an Atemwegsobstruktionen bei den Beschäftigten in der Qualitätskontrolle wird von den Autoren auf kurzzeitige Diacetyl-Spitzenexpositionen nach Erhitzen von Popcorn in der Mikrowelle und dem Freisetzen weiterer Stoffe durch diesen Prozess zurückgeführt. Die Autoren weisen darauf hin, dass der Healthy-Worker-Effekt zu einer zu niedrigen Angabe der Prävalenz an Lungeneffekten und Atemwegsobstruktionen führen kann (Kanwal et al. 2006). Das Auftreten eines Falles von Bronchiolitis

Tab. 1. Studien zur wiederholten Diacetyl-Exposition in Mikrowellen-Popcorn herstellenden Betrieben und einem Diacetyl produzierenden Betrieb

Anzahl Beschäftigte (Anzahl Betriebe)/ Kontrollgruppe	Arbeitsbereich	Diacetyl-Belastung	Atemwegserkrankungen der Beschäftigten	Literatur
135 (2002, 1 Betrieb) davon 116 Beschäftigte mit validen spirometrischen Testergebnissen	alle Bereiche, n=116		auffällige spir. Befunde: 31/116, davon haben nur FVC ↓: 10 Beschäftigte nur AO ↑: 11 Beschäftigte FVC ↓ u. AO ↑: 10 Beschäftigte	Kreiss et al. 2002
	Qualitätskontrolle, Verpackung, Mischsaal, n=97		BO ↑: 8/97 Beschäftigten	
	Mischsaal, n=13	32,27 ml/m <sup>3</sup> (1,34–97,94 ml/m <sup>3</sup> )	BO ↑: 4/13 Beschäftigten	
	Verpackung	1,88 ml/m <sup>3</sup> (0,26–6,8 ml/m <sup>3</sup> )	BO ↑: 4/k. A. zu Beschäftigten	
	Beschäftigte außerhalb des Produktionsbereiches, n=20	0,04 ml Diacetyl/m <sup>3</sup> (0–0,25 ml/m <sup>3</sup> )	Belastungs-Kurzzeitmitigkeit 3/20 (15%)	
	Qualitätskontrolle, Verpackung, Mischsaal, n=97	0,56–32,27 ml/m <sup>3</sup> (0,26–97,94 ml/m <sup>3</sup> )	Belastungs-Kurzzeitmitigkeit 30/97 (33%)	
Kontrolle: Allgemeinbevölkerung USA (NHANES III)	alle Bereiche, n=116	0–97,94 ml/m <sup>3</sup>	Prävalenz (adjustiert für Rauchen und Alter): 2,6 chronischer Husten u. Kurzzeitmitigkeit 2,0 Asthma u. chronische Bronchitis 3,3 AO 10,8 AO nur Nichtraucher 3,0 pfeifende Atmung vermehrt Hautprobleme	
Kontrolle: Allgemeinbevölkerung USA (NHANES III)	alle Bereiche, n=116	Quartil (<0,65 ml/m <sup>3</sup> × Jahr)	<b>NOAEL</b> AO bei 10,3% d. Beschäftigten AO ↑ o. FVC ↓ bei 13,8% d. Beschäftigten AO bei 10,3% d. Beschäftigten AO ↑ o. FVC ↓ bei 24,1% d. Beschäftigten FEV <sub>1</sub> -Abnahme um 4,5%	
		Quartil (0,65–4,5 ml/m <sup>3</sup> × Jahr)		

Tab. 1. Fortsetzung

Anzahl Beschäftigte (Anzahl Betriebe)/ Kontrollgruppe	Arbeitsbereich	Diacetyl-Belastung	Atemwegserkrankungen der Beschäftigten	Literatur
725 (4 Betriebe)	Mischsaal	Quartil (4,5–11 ml/m <sup>3</sup> × Jahr)	AO ↑ bei 24,1% d. Beschäftigten AO ↑ o. FVC ↓ bei 31% d. Beschäftigten FEV <sub>1</sub> -Abnahme um 8,9%	Lockey et al. 2009
		Quartil (> 11–126 ml/m <sup>3</sup> × Jahr)	AO ↑ bei 27,6% d. Beschäftigten AO ↑ o. FVC ↓ bei 37,9% d. Beschäftigten FEV <sub>1</sub> -Abnahme um 11%	
Kontrolle: Allgemeinbevölke- rung USA (NHANES III)		0,057–0,86 ml/m <sup>3</sup> vor PAPR 0,015–0,044 ml/m <sup>3</sup> mit PAPR (berechnet)		
		übrige Bereiche („Nonmixer“) <b>&lt;0,8 ml/m<sup>3</sup> × Jahr</b>	<b>NOAEL</b> keine Effekte	
Kontrolle: Beschäftigte mit einer Diacetyl Exposition von <0,8 ml/m <sup>3</sup> × Jahr		≥0,8 ml/m <sup>3</sup> × Jahr	nicht asiatische Abstammung: AO ↑ (OR 9,2; 95%-KI: 2,29–36,75) (k. w. A., adjustiert für Rauchen und BMI)	
		≥0,8 ml/m <sup>3</sup> × Jahr (4 Betriebe)	nicht asiatische Abstammung (männl.): FEV <sub>1</sub> ↓ (Abnahme um 10,3%), AO ↑ achtfach (95%-KI: 2–29) asiatische Abstammung (männl.): FEV <sub>1</sub> ↓ (Abnahme um 12,7%), AO k. A.	
	≥0,8 ml/m <sup>3</sup> × Jahr (3 Betriebe, ausgeschlossen wurde der Be- trieb mit niedrigster Exposition im Mischsaal)	≥0,8 ml/m <sup>3</sup> × Jahr (3 Betriebe, ausgeschlossen wurde der Be- trieb mit niedrigster Exposition im Mischsaal)	AO ↑ zehnfach (95%-KI: 2,7–37,6)	

Tab. 1. Fortsetzung

Anzahl Beschäftigte (Anzahl Betriebe)/ Kontrollgruppe	Arbeitsbereich	Diacetyl-Belastung	Atemwegserkrankungen der Beschäftigten	Literatur
123 (1 Betrieb) (erweiterte Daten von Kreiss et al. 2002)	Mischsaal, n=13	37,8 ml/m <sup>3</sup> (1,3–97,9 ml/m <sup>3</sup> ) <sup>a)</sup>	BO ↑, ca. 40% der Beschäftigten (5/13)	Kanwal et al. 2006
5 (1 Betrieb)	Verpackung n: k. A.	1,9 ml/m <sup>3</sup> (0,3–6,8 ml/m <sup>3</sup> )	BO ↑, 3–4% der Beschäftigten (4/k. A.)	
	Qualitätskontrolle, n=6	0,6 ml/m <sup>3</sup> (0,3–0,9 ml/m <sup>3</sup> )	AO ↑ (5/6)	
	Mischsaal	stationär: 0,6 ml/m <sup>3</sup> (0,4–1,0 ml/m <sup>3</sup> ) personenbezogen: 0,6 ml/m <sup>3</sup> (0,4–0,7 ml/m <sup>3</sup> )	BO: 1/k. A.	
	Verpackung	stationär: 0,7 ml/m <sup>3</sup> (0,4–1,2 ml/m <sup>3</sup> ) personenbezogen: 0,5 ml/m <sup>3</sup> (0,2–1,0 ml/m <sup>3</sup> )	keine BO	
157 (1 Betrieb)	Mischsaal	stationär: 0,2 ml/m <sup>3</sup> (ND–0,6 ml/m <sup>3</sup> ) personenbezogen: 0,02 ml/m <sup>3</sup> (ND–0,05 ml/m <sup>3</sup> )	BO: 1/k. A.	
	Verpackung	stationär: 0,004 ml/m <sup>3</sup> (ND–0,03 ml/m <sup>3</sup> ) personenbezogen: 0,002 ml/m <sup>3</sup> (ND–0,009 ml/m <sup>3</sup> )	keine BO	
	Qualitätskontrolle, n=3	<0,001 ml/m <sup>3</sup>	AO: 0/3	
	Mischsaal	stationär: 0,6 ml/m <sup>3</sup> (0,3–0,9 ml/m <sup>3</sup> ) personenbezogen: 0,4 ml/m <sup>3</sup>	keine BO	

Tab. 1. Fortsetzung

Anzahl Beschäftigte (Anzahl Betriebe)/ Kontrollgruppe	Arbeitsbereich	Diacetyl-Belastung	Atemwegserkrankungen der Beschäftigten	Literatur
206 (1 Betrieb)	Verpackung	stationär: 0,3 ml/m <sup>3</sup> (0,2–0,4) ml/m <sup>3</sup> personenbezogen: 0,6 ml/m <sup>3</sup> (0,3–1,2 ml/m <sup>3</sup> )	BO: 3/k. A.	
		stationär: 1,2 ml/m <sup>3</sup> (0,5–2,7 ml/m <sup>3</sup> ) personenbezogen: 1,0 ml/m <sup>3</sup> (0,2–2,0 ml/m <sup>3</sup> )	BO: 1/k. A.	
		stationär: 0,02 ml/m <sup>3</sup> (LOQ–0,03 ml/m <sup>3</sup> ) personenbezogen: 0,02 ml/m <sup>3</sup> (LOQ–0,03 ml/m <sup>3</sup> )	keine BO	
175 (1 Betrieb, Diacetylherstellung)	Verpackung	0,02 ml/m <sup>3</sup> (0,01–0,03 ml/m <sup>3</sup> )	AO: 1/11	van Rooy et al. 2007, 2009
		Qualitätskontrolle, n=11		
		Prozessoperatoren n=102, mittlere Beschäftigungsdauer 10,4 Jahre (1–29 Jahre)	BO ↑ 4/102 (3/4 waren Nichtraucher), BO- Symptome nach 0–14 Jahren	
Kontrolle: minimal exponier- te interne Referenzgruppe (n=28; k. w. A.), männliche Beschäftigte, europäische Abstammung	Prozessoperatoren, n=95, männliche Beschäftigte, euro- päische Abstammung	1995–2001: stationär: 0,5–98 ml/m <sup>3</sup> (26 Messungen, AM 10,1 ml/m <sup>3</sup> , GM 2,8 ml/m <sup>3</sup> ), personenbezogen: 0,86–110,9 ml/m <sup>3</sup> (3 Messungen, AM 42,6 ml/m <sup>3</sup> , GM 11,4 ml/m <sup>3</sup> )	kontinuierliche Atemprobleme ↑ 9,5% (PR und 95%-KI: k. A.), Kontrolle 0% AMchronischer Husten ↑ PR 1,3 (95%-KI: 0,5–3,0) Kurzatmigkeit ↑ PR 7,5* (95%-KI: 1,1–52,9) Asthmaanfall ↑ PR 3,3 (95%-KI: 0,4–24,6) ärztlich attestiertes Asthma ↑ PR 3,7 (95%-KI: 0,5–27,3) Asthmaanfall im letzten Jahr ↑ 5,3% (PR und 95%-KI: k. A.), Kontrolle 0%	

Tab. 1. Fortsetzung

Anzahl Beschäftigte (Anzahl Betriebe)/ Kontrollgruppe	Arbeitsbereich	Diacetyl-Belastung	Atemwegserkrankungen der Beschäftigten	Literatur
		beschäftigt vor 1995: Exposition höher als 1995–2001, da Produktionsanteile noch im Handbetrieb		
Kontrolle: Allgemeinbevölkerung Niederlande, Männer 30–70 Jahre, n=1125, (ECRHS)	(Prozessoperatoren, technischer Service, Qualitätskontrolle und andere Bereiche), n=159, männliche Exponierte, Alter 30–70 Jahre	1995–2001	kontinuierliche Atemprobleme ↑ PR 2,6* (95%-KI: 1,3–5,1) chronischer Husten ↑ PR 1,5* (95%-KI: 1,1–2,1) Asthmaanfall ↑ PR 2,0* (95%-KI: 1,2–3,4) ärztlich attestiertes Asthma ↑ PR 2,2* (95%-KI: 1,3–3,8) Asthmaanfall im letzten Jahr ↑ PR 4,7* (95%-KI: 1,9–11,4)	
		nach 2001: stationär: 0,5–14,5 ml/m <sup>3</sup> (AM 2,2 ml/m <sup>3</sup> , GM 1,6 ml/m <sup>3</sup> )		k. A.
Kontrolle: Allgemeinbevölkerung Niederlande, Männer europäischer Abstammung, 30–70 Jahre, n=1084, (ECRHS)	(Prozessoperatoren, technischer Service, Qualitätskontrolle und andere Bereiche), n=149, männliche Exponierte, Alter 30–70 Jahre		FEV <sub>1</sub> , FVC, FEV <sub>1</sub> /FVC: keine signifikanten Unterschiede	
467 (16 Betriebe) Kontrolle: Allgemeinbevölkerung USA (NHANES III)			AO schwer ↑ (FEV <sub>1</sub> <50%) Prävalenz 2,7 (95%-KI: 1,2–6,4)	Kim et al. 2010



Tab. 1. Fortsetzung

Anzahl Beschäftigte (Anzahl Betriebe)/ Kontrollgruppe	Arbeitsbereich	Diacetyl-Belastung	Atemwegserkrankungen der Beschäftigten	Literatur
677 (20 Betriebe) Kontrolle: Allgemeinbevölke- rung USA (NHANES III)			AO schwer ↑ (FEV <sub>1</sub> <50%) bei Beschäftigten <40 Jahre Prävalenz 15 (95%-KI: 5–44)  AO leicht n.s. AO ↑ 5,3% OR: 4,5 (aus 5,3 und 1,2) (95%-KI: 1,03–19,9)  AO ↑ 1,2%	
		>180 kg/Jahr Verbrauch pro Betrieb		
		<180 kg/Jahr Verbrauch pro Betrieb		
	Mischsaal	hohe Belastung, k. w. A.	AO ↑ 4,5% OR: 2,2 (95%-KI: 0,6–7,7) (Mischsaal versus Zuarbeit und Büro)	
	zuarbeitende Tätigkeiten	k. w. A.	AO ↑ 2,0%	
	Büro	k. w. A.	AO ↑ 2,3%	
			auffällige spirometrische Ergebnisse bei 23% AO ↑ 4,9%	Kreiss et al. 2012
		>180 kg/Jahr Verbrauch pro Betrieb	FEV <sub>1</sub> -Abnahme um 11,6%	
		<180 kg/Jahr Verbrauch pro Betrieb	FEV <sub>1</sub> -Abnahme um 7,3%	

AM: arithmetischer Mittelwert; AO: Atemwegsobstruktion; BMI: Body Mass Index; BO: Bronchiolitis obliterans; ECRHS: European Community Respiratory Health Survey; FEV<sub>1</sub>: forcierte Einsekundenkapazität; GM: geometrischer Mittelwert; k. A.: keine Angabe; k. w. A.: keine weiteren Angaben; LOQ: Messwert unterhalb der Bestimmungsgrenze (ca. 0,01 ml/m<sup>3</sup>), 0,005 ml/m<sup>3</sup> wurde für die Berechnung eingesetzt; ND: unterhalb der Nachweisgrenze (0,001 ml/m<sup>3</sup>), 0,0005 ml/m<sup>3</sup> wurde für die Berechnung eingesetzt; NHANES: National Health and Nutrition Examination Survey; n. s.: nicht signifikant; OR: Odds Ratio; PAPR: geblüeunterstützter Atemschutz („powered air-purifying respirator“); PR: Prävalenz-Ratio;  
\* p<0,05;  
a) Kullman et al. 2005 (2,3–98 ml/m<sup>3</sup>)

obliterans bei einem Mischsaal-Beschäftigten, der einer stationär gemessenen Diacetyl-Exposition von  $0,2 \text{ ml/m}^3$  (personenbezogene Messung  $0,02 \text{ ml Diacetyl/m}^3$ ) ausgesetzt war, gibt nach Meinung der Autoren einen Hinweis auf die Ableitung eines möglichen Grenzwerts, der unterhalb von  $0,02 \text{ ml Diacetyl/m}^3$  liegen sollte. Das Auftreten von deutlich höheren Kurzzeitexpositionen an diesem Arbeitsplatz im Mischsaal ist beschrieben, jedoch nicht quantifiziert (Kanwal et al. 2006). Da außerdem die verwendete Messmethode NIOSH 2557 zu einer Unterschätzung der tatsächlichen Expositions-Konzentration führt, ist aufgrund der beschriebenen Unsicherheiten davon auszugehen, dass der beobachtete Fall von Bronchiolitis obliterans durch eine kurzfristig höhere Expositions-Konzentration verursacht wurde. Diese Daten werden daher nicht zur Ableitung eines MAK-Wertes herangezogen, aber bei der Festsetzung des Überschreitungsfaktors berücksichtigt.

Die Expositionsdaten eines in den Jahren 1960 bis 2003 Diacetyl produzierenden Chemiebetriebes in den Niederlanden wurden im Jahr 2005 zusammen mit den mithilfe eines Fragenkataloges erhobenen Informationen und den Ergebnissen spirometrischer Untersuchungen ausgewertet. Diacetyl wurde in dem Betrieb durch die Oxidation von 2,3-Butylenglykol zu Acetoin und nachfolgender Oxidation hergestellt. Nebenprodukte dieser Reaktion waren Acetaldehyd und Essigsäure. Die Diacetylproduktion wurde in einem geschlossenen System bei erhöhten Temperaturen durchgeführt. Mithilfe eines Fragebogens wurden Daten zur Tätigkeit, Dauer und Häufigkeit der Beschäftigung in der Diacetyl-Anlage erhoben. Der Fragebogen basierte auf Fragen aus den NIOSH Health Hazard Evaluation Reports und der European Community Respiratory Health Survey (ECRHS). Von 196 ehemals in diesem Betrieb Beschäftigten nahmen 175 (89%) an der Studie teil. Die Messung der Diacetylkonzentrationen erfolgte mit Dinitrophenylhydrazin-beschichteten Kartuschen und nachfolgender Gaschromatographie. Aufgrund der verfügbaren früher erhobenen Expositionsdaten zeigte eine Einteilung der Beschäftigten nach ihren Expositionsprofilen (Frequenz und Expositionshöhe), dass Beschäftigte, die als Prozessoperatoren arbeiteten, die Gruppe mit der höchsten Exposition bildeten. Sie waren eine vergleichbare Anzahl an Tagen in der Diacetyl-Anlage beschäftigt und nur am Ende des Herstellungsprozesses gegen das nicht erhitzte Produkt exponiert. Weitere Beschäftigte (Wartungsarbeiten, Labortätigkeit) waren nur kurzzeitig Diacetyl-Expositionen ausgesetzt. Die von erfahrenen medizinisch-technischen Assistenten durchgeführten spirometrischen Tests entsprachen Standard-Richtlinien der European Respiratory Society. Als spirometrische Referenzwerte wurden adjustierte Werte der European Community for Steel and Coal verwendet. Das Vorhandensein einer Atemwegsobstruktion wurde definiert als  $FEV_1$  unter 80% des Sollmittelwertes und einem Quotienten aus  $FEV_1$  und FVC unter 70% sowie einen Anstieg von  $FEV_1$  nach Bronchodilatation von unter 9%. Bei allen Beschäftigten mit obstruktiver Ventilationsstörung wurden computertomographische Aufnahmen (HRCT) gemacht. Die beschriebenen Lungeneffekte und die Expositions-Konzentrationen sind in der Tabelle 1 dargestellt. Im Jahr 2001 wurde die Diacetyl-Produktionsanlage verändert, sodass Kontrollmessungen nach 2001 niedrigere Werte für Diacetyl (geometrischer Mittelwert  $5,8 \text{ mg/m}^3$  ( $1,6 \text{ ml/m}^3$ ), vor 2001:  $10,0 \text{ mg/m}^3$  ( $2,8 \text{ ml/m}^3$ )) ergaben. In der Gruppe der am höchsten belasteten Arbeiter ( $n=102$ ) traten vier Fälle von Bronchiolitis obliterans auf. Drei von ihnen waren lebenslang Nichtraucher. Eine Dosis-Wirkungs-Beziehung mit der kumulativen Diacetylkonzentration konnte nicht gezeigt werden. Kurzzeitige Spitzenexpositionen („exposure incident“) wurden von

## 16 Diacetyl

78% (74/95) der Prozessoperatoren angegeben, aber nur von 54% (15/28) der internen Referenzgruppe, die als niedrig belastet angesehen wird. Die Prävalenz betrug 1,5 (95%-KI: 1,0–2,1). Eine nicht signifikante Assoziation der kurzzeitigen Spitzenexpositionen mit Husten ( $p=0,06$ ) war nach Adjustierung nach Raucherstatus und Alter nicht mehr zu erkennen (Van Rooy et al. 2007, 2009).

Da die beobachteten eingeschränkten Lungenfunktionen in weiteren Studien auf das Diacetyl zurückgeführt wurden, veranlasste das kalifornische Department of Public Health 2008 eine Querschnittstudie. In diese Studie wurden 467 Beschäftigte aus 16 Geschmacksstoff-verarbeitenden Betrieben aufgenommen, bei denen auswertbare Fragebögen und qualitativ gute spirometrische Untersuchungsergebnisse vorlagen, die die forcierte Einsekundenkapazität ( $FEV_1$ ) und die forcierte Vitalkapazität (FVC) umfassten. Allgemeine respiratorische Symptome wie Dyspnoe, chronische Bronchitis, Asthma, Husten und Atemgeräusche lagen in der Gruppe der Beschäftigten nicht höher als in der Allgemeinbevölkerung der USA. Die in der Tabelle 1 dargestellten Daten zeigen, dass die Prävalenz an Atemwegsobstruktionen bei den Beschäftigten in Betrieben, die mehr als 180 kg Diacetyl jährlich verarbeiteten, deutlich höher lag als bei Betrieben mit einem niedrigeren Verbrauch. Die Prävalenz der obstruktiven Ventilationsstörungen konnte auch nach der jeweiligen Art der Tätigkeit unterschieden werden; sie lag bei Beschäftigten, die an der direkten Popcorn-Produktion beteiligt waren (z. B. Mischsaal) höher als bei den Beschäftigten mit zuarbeitenden Tätigkeiten und bei Bürokräften. Diacetyl-Konzentrationen in der Raumluft wurden nicht bestimmt (Kim et al. 2010).

Eine weitere vom kalifornischen Department of Public Health in den Jahren 2004 bis 2009 durchgeführte Studie umfasste spirometrische Testdaten von 677 Beschäftigten aus 20 Geschmacksstoff-herstellenden Betrieben. Die Auswertung ergab auffällige spirometrische Ergebnisse und eine ungewöhnlich schnelle Abnahme des  $FEV_1$  bei einigen Beschäftigten. Die Daten sind in Tabelle 1 dargestellt. Bei Beschäftigten in Betrieben, die mehr als 180 kg Diacetyl jährlich verarbeiteten, lag die jährliche  $FEV_1$ -Abnahme zwei- bis dreimal höher als in Firmen mit einem niedrigeren Verbrauch an Diacetyl (Kreiss et al. 2012).

Die nach der NIOSH Methode 2557 gemessenen Diacetyl-Expositionsdaten in vier Mikrowellen-Popcorn produzierenden Betrieben der Studie von Lockey et al. (2009) werden in einer späteren Publikation ausführlicher dargestellt. Aufgrund der von NIOSH publizierten Unterschätzung der Diacetyl-Konzentrationen bei Verwendung der Messmethode NIOSH 2557 wurden die Diacetyl-Expositionskonzentrationen neu berechnet (Cox-Ganser et al. 2011, siehe Abschnitt 4; White et al. 2010). Bei den dargestellten 639 Messungen („full-shift-breathing-zone measurements“) lagen 49,1% unterhalb der Bestimmungsgrenze. Diese Werte wurden nicht neu berechnet. Durch Berücksichtigung einer erhöhten absoluten Raumluftfeuchtigkeit (Funktion aus Temperatur und relativer Raumluftfeuchtigkeit) sowie der Verluste bei der Lagerung der Sammelröhrchen (bis zu sechs Tage) konnten die in der Studie von Lockey et al. (2009) verwendeten Werte entsprechend individuell korrigiert werden. Die neu berechneten Werte lagen bis zu 20-mal höher als die bisher angegebenen Werte. Bei einer niedrigen Raumluftfeuchte und einer kürzeren Lagerung (2–3 Tage) ergaben sich jedoch kaum Veränderungen der von Lockey et al. (2009) gemessenen Konzentrationen. Die korrigierten arithmetischen Mittelwerte aller neu berechneten Konzentrationen lagen etwa doppelt so hoch und betragen für Tätigkeiten außerhalb des Mischsaales in den vier untersuchten Betrieben  $0,069 \text{ ml/m}^3$  (Max.  $1,98 \text{ ml/m}^3$ );  $0,123 \text{ ml/m}^3$  (Max.  $1,93 \text{ ml/m}^3$ );  $0,042 \text{ ml/m}^3$

(Max. 1,36 ml/m<sup>3</sup>) und 0,045 ml/m<sup>3</sup> (Max. 1,00 ml/m<sup>3</sup>). Die entsprechend korrigierten Konzentrationen im Mischsaal lagen bei 0,94 ml/m<sup>3</sup> (Max. 4,20 ml/m<sup>3</sup>); 0,84 ml/m<sup>3</sup> (Max. 7,67 ml/m<sup>3</sup>); 0,12 ml/m<sup>3</sup> (Max. 0,40 ml/m<sup>3</sup>) und 2,70 ml/m<sup>3</sup> (Max. 11,7 ml/m<sup>3</sup>) (European Commission 2013; White et al. 2010; White 2011). Der korrigierte kumulative Expositionswert wurde nicht angegeben.

In einer weiteren Studie wurden acht Nachfolge-Untersuchungen in der Mikrowellen-Popcorn-Firma in Missouri (siehe auch Kreiss et al. 2002) beschrieben. Die Messungen der Expositions-Konzentrationen von Diacetyl wurden von November 2000 bis Juli 2003 mit der NIOSH-Methode 2557 durchgeführt. Expositionswerte oberhalb der Bestimmungsgrenze wurden korrigiert durch Einbeziehen von Luftfeuchtigkeit und Abschätzen der Verluste bei der Lagerung der Sammelröhrchen. Für die statistische Analyse wurden alle Expositionswerte, die unterhalb der Bestimmungsgrenze lagen, wie üblich als halbe Menge der Bestimmungsgrenze festgelegt. Die Beschäftigten wurden unterteilt in eine Gruppe 1, die bereits vor den ersten Kontrollmessungen (November 2000) beschäftigt und damit hoch exponiert war (n=146, mittlere Beschäftigungsdauer sechs Jahre), und in eine Gruppe 2, deren Beschäftigungsverhältnisse nach November 2000 begannen (n=227, mittlere Beschäftigungsdauer sechs Monate). Im Jahr 2001 wurde als Schutzmaßnahme ein gebläseunterstützter Atemschutz („powered air-purifying respirators“, PAPR) eingeführt. Die Daten sind in Tabelle 2 dargestellt. Die Autoren bewerteten die beobachteten Atemwegsobstruktionen und veränderten FEV<sub>1</sub>-Werte als statistisch nicht signifikant innerhalb der jeweiligen Gruppe. Der Vergleich zwischen Beschäftigten von Gruppe 1 und Gruppe 2 (s. o.) mit mindestens drei spirometrischen Tests und einer Abnahme des FEV<sub>1</sub> mit mehr als 300 ml oder 10% zwischen dem ersten und letzten Test, zeigte eine Prävalenz von 19/87 (22%) in Gruppe 1 und 3/40 (8%) in Gruppe 2. Bei Beschäftigten im Mischsaal lag die Prävalenz einer Abnahme des FEV<sub>1</sub> >300 ml bei 4/5 (80%) in der Gruppe 1 und bei 0/4 (0%) in der Gruppe 2. Beschäftigte der Qualitätskontrolle wiesen hier eine Prävalenz von 2/8 (25%, Gruppe 1) bzw. 0/1 (0%, Gruppe 2) auf. Die Reizwirkungen auf Auge, Nase und Rachen waren in Gruppe 1 mit abnehmender Diacetyl-Exposition deutlich reduziert (Kanwal et al. 2011). Diese Studie zeigt, dass die Abnahme der Lungenfunktion am deutlichsten bei den hoch belasteten Beschäftigten in Gruppe 1 war. Die abnormale Lungenfunktion, die in Gruppe 1 beobachtet wurde, bleibt über den Untersuchungszeitraum von drei Jahren fast unverändert, obwohl die Diacetyl-Exposition in diesem Zeitraum beständig abnimmt. Das weist auf einen irreversiblen Lungenschaden hin.

In einer Aromastoffe produzierenden Firma in Indiana führte NIOSH in den Jahren von 2008 bis 2009 sogenannte „high quality“-Lungenfunktionstests bei 106 Beschäftigten durch. Die mittlere Beschäftigungsdauer betrug 16,2 (0,2–36) Jahre. Die Diacetyl-Expositions-Konzentrationen wurden mit der OSHA Methode PV 2118 und 1012 vermessen, deren Messwerte als zuverlässig angesehen werden („unbiased“). Es ergaben sich in den verschiedenen Arbeitsbereichen geometrische Mittelwerte einer Acht-Stundenkonzentration von <0,001 bis 0,17 ml Diacetyl/m<sup>3</sup> mit einem Maximum von 2,9 ml/m<sup>3</sup> bei stationärer Messung. Die personenbezogenen Messungen führten in den verschiedenen Bereichen zu geometrischen Mittelwerten einer Acht-Stundenkonzentration von 0,007–1,9 ml Diacetyl/m<sup>3</sup> mit einem Maximum von 1,9 ml/m<sup>3</sup>. Die Beschäftigten waren auch gegen weitere Stoffe exponiert. Bei vier Raumluftmessungen in vier verschiedenen Arbeitsbereichen wurden 61 chemische Verbindungen identifiziert. Neben Diacetyl traten u. a. Acetoin, Ethylacetat, Ethylbutyrat, Benzaldehyd, Limonen, Terpene

Tab. 2. Lungenfunktionswerte bei Beschäftigten einer Mikrowellen-Popcorn herstellenden Firma in Missouri (Kanwal et al. 2011)

Jahr	Diacetyl-Exposition <sup>a)</sup>		Lungeneffekte und Reizwirkungen an Auge, Nase und Rachen Beschäftigungsbeginn vor Nov. 2000, Ein- führung eines PAPR-Schutzes (Nov. 2001), Gruppe 1 <sup>b)</sup>		Lungeneffekte und Reizwirkungen an Auge, Nase und Rachen Beschäftigungsbeginn nach Nov. 2000, Ein- führung eines PAPR-Schutzes (Nov. 2001), Gruppe 2	
	Mischsaal und Qualitätskontrolle	Verpackung	Mischsaal und Qualitätskontrolle	Verpackung (n=41)	Mischsaal und Qualitätskontrolle (n=6)	Verpackung (n=73) <sup>c)</sup>
2000	57 ml/m <sup>3</sup> (Max 147 ml/m <sup>3</sup> )	2,8 ml/m <sup>3</sup> (Max 8,19 ml/m <sup>3</sup> )	AO ↑ 30,4% (7/23) FEV <sub>1</sub> ↓ 85,8% Reizwirkungen 63% (14/23)	AO ↑ 20% (8/41) FEV <sub>1</sub> ↓ 87% Reizwirkungen 68% (28/41)	AO ↑ 33,3% (2/6) FEV <sub>1</sub> ↓ 95% Reizwirkungen 33,3% (2/6)	AO ↑ 4,1% (3/73) FEV <sub>1</sub> ↓ 97% Reizwirkungen 24,7% (18/73)
2001	11 ml/m <sup>3</sup> (Max 109 ml/m <sup>3</sup> )	0,85 ml/m <sup>3</sup> (Max 4,61 ml/m <sup>3</sup> )	k. A.	k. A.	k. A.	k. A.
2002	5 ml/m <sup>3</sup> (Max 17 ml/m <sup>3</sup> )	0,6 ml/m <sup>3</sup> (Max 1,57 ml/m <sup>3</sup> )	k. A.	k. A.	k. A.	k. A.
2003	1,6 ml/m <sup>3</sup> (Max 13 ml/m <sup>3</sup> )	0,004 ml/m <sup>3</sup> (Max 0,007 ml/m <sup>3</sup> )	AO ↑ 30,4% (7/23) FEV <sub>1</sub> ↓ 83,4% Reizwirkungen 33,3% (7/23)	AO ↑ 15% (6/41) FEV <sub>1</sub> ↓ 85,7% Reizwirkungen 33,3% (12/41)	AO ↑ 16,7% (1/6) FEV <sub>1</sub> ↓ 95% Reizwirkungen 66,7% (4/6)	AO ↑ 5,6% (4/73) FEV <sub>1</sub> ↓ 95,8% Reizwirkungen 26,4% (19/73)
jährliche Veränderung FEV <sub>1</sub>						
Beschäftigte zweimal getestet			-71 ml/y	-43,5 ml/y	-162,7 ml/y (n=6)	-83,0 ml/y
Beschäftigte dreimal getestet			-58 ml/y (n=21)	-44,6 ml/y (n=39)	+17 ml/y (n=4)	-21,3 ml/y (n=31)

AO: Atemwegsobstruktion; PAPR: „powered air-purifying respirators“; y: Jahr; k. A.: keine Angabe;

<sup>a)</sup> Die Werte von 2001 und 2002 sind Mittelwerte aus zwei oder vier Messungen;<sup>b)</sup> Beschäftigte waren vor November 2000 einer deutlich höheren Exposition ausgesetzt;<sup>c)</sup> z. T. fehlen Fragebögen oder spirometrische Messungen

und Trichlorethylen auf. Die spirometrischen Untersuchungen ergaben bei 32% der Beschäftigten abnorme Werte. Restriktive Ventilationsstörungen wurden bei 30 Beschäftigten (28%) festgestellt. Diese unterteilten sich in gering (22), mäßig schwer (6) und schwer (1). Eine obstruktive Ventilationsstörung zeigten 3% der Beschäftigten, davon lag bei zwei Beschäftigten ein geringes und bei einem ein mäßig schweres Leiden vor. Zudem wurde ein Fall mit einer zugleich restriktiven und obstruktiven Ventilationsstörung beobachtet. Die Prävalenz von restriktiven Ventilationsstörungen lag 3,8-mal höher als in der US-Bevölkerung. Von 70 Beschäftigten mit einer sogenannten „high quality“-spirometrischen Untersuchung fand sich eine exzessive Abnahme des FEV<sub>1</sub> mit progressivem Verlauf. Die jährliche Abnahme des FEV<sub>1</sub> war 2,8-mal höher und eine verstärkte Abnahme wurde 7-mal häufiger bei den hochexponierten Beschäftigten gefunden als in anderen Bereichen. Die Autoren vermuten, dass die beobachteten restriktiven Ventilationsstörungen auf andere Komponenten zurückzuführen sind, da mit einer Diacetyl-Belastung obstruktive Ventilationsstörungen assoziiert werden (Kreiss et al. 2011).

Eine Auswertung der 369 spirometrischen Tests von 112 Beschäftigten und den Daten zum Beschäftigungsverhältnis (Beschäftigungsdauer, Arbeitsbezeichnung, Arbeitsbereich, Raucherstatus, etc.) einer Aromastoffe herstellenden Firma in Indiana wurde von Ronk et al. (2013) durchgeführt. Zugrunde liegt der gleiche Datensatz, der von Kreiss et al. (2011) ausgewertet wurde. Auch diese Autoren finden eine erhöhte Prävalenz an restriktiven Ventilationsstörungen verglichen mit der allgemeinen US-Bevölkerung (OR 3,3). Diese erhöhte Prävalenz korrelierte nach ihren Berechnungen jedoch nicht mit den Diacetyl-Expositionskonzentrationen, da 27% der hoch exponierten und 33% der niedrig exponierten Personen eine restriktive Ventilationsstörung aufwiesen. Expositionskonzentrationen wurden nicht angegeben, da die Einteilung nach Arbeitsbereichen erfolgte. Die Dauer der Beschäftigung in Arbeitsbereichen mit vermutlich hoher Exposition und der Umgang mit flüssigen Stoffen („tenure in liquid compounds“) waren nicht mit einer erhöhten Prävalenz verbunden (OR 0,97 bzw. 0,99). Ebenfalls keine erhöhte Prävalenz ergab sich für alle Beschäftigten, die jemals in diesen Bereichen gearbeitet hatten (OR 0,87 hohe Exposition; OR 0,77 „liquid compounding“). Die Analyse der Abnahme von FEV<sub>1</sub> und FVC wurde von dieser Arbeitsgruppe mithilfe der Methode „general estimating equation“ (GEE) durchgeführt (Ronk et al. 2013). Diese Methode gibt den Autoren zufolge statistisch bessere Daten als die von NIOSH (Kreiss et al. 2011) verwendete Methode der multiplen linearen Regression. Nach den GEE-Modellrechnungen ergaben sich keine Assoziationen zwischen Lungenfunktionseinschränkungen und allgemeiner Beschäftigungsdauer (p=0,46 für FEV<sub>1</sub> (l/Jahr) und p=0,9 für FVC (l/Jahr)). Ebenso ergaben sich keine Assoziationen zwischen Lungenfunktionseinschränkungen und Beschäftigungsdauer in hoch exponierten Bereichen (p=0,13 für FEV<sub>1</sub> (l/Jahr) und p=0,997 für FVC (l/Jahr)) und der Dauer des Umganges mit flüssigen Komponenten (p=0,56 für FEV<sub>1</sub> (l/Jahr) und p=0,997 für FVC (l/Jahr)). Die Auswertung der Daten ergab ebenso wie bei Kreiss et al. (2011) drei Fälle von obstruktiver Ventilationsstörung (2,8%), davon sind zwei als gering und ein Fall als mäßig stark einzuordnen. Bei einer Person des Untersuchungskollektives wurden eine obstruktive und eine restriktive Ventilationsstörung gefunden. Die Autoren stellen in Frage, ob die US-Bevölkerung in diesem Fall die richtige Kontrollgruppe darstellt, da die Beschäftigten hauptsächlich aus 30 bis 60-jährigen Männern bestand, von denen

## 20 Diacetyl

ein Drittel adipös war und viele nebenberuflich in der Landwirtschaft tätig waren, was als ein zusätzliches Risiko für Lungeneffekte gewertet wurde (Ronk et al. 2013).

Bronchiolitis obliterans wurde außerdem bei zwei Beschäftigten in Geschmacksstoffherstellenden Betrieben diagnostiziert. Keiner der beiden war in der Mikrowellen-Popcorn-Industrie beschäftigt. In beiden Fällen wurde ein Umgang mit reinem Diacetyl und auch mit anderen Chemikalien angegeben (CDC 2007).

Obwohl Diacetyl als primärer Auslöser der Lungenerkrankungen in Popcorn-herstellenden Betrieben gilt, waren Beschäftigte in den Produktionsbereichen auch gegen andere Ketone, VOC („volatile organic compounds“) und Stäube exponiert (Kreiss et al. 2002). Es besteht die Möglichkeit, dass Diacetyl nicht der alleinige Faktor für die Auslösung von Bronchiolitis obliterans ist. Weitere Diketone, wie 2,3-Pentandion, stehen ebenfalls im Verdacht (Morgan et al. 2012; NIOSH 2011). In einer weiteren Publikation wird bei Beschäftigten in Diacetyl produzierenden Betrieben von möglichen Expositionen gegen Acetoin, Acetaldehyd und Essigsäure berichtet (Van Rooy et al. 2007).

In einer Querschnittstudie wurden die Todesfälle bei Beschäftigten in Mikrowellen-Popcorn herstellenden Betrieben untersucht. Insgesamt umfasste die untersuchte Kohorte 511 Beschäftigte, bei denen 15 Todesfälle auftraten. Basierend auf den Daten der US-amerikanischen Bevölkerung wären 17,39 Todesfälle zu erwarten gewesen (SMR = 0,86; CI: 0,48–1,42). Die Todesursachen konnten bei 14 der Fälle ermittelt werden. Vier der Todesfälle waren auf chronische obstruktive Lungenerkrankungen (COPD) zurückzuführen, hier wären 0,98 Fälle zu erwarten gewesen. Vor dem Zeitpunkt der Reduzierung der Diacetylkonzentration, die im Jahr 2000 in den Firmen vorgenommen wurde, waren drei der vier Todesfälle aufgetreten (Halldin et al. 2013).

Klinische, tomografische und spirometrische Untersuchungen weisen auf das Auftreten von Bronchiolitis obliterans bei vier Beschäftigten einer Diacetyl als Butteraromastoff verwendenden Firma (Keksproduktion) in Brasilien hin. Die vier Erkrankten waren zwischen 24 und 27 Jahren alt, Nichtraucher und hatten seit 1 bis 3 Jahren Umgang mit Diacetyl (Cavalcanti et al. 2012). Die Expositions-Konzentrationen wurden nicht angegeben.

Im Sputum von hoch belasteten Beschäftigten einer Popcorn-produzierenden Firma (ca. 0,03–18 ml Diacetyl/m<sup>3</sup>) fand sich eine deutlich höhere Anzahl an Neutrophilen als bei den Beschäftigten mit niedriger Exposition (ca. 0,004–0,04 ml Diacetyl/m<sup>3</sup>). Das OR einer erhöhten Neutrophilenanzahl betrug 3,8 (95%-KI: 1,3–11,5). Interleukin-8 und die eosinophile kationische Protein-Konzentration waren im Sputum bei den höher belasteten Beschäftigten ebenfalls erhöht (p<0,05). Erhöhte Neutrophilen-Werte korrelierten jedoch nicht mit dem Auftreten von Atemwegsobstruktionen bei den Beschäftigten (Akpinar-Elci et al. 2005).

Eine Reihe weiterer Erkrankungen mit Atemwegsobstruktionen sind nach Diacetyl-Expositionen beobachtet worden. Dazu gehören Asthma, Bronchitis, chronisch obstruktive Lungenerkrankungen mit und ohne Emphysem, exogen allergische Alveolitis und Lungenentzündungen. Die Korrelationen dieser Erkrankungen mit einer Diacetyl-Exposition zeigen jedoch verglichen mit dem Auftreten der Bronchiolitis obliterans eine niedrigere Signifikanz (European Commission 2013).

**Fazit**

Die vorliegenden Studien zeigen eine signifikante Korrelation zwischen einer Diacetyl-Exposition und dem Auftreten der schweren Erkrankung Bronchiolitis obliterans auf. Aus zwei Studien können NOAEL einer kumulativen Diacetyl-Exposition von  $0,65 \text{ ml/m}^3 \times \text{Jahr}$  und  $0,8 \text{ ml/m}^3 \times \text{Jahr}$ , bezogen auf die forcierte Einsekundenkapazität und obstruktive Ventilationsstörungen, abgeleitet werden (Kreiss et al. 2002; Lockey et al. 2009). Die Senkung der Diacetyl-Belastung führte nicht zu einer Abnahme der bisher aufgetretenen Lungeneffekte, d.h. der durch Diacetyl verursachte Lungenschaden ist irreversibel (Kanwal et al. 2011). Das Auftreten von Spitzenexpositionen ist in verschiedenen Studien beschrieben, jedoch nicht quantifiziert. Ein Einfluss auf das Auslösen der Erkrankung Bronchiolitis obliterans ist daher zu vermuten (ACGIH 2012). Studien zeigen, dass das verwendete Messverfahren NIOSH 2557 die Diacetyl-Luftkonzentrationen unterschätzt, ohne dass ein fester Korrekturfaktor abgeleitet werden kann (Ashley et al. 2008; Cox-Ganser et al. 2011; s. auch Abschnitt 4 „Messanalytik“).

**4.3 Wirkung auf Haut und Schleimhäute**

Ein 48-stündiger Epikutantest mit 2% Diacetyl in Vaseline führte bei 29 Versuchspersonen zu keinen irritativen Reaktionen (k. w. A.; European Commission 2013; NTP 2007).

Beschäftigte eines Betriebes, die Popcorn mit Butteraroma herstellen, klagten über Augen-, Haut- und nasale Reizwirkungen. Die Diacetyl-Raumluftkonzentrationen betragen bis zu  $98 \text{ ml/m}^3$  (Kanwal und Martin 2003; Kanwal 2003; Kreiss et al. 2002; NTP 2007). Bereits bei  $1,1 \text{ ml/m}^3$  wurden in einem weiteren Betrieb Reizwirkungen von den Beschäftigten angegeben (k. w. A.; Kanwal und Martin 2003; NTP 2007). Die Absenkung der Diacetyl-Konzentrationen in der Raumluft von  $57 \text{ ml/m}^3$  im Jahr 2000 auf  $1,6 \text{ ml/m}^3$  im Jahr 2003 führte zu einer statistisch signifikanten Abnahme der Reizwirkungen auf Augen, Nase und Rachen (siehe Tabelle 2; Kanwal et al. 2011).

Eine sensorische Irritation wird beim Menschen ab einer Konzentration von  $20 \text{ ml Diacetyl/m}^3$  erwartet. Da bereits bei niedrigeren Konzentrationen Fälle von Bronchiolitis obliterans auftraten, stellt das Vermeiden einer sensorischen Reizwirkung keinen Schutz dar (Kreiss et al. 2002; Larsen et al. 2009).

**4.4 Allergene Wirkung**

Lediglich in drei älteren Publikationen finden sich Angaben zu einer kontaktsensibilisierenden Wirkung von Diacetyl: Bei einer Patientin mit ödematöser Gesichts- und Handdermatitis nach Anwendung eines Parfums, rezidierten die Hautreaktionen bei dessen Verwendung, vor allem auf den Hautstellen, die direkt damit betupft wurden. Trotz Meidung des Parfums traten ähnliche Reaktionen auf, die die Patientin in Zusammenhang mit Expositionen gegen Tabakrauch, Holzrauch und Kaffee brachte. Bei der Patientin wurde ein Epikutantest mit „nur sehr wenig“ Diacetyl auf einem angefeuchteten  $1 \text{ cm}^2$  großen Läppchen durchgeführt (k. w. A.). Während vier Kontrollpersonen

## 22 Diacetyl

auf eine entsprechende Testung keine Reaktion zeigten, trat bei der Patientin bereits nach zwei Stunden eine heftige Reaktion auf, die sie dazu veranlasste, das Testläppchen zu entfernen. Dennoch dehnte sich die Reaktion im weiteren Verlauf unter Exazerbation aus und persistierte mehrere Tage (Schirren 1951).

Der zweite Fall betrifft einen Koch und Konditor, bei dem drei bis vier Wochen nach Aufnahme einer Tätigkeit in einem Betrieb zur Herstellung von Süßwaren ekzematös-vesikuläre Hautveränderungen an den Fingerinnenseiten der rechten Hand auftraten. Diese rezidierten in den folgenden fünf bis sieben Monaten arbeitsabhängig und korrelierten mit dem Kontakt zu einem Aroma-Gemisch, das von ihm zur Herstellung von Sahnebonbons abgefüllt wurde. Im Epikutantest zeigte sich bei dem Beschäftigten, nicht aber bei fünf Kontrollpersonen mit Ekzem, nach 24 und 48 Stunden eine zweifach bzw. vierfach positive Reaktion auf eine 10%ige Zubereitung (Vehikel n. a.) des Aroma-Gemisches aus Cumarin, Diacetyl, Vanillin und Alkohol. Eine weitere Epikutantestung mit einer 1%igen Diacetyl-Zubereitung (Vehikel n. a.) ergab nach 24 und 48 Stunden jeweils eine dreifach positive Reaktion. Keine Reaktion trat bei 60 Kontrollpersonen auf, von denen 16 ein Kontaktekzem aufwiesen (Schirren und Schulz 1953).

Zwischen 1950 und 1969 waren in der Universitätsklinik von Bratislava einer unvollständig dokumentierten Zusammenstellung zufolge acht Fälle von Kontaktekzem durch den beruflichen Kontakt mit Aromastoffen bedingt. Einer dieser acht Patienten zeigte im 24-stündigen Epikutantest mit einer unverdünnten Diacetyl-haltigen „Creme-Aroma“-Zubereitung (möglicherweise unverdünntes Diacetyl) eine zweifach und sechs eine dreifach positive Reaktion. Je eine von 102 Kontrollpersonen reagierte auf diese Zubereitung ebenfalls zweifach bzw. dreifach positiv (Hegyí 1971).

Die 2%ige Zubereitung von Diacetyl in Vaseline induzierte in einem Maximierungstest an 29 Freiwilligen keine Sensibilisierung (European Commission 2013; NTP 2007).

Zur atemwegssensibilisierenden Wirkung von Diacetyl liegen keine Angaben vor.

### 4.5 Reproduktionstoxizität

Hierzu liegen keine Daten vor.

### 4.6 Genotoxizität

Hierzu liegen keine Daten vor.

### 4.7 Kanzerogenität

Hierzu liegen keine Daten vor.

## 5 Tierexperimentelle Befunde und In-vitro-Untersuchungen

### 5.1 Akute Toxizität

#### 5.1.1 Inhalative Aufnahme

Eine zweistündige Exposition gegen 191 bis 1154 ml Diacetyl/m<sup>3</sup> führte bei BALB/cJ-Mäusen zu einer konzentrationsabhängigen Reizwirkung im gesamten Atemtrakt. Eine Benchmark-Berechnung führte zu einem NAEL von 100 ml Diacetyl/m<sup>3</sup>. Eine dreißigminütige Exposition gegen 555 ml Diacetyl/m<sup>3</sup> am darauffolgenden Tag zeigte bei BALB/cJ-Mäusen eine Abnahme der sensorischen Wahrnehmung, die mit höheren Expositionen des Vortages korrelierte. Es kam also zu einer konzentrationsabhängigen Desensibilisierung (Larsen et al. 2009).

Die Vier-Stunden-LC<sub>50</sub> von Diacetyl-Dampf lag bei weiblichen und männlichen Wistar-Ratten zwischen 2250 und 5200 mg/m<sup>3</sup> (639 und 1477 ml/m<sup>3</sup>). Als Symptome der höchsten eingesetzten Konzentration von 23 900 mg/m<sup>3</sup> (6788 ml/m<sup>3</sup>) wurden Atelektase und Ödeme in der Lunge, Bronchialödeme und Hydrothorax beschrieben. Die mikroskopische Untersuchung der Lunge zeigte ab 5200 mg/m<sup>3</sup> Hyperämie, mäßige Emphyse, zentrilobuläre Hypertrophie der Hepatozyten und degenerative Veränderungen und Nekrosen in den renalen proximalen Tubuluszellen (European Commission 2013; NTP 2007).

Die sechsstündige Exposition mit Dämpfen eines erhitzten, artifiziellen, Diacetyl enthaltenden Buttergeschmacksstoffes führte bei Hla:(SD)CVF-Ratten zu extensiven Schäden am respiratorischen System. Bei einer Konzentration von 285–371 ml Diacetyl/m<sup>3</sup> im eingesetzten Buttergeschmacksstoff wurde eine multifokale, nekrotisierende Bronchitis in den Stammbronchien ohne Beteiligung der Alveolen diagnostiziert. Gehalte von 203–371 ml Diacetyl/m<sup>3</sup> aus erhitzten artifiziellen Buttergeschmacksstoffen führten zu einer nekrosuppurativen Rhinitis und Entzündungen in allen Bereichen der Nasenhöhle (vier Schnittebenen). In den hinteren beiden Schnittebenen (T3 und T4) zeigten sich Nekrosen und Entzündungen ausschließlich im Nasopharynx (Hubbs et al. 2002).

Nach Inhalation (Ganzkörper-Exposition) von 224 bis 365 ml Diacetyl/m<sup>3</sup> (Reinstoff), kontinuierlich sechs Stunden lang oder über eine viermalige Puls-Exposition verteilt über sechs Stunden, zeigte die Nekropsie bei Hla:(SD)CVF-Ratten 18 bis 20 Stunden später Nekrosen des Nasenepithels und Entzündungen in der Nase, dem Larynx, der Luftröhre und den Bronchien. Bei der niedrigsten Konzentration von 224 ml Diacetyl/m<sup>3</sup> wurden Entzündungen nur in der Luftröhre und dem Larynx beobachtet. In den Bronchien zeigten sich erst ab 295 ml/m<sup>3</sup> Effekte. Auch eine einmalige 15-minütige Exposition gegen 1800 ml Diacetyl/m<sup>3</sup> (Expositionsspitze: 1949 ml/m<sup>3</sup>, Sechs-Stunden-Mittelwert: 92,9 ml/m<sup>3</sup>) führte zu Effekten am Nasenepithel. Damit traten sowohl bei der kontinuierlichen als auch der Puls-Exposition Schäden am Epithel auf. Bei allen Expositionen zeigte sich, dass das Nasenepithel den empfindlichsten Endpunkt darstellt. Die Autoren schließen aus dieser Studie, dass die NOAEL unterhalb von 92,9 ml/m<sup>3</sup> liegt (Hubbs et al. 2008).

Nach einer sechsstündigen Inhalation (Ganzkörper-Exposition) mit 240 ml Diacetyl/m<sup>3</sup> zeigten männliche Hla:(SD)CVF-Ratten nekrotisierende Rhinitis und Läsionen der Tra-

## 24 Diacetyl

chea. Effekte auf die Bronchien hatten je ein Tier der Kontrollgruppe und der Gruppe exponierter Tiere. In dieser Studie wurden die Effekte von Diacetyl und 2,3-Pentandion verglichen (Hubbs et al. 2012).

Eine sechsstündige Inhalation von 99, 198 oder 295 ml Diacetyl/m<sup>3</sup> (349, 697 oder 1039 mg/m<sup>3</sup>) führte bei männlichen Ratten ab 198 ml Diacetyl/m<sup>3</sup> zu signifikant erhöhtem Auftreten von Nekrosen des nasalen Epithels. In der höchsten Konzentration traten auch Nekrosen der Luftröhre auf. In der Lunge wurden keine signifikanten Effekte beobachtet (k. w. A.; NTP 2007).

### 5.1.2 Orale Aufnahme

Die orale LD<sub>50</sub> betrug 1580 mg Diacetyl/kg KG für Ratten, 250 mg Diacetyl/kg KG für Mäuse und 990 mg Diacetyl/kg KG für Meerschweinchen (European Commission 2013). In einer anderen Quelle wird für Ratten ein LD<sub>50</sub>-Wert zwischen 3000 (weibliche Tiere) und 3400 (männliche Tiere) mg Diacetyl/kg KG beschrieben. Als Symptome wurden Krämpfe, verstärkter Speichelfluss, erweiterte Blutgefäße und eine reduzierte motorische Aktivität beobachtet. Sehr hohe Dosen an Diacetyl führten direkt nach der Gabe zum Tod der Tiere (Colley et al. 1969).

Eine einmalige intragastrale Gabe von 500, 1000 oder 1500 mg Diacetyl/kg KG an männliche F344-Ratten führte in Zellen der Mukosa aus Rattenmägen zu einem dosisabhängigen Anstieg der Aktivität der Ornithin-Decarboxylase und erreichte nach 16 Stunden ein Maximum. Die Aktivität der Ornithin-Decarboxylase stellt den geschwindigkeitsbestimmenden Schritt in der Polyamin-Synthese dar. Polyamine fördern das Zellwachstum (Furihata und Matsushima 1987).

### 5.1.3 Dermale Aufnahme

Ein dermaler LD<sub>50</sub>-Wert liegt bei Kaninchen bei >5000 mg Diacetyl/kg KG (k. w. A.; Opdyke 1979).

### 5.1.4 Intraperitoneale Aufnahme

Die intraperitoneale Gabe von Diacetyl ergab einen LD<sub>50</sub>-Wert von 640 mg/kg KG bei weiblichen und 400 mg/kg KG bei männlichen Ratten. Als Symptome wurden Krämpfe, verstärkter Speichelfluss, erweiterte Blutgefäße und eine reduzierte motorische Aktivität beobachtet (Colley et al. 1969). Der LD<sub>50</sub>-Wert nach intraperitonealer Gabe lag bei Mäusen bei 249 mg Diacetyl/kg KG (NTP 1994 a).

### 5.1.5 Intratracheale Aufnahme

Die intratracheale Instillation von 200 µl eines Diacetyl/Wasser-Gemisches mit einer Konzentration 125 mg/kg KG führte bei SD-Ratten innerhalb von sieben Tagen zu extensiven intraluminalen Fibrosen, steigenden Atemwegwiderständen und erhöhten Neutrophilenzahlen in der Lungenflüssigkeit. Die beobachteten Symptome bestätigen nach Meinung der Autoren das Auslösen einer Bronchiolitis obliterans durch Diacetyl (Palmer et al. 2011).

## 5.2 Subakute, subchronische und chronische Toxizität

### 5.2.1 Inhalative Aufnahme

Die Ganzkörper-Exposition bei männlichen C57BL/6-Mäusen mit 0 (n=7), 200 (n=10) oder 400 (n=15) ml Diacetyl/m<sup>3</sup> an fünf Tagen führte zu schweren, konzentrations-abhängigen Veränderungen im nasalen Epithel, dem Larynx und der oberen Atemwege. Die Exposition gegen Konzentrationen von 0, 100, 200 oder 400 ml Diacetyl/m<sup>3</sup> von täglich einer Stunde pro Tag, über einen Zeitraum von zwei oder vier Wochen nur über die Nase, führte zu keinen Todesfällen. Die beobachtete nasale und laryngeale Toxizität war weniger ausgeprägt als bei der sechsstündigen Exposition, aber es trat eine peribronchiale lymphozytäre Entzündung auf, deren Schweregrad dosisabhängig zunahm. Die kurzzeitige Exposition gegen 1200 ml/m<sup>3</sup> zeigte die gleichen Effekte. Die Ergebnisse sind in Tabelle 3 dargestellt (Morgan et al. 2008).

Tab. 3. Toxische Effekte am respiratorischen System nach Inhalation von Diacetyl

Spezies, Stamm, Anzahl pro Gruppe	Exposition	Befunde	Literatur
<b>Maus,</b> C57BL/6 7-15 ♂	<b>5 Tage,</b> 6 h/Tag 0, 200, 400 ml/m <sup>3</sup> 6000, 12000 ml/m <sup>3</sup> × h Ganzkörper	<b>200 ml/m<sup>3</sup> (10 Tiere):</b> 2 Expositionen: 3 Tiere moribund; 3 Expositionen: 3 Tiere moribund, Dyspnoe, Hypoaktivität, KG↓; 5 Expositionen: akute nekrotisierende Rhinitis, erosive oder nekrotisierende Laryngitis; <b>400 ml/m<sup>3</sup> (15 Tiere):</b> 3 Expositionen: 3 Tiere verstorben, 9 Tiere moribund; 4 Expositionen: 4 Tiere moribund, nasale Läsionen, Futteraufnahme ↓, nekrotisierende Rhinitis, Laryngitis, Bronchitis (proximal große Bronchien)	Morgan et al. 2008
<b>Maus,</b> C57BL/6 je 5 ♂	<b>2 Wochen</b> 2 × 15 min/Tag 5 d/w 0, 1200 ml/m <sup>3</sup> 6000 ml/m <sup>3</sup> × h nur über die Nase exponiert	<b>1200 ml/m<sup>3</sup>:</b> <u>Nasale Effekte:</u> Entzündung (5/5 leicht), suppurative Exsudate (2/5 minimal), Nekrosen und Ulzerationen des resp. Epithels (3/5 minimal), vasculäre Degeneration des resp. Epithels (4/5 leicht), Metaplasien im resp. (5/5 mäßig) und olfakt. Epithel (1/5 leicht), Atrophie des olfakt. Epithels (4/5 leicht); <u>Lungeneffekte:</u> peribronchiale lymphozytäre Entzündung (5/5 mäßig), peribronchiolare lymphozytäre Entzündung (5/5 minimal-leicht)	Morgan et al. 2008
<b>Maus,</b> C57BL/6 je 5 ♂	<b>2 Wochen</b> 1 h/Tag 5 d/w 0, 100, 200, 400 ml/m <sup>3</sup> 1000, 2000, 4000 ml/m <sup>3</sup> × h nur über die Nase exponiert	<b>0 ml/m<sup>3</sup>:</b> <u>Nasale Effekte:</u> chron. Entzündung (1/5 minimal); <b>100 ml/m<sup>3</sup>:</b> <u>Nasale Effekte:</u> chron. Entzündung (5/5 leicht), Metaplasien (1/5 minimal); <u>Lungeneffekte:</u> peribronchiale lymphozytäre Entzündung (4/5 leicht), peribronchiolare lymphozytäre Entzündung (1/5 minimal); <b>200 ml/m<sup>3</sup>:</b> <u>Nasale Effekte:</u> chron. Entzündung (5/5 mäßig), suppurative Exsudate (1/5 leicht),	Morgan et al. 2008

## 26 Diacetyl

Tab. 3. Fortsetzung

Spezies, Stamm, Anzahl pro Gruppe	Exposition	Befunde	Literatur
		<p>Metaplasien (1/5 minimal); vakuoläre Degeneration des resp. Epithel (2/5 leicht);  <u>Lungeneffekte</u>: peribronchiale lymphozytäre Entzündung (5/5 leicht – mäßig);  <b>400 ml/m<sup>3</sup></b>: <u>Nasale Effekte</u>: chron. Entzündung (5/5 leicht – mäßig), suppurative Exsudate ↑ (5/5 leicht – mäßig), Nekrosen und Ulzerationen des resp. Epithels (3/4 minimal – leicht), Metaplasien resp. Epithel (4/4, schwer), vakuoläre degen. Veränderungen des resp. Epithels (4/4 minimal – leicht), vakuoläre degen. Veränderungen des olfakt. Epithels (1/3 leicht), Metaplasien im olfakt. Epithel (2/2 leicht), Atrophie des olfakt. Epithels (2/2 leicht);  <u>Lungeneffekte</u>: peribronchiale lymphozytäre Entzündung (5/5 mäßig), peribronchiolare lymphozytäre Entzündung (1/5 minimal)</p>	
<p><b>Maus,</b>            C57BL/6            je 5 ♂</p>	<p><b>4 Wochen</b>            1 h/Tag            5 d/w            0, 100, 200, 400 ml/m<sup>3</sup>            2000, 4000, 8000 ml/m<sup>3</sup>            × h            nur über die Nase exponiert</p>	<p><b>100 ml/m<sup>3</sup></b>: <u>Nasale Effekte</u>: chron. Entzündung (2/5 minimal), Metaplasien (1/5 minimal);  <u>Lungeneffekte</u>: peribronchiale lymphozytäre Entzündung (2/3 minimal);  <b>200 ml/m<sup>3</sup></b>: <u>Nasale Effekte</u>: chron. Entzündung (5/5 minimal), suppurative Exsudate (1/5 minimal), Metaplasien (5/5 minimal), Atrophie des olfakt. Epithels (1/5 minimal);  <u>Lungeneffekte</u>: peribronchiale lymphozytäre Entzündung (5/5 leicht – mäßig), peribronchiolare lymphozytäre Entzündung (1/5 minimal);  <b>400 ml/m<sup>3</sup></b>: <u>Nasale Effekte</u>: chron. Entzündung (5/5 leicht – mäßig), suppurative Exsudate ↑ (5/5 leicht – mäßig), Metaplasien des resp. Epithels (5/5, schwer), Atrophie des olfakt. Epithels (5/5 leicht – mäßig), Metaplasien des olfakt. Epithels (3/5 leicht);  <u>Lungeneffekte</u>: peribronchiale lymphozytäre Entzündung (5/5 mäßig), peribronchiolare lymphozytäre Entzündung (3/5 minimal)</p>	<p>Morgan et al. 2008</p>
<p><b>Maus,</b>            C57BL/6            je 5 ♂</p>	<p><b>6 Wochen</b>            6 h/Tag            5 d/w            0, 25, 50, 100 ml/m<sup>3</sup>            4500, 9000, 18000 ml/m<sup>3</sup> × h            Ganzkörper</p>	<p><b>0 ml/m<sup>3</sup></b>: <u>Nasale Effekte</u>: Entzündung (2/5 minimal);  <u>Lungeneffekte</u>: peribronchiolare lymphozytäre Entzündung (2/5 minimal);  <b>25 ml/m<sup>3</sup></b>: <u>Nasale Effekte</u>: Entzündung (2/4 minimal – leicht), suppurative Exsudate (2/4 minimal), Metaplasien im resp. Epithel (1/4 minimal);  <u>Lungeneffekte</u>: peribronchiale lymphozytäre Entzündung (3/5 minimal);</p>	<p>Morgan et al. 2008</p>

Tab. 3. Fortsetzung

Spezies, Stamm, Anzahl pro Gruppe	Exposition	Befunde	Literatur
		<p><b>ab 50 ml/m<sup>3</sup>:</b> <u>Nasale Effekte:</u> Entzündung (4/5 minimal – leicht), suppurative Exsudate (4/5 minimal), Nekrosen und Ulzerationen des resp. Epithel (2/5 minimal), Metaplasien im resp. und olfakt. Epithel (3/5 leicht – mäßig), Atrophie des olfakt. Epithels (4/5 leicht);</p> <p><u>Lungeneffekte:</u> peribronchiale lymphozytäre Entzündung (5/5 minimal – leicht), bronchiale epitheliale Atrophie und Denudation (1/5 minimal), peribronchiolare lymphozytäre Entzündung (1/5 minimal);</p> <p><b>100 ml/m<sup>3</sup>:</b> <u>Nasale Effekte:</u> alle Effekte verstärkt;</p> <p><u>Lungeneffekte:</u> peribronchiale lymphozytäre Entzündung (5/5 mäßig), bronchiale epitheliale Atrophie und Denudation (5/5 mäßig), bronchiale epitheliale Regeneration (5/5 mäßig), peribronchiolare lymphozytäre Entzündung (3/5 minimal)</p>	
<p><b>Maus,</b> C57BL/6 je 5 ♂</p>	<p><b>12 Wochen</b> 6 h/Tag 5 d/w 0, 25, 50,100 ml/m<sup>3</sup> 4500, 9000, 18000 ml/m<sup>3</sup> × h Ganzkörper</p>	<p><b>0 ml/m<sup>3</sup>:</b> <u>Nasale Effekte:</u> Entzündung (1/5 minimal);</p> <p><u>Lungeneffekte:</u> –;</p> <p><b>25 ml/m<sup>3</sup>:</b> <u>Nasale Effekte:</u> Entzündung (4/5 minimal – leicht), Metaplasien im resp. Epithel (2/5 minimal);</p> <p><u>Lungeneffekte:</u> peribronchiale lymphozytäre Entzündung (2/5 minimal);</p> <p><b>ab 50 ml/m<sup>3</sup>:</b> <u>Nasale Effekte:</u> Entzündung (5/5 minimal – leicht), suppurative Exsudate (5/5 leicht), Nekrosen und Ulzerationen des resp. Epithels (1/5 minimal), Metaplasien im resp. und olfakt. Epithel (4/5 minimal bis leicht), Atrophie des olfakt. Epithels (5/5 minimal–leicht);</p> <p><u>Lungeneffekte:</u> peribronchiale lymphozytäre Entzündung (4/5 minimal–leicht);</p> <p><b>ab 100 ml/m<sup>3</sup>:</b> <u>Nasale Effekte:</u> alle Effekte verstärkt;</p> <p><u>Lungeneffekte:</u> peribronchiale lymphozytäre Entzündung (5/5 mäßig), bronchiale epitheliale Atrophie und Denudation (5/5 mäßig), bronchiale epitheliale Regeneration (5/5 mäßig), peribronchiolare lymphozytäre Entzündung (3/5 minimal – leicht)</p>	<p>Morgan et al. 2008</p>
<p><b>Maus,</b> C57BL/6 je 5 ♂</p>	<p><b>12 Wochen</b> 6 h/Tag 5 d/w 0, 25, 50,100 ml/m<sup>3</sup> 4500, 9000, 18000 ml/m<sup>3</sup> × h Ganzkörper</p>	<p><b>0 ml/m<sup>3</sup>:</b> <u>Nasale Effekte:</u> –;</p> <p><u>Lungeneffekte:</u> peribronchiale lymphozytäre Entzündung (3/5 minimal);</p> <p><b>25 ml/m<sup>3</sup>:</b> <u>Nasale Effekte:</u> Entzündung (2/5 minimal), Metaplasien im resp. Epithel (1/5 minimal); Metaplasien im olfakt. Epithel (1/5 minimal), Atrophie des olfakt. Epithels (1/5 minimal);</p>	<p>Morgan et al. 2008</p>

## 28 Diacetyl

Tab. 3. Fortsetzung

Spezies, Stamm, Anzahl pro Gruppe	Exposition	Befunde	Literatur
	<b>6 Wochen Nachbeobachtungszeit</b>	<p><u>Lungeneffekte:</u> peribronchiale lymphozytäre Entzündung (1/5 leicht);</p> <p><b>ab 50 ml/m<sup>3</sup>:</b> <u>Nasale Effekte:</u> Entzündung (4/5 minimal – leicht), Metaplasien im olfakt. Epithel (4/5 minimal – leicht), Atrophie des olfakt. Epithels (3/5 minimal);</p> <p><u>Lungeneffekte:</u> peribronchiale lymphozytäre Entzündung (4/5 minimal – leicht);</p> <p><b>ab 100 ml/m<sup>3</sup>:</b> <u>Nasale Effekte:</u> alle Effekte verstärkt; zusätzlich suppurative Exsudate (3/5 leicht), Metaplasien im resp. Epithel (4/5 minimal);</p> <p><u>Lungeneffekte:</u> peribronchiale lymphozytäre Entzündung (5/5 mäßig), bronchiale epitheliale Atrophie (3/5 minimal), bronchiale epitheliale Regeneration (5/5 leicht), peribronchiolare lymphozytäre Entzündung (2/5 minimal)</p>	

Je 25 männliche C57BL/6-Mäuse wurden gegen Diacetyl-Konzentrationen von 0, 25, 50 oder 100 ml/m<sup>3</sup> Ganzkörper-exponiert, wobei durch einen 40°C warmen Luftstrom vermehrt Diacetyl in die Dampfphase überführt wurde. Vor dem Einleiten in die Expositionskammer wurden Aerosole durch Impaktierung entfernt. Unter den gewählten Expositionsbedingungen überlebten alle Tiere. In den beiden höheren Dosisgruppen traten entzündliche Veränderungen, Metaplasien und Atrophien im nasalen Epithel auf. Die nasalen Läsionen waren bei den 12 Wochen lang exponierten Tieren deutlich stärker ausgeprägt als nach sechswöchiger Exposition, aber nach sechs Wochen Nachbeobachtungszeit deutlich reduziert. Minimale bis leichte Effekte im nasalen Epithel wurden auch in der 25-ml/m<sup>3</sup>-Dosisgruppe diagnostiziert. Peribronchiale lymphozytäre Entzündungen wurden nach der zwölfwöchigen Exposition in den beiden höchsten Dosisgruppen beobachtet. In der gegen 25 ml/m<sup>3</sup> exponierten Gruppe traten bei zwei von fünf Mäusen peribronchiale lymphozytäre Entzündungen auf, die jedoch in ihrer Ausprägung nur minimal waren und nicht durch epitheliale Atrophien oder Denudation begleitet waren. Die Läsionen in den Lungen in der Gruppe der sechs Wochen und der Gruppe der zwölf Wochen lang exponierten Tiere unterschieden sich kaum und bestanden auch in der Nachbeobachtungszeit. In Tabelle 3 sind die Untersuchungsergebnisse aufgeführt (Morgan et al. 2008).

Die NOAEC für die peribronchiolare lymphozytäre Entzündung betrug 25 ml/m<sup>3</sup> und die LOAEC 50 ml/m<sup>3</sup>. Für die nasalen Effekte lag die NOAEC unterhalb einer Expositions-Konzentration von 25 ml/m<sup>3</sup>. Aufgrund der minimalen nasalen Effekte bei 25 ml/m<sup>3</sup> kann dieser Wert als LOAEC angesehen werden. Daher ergibt sich aus dieser Studie keine NOAEC.

In der Tabelle 4 sind die berechneten  $c \times t$ -Produkte mit den assoziierten Effekten nach den Daten der Studie von Morgan et al. (2008) dargestellt.

Tab. 4. Berechnung der  $c \times t$ -Produkte und der assoziierten Effekte nach den Daten der Studie von Morgan et al. (2008)

$c \times t$ -Produkt	Expositionsdauer	Konz. ml/m <sup>3</sup>	Stunden/Tag	Entzündung (Lunge)	
				peribronchiale	peribronchiolare
1000	2 Wochen	100	1	4/5 leicht	1/5 minimal
2000	2 Wochen	200	1	5/5 leicht bis mäßig	–
2000	4 Wochen	100	1	2/3 minimal	–
2400	bis zu 1 Woche	200	6	moribund	
4000	2 Wochen	400	1	5/5 mäßig	1/5 minimal
4000	4 Wochen	200	1	5/5 leicht – mäßig	1/5 minimal
4500	6 Wochen	25	6	3/5 minimal	–
6000	2 Wochen	1200	0,5	5/5 mäßig	5/5 minimal – leicht
7200	bis zu 1 Woche	400	6	moribund	
8000	4 Wochen	400	1	5/5 mäßig	3/5 minimal
9000	6 Wochen	50	6	5/5 minimal – leicht	1/5 minimal
9000	12 Wochen	25	6	2/5 minimal	–
18000	6 Wochen	100	6	5/5 mäßig	3/5 minimal
18000	12 Wochen	50	6	4/5 minimal – leicht	–
36000	12 Wochen	100	6	5/5 mäßig	3/5 minimal – leicht

Tabelle 4 zeigt, dass sich bei gleichem  $c \times t$ -Produkt die Konzentration stärker auswirkt als die Zeit. Das  $c \times t$ -Produkt allein ist nicht für die Wirkungsstärke entscheidend. Kurze hohe Expositionen sind schädlicher als niedrige längere.

Die Autoren kommen zu der Schlussfolgerung, dass das Muster der Effekte und Schädigungen bei den Mäusen nach hohen Diacetyl-Expositionen mit den Merkmalen der Erkrankung Bronchiolitis obliterans beim Menschen vergleichbar ist (Morgan et al. 2008).

Diese Schlussfolgerung wird von anderen Autoren in Frage gestellt, die in den gewählten Expositionsbedingungen keine Relevanz für die am Arbeitsplatz auftretenden Bedingungen sehen. Zudem wird darauf hingewiesen, dass die durch Diacetyl ausgelösten Schäden bei Mäusen auf das nasale und respiratorische Epithel begrenzt sind und nicht zu obstruktiven Lungenerkrankungen oder Schäden in den tiefen Regionen der Lunge führen. Diese Autoren schließen aus den beobachteten Effekten, dass das Auftreten von Bronchiolitis obliterans beim Menschen durch eine andere Substanz ausgelöst wurde (Finley et al. 2008).

Die in Abschnitt 3.2 dargestellten toxikokinetischen Daten tragen zur Erklärung der Speziesunterschiede in Bezug auf die Lunge bei (Gloede et al. 2011).

## 30 Diacetyl

### 5.2.2 Orale Aufnahme

Männliche und weibliche SPF-CFE-Ratten erhielten mit der Schlundsonde 90 Tage lang 0, 10, 30, 90 oder 540 mg Diacetyl/kg KG und Tag. In den drei niedrigen Dosisgruppen wurden keine adversen Effekte beobachtet. In der Gruppe mit der höchsten Gabe von 540 mg Diacetyl/kg KG und Tag zeigten sich reduzierte Körpergewichtszunahmen, erhöhter Wasserverbrauch, erhöhte Leukozytenzahlen im Blut und Organgewichtszunahmen von Leber, Nieren, Nebennieren und Hypophyse. Makroskopisch und mikroskopisch wurde eine schwere Reizung der glandulären und nicht glandulären Teile des Magens beobachtet (Colley et al. 1969). Der NOAEL betrug in dieser Untersuchung 90 mg Diacetyl/kg KG und Tag.

### 5.2.3 Dermale Aufnahme

Hierzu liegen keine Untersuchungen vor.

## 5.3 Wirkung auf Haut und Schleimhäute

### 5.3.1 Haut

Das Aufbringen von unverdünntem Diacetyl auf die intakte oder rasierte Haut von Kaninchen unter okklusiven Bedingungen führte zu schweren Reizwirkungen (NTP 1994 a).

### 5.3.2 Auge und Schleimhäute

Das Einbringen von unverdünntem Diacetyl in das Kaninchenauge führte zu schweren Schädigungen der Hornhaut und der Konjunktiven, die sich nach 21 Tagen noch nicht zurückgebildet hatten (European Commission 2013; NTP 1994 a).

Inhalierter Diacetyl zeigte keine Wirkung auf die nach der Isolierung mit Metacholin behandelte Schleimhaut in isolierten, perfundierten Trachea-Präparationen von männlichen Sprague-Dawley-Ratten (Zaccone et al. 2013).

## 5.4 Allergene Wirkung

In einer Publikation werden Untersuchungen im Local Lymph Node Assay (LLNA) an BALB/c-Mäusen mit Diacetyl und drei anderen  $\alpha,\beta$ -Dicarbonyl-Verbindungen beschrieben. Als Vehikel diente ein 4:1-Gemisch aus Aceton und Olivenöl. Für Diacetyl wurde dabei für die Konzentration, die zu einer Verdreifachung der Lymphozytenproliferation führte (EC<sub>3</sub>-Wert), eine Konzentration von 1,9% ermittelt. Für Glycolaldehyd, Glyoxal und Methylglyoxal waren es mit 1,8%; 0,74% bzw. 0,42% ähnlich geringe Werte. In einem separaten Experiment wurde, gemessen an der Zunahme der Ohrdicke, auch die irritative Wirkung der vier Substanzen untersucht, wobei sich alle, außer Glyoxal (getestet bis 1,5%) als irritativ erwiesen (Diacetyl ab 2,5%; Glycolaldehyd ab 0,8%; Methylglyoxal ab 0,5%). Nach topischer Applikation stieg im Mäusemodell der prozentuale Anteil an B220<sup>+</sup>-Zellen in den Lymphknoten im Vergleich zur Vehikel-

Applikation deutlich an. Dies deutet den Autoren zufolge darauf hin, dass Diacetyl ein kontaktsensibilisierendes Potential aufweist (Anderson et al. 2007).

Sowohl in früheren Untersuchungen an CBA/J-Mäusen (Roberts et al. 1999) als auch in neueren Untersuchungen an BALB/c-Mäusen (NTP 2012) führte Diacetyl in einer Konzentration zwischen 10 und 25% zu einer Verdreifachung der Lymphozytenproliferation. In der NTP-Studie war Diacetyl bis zu einer Konzentration von 25% nicht irritativ. Diese Ergebnisse deuten auf ein eher gering ausgeprägtes kontaktallergenes Potential des Diacetyls hin.

Die negativen Ergebnisse eines orientierenden, nicht validierten In-vitro-Modells mit künstlicher Haut aus Keratinozyten-Kulturen (McKim et al. 2012) sind derzeit hinsichtlich einer sensibilisierenden Wirkung des Diacetyl nicht bewertbar.

Von einer Autorengruppe wurden die für Diacetyl mit dem LLNA ermittelten EC<sub>3</sub>-Werte anhand einer modellhaften mechanistischen Berechnung überprüft. Das wurde primär für Aldehyde und Ketone erstellt, die mit Aminen zu Schiffsbasen reagieren können und berücksichtigt induktive elektronische Effekte („Taft“  $\sigma^*$ -Werte) der Substituenten an den jeweiligen reaktiven Zentren sowie anhand des Verteilungskoeffizienten im System Octanol/Wasser auch die Polarität des betrachteten Moleküls (Dworak et al. 2013; Patlewicz et al. 2003). Der „theoretische“ nach diesem Modell für Diacetyl errechnete EC<sub>3</sub>-Wert entspricht weitgehend den beiden höheren der experimentell ermittelten Werte (Dworak et al. 2013).

Diacetyl kann mit Cystein unter Bildung cyclischer Produkte wie Thiazol, Thiazolin, Oxazol und Pyrazin (Marchand et al. 2011) reagieren und auch Protein-Protein-Crosslinks bewirken (Kovacic und Cooksy 2010). Unter In-vitro-Bedingungen zeigte Diacetyl, wie auch einige andere Substanzen mit geringem kontaktallergenen Potential (z. B. Benzylbenzoat), eine sehr geringe Reaktivität gegenüber Glutathion, jedoch eine deutlich höhere gegen Lysin und insbesondere gegenüber Cystein (Gerberick et al. 2007).

Abschätzungen zu Struktur-Wirkungsbeziehungen (SAR) mittels der Algorithmen der Programme TOPKAT und DEREK sowie mit einer logistischen Regressionsanalyse des NIOSH sagten nur im Falle von DEREK ein mögliches (siehe Fedorowicz et al. 2005) sensibilisierendes Potential von Diacetyl vorher. Von den übrigen drei oben genannten Substanzen wurde nur für Glyoxal von allen drei Modellen ein kontaktsensibilisierendes Potential vorhergesagt. Die Autoren postulieren zwar eine Reaktion des Diacetyls mit Arginin-Resten in Proteinen als Ursache einer möglichen kontaktallergenen Wirkung, schränken aber selbst ein, dass Aldehyd-Gruppen die höhere Reaktivität zukommt (Anderson et al. 2007). In einigen (anderen) (QSAR-Modellen) wurde für Diacetyl ein schwaches kontaktallergenes Potential vorhergesagt (z. B. Li et al. 2007 a, b).

Zur atemwegssensibilisierenden Wirkung liegt lediglich eine In-vivo-Untersuchung vor, in der die topische Applikation bei Mäusen zu keinem konzentrationsabhängigen Anstieg des Gesamt-IgE führte (Anderson et al. 2007).

Des Weiteren wurde die In-vitro-Reaktivität des Diacetyls gegenüber einem „harten Nukleophil“ ermittelt und unter „Konkurrenz-Bedingungen“ mit der des bekannten Atemwegsallergens Toluylendiisocyanat verglichen. Sowohl in Reaktionsgemischen, die allein Diacetyl und n-Butylamin enthielten, als auch in Gemischen, die neben Diacetyl und n-Butylamin auch Toluylendiisocyanat enthielten, konnte im <sup>1</sup>H-Kernresonanzspektrum nach 1,5 Stunden bzw. 5 und 20 Minuten kein Diacetyl-Butylamin-

## 32 Diacetyl

Addukt nachgewiesen werden. Unter der Annahme, dass das Diacetyl-Butylamin-Addukt maximal in Höhe der Nachweisgrenze gebildet wird, errechneten die Autoren für die relativen Reaktionsgeschwindigkeiten des Diacetyls und des Toluylendiisocyanats ein Verhältnis von etwa 1:190 bzw. weniger als 1:400. Dieser Unterschied in der Reaktivität der beiden Substanzen ist damit ähnlich hoch wie der Unterschied in den EC<sub>3</sub>-Werten. Die Autoren schlossen daraus, dass Toluylendiisocyanat unter diesen Bedingungen keine geeignete Referenzsubstanz ist, da Diacetyl nach einem anderen Mechanismus reagieren dürfte, folgerten aber auch, dass die Substanz wegen der geringen In-vitro-Reaktivität und der geringen Aktivität im LLNA kein Atemwegsallergen darstellen könne (Dworak et al. 2013). Die Übertragbarkeit auf die In-vivo-Verhältnisse unter protischen Bedingungen ist jedoch fraglich.

Diacetyl reagiert in vitro auch mit der Guanidinogruppe des Arginin und bildet dabei sowohl offenkettige als auch cyclische Addukte. Eine derartige In-vivo-Modifikation von Arginin-Gruppen stellt eine potentielle Hapten-Bildung dar, und es wurde diskutiert, dass die Reaktion an Proteinen der Zellmembranen und die resultierende Immunantwort möglicherweise an der Ätiologie der Bronchiolitis obliterans beteiligt sein könnte (Mathews et al. 2010).

## 5.5 Reproduktionstoxizität

### 5.5.1 Fertilität

Hierzu liegen keine Daten vor.

### 5.5.2 Entwicklungstoxizität

Die Gabe von 0, 16, 74, 345 oder 1600 mg einer 90%igen Diacetylösung/kg KG per Schlundsonde an Syrische Hamster (n=25–27), CD-1 Mäuse (n=21–24) und Wistar-Ratten (n=21–23) vom 6. bis zum 10. Gestationstag bei den Hamstern und vom 6. bis zum 15. Gestationstag bei Mäusen und Ratten führte zu keinen Effekten. Es wurden Maternaltoxizität, Körpergewicht, Reproduktionsparameter sowie fötales Überleben und externale, skelettale und viszerale Missbildungen untersucht (WHO 1999).

## 5.6 Genotoxizität

### 5.6.1 In vitro

Diacetyl zeigte sich mit und ohne Zugabe eines metabolischen Aktivierungssystems mutagen in den Salmonella-Stämmen TA100, TA102, TA104 und in E. coli WP2uvrA/pKM101. Ein Test auf Induktion der SOS-Antwort in E. coli ergab keinen Hinweis auf DNA-Schäden (European Commission 2013; Bjeldanes und Chew 1979; Dorado et al. 1992; Kato et al. 1989; Marnett et al. 1985; von der Hude et al. 1988). Diacetyl war, wie auch Glyoxal, in Abwesenheit metabolischer Aktivierung in Salmonella TA100 mutagen, hingegen im Stamm TA98 nicht (Bjeldanes und Chew 1979). Die mutagene Wirkung am Stamm TA100 wurde in weiteren Experimenten für Diacetyl

und auch für Glyoxal bestätigt (Dorado et al. 1992). Mit metabolischer Aktivierung war die mutagene Wirkung in TA100 abgeschwächt (Kato et al. 1989).

In CHO (AUXB1)-Zellen führte eine 20 bis 22-stündige Inkubation mit 125  $\mu\text{M}$  oder 250  $\mu\text{M}$  Diacetyl zu signifikant erhöhten Schwesterchromatidaustauschraten (SCE). Ein Zusatz von 1 mM Natriumbisulfid verhinderte zu einem hohen Anteil das Auftreten von SCE. Bisulfid addiert sich an Carbonylgruppen und eliminiert zum Teil deren genotoxische Wirkungen. Eine 15-stündige Inkubation mit 125  $\mu\text{M}$  oder 250  $\mu\text{M}$  Diacetyl rief eine kaum erhöhte Rate an endoreduplizierten Zellen hervor (Tucker et al. 1989).

Im TK<sup>+/-</sup>-Mutationstest mit L5178Y-Mauslymphomzellen wurde mit Diacetyl eine stark erhöhte Mutationshäufigkeit in Anwesenheit eines metabolischen Aktivierungssystems (S9) bestimmt, allerdings erst bei zytotoxischen Konzentrationen von 200  $\mu\text{g}/\text{ml}$ . Die Zunahme an kleinen Kolonien weist auf große Deletionen bzw. Chromosomenaberrationen durch Diacetyl hin. Die Autoren werten die Ergebnisse als Schädigungen am Chromosom 11, die zu einem funktionellen Verlust des Thymidin-Kinase-Lokus führen (Whittaker et al. 2008).

### 5.6.2 In vivo

Im UDS-Test (Unscheduled DNA-Synthese) zeigte sich nach einmaliger intragastraler Gabe von 500, 1000 oder 1500 mg Diacetyl/kg KG an männliche F344-Ratten in den Zellen der Pylorusmukosa aus Rattenmägen ein dosisabhängiger Anstieg der DNA-Synthese, und es wurde nach 16 Stunden ein Maximum erreicht. Wegen der fehlenden Verfügbarkeit eines Verfahrens zur Gewinnung isolierter Zellen aus der Mukosa wurde die Messung der Reparatur nicht autoradiographisch, sondern über die Bestimmung des Einbaus von <sup>3</sup>H-Thymidin in An- und Abwesenheit von N-Hydroxyharnstoff durchgeführt, um das Ausmaß der replikativen DNA-Synthese zu messen (Furihata und Matsushima 1987).

Eine einmalige intragastrale Gabe von 1500 mg Diacetyl/kg KG führte nach 5 Stunden zu einer 10-fachen und nach 16 Stunden zu einer 25-fachen (Maximum) Verstärkung der DNA-Synthese in der Magen-Mukosa von F344-Ratten (Furihata et al. 1985). Da Diacetyl im eingesetzten Dosisbereich zu einer starken Erhöhung der replikativen DNA-Synthese führte, konnten mit diesem Verfahren lediglich schwache Anhaltspunkte für eine gleichzeitige Induktion der DNA-Reparatursynthese erhalten werden (Furihata und Matsushima 1987; Furihata et al. 1985;).

Im Mikronukleustest zeigten Knochenmarkszellen nach dreimaliger intraperitonealer Diacetyl-Gabe von 0; 7,812; 15,625; 31,25; 62,5; 125; 250 oder 500 mg/kg KG und Tag im 24-stündigen Abstand an je fünf männliche B6C3F1-Mäuse pro Gruppe keinen Anstieg der Anzahl an Mikronuklei. Es ergab sich keine Veränderung des PCE- zu NCE-Verhältnisses (NTP 1994 b). In einem Test an männlichen und weiblichen B6C3F1-Mäusen bzw. Wistar-Ratten wurden nach 13-wöchiger Inhalation von 0; 6,25; 12,5; 25; 50 oder 100 ml Diacetyl/m<sup>3</sup> an 5 Tagen pro Woche ebenfalls keine Mikronuklei in peripheren Blutlymphozyten induziert (NTP 2008 a, b).

### Fazit

In vitro wirkt Diacetyl genotoxisch.

In vivo deuten die vorliegenden Daten darauf hin, dass die Genotoxizität von appliziertem Diacetyl auf lokale Wirkungen beschränkt ist.

## 5.7 Kanzerogenität

### 5.7.1 Kurzzeitstudien

In einer 24-Wochen-Studie erhielten weibliche und männliche Stamm-A/He-Mäuse drei wöchentliche intraperitoneale Injektionen von 70 oder 350 mg Diacetyl/kg KG in den ersten acht Wochen (Gesamtdosis 1,7g oder 8,4g). Die MTD von 350 mg Diacetyl/kg KG wurde als maximale Dosis des Diacetyls bestimmt, die alle Mäuse (n=5) nach sechs intraperitonealen Injektionen innerhalb von zwei Wochen tolerierten. Die eingesetzten Mengen entsprachen der MTD und einer 1:5-Verdünnung der MTD. Daten zur Körpergewichtsentwicklung wurden nicht angegeben (Stoner et al. 1973).

Tab. 5. Kurzzeitstudie zur Kanzerogenität von Diacetyl

Autor:	Stoner et al. 1973						
Stoff:	Diacetyl (Reinheit k. w. A.), in Wasser gelöst						
Spezies:	<b>Maus</b> , Stamm A/He, je 20 ♀ (Kontrollen: je 50 ♀, ♂ unbehandelt; Gruppe lief parallel zur Gruppe der Behandelten, um die Häufigkeit der spontanen Lungentumoren festzustellen; je 30 ♀, ♂ i.p. nur Wasser)						
Applikation:	intraperitoneale Injektion						
Dosis:	0, 70, 350 mg/kg KG						
Dauer:	24 Wochen, 3 Injektionen/Woche, 8 Wochen lang (= 24 Injektionen gesamt), 16 Wochen Nachbeobachtungszeit						
Toxizität:	k. w. A.						
				Versuch I	Versuch II	Versuch I	Versuch II
				Dosis (mg/kg KG)			
		unbehandelt, Parallelgruppe	Lösungsmittel Wasser	70	70	350	350
Überlebende	♀	48/50 (96%)	28/30 (93%)	19/20 (95%)	15/15 (100%)	19/20 (95%)	15/15 (100%)
	♂	46/50 (92%)	30/30 (100%)	n. u.	14/15 (93%)	n. u.	15/15 (100%)
<b>Tumoren</b>							
<b>Lunge:</b>							
Anzahl Mäuse mit ♀		8/48	10/28	8/19	0/14	13/19	6/15
Lungentumoren		(17%)	(37%)	(42%)	(0%)	(68%)*	(40%)
	♂	10/46 (22%)	8/30 (27%)	n. u.	8/15 (53%)	n. u.	6/15 (40%)
Anzahl Lungentumoren/Maus <sup>a)</sup>	♀	0,17 ± 0,02	0,37 ± 0,07	0,89 ± 0,21	0	2,00 ± 0,46*	0,53 ± 0,14
	♂	0,22 ± 0,03	0,27 ± 0,05	n. u.	0,53 ± 0,14	n. u.	0,40 ± 0,10

\*  $p < 0,05$ ; n. u.: nicht untersucht;

<sup>a)</sup> Mittelwert ± Standardabweichung

Die Daten der Kanzerogenitätsstudie an Mäusen sind in Tabelle 5 dargestellt. Für die erste Versuchsserie an weiblichen A/He-Mäusen ergab sich zwar eine dosisabhängige Steigerung der Lungentumor-Inzidenz (Trend:  $p=0,024$ ), dieser Verdacht auf Kanzerogenität bestätigte sich aber nicht in der zweiten Versuchsserie (ebenfalls an weiblichen Tieren) und auch nicht in der Serie an männlichen Tieren. Was die Multiplizität der Tumoren betrifft (quantifiziert als Anzahl milchig-weißer Knoten an der Lungenoberfläche), so war in der ersten Versuchsserie an den weiblichen Tieren ebenfalls eine dosisabhängige Steigerung zu verzeichnen, nicht aber in der zweiten Versuchsserie und ebenso wenig bei den männlichen Tieren. Die angegebenen Werte der Lungentumoren bei den Kontrolltieren passen nicht in den Kontext weiterer in dieser Studie untersuchter Stoffe, da die Kontrolltiere höhere Tumorraten aufwiesen als exponierte Tiere. Zudem ergibt sich der Verdacht, dass bei der Wiederholung des Versuchs keine Kontrolltiere mitgeführt wurden. Die MTD von 350 mg Diacetyl/kg KG, die alle fünf Mäuse nach sechs intraperitonealen Injektionen tolerierten, liegt höher als eine ermittelte  $LD_{50}$  von 249 mg/kg (siehe Abschnitt 5.1.4; NTP 1994 a). Bezüglich dieser Ergebnisse bleibt darüber hinaus festzuhalten, dass die Zunahme von Lungentumoren bei A/He-Mäusen nach Gabe von Kanzerogenen (unabhängig vom Applikationsweg) zwar ein eingeführtes, häufig benutztes Prüfsystem ist; dass dieses System jedoch nicht alle Substanzen als Kanzerogene erfasst, die in anderen Prüfansätzen eindeutig als krebserzeugend erkannt worden sind (z. B. Safrol). Die eingeschränkte Zuverlässigkeit bei intraperitonealer Substanzapplikation wird auch von den Autoren Stoner et al. (1973) selbst betont, nachdem sie 41 Nahrungsadditive und 20 Chemotherapeutika untersucht hatten. Aus den genannten Gründen sowie auch wegen mangelnder Konsistenz der mit Diacetyl erzielten Versuchsergebnisse werden die Daten von Stoner et al. (1973) nicht zur Bewertung herangezogen.

### 5.7.2 Langzeitstudien

Hierzu liegen keine Untersuchungen vor.

## 5.8 Sonstige Wirkungen

Diacetyl beschleunigt die Amyloid- $\beta$  Aggregation, bindet an Arginin aus  $\beta$ -Amyloid und inhibiert die Glyoxalase I in der humanen Neuroblastom-Zelllinie SH-SY5Y. Eine MDR1-MDCK-Zell-Monolayer, ein In-vitro-Modell der Blut-Hirn-Schranke, konnte von Diacetyl schnell durchquert werden (More et al. 2012 b). Die Autoren weisen darauf hin, dass Diacetyl somit neurotoxische Wirkungen besitzen könnte, da die beschriebenen Prozesse mit dem Auftreten der Alzheimer-Erkrankung assoziiert werden. Die Inkubation von „Ascites“-Sarkom-Zellen mit 0,001; 0,1 oder 1 mM Diacetyl (0,086; 8,6 oder 86  $\mu\text{g/ml}$ ) führte zu einer Hemmung des Zellwachstums von 37% bei der mittleren Dosis und 100% bei der hohen Dosis (NTP 2007).

## 6 Bewertung

Bei Beschäftigten in Diacetyl verarbeitenden Firmen traten Reizwirkungen an den Augen, an der Haut, in der Nase und im Rachen auf (NTP 2007).

Als kritische Effekte einer Exposition mit Diacetyl wurden subklinische Veränderungen der Lungenfunktion, Atemwegobstruktionen und Bronchiolitis obliterans beobachtet, die in einigen Fällen zum Tode führten oder eine Lungentransplantation erforderlich machten.

**MAK-Wert.** Die im Tierversuch gefundenen Effekte widersprechen zwar nicht den Lungeneffekten bei Diacetyl-belasteten Beschäftigten. Aufgrund der höheren Empfindlichkeit des Menschen wird jedoch ein Grenzwert für Diacetyl nur von den Humanen abgeleitet.

Diacetyl führt zu irreversiblen kumulativen Effekten in der Lunge, daher wird für die Bewertung der Wirkungen von einer kumulativen Exposition mit der Haberschen Regel auf 40 Jahre berufliche Expositionsdauer extrapoliert.

Aus der Studie von Kreiss et al. (2002) konnte als NOAEC eine kumulative Exposition von  $0,65 \text{ ml/m}^3 \times \text{Jahr}$  abgeleitet werden, bei der keine Wirkung auf die forcierte Einsekundenkapazität ( $\text{FEV}_1$ ) und die forcierte Vitalkapazität (FVC) von Beschäftigten beobachtet wurde. Die Extrapolation dieses Wertes auf einen Zeitraum von 40 Jahren ergibt einen Wert von  $0,016 \text{ ml/m}^3$ .

Keine Wirkung auf die forcierte Einsekundenkapazität und die Vitalkapazität und damit eine NOAEC bei einer kumulativen Exposition von  $0,8 \text{ ml/m}^3 \times \text{Jahr}$  zeigte sich in der Studie von Lockey et al. (2009). Die von Lockey et al. (2009) vorgenommene Einteilung nach unterschiedlich stark exponierten Arbeitsbereichen, führt zu einer willkürlich festgelegten Grenze. Das bedeutet, dass die tatsächliche NOAEC höher liegen kann. Aus der kumulativen Exposition von  $0,8 \text{ ml/m}^3 \times \text{Jahr}$  ergibt sich für ein 40-jähriges Arbeitsleben ein ähnlicher Wert von  $0,02 \text{ ml/m}^3$  wie aus der Studie von Kreiss et al. (2002).

Viele Messwerte der zitierten Studien lagen unterhalb der Detektionsgrenze der verwendeten NIOSH-Bestimmungs-Methode 2557. Zusammen mit dem fehlenden Berücksichtigen der Raumluftfeuchtigkeit während der Messung sowie der Verluste bei der Lagerung der Sammelröhrchen ist eine Korrektur der Messwerte erforderlich. Das bedeutet, dass die tatsächliche Exposition höher war als in den Studien angegeben wurde (Ashley et al. 2008; Cox-Ganser et al. 2011; White et al. 2010). Da es sich nicht um einen systematischen Fehler handelt, kann die Unsicherheit bei der Quantifizierung aber nicht durch einen festen Korrekturfaktor ausgedrückt werden.

Mögliche Auswirkungen von Spitzenexpositionen sind zu vermuten, können aber anhand der vorhandenen Studien nicht quantifiziert werden.

Die vorhandenen Daten ergeben eine klare Assoziation zwischen Diacetyl und der irreversiblen Erkrankung Bronchiolitis obliterans. Bei der Bronchiolitis obliterans tritt eine obstruktive Ventilationsstörung auf, die durch eine Abnahme der forcierten Einsekundenkapazität und des Quotienten aus  $\text{FEV}_1$  und FVC charakterisiert ist. Die auf 40 Arbeitsjahre extrapolierten NOAEC von  $0,016 \text{ ml Diacetyl/m}^3$  und  $0,02 \text{ ml Diacetyl/m}^3$  (Kreiss et al. 2002; Lockey et al. 2009), bei denen keine Effekte auf  $\text{FEV}_1$  und FVC beobachtet werden, führen zu einem MAK-Wert von  $0,02 \text{ ml/m}^3$ . Ein Sicherheitsabstand

zwischen dem MAK-Wert und der Auslösekonzentration für Bronchiolitis obliterans ergibt sich aus der Unterschätzung der durch die NIOSH-Bestimmungs-Methode ermittelten Diacetyl-Konzentrationen und durch die Extrapolation auf 40 Arbeitsjahre.

**Spitzenbegrenzung.** Da die Wirkung zwar an der Eintrittspforte der Lunge, aber nicht unmittelbar in Form einer Reizwirkung auftritt, erfolgt eine Zuordnung zur Kurzzeitwert-Kategorie II.

In den zitierten Studien wurde das Auftreten von Spitzenexpositionen beschrieben, jedoch weder die Expositionshöhe noch -dauer quantifiziert. Da der genaue Wirkungsmechanismus des Auslösens der irreversiblen Erkrankung Bronchiolitis obliterans nicht bekannt ist, ist auch ein Autoimmunprozess denkbar, der gegebenenfalls durch eine einmalige Exposition verursacht wird.

Um das Auslösen der Bronchiolitis obliterans durch Spitzenexpositionen zu vermeiden, wird ein Überschreitungsfaktor 1 festgelegt.

**Fruchtschädigende Wirkung.** Bei den Nachkommen von mit bis zu 1600 mg Diacetyl/kg KG per Schlundsonde behandelten weiblichen Hamstern (6.–10. Gestationstag), Mäusen oder Ratten (6.–15. Gestationstag) traten keine fetotoxischen, teratogenen oder maternaltoxischen Effekte auf.

Zur toxikokinetischen Übertragung dieses NOAEL bei Ratte und Maus nach oraler Gabe in eine Konzentration in der Luft am Arbeitsplatz werden folgende Unterschiede berücksichtigt: der toxikokinetische Unterschied zwischen Ratte bzw. Maus und Mensch, der spezies-spezifische Korrekturwert (1:4 bzw. 1:7), die angenommene orale Resorption (100%), das auf den Menschen bezogene Körpergewicht (70 kg) und das Atemvolumen (10 m<sup>3</sup>) sowie die angenommene 100%ige inhalative Resorption. Damit errechnet sich eine entsprechende Konzentration von 2800 bzw. 1600 mg/m<sup>3</sup> (781 bzw. 446 ml/m<sup>3</sup>), die um das 40 000 bzw. 22 000-Fache höher ist als der MAK-Wert von 0,02 ml/m<sup>3</sup>. Diese Abstände zum MAK-Wert sind ausreichend groß, um Diacetyl der Schwangerschaftsgruppe C zuzuordnen.

**Keimzellmutagene Wirkung.** Diacetyl wirkt in vitro mutagen in Bakterien, ruft in Säugerzellen SCE hervor und wirkt klastogen, aber nur bei zytotoxischen Konzentrationen. In vivo führt Diacetyl an Ratten nach intragastraler Gabe an der Mukosa des Magens zur Induktion von UDS, während kein Anstieg an Mikronuklei in Knochenmarkszellen bei Mäusen und peripheren Blutlymphozyten bei Mäusen und Ratten zu verzeichnen ist. Insgesamt deuten die In-vivo-Daten zur Genotoxizität von Diacetyl darauf hin, dass die Genotoxizität von appliziertem Diacetyl in vivo auf lokale Wirkungen beschränkt ist. Die vorliegenden Daten begründen deshalb keinen Verdacht auf eine keimzellmutagene Wirkung. Es erfolgt keine Einstufung in eine Kategorie für Keimzellmutagene.

**Krebserzeugende Wirkung.** Mit Diacetyl durchgeführte Langzeitstudien liegen nicht vor. Die in einer Kurzzeitstudie gefundene signifikant erhöhte Inzidenz an Lungentumoren nach intraperitonealer Gabe an Stamm-A-Mäuse konnte bei einer direkten Wiederholung des Versuches nicht bestätigt werden. Die Studie kann wegen vieler Mängel sowie mangelnder Konsistenz der mit Diacetyl erzielten Versuchsergebnisse nicht zur Bewertung herangezogen werden.

## 38 Diacetyl

Aus der genotoxischen Wirkung von Diacetyl *in vitro* und der lokalen genotoxischen Wirkung *in vivo* resultiert ein Verdacht auf eine lokale Genotoxizität in der Lunge. Diacetyl wird daher in Kategorie 3B für Kanzerogene eingestuft.

**Hautresorption.** Zur Toxizität nach wiederholter epikutaner Applikation gibt es keine Studien. Die akute dermale Toxizität ist mit einer  $LD_{50} > 5000$  mg/kg KG gering. Mit den Modellen von Fiserova-Bergerova et al. (1990), Guy und Potts (1993) sowie Wilschut et al. (1995) ergeben sich aufgenommene Mengen von 303, 24 bzw. 70 mg. Der orale NOAEL von 90 mg/kg KG und Tag an Ratten in der 13-Wochen-Schlundsondenstudie würde nach toxikokinetischer Umrechnung (1:4) 22,5 mg/kg KG und bei Extrapolation auf eine chronische Exposition des Menschen 6 mg/kg KG entsprechen. Bei einem Körpergewicht von 70 kg ergibt sich eine Aufnahme von 420 mg Diacetyl. Aufgrund der berechneten maximalen dermalen Aufnahme von 303 mg könnte die Exposition über die Haut zu systemisch-toxischen Effekten beitragen. Diacetyl wird daher mit „H“ markiert.

**Sensibilisierende Wirkung.** Es liegen nur wenige ältere klinische Befunde vor, die zeigen, dass Diacetyl beim Menschen hautsensibilisierend wirken kann. Die positiven Ergebnisse aus zwei der drei Untersuchungen im Local Lymph Node Assay an der Maus deuten auf ein eher gering ausgeprägtes kontaktallergenes Potential hin. Zur sensibilisierenden Wirkung an den Atemwegen liegen keine klinischen Befunde oder Ergebnisse aus experimentellen Untersuchungen vor, so dass Diacetyl mit „Sh“, nicht aber mit „Sa“ markiert wird.

## 7 Literatur

- ACGIH (American Conference of Governmental Industrial Hygienists) (2012) Diacetyl. In: Documentation of TLVs and BEIs, ACGIH, Cincinnati, OH, USA
- Akpınar-Elci M, Travis WD, Lynch DA, Kreiss K (2004) Bronchiolitis obliterans syndrome in popcorn production plant workers. *Eur Respir J* 24: 298–302
- Akpınar-Elci M, Stemple KJ, Enright PL, Fahy JV, Bledsoe TA, Kreiss K, Weissman DN (2005) Induced sputum evaluation in microwave popcorn production workers. *CHEST* 128: 991–997
- Anderson SE, Wells JR, Fedorowicz A, Butterworth LF, Meade BJ, Muson AE (2007) Evaluation of the contact and respiratory sensitization potential of volatile organic compounds generated by simulated indoor air chemistry. *Toxicol Sci* 97: 355–363
- Ashley K, McKernan LT, Burroughs E, Deddens J, Pendergrass S, Streicher RP (2008) Field evaluation of diacetyl sampling and analytical methods. *J Occup Environ Hyg* 5: D111–D116
- Bjeldanes LF, Chew H (1979) Mutagenicity of 1,2-dicarbonyl compounds: maltol, kojic acid, diacetyl and related substances. *Mutat Res* 67: 367–371
- Cavalcanti Z do R, Albuquerque Filho AP, Pereira CA, Coletta EN (2012) Bronchiolitis associated with exposure to artificial butter flavoring in workers at a cookie factory in Brazil. *J Bras Pneumol* 38: 395–399
- CDC (Centers for Disease Control and Prevention) (2007) Fixed obstructive lung disease among workers in the flavor-manufacturing industry – California, 2004–2007. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* 56: 389–393
- Colley J, Gaunt LF, Lansdown ABG, Grasso P (1969) Acute and short-term toxicity of diacetyl in rats. *Food Cosmet Toxicol* 7: 571–582

- Cox-Ganser J, Ganser G, Saito R, Hobbs G, Boylstein R, Hendricks W, Simmons M, Eide M, Kullman G, Piacitelli C (2011) Correcting diacetyl concentrations from air samples collected with NIOSH method 2557. *J Occup Environ Hyg* 8: 59–70.
- Dorado L, Ruiz Montoya M, Rodriguez Mellado JM (1992) A contribution to the study of the structure-mutagenicity relationship for  $\alpha$ -dicarbonyl compounds using the Ames test. *Mutat Res* 269: 301–306
- Dworak JJ, Roberts DW, Calter MA, Fields CA, Borak J (2013) Is diacetyl a respiratory sensitizer? A reconsideration using QSAR, QMM, and competition experiments. *Chem Res Toxicol* 26: 631–633
- European Commission (Scientific Committee on Occupational Exposure Limits) (2013) Recommendation from the Scientific Committee on Occupational Exposure Limits for diacetyl. European Commission SUM 149, September 2013, for 6-month consultation, November 2013–May 2014, <http://ec.europa.eu/social/BlobServlet?docId=6511&langId=en>
- Fedorowicz A, Singh H, Soderholm S, Demchuk E (2005) Structure-activity models for contact sensitization. *Chem Res Toxicol* 18: 954–969
- Finley BL, Flake GP, Kirby PJ, Palmer SM (2008) Comments on respiratory toxicity of diacetyl. *Toxicol Sci* 106: 429–432
- 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
- Furihata C, Matsushima T (1987) Use of in vivo/in vitro unscheduled DNA synthesis for identification of organ-specific carcinogens. *Crit Rev Toxicol* 17: 245–277
- Furihata C, Yoshida S, Matsushima T (1985) Potential initiating and promoting activities of diacetyl and glyoxal in rat stomach mucosa. *Jpn J Cancer Res* 76: 809–814
- Galbraith D, Weill D (2009) Popcorn lung and bronchiolitis obliterans: a critical appraisal. *Int Arch Occup Environ Health* 82: 407–416
- Gerberick GF, Vassallo JD, Foertsch LM, Price BB, Chaney JG, Lepoittevin JP (2007) Quantification of chemical peptide reactivity for screening contact allergens: A classification tree model approach. *Toxicol Sci* 97: 417–427
- Gloede E, Cichocki JA, Baldino JB, Morris JB (2011) A validated hybrid computational fluid dynamics-physiologically based pharmacokinetic model for respiratory tract vapor absorption in the human and rat and its application to inhalation dosimetry of diacetyl. *Toxicol Sci* 123: 231–246
- Guy RH, Potts RO (1993) Penetration of industrial chemicals across the skin: a predictive model. *Am J Ind Med* 23: 711–719
- Halldin CN, Suarathana E, Fedan KB, Lo YC, Turabelidze G, Kreiss K (2013) Increased respiratory disease mortality at a microwave popcorn production facility with worker risk of bronchiolitis obliterans. *PLoS One*: e57935, doi: 10.1371/journal.pone.0057935
- Hendrick DJ (2008) „Popcorn worker’s lung“ in Britain in a man making potato crisp flavouring. *Thorax* 63: 267–268
- Hegy E (1971) Contact sensitivity to flavourings. *Contact Dermatitis Newsl* 206–207
- Hubbs AF, Battelli LA, Goldsmith WT, Porter DW, Frazer D, Friend S, Schwegler-Berry D, Mercer RR, Reynolds JS, Grote A, Castranova V, Kullman G, Fedan JS, Dowdy J, Jones WG (2002) Necrosis of nasal and airway epithelium in rats inhaling vapors of artificial butter flavouring. *Toxicol Appl Pharmacol* 185: 128–135
- Hubbs AF, Cumpston AM, Goldsmith WT, Battelli LA, Kashon ML, Jackson MC, Frazer DG, Fedan JS, Goravanahally MP, Castranova V, Kreiss K, Willard PA, Friend S, Schwegler-Berry D, Fluharty KL, Sriram K (2012) Respiratory and olfactory cytotoxicity of inhaled 2,3-pentanedione in Sprague-Dawley rats. *Am J Pathol* 181: 829–844
- Hubbs AF, Goldsmith WT, Kashon ML, Frazer DG, Mercer RR, Battelli LA, Kullman G, Schwegler-Berry D, Friend S, Castranova V (2008) Respiratory toxicologic pathology of inhaled diacetyl in sprague-dawley rats. *Toxicol Pathol* 36: 330–344
- IUF (International Union of Food) (2007) Flavouring ingredient diacetyl linked to deadly lung disease. Agricultural, Hotel, Restaurant, Catering, Tobacco and Allied Workers’ Associations, Genf, Schweiz,

## 40 Diacetyl

- [http://www.iuf.org/cgi-bin/dbman/db.cgi?db=default&uid=default&ID=4675&view\\_record-s=1&en=1](http://www.iuf.org/cgi-bin/dbman/db.cgi?db=default&uid=default&ID=4675&view_record-s=1&en=1)
- Kanwal R (2003) Letter to Frank Morrison, Nebraska Popcorn, Clearwater, Nebraska, regarding findings from February 2002 HHE at plant dated July 2, 2003. HETA 2002-0089, <http://www.cdc.gov/niosh/hhe/reports/pdfs/2002-0089-letter.pdf>
- Kanwal R, Martin SB Jr (2003) Letter to Keith Heuermann, B.K. Heuermann Popcorn, Inc., Phillips, Nebraska, regarding findings from August 2001 HHE at plant dated May 13, 2003. HETA 2001-0517, <http://www.cdc.gov/niosh/hhe/reports/pdfs/2001-0517-letter.pdf>
- Kanwal R, Kullman G, Piacitelli C, Boylstein R, Sahakian N, Martin S, Fedan K, Kreiss K (2006) Evaluation of flavorings-related lung disease risk at six microwave popcorn plants. *J Occup Environ Med* 48: 149–157
- Kanwal R, Kullman G, Fedan KB, Kreiss K (2011) Occupational lung disease risk and exposure to butter-flavoring chemicals after implementation of controls at a microwave popcorn plant. *Public Health Rep* 126: 480–494
- Kato F, Araki A, Nozaki K, Matsushima T (1989) Mutagenicity of aldehydes and diketones. *Mutat Res* 216: 366–367
- Kim TJ, Materna BL, Prudhomme JC, Fedan KB, Enright PL, Sahakian NM, Windham GC, Kreiss K (2010) Industry-wide medical surveillance of california flavor manufacturing workers: cross-sectional results. *Am J Ind Med* 53: 857–865
- Kovacic P, Cooksy AL (2010) Electron transfer as a potential cause of diacetyl toxicity in popcorn lung disease. *Rev Environ Contam Toxicol* 204: 133–148
- Kreiss K, Fedan KB, Nasrullah M, Kim TJ, Materna BL, Prudhomme JC, Enright PL (2012) Longitudinal lung function declines among california flavoring manufacturing workers. *Am J Ind Med* 55: 657–668
- Kreiss K, Gomaa A, Kullman G, Fedan KB, Simoes EJ, Enright PL (2002) Clinical bronchiolitis obliterans in workers at a microwave popcorn plant. *N Engl J Med* 347: 330–338
- Kreiss K, Piacitelli C, Cox-Ganser J (2011) Lung function (spirometry) testing in employees at a flavorings manufacturing plant – Indiana. National Institute of Occupational Safety and Health. Health Hazard Evaluation Report, HETA 2008-0155-3131, June 2011
- Kullman G, Boylstein R, Jones W, Piacitelli C, Pendergrass S, Kreiss K (2005) Characterization of respiratory exposures at a microwave popcorn plant with cases of bronchiolitis obliterans. *J Occup Environ Hyg* 2: 169–178
- Larsen ST, Alarie Y, Hammer M, Nielsen GD (2009) Acute airway effects of diacetyl in mice. *Inhal Toxicol* 21: 1123–1128
- Li Y, Pan D, Liu J, Kern PS, Gerberick GF, Hopfinger AJ, Tseng YJ (2007 a) Categorical QSAR Models for skin sensitization based upon local lymph node assay classification measures part 2: 4D-fingerprint three-state and two-2-state logistic regression models. *Toxicol Sci* 99: 532–544
- Li Y, Tseng YJ, Pan D, Liu J, Kern PS, Gerberick GF, Hopfinger AJ (2007 b) 4D-fingerprint categorical QSAR models for skin sensitization based on the classification of local lymph node assay measures. *Chem Res Toxicol* 20: 114–128
- Lockey JE, Hilbert TJ, Levin LP, Ryan PH, White KL, Borton EK, Rice CH, McKay RT, LeMasters GK (2009) Airway obstruction related to diacetyl exposure at microwave popcorn production facilities. *Eur Respir J* 34: 63–71
- Marchand S, Almy J, de Revel G (2011) The cysteine reaction with diacetyl under wine-like conditions: proposed mechanisms for mixed origins of 2-methylthiazole, 2-methyl-3-thiazoline, 2-methylthiazolidine, and 2,4,5-trimethylloxazole. *J Food Sci* 76: C861–C868
- Marnett LJ, Hurd HK, Hollstein MC, Levin DE, Esterbauer H, Ames BN (1985) Naturally occurring carbonyl compounds are mutagens in *Salmonella* tester strain TA 104. *Mutat Res* 148: 25–34
- Mathews JM, Watson SL, Snyder RW, Burgess JP, Morgan DL (2010) Reaction of the butter flavorant diacetyl (2,3-butanedione) with N- $\alpha$ -acetylgarginine: A model for epitope formation with pulmonary proteins in the etiology of obliterative bronchiolitis. *J Agric Food Chem* 58: 12761–12768
- McKim LM Jr, Keller DH III, Gorski JR (2012) An in vitro method for detecting chemical sensitization using human reconstructed skin models and its applicability to cosmetic, pharmaceutical, and medical device safety testing. *Cutan Ocul Toxicol* 31: 292–305

- More SS, Raza A, Vince R (2012 a) The butter flavorant diacetyl forms a covalent adduct with 2-deoxyguanosine, uncoils DNA, and leads to cell death. *J Agric Food Chem* 60: 3311–3317
- More SS, Vartak AP, Vince R (2012 b) The butter flavorant diacetyl exacerbates  $\beta$ -amyloid cytotoxicity. *Chem Res Toxicol* 25: 2083–2091
- Morgan DL, Flake GP, Kirby PJ, Palmer SM (2008) Respiratory toxicity of diacetyl in C57BL/6 mice. *Toxicol Sci* 103: 169–180
- Morgan DL, Jokinen MP, Price HC, Gwinn WM, Palmer SM, Flake GP (2012) Bronchial and bronchiolar fibrosis in rats exposed to 2,3-pentanedione vapors: implication for bronchiolitis obliterans in humans. *Toxicol Pathol* 40: 448–465
- NIOSH (National Institute of Occupational Safety and Health) (2011) Criteria for a recommended standard. Occupational exposure to diacetyl and 2,3-pentanedione. External review draft, August 12, 2011, NIOSH, Cincinnati, OH, USA
- NTP (National Toxicology Program) (1994 a) 2,3-Butandione. Summary of data for chemical selection. US Department of Health and Human Services, National Institutes of Health, Bethesda, MD, USA
- NTP (1994 b) Diacetyl [CAS No. 431-03-8] Micronucleus test mice BM. US Department of Health and Human Services, National Institutes of Health, Bethesda, MD, USA, <http://tools.niehs.nih.gov/cebs3/ntpViews/?activeTab=detail&studyNumber=A44706>
- NTP (2007) Chemical information review document for artificial butter flavoring and constituents Diacetyl [CAS No. 431-03-8] and Acetoin [CAS No. 513-86-0] Supporting Nomination for toxicological evaluation by the National Toxicology Program January 2007. Prepared by Integrated Laboratory Systems, Inc. Research Triangle Park, NC Under Contract No. N01-ES-35515 for National Toxicology Program National Institute of Environmental Health Sciences, National Institutes of Health, U.S Department of Health and Human Services Research Triangle Park, NC, USA
- NTP (2008 a) Diacetyl [CAS No. 431-03-8] Micronucleus test mice PBL. US Department of Health and Human Services, National Institutes of Health, Bethesda, MD, USA, <http://tools.niehs.nih.gov/cebs3/ntpViews/?studyNumber=G94009B>
- NTP (2008 b) Diacetyl [CAS No. 431-03-8] Microucleus test rat PBL. US Department of Health and Human Services, National Institutes of Health, Bethesda, MD, USA, <http://tools.niehs.nih.gov/cebs3/ntpViews/?studyNumber=G94009>
- NTP (2012) Report on the assessment of contact hypersensitivity to 2,3-butanedione (diacetyl) in female BALB/c mice. US Department of Health and Human Services, National Institutes of Health, Bethesda, MD, USA, <http://ntp.niehs.nih.gov/?objectid=DCB7D684-B608-3DD5-5BD8E5D509D39068>
- NTP (2014) Report on the assessment of contact hypersensitivity to 2,3-butanedione (diacetyl) in female BALB/c Mice (CAS No.: 431-03-8) US Department of Health and Human Services, National Institutes of Health, Bethesda, MD, USA, <http://ntp.niehs.nih.gov/?objectid=DCB7D684-B608-3DD5-5BD8E5D509D39068>
- Opdyke DLJ (1979) Monographs on fragrance raw materials: Diacetyl. *Food Cosmet Toxicol* 17: 765–768
- Otsuka M, Mine T, Ohuchi K, Ohmori S (1996) A detoxication route for acetaldehyde: metabolism of diacetyl, acetoin, and 2,3-butanediol in liver homogenate and perfused liver of rats. *J Biochem* 119: 246–251
- Patlewicz G, Roberts DW, Walker JD (2003) QSARs for the skin sensitization potential of aldehydes and related compounds. *QSAR Comb Sci* 22: 196–203
- Palmer SM, Flake GP, Kelly FL, Zhang HL, Nuget JL, Kirby PL, Foley JF, Gwinn WM, Morgan DL (2011) Severe airway epithelial injury, aberrant repair and bronchiolitis obliterans developments after diacetyl instillation in rats. *PLoS One* 6: e17644, doi: 10.1371/journal.pone.0017644
- Pierce JS, Abelmann A, Spicer LJ, Adams RE, Finley BL (2014) Diacetyl and 2,3-pentanedione exposures associated with cigarette smoking: implications for risk assessment of food and flavoring workers. *Crit Rev Toxicol* 44: 420–435
- Roberts DW, York M, Basketter DA (1999) Structure-activity relationships in the murine local lymph node assay for skin sensitization: alpha, beta-diketones. *Contact Dermatitis* 41: 14–17
- Ronk CJ, Hollins DM, Jacobsen MJ, Galbraith DA, Paustenbach DJ (2013) Evaluation of pulmonary function within a cohort of flavorings workers. *Inhal Toxicol* 25: 107–117

## 42 Diacetyl

- Schirren CG (1951) Diacetyl, ein im Tabakrauch, Holzrauch und Kaffeearoma enthaltenes Allergen. *Hautarzt* 2: 324–325
- Schirren C, Schulz KH (1953) Berufsdermatosen durch Diacetyl, Handwaschpaste und formalinhaltigen Klebstoff. *Berufsdermatosen* 2: 25–29
- SRC (Syracuse Research Corporation) (2014) 2,3 Butandione, PhysProp database, <http://esc.srcinc.com/fatepointer/search.asp>
- Stoner GD, Shimkin MB, Kniazeff AJ, Weisburger JH, Weisburger EK, Gori GB (1973) Test for carcinogenicity of food additives and chemotherapeutic agents by the pulmonary tumour response in Strain A mice. *Cancer Res* 33: 3069–3085
- Tucker JD, Taylor RT, Christensen ML, Strout CL, Hanna ML, Carrano AV (1989) Cytogenetic response to 1,2-dicarbonyls and hydrogen peroxide in Chinese hamster ovary AUXBI cells and human peripheral lymphocytes. *Mutat Res* 224: 269–279
- Van Rooy FGBGJ, Rooyackers JM, Prokop M, Houba R, Smit LAM, Heederik DJ (2007) Bronchiolitis obliterans syndrome in chemical workers producing diacetyl for food flavorings. *Am J Respir Crit Care Med* 176: 498–504
- Van Rooy FGBGJ, Smit LAM, Houba R, Zaat VAC, Rooyackers JM, Heederik DJJ (2009) A cross-sectional study of lung function and respiratory symptoms among chemical workers producing diacetyl for food flavourings. *Occup Environ Med* 66: 105–110
- Von der Hude W, Behm C, Gurtler R, Basler A (1988) Evaluation of the SOS chromotest. *Mutat Res* 203: 81–94
- White KL (2011) Correction to microwave popcorn plant diacetyl exposure data. *J Occup Environ Hyg* 8: D25–D26
- White KL, Heikkilä K, Williams R, Levin L, Lockey JE, Rice C (2010) Diacetyl exposures in four microwave popcorn plants. *J Occup Environ Hyg* 7: 185–193
- Whittaker P, Clarke JJ, San RHCC, Begley TH, Dunkel VC (2008) Evaluation of the butter flavoring chemical diacetyl and a fluorochemical paper additive for mutagenicity and toxicity using the mammalian cell gene mutation assay in L5178Y mouse lymphoma cells. *Food Chem Toxicol* 46: 2928–2933
- WHO (World Health Organisation) (1999) Safety evaluation of aliphatic acyclic and alicyclic alpha-diketones and related alpha-hydroxyketones. FAO/WHO Joint Expert Committee on Food Additives; WHO Food Additives Series 42, WHO, Genf, CH
- 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
- Zaccone EJ, Thompson JA, Ponnoth DS, Cumpston AM, Goldsmith WT, Jackson MC, Kashon ML, Frazer DG, Hubbs AF, Shimko MJ, Fedan JS (2013) Popcorn flavoring effects on reactivity of rat airways in vivo and in vitro. *J Toxicol Environ Health* 76: 669–689

abgeschlossen am 26.2.2014