

Butano-2,3-dion

Dokumentacja proponowanych dopuszczalnych wielkości narażenia zawodowego^{1,2}

2,3-Butanedione

Documentation of proposed values of occupational exposure limits (OELs)

prof. dr hab. ANDRZEJ STAREK
e-mail: mfstarek@cyf-kr.edu.pl
Collegium Medicum
Uniwersytetu Jagiellońskiego
30-688 Kraków
ul. Medyczna 9

NDS	0,07 mg/m ³
NDSCh	0,36 mg/m ³
NDSP	- nie ustalano
DSB	- nie ustalano
I	- substancja o działaniu drażniącym

Data zatwierdzenia przez Zespół Ekspertów: 25.06.2009 r.

Weryfikacja: czerwiec 2014 r.

Data zatwierdzenia przez Komisją ds. NDS i NDN: 14.01.2015 r.

Słowa kluczowe: substancja aromatyzująca do żywności, diacetyl, zarostowe zapalenie oskrzelików.

Keywords: food flavouring, diacetyl, bronchiolitis obliterans.

¹ Wartości NDS i NDSCh butano-2,3-dionu zostały przyjęte dnia 14.01.2015 r. na 77. posiedzeniu Międzyresortowej Komisji do spraw Najwyższych Dopuszczalnych Stężeń i Natężeń Czynników Szkodliwych dla Zdrowia w Środowisku Pracy i przedłożone w 2015 r. ministrowi pracy i polityki społecznej (wniosek nr 93) w celu ich wprowadzenia do rozporządzenia w załączniku nr 1 części A wykazu najwyższych dopuszczalnych stężeń i natężeń czynników szkodliwych w środowisku pracy.

² Publikacja opracowana na podstawie wyników II etapu programu wieloletniego „Poprawa bezpieczeństwa i warunków pracy”, finansowanego w latach 2011-2013 w zakresie badań naukowych i prac rozwojowych ze środków Ministerstwa Nauki i Szkolnictwa Wyższego/Narodowego Centrum Badań i Rozwoju.
Koordynator programu: Centralny Instytut Ochrony Pracy – Państwowy Instytut Badawczy.

Streszczenie

Butano-2,3-dion (diacetyl) jest cieczą o zapachu masła, stosowaną jako substancja aromatyzująca do żywności, zwłaszcza: wyrobów piekarniczych, słodczy i lodów. Jest ona głównie stosowana jako dodatek do prażonej kukurydzy przeznaczonej do przygotowania w kuchence mikrofalowej. Narażenie na ten związek występuje w przemyśle chemicznym i spożywczym. Jest ono zróżnicowane i zależne od stanowiska pracy. Stężenia tego związku w powietrzu sięgają od kilku do kilkuset miligramów na metr sześcienny (mg/m^3). W Polsce stężenie diacetylu w fabryce ciastek wynosiło $51 \text{ mg}/\text{m}^3$.

Butano-2,3-dion w warunkach narażenia jednorazowego i powtarzanego działa silnie drażniąco na: oczy, drogi oddechowe i skórę. U osób narażonych zawodowo na ten związek obserwowano dolegliwości ze strony układu oddechowego oraz zmiany spirometryczne wskazujące na obstrukcję i restrykcję dróg oddechowych. Butano-2,3-dion jest uważany ponadto za czynnik etiologiczny zarostowego zapalenia oskrzelików.

Pod względem siły działania ostrego butano-2,3-dion znajduje się poza klasyfikacją substancji toksycznych. Dane z piśmiennictwa wskazują na genotoksyczne działanie butano-2,3-dionu. Związek ten indukował mutacje punktowe oraz działał klastogennie. Brak jest wystarczających danych odnośnie do rakotwórczego działania tego związku.

W dostępnym piśmiennictwie brak jest również danych na temat: gonadotoksycznego, embriotoksycznego, fetotoksycznego i teratogennego działania butano-2,3-dionu.

W Polsce i w wielu innych państwach nie ustalono wartości dopuszczalnych stężeń dla butano-2,3-dionu. Na posiedzeniu Komitetu Doradczego ds. Bezpieczeństwa i Zdrowia w Miejscu Pracy (ACSH, Advisory Committee on Safety and Health at Work) 27.11.2014 r. przyjęto wartość OEL dla butano-2,3-dionu na poziomie $0,07 \text{ mg}/\text{m}^3$ oraz wartość STEL wynoszącą $0,36 \text{ mg}/\text{m}^3$. W 2011 r. ACGIH zaleciła wartości TLV i STEL odpowiednio na poziomach $0,035$ i $0,070 \text{ mg}/\text{m}^3$.

Podstawą do obliczenia wartości NDS dla butano-2,3-dionu były wyniki badań epidemiologicznych wskazujące, że zmiany obstrukcyjne i restrykcyjne w układzie oddechowym, wyrażone spadkiem wartości maksymalnej pojemności wydechowej pierwszosekundowej (FEV1), nie występują u pracowników przy narażeniu skumulowanym wynoszącym $2,33 \text{ mg}/\text{m}^3 \cdot \text{lata}$. Stężenie to przyjęto za wartość NOAEC. Współczynniki niepewności o łącznej wartości 4 posłużyły do obliczenia wartości NDS na poziomie $0,05 \text{ mg}/\text{m}^3$. Na podstawie wartości NDS obliczono wartość NDSch dla butano-2,3-dionu na poziomie $0,10 \text{ mg}/\text{m}^3$. Ponadto zalecono oznakowanie substancji literą „I” – substancja o działaniu drażniącym.

Summary

2,3-Butanedione (diacetyl) is a greenish-yellow liquid with a characteristic buttery odor. Diacetyl is used as an artificial flavouring substance in processed food, e.g., microwave popcorn, confectionery, dairy products and beverages. Exposure to this compound occurs in chemical and food manufacturing industries. The concentrations of diacetyl at the workplace air range from several to several hundred mg/m^3 . In Poland, the average air concentration of diacetyl at the confectionary manufacture was $51 \text{ mg}/\text{m}^3$.

A single and repeated exposures to diacetyl lead to irritation to the eyes, respiratory tract

and skin. Persons professionally exposed to this compound had respiratory tract disorders with spirometric changes indicating obstruction and restriction of the small airways. Moreover, diacetyl is considered as etiologic factor of bronchiolitis obliterans.

In respect of acute toxicity, diacetyl is not in the classification of toxic substances. The literature data indicate the genotoxicity of this compound. Diacetyl induced point mutations and exerted clastogenic effect. There are no adequate data on carcinogenicity of diacetyl in humans and animals, and on gonadotoxic, embriotoxic, fetotoxic and

teratogenic effects of diacetyl. Poland and several other countries did not establish admissible concentrations of diacetyl in the air. On November 27, 2014, the Advisory Committee on Safety and Health at Work accepted an OEL for diacetyl at level of 0.07 mg/m³ and STEL value of 0.36 mg/m³. In 2011, ACGIH recommended TLV and STEL values at level of 0.035 and 0.070 mg/m³, respectively.

The basis for calculating the maximum admissible concentration (MAC) of diacetyl were the results of epidemiologic studies which indicated that both obstructive and restrictive changes in respiratory system expressed in a lowered forced expiratory volume in first second (FEV1) did not occur

in workers at the cumulative exposure level of 2.33 mg/m³ · years. This concentration was considered as NOAEC value. Uncertainty factors with joint value of 4 were used to calculate MAC at level of 0.05 mg/m³. STEL value for diacetyl at level of 0.1 mg/m³ was calculated on the basis of MAC value.

The Interdepartmental Commission for Maximum Admissible Concentrations and Intensities for Agents Harmful to Health in the Working Environment at its 77th meeting adopted the MAC value of diacetyl proposed by SCOEL (project of the directions 4. Doc. 1893/14) of 0.07 mg/m³ and STEL value of 0.36 mg/m³. It is recommended to label this substance as I (irritant).

CHARAKTERYSTYKA SUBSTANCJI, ZASTOSOWANIE, NARAŻENIE ZAWODOWE

Ogólna charakterystyka substancji

Ogólna charakterystyka butano-2,3-dionu (diacetylu), (HSDB 2009; RTECS 2009):

- wzór sumaryczny C₄H₆O₂
- wzór strukturalny CH₃–CO–CO–CH₃
- nazwa chemiczna diacetyl
- nazwa chemiczna CAS 2,3-butanedione
- numer CAS 431-03-8
- numer RTECS EK2625000
- numer EC/EINECS 207-069-8
- synonimy: 2,3-butadion, 2,3-butandion, 3-diketobutan, biacetyl, butadion, butandion, butano-2,3-dion, dimetylodiketon, dimetyloglioksal, glioksal dimetylowy.

Brak jest urzędowej klasyfikacji i oznakowania butano-2,3-dionu w Polsce i na świecie.

Właściwości fizykochemiczne

Właściwości fizykochemiczne butano-2,3-dionu (diacetylu), (HSDB 2009; IPCS 2005):

- postać ciecz o barwie zielonkawożółtej lub żółtej
- próg zapachu: zapach masła, benzochinonu lub podobny do chloru; brak danych dot. progu zapachu; próg smaku: w maśle – 1 mg/kg, w mleku – 1,4 · 10⁻²–2,9 · 10⁻² mg/kg w wodzie 5,4 · 10⁻³ mg/l
- masa cząsteczkowa 86,09
- temperatura topnienia -1,2 °C
- temperatura wrzenia 88,0 °C

- gęstość 1,1 (woda = 1)
- prężność pary 7,6 kPa (w temp. 25 °C)
- gęstość pary nasyconej 3,0 (powietrze = 1)
- temperatura zapłonu 27,0 °C (metoda tygla zamkniętego)
- temperatura samozapłonu 365,0 °C
- granice stężeń wybuchowych 2,4 ÷ 13,0% obj. (w powietrzu)
- współczynnik podziału (log Pow) -1,34
- rozpuszczalność: w wodzie 200 g/l (w temp. 15 °C); rozpuszcza się w: benzynie, tetrachlorometanie, acetonie, glikolu propylenowym, glicerynie i etanolu
- współczynniki przeliczeniowe (w temp. 20 °C, 101,3 kPa): 1 ppm \approx 3,58 mg/m³; 1 mg/m³ \approx 0,279 ppm.

Otrzymywanie, zastosowanie, narażenie zawodowe

Butano-2,3-dion (diacetyl) jest otrzymywany metodą chemiczną i biologiczną. W metodzie chemicznej metyloetyloketon przekształca się w izonitrozopochodną, którą poddaje się hydrolitycznemu rozkładowi kwasem solnym do butano-2,3-dionu (The Merck... 2006). W innej metodzie 2,3-butadien jest utleniany do acetylometylokarbinolu (acetoiny), który jest częściowo utleniany do butano-2,3-dionu. Produktami ubocznymi tej reak-

cji jest aldehyd octowy i kwas octowy (van Rooy i in. 2007). Metoda biologiczna natomiast polega na specjalnej fermentacji glukozy przez metyloacetylometanol (The Merck... 2006).

Butano-2,3-dion powstaje podczas przyspieszonego dojrzewania mleka, poprzedzającego produkcję masła lub margaryny (Colley i in. 1969). Związek ten występuje naturalnie w: maśle, piwie, kawie, occie, whisky, koniaku i innych produktach spożywczych.

Butano-2,3-dion jako czynnik zapachowy w postaci: cieczy, past i proszków, jest stosowany jako składnik przypraw do żywności, szczególnie: produktów piekarniczych, słodczy i lodów (Boylstein i in. 2006). Na skalę przemysłową butano-2,3-dion jest stosowany do produkcji prażonej kukurydzy przeznaczonej do przygotowania w kuchence mikrofalowej. W celu wzmocnienia naturalnego zapachu mleka końcowe stężenie butano-2,3-dionu w tym produkcie spożywczym wynosi 1 ÷ 3 mg/kg. Butano-2,3-dion jest dopuszczony jako dodatek do artykułów spożywczych w: USA, Francji, Belgii, Norwegii oraz Szwecji.

W Unii Europejskiej butano-2,3-dion jest produkowany we Włoszech oraz przez Amoco U.K. w ilości wielkotonażowej.

Narażenie na butano-2,3-dion nie występuje podczas jego syntezy, ponieważ jest ona prowadzona w układzie zamkniętym w temperaturze \approx 360 °C. Narażenie pracowników na ten związek występuje po zakończeniu procesu oraz podczas otwierania reaktora (van Rooy i in. 2007). Emisja butano-2,3-dionu do atmosfery z preparatów ciekłych i past, wyrażona medianą stężenia, była odpowiednio 364 i 72 razy większa niż z proszków. Średnie stężenie ważone

butano-2,3-dionu w powietrzu pomieszczenia roboczego wynosiło $2,01 \text{ mg/m}^3$ (Boylstein i in. 2006).

Narażenie na butano-2,3-dion występuje podczas prażenia kukurydzy na sucho. W trakcie tego procesu stężenia butano-2,3-dionu w powietrzu wynosiły $106,2 \div 325,4 \text{ mg/m}^3$. Pracownicy obsługujący zbiorniki do mieszania składników zapachowych w chwili otwarcia tych zbiorników byli narażeni na butano-2,3-dion o stężeniu 4085 mg/m^3 (Fedan i in. 2006).

W powietrzu pomieszczeń roboczych zakładu produkującego prażoną kukurydzę, w których obsługiwano zbiorniki zawierające substancje zapachowe, stwierdzono obecność ponad 100 różnych lotnych związków organicznych (VOCs), wśród których przeważały: butano-2,3-dion, metyloetyloketon, acetoina, 2-nonanon i kwas octowy. Średnie stężenie butano-2,3-dionu wynosiło $125,5 \pm 91,7 \text{ mg/m}^3$ ($9,6 \div 325,4 \text{ mg/m}^3$). Przy obsłudze maszyn

stężenie to wynosiło $5,6 \pm 5,3 \text{ mg/m}^3$ ($0,86 \div 18,4 \text{ mg/m}^3$), natomiast na stanowisku pakowania $6,8 \pm 5,6 \text{ mg/m}^3$ ($1,50 \div 17,7 \text{ mg/m}^3$). W innych częściach zakładu stężenie związku nie przekraczało $2,0 \text{ mg/m}^3$. Obserwowano ponadto narażenie na aerozole chloru sodu i oleju, których stężenia frakcji respirabilnej w powietrzu wynosiły średnio $0,13 \pm 0,11 \text{ mg/m}^3$ (Kullman i in. 2005).

Dym papierosowy zawiera $300 \div 430 \mu\text{g}$ butano-2,3-dionu/papieros (Fujioka, Shibamoto 2006). Wypalenie dziesięciu papierosów w ciągu 8 h pracy przy wentylacji płuc 10 m^3 powietrza odpowiada narażeniu inhalacyjnemu na $0,3 \div 0,4 \text{ mg/m}^3$ butano-2,3-dionu.

W Polsce wykonano pomiary stężenia butano-2,3-dionu w powietrzu w zakładach przemysłu spożywczego na stanowisku operatora rejonu zasypu linii produkcji ciastek. Stężenie to wynosiło 51 mg/m^3 (Jeżewska 2007).

DZIAŁANIE TOKSYCZNE NA LUDZI

Obserwacje kliniczne.

Zatrucie ostre

Butano-2,3-dion (diacetyl) w warunkach jednorazowego lub krótkotrwałego, powtarzanego narażenia działa silnie drażniąco na: oczy, drogi oddechowe i skórę. Związek powodował: utrzymujący się kaszel, wydzielinę śluzowo-ropną z dróg oddechowych, świszczący oddech, duszność, zadyszkę, uczucie zmęczenia, czasem łagodną gorączkę lub uogólnione bóle oraz ciężką wysypkę skórą. Substancja ta może również działać depresyjnie na czynności ośrodkowego układu nerwowego (OUN), co może prowadzić do utraty

świadomości (IPCS 2005; RTECS 2009).

Opisano przypadek 36-letniego mężczyzny nigdy nie palącego papierosów, z prawidłową czynnością płuc i normalną aktywnością α_1 -antytrypsyny, u którego narażenie na butano-2,3-dion przez kilka godzin spowodowało podrażnienie oczu prowadzące do: bólu, zaczerwienienia spojówek i wystąpienia lepkiej wydzieliny. Wyniki wykonanego badania spirometrycznego bezpośrednio po zdarzeniu były prawidłowe. Po 6 miesiącach doszło jednak do zmniejszenia średniej szybkości przepływu powietrza w środkowej części maksymalnej pojemności wydechowej (FEF25 \div 75%) do 30% wartości

należnej, wskazując na wystąpienie zmian w małych drogach oddechowych (*Hendrick* 2008).

W teście płatkowym przeprowadzonym u 29 ochotników nie obserwowano podrażnienia skóry przez 2-procentowy butano-2,3-dion w wazelinie żółtej w ciągu 48 h obserwacji, a także nie wykazano działania uczulającego tego związku w teście maksymalizacji (NTP 1994).

Zatrucie przewlekłe

U osób narażonych na substancje aromatyzujące do żywności w przemyśle, a zwłaszcza butano-2,3-dion (diacetyl), podczas produkcji prażonej kukurydzy przeznaczonej do przygotowania w kuchence mikrofalowej, obserwowano zarostowe zapalenie oskrzelików prowadzące do zwłóknienia i niedrożności małych dróg oddechowych (*Visscher, Myers* 2006). Zmianom tym towarzyszyły zaburzenia spirometryczne wyrażone znacznym spadkiem maksymalnej pojemności wydechowej pierwszosekundowej (FEV_1) oraz stosunku FEV_1 do maksymalnej pojemności życiowej płuc (FEV_1/FVC), (*Harber* i in. 2006). Tego rodzaju zmiany wykazano u pojedynczych pracowników zatrudnionych przy produkcji prażonej kukurydzy, z wykluczeniem zmniejszonej aktywności α_1 -antytrypsyny oraz palenia tytoniu – jako czynników etiologicznych (*Parmet* i in. 2002).

W grupie 9 osób w wieku $27 \div 51$ lat (5 mężczyzn i 4 kobiety), pracujących przy produkcji prażonej kukurydzy, z których 5/9 było narażonych na przyprawę mieszaną zawierającą butano-2,3-dion, obserwowano objawy ze strony układu oddechowego w postaci: kaszlu, zadyszki i świszczącego oddechu. Objawy te

występowały po 5 miesiącach do 9 lat od rozpoczęcia pracy w zakładzie produkcji prażonej kukurydzy. Wartości FEV_1 u tych osób wynosiły $14,0 \div 66,8\%$ wartości należnej. W badaniu tomograficznym wykazano: umiarkowane pogrubienie ściany oskrzelowej, rozstrzenie oskrzeli i umiarkowaną niejednorodność gęstości miąższu płucnego, natomiast w badaniu bioptycznym stwierdzono zapalenie oskrzelików z umiarkowanym, podśluzówkowym zwłóknieniem, powodującym znaczne zwężenie światła dróg oddechowych (*Akpınar-Elci* i in. 2004).

Badania epidemiologiczne

W grupie 135 osób, pracowników zakładu produkującego prażoną kukurydżę, przeprowadzono badania ankietowe i spirometryczne, którymi objęto 117 osób (87% ogółu zatrudnionych przy liniach pakowania prażonej kukurydzy oraz w mieszalni substancji aromatyzujących do żywności). W grupie tej 47% stanowili aktualni palacze tytoniu. Osoby badane były narażone na butano-2,3-dion (diacetyl) i respirabilną frakcję pyłu, których średnie stężenia i ich zakresy przy liniach pakowania prażonej kukurydzy i mieszania substancji aromatyzujących wynosiły odpowiednio: $6,73$ ($0,93 \div 24,34$) mg/m^3 i $115,5$ ($4,8 \div 350,6$) mg/m^3 oraz $0,12$ ($0,01 \div 0,18$) mg/m^3 i $0,34$ ($0,12 \div 0,78$) mg/m^3 . Otrzymane wyniki porównano z badaniami National Health and Nutrition Examination Survey, w których dane standaryzowano na wiek badanych i palenie tytoniu (grupa kontrolna). W grupie badanej stwierdzono 2,6-krotny wzrost częstości występowania kaszlu i duszności oraz 1,8- i 2,1-krotnie częściej od częstości oczekiwanej występowanie

dychawicy oskrzelowej i przewlekłego zapalenie oskrzeli. Badani pracownicy ogółem wykazywali 3,3 razy większy od oczekiwanego wskaźnik niedrożności dróg oddechowych, natomiast pracownicy, którzy nigdy nie palili papierosów mieli 10,8 razy większą wartość badanego wskaźnika. Pracownicy zatrudnieni bezpośrednio przy produkcji prażonej kukurydzy, przeznaczonej do przygotowania w kuchence mikrofalowej, wykazywali wyższe wskaźniki duszności wysiłkowej i problemy skórne niż pracownicy zatrudnieni w innych częściach zakładu (Maier i in. 2010). Ponadto, wykazano silną zależność między oszacowanym narażeniem skumulowanym na butano-2,3-dion oraz częstością występowania i nasileniem niedrożności dróg oddechowych. Stężenie butano-2,3-dionu niewywołujące dających się zaobserwować szkodliwych skutków (NOAEC) wynosiło $2,327 \text{ mg/m}^3 \cdot \text{lata}$. Jest to wartość odcięcia pierwszego kwartyła wyników dla zależności między narażeniem skumulowanym i procentem należnej wartości FEV_1 (Kreiss i in. 2002).

W grupie 59 pracowników w wieku $31,3 \pm 11,5$ lat, narażonych na duże stężenia substancji aromatyzujących do żywności, zawierających butano-2,3-dion, oraz u 22 osób w wieku $40,6 \pm 10,4$ lat o małym narażeniu na te związki przeprowadzono: badania ankietowe i spirometryczne, a także badanie śliny obejmujące: liczbę komórek układu leukocytarnego, stężenie interleukiny-8 (IL-8) i eozynofilowego białka kationowego (ECP). Grupa kontrolna w wieku $33,8 \pm 9,3$ lat liczyła 24 osoby zdrowe. U pracowników narażonych na duże stężenie ($0,11 \div 26,4 \text{ mg/m}^3$) substancji aromatyzującej do żywności, niepalących papierosy, liczba neutrofilów była znamienne większa niż w grupie kontrolnej, a iloraz

szans (OR) dla dużej liczby neutrofilów ($> 1,63 \cdot 10^5/\text{ml}$) wynosił 3,8 (95-procentowy CI: $1,3 \div 11,5$). Również stężenia IL-8 i ECP w ślinie wykazywały taką samą zależność, co wskazywało na zmiany zapalne w drogach oddechowych u pracowników produkujących prażoną kukurydzę (Akpınar-Elci i in. 2005).

W innym badaniu oceniono ryzyko chorób płuc związane z narażeniem na butano-2,3-dion w 6 zakładach produkujących prażoną kukurydzę przeznaczoną do przygotowania w kuchence mikrofalowej (Kanwal i in. 2006). Badaniami objęto 537 osób w wieku 39 ($18 \div 76$) lat, w tym 57% mężczyzn. Sześćdziesiąt trzy procent badanych było aktualnymi lub byłymi palaczami tytoniu. Narażenie na butano-2,3-dion, mierzone stężeniem tego związku w powietrzu, było zróżnicowane w zależności od badanego zakładu. W strefie mieszania przypraw narażenie to mieściło się w zakresie od $133,1$ ($4,6 \div 344,6$) mg/m^3 do $0,7$ ($0,0 \div 2,11$) mg/m^3 , podczas gdy w strefie pakowania było mniejsze i wynosiło od $6,7$ ($1,06 \div 23,9$) mg/m^3 do $0,07$ ($0,04 \div 0,11$) mg/m^3 . Spośród 86 pracowników mieszkających przy pracy, 26 pracowało na tym stanowisku przez ponad 12 miesięcy, a 45 osób przez krótszy okres czasu. W przypadku pozostałych 15 osób czas narażenia nie był znany. U pracowników narażonych ponad 12 miesięcy częstość występowania wszystkich objawów oddechowych (duszność wysiłkowa, przewlekły kaszel, świszczący oddech i zmniejszone wartości FEV_1) była znamienne większa niż u pracowników narażonych krócej. Również u pracowników zatrudnionych w strefie pakowania w zakładach, w których zbiorniki zawierające butano-2,3-dion nie były izolowane, znamienne

częściej obserwowano zmniejszone wartości FEV_1 i świszczący oddech w porównaniu z pracownikami strefy pakowania w zakładach, w których zbiorniki z butano-2,3-dion były odpowiednio izolowane.

Grupę 725 pełnoetatowych pracowników zatrudnionych w 4 zakładach produkujących prażoną kukurydzę poddano badaniu spirometrycznemu. Porównano wyniki pracowników mieszalni z pozostałymi pracownikami. Pracownicy ci byli narażeni na substancje aromatyzujące zawierające butano-2,3-dion przez 50% czasu pracy. Średnie stężenia butano-2,3-dionu w strefie oddychania tych pracowników (średnia arytmetyczna/średnia geometryczna), w kolejnych zakładach, wynosiły odpowiednio: 2,39/1,03; 1,35/0,21; 0,20/0,102 i 3,03/0,81 mg/m^3 . U pozostałych pracowników stężenia te osiągały kolejno wartości: 0,109/0,063; 0,26/0,049; 0,095/0,004 i 0,049/0,011 mg/m^3 . Pracownicy mieszkający przy pracy mieli statystycznie istotnie mniejsze wartości FEV_1 od pracowników pozostałych. Duże narażenie skumulowane ($\geq 2,864 mg/m^3 \cdot \text{lata}$) prowadziło do mniejszych wartości FEV_1 . Pracownicy zatrudnieni poza halą mieszania substancji aromatyzujących do żywności nie wykazywali zmniejszonych wartości FEV_1 . W konkluzji autorzy stwierdzili, że narażenie skumulowane $\geq 2,864 mg/m^3 \cdot \text{lata}$ może prowadzić do obstrukcji dróg oddechowych (Lockey i in. 2009).

W badaniu epidemiologicznym retrospektywnym w grupie 175 pracowników, spośród 196 w wieku 25 ÷ 78 lat, zatrudnionych w fabryce produkującej butano-2,3-dion w latach 1960-2003 oceniono ryzyko występowania zarostowego zapalenia oskrzelików. Pracownicy byli narażeni na butano-2,3-dion o stężeniach

1,8 ÷ 351 mg/m^3 oraz aldehyd octowy o stężeniach 0,4 ÷ 29,0 mg/m^3 (pomiarzy stacjonarne). W grupie tej było 27% aktualnych palaczy, 41% byłych palaczy i 33% nigdy nie palących. U wszystkich osób wykonano badania spirometryczne i kliniczne układu oddechowego. Zidentyfikowano 3 przypadki z zespołem zarostowego zapalenia oskrzelików wśród 102 operatorów procesowych o największym narażeniu (butano-2,3-dion 3 ÷ 396 mg/m^3 , aldehyd octowy 0,2 ÷ 14 mg/m^3 , dozymetria indywidualna). Dwa z tych przypadków to osoby niepalące papierosów przez całe życie. Narażenie zawodowe jako czynnik etiologiczny miało charakter mieszany. Obejmowało oprócz butano-2,3-dionu również: acetoinę, aldehyd octowy i kwas octowy. Dynamika spadku wartości FEV_1 w funkcji czasu znacznie przewyższała spadek oczekiwany (van Rooy i in. 2007). W badaniu przekrojowym czynności płuc i objawów ze strony układu oddechowego, przeprowadzonym na tym samym materiale badanym przez tych samych autorów (van Rooy i in. 2009), wykazano problemy z oddychaniem (współczynnik występowania PR = 2,6; 95-procentowy CI 1,3 ÷ 5,1), codzienny kaszel (PR = 1,5; 95-procentowy CI 1,1 ÷ 2,1), ataki astmy (PR = 2,0; 95-procentowy CI 1,2 ÷ 3,4), astmę zdiagnozowaną przez lekarza (PR = 2,2; 95-procentowy CI 1,3 ÷ 3,8), atak astmy w ostatnim roku (PR = 4,7; 95-procentowy CI 1,9-11,4) oraz duszność oddechową w ostatnim roku pracy (PR = 7,5; 95-procentowy CI 1,1 ÷ 52,9). Stwierdzono ponadto odwrotną zależność między narażeniem na butano-2,3-dion i wartościami FEV_1 .

DZIAŁANIE TOKSYCZNE NA ZWIERZĘTA

Działanie toksyczne na zwierzęta. Toksyczność ostra

Wartości medialnych dawek śmiertelnych butano-2,3-dionu (diacetylu) dla różnych gatunków zwierząt przedstawiono w tabeli 1.

Zgodnie z kryteriami klasyfikacji, oznakowania i pakowania substancji i mieszanin (rozporządzenie Parlamentu Europejskiego i Rady Wspólnoty Europejskiej nr 1272/2008 z dnia 16.12. 2008 r.) butano-2,3-dion znajduje się poza kategoriami 1-4.

Tabela 1.

Wartości median dawek śmiertelnych (LD⁵⁰) diacetylu dla zwierząt doświadczalnych (Jenner i in. 1964; Colley i in. 1969; RTECS 2009)

Gatunek zwierząt (płeć)	Droga narażenia	Wartość LD50, mg/kg
Szczury (samce i samice)	dożołądkowa	3400 (3180 ÷ 3640)
Szczury (samce)	dotrzewnowa	400 (340 ÷ 480)
Szczury (samice)	dożołądkowa	3000 (2420 ÷ 3720)
	dotrzewnowa	640 (570 ÷ 720)
	dożołądkowa	1580
Świnki morskie	dożołądkowa	900
Króliki	skórna	> 5000

Objawami ostrego działania toksycznego butano-2,3-dionu u szczurów po podaniu *per os* było: ślinienie, rozszerzenie naczyń krwionośnych żylnych i upośledzenie aktywności ruchowej oraz senność i drgawki (Colley i in. 1969; RTECS 2009). W badaniu sekcyjnym zwierząt nie obserwowano zmian anatomopatologicznych. U świnek morskich po podaniu butano-2,3-dionu tą samą drogą obserwowano: niezborność ruchową, duszność oddechową i śpiączkę (RTECS 2009).

Trzy grupy szczurów Wistar narażano na pary butano-2,3-dionu o stężeniach: 7,5; 17,3 lub 79,4 mg/m³ przez 4 h. Wszystkie szczury padły po dwóch największych stężeniach związku. Wartość LC₅₀ (4 h) butano-2,3-dionu oszacowano na poziomie 8055 ÷ 18616 mg/m³ (BASF 1993).

W innym doświadczeniu samce szczurów Sprague-Dawley narażano na butano-2,3-dion o stałych stężeniach: 0; 674; 947 lub 1169 mg/m³ lub o stężeniach

zmiennych w zakresie 239 ÷ 3121 mg/m³ (średnio 1292 mg/m³) przez 6 h. Po 24 h po zakończeniu narażenia u zwierząt stwierdzono: zmiany zapalne i martwicze nabłonka odcinka nosowo-gardłowego dróg oddechowych, martwiczo-ropne zapalenie śluzówki nosa oraz wieloogniskowe martwicze zapalenie oskrzeli – zwłaszcza jego głównego pnia (Hubbs i in. 2002).

W innym badaniu oceniono zmiany histopatologiczne w układzie oddechowym szczurów po narażeniu na butano-2,3-dion o stężeniach: 330; 659 lub 979 mg/m³ oraz 398; 744 lub 1183 mg/m³ przez 6 h oraz o stężeniach odpowiednio: 405; 748 lub 1212 mg/m³ 4-krotnie po 15 min. Przy największych stężeniach butano-2,3-dionu u zwierząt obserwowano martwicze nabłonka dróg oddechowych oraz ropne do włóknikowo-ropnego zapalenia błony śluzowej: nosa, krtani, tchawicy i oskrzeli. Błona śluzowa nosa wykazywała największą wrażliwość na działanie butano-2,3-

-dionu. Przy stężeniu butano-2,3-dionu wynoszącym 979 mg/m³ w tchawicy zwierząt stwierdzono: spłaszczenie komórek nabłonka migawkowego, utratę mikrokosmków i rzęsek oraz powstawanie szczelin w tym nabłonku. Zmiany w krtani i tchawicy występowały, gdy stężenie związku wynosiło 744 mg/m³ lub było większe, podczas gdy w oskrzelach stężenie wynosiło 979 mg/m³ lub było większe. W badaniu ultrastrukturalnym nabłonka tchawicy wykazano: poskręcaną i rozszerzoną siateczkę śródplazmatyczną szorstką (RER), zbitą chromatynę jądrową, wakuolizację cytoplazmy, powiększone przestrzenie międzykomórkowe, ogniska obniżonej błony podstawnej oraz obrzęk i krwotok rozciągający się do blaszki właściwej (Hubbs i in. 2008).

U myszy samców C57BI/6 narażonych na parę butano-2,3-dionu o stężeniu 664 lub 1328 mg/m³ przez 6 h/dzień, przez 4 kolejne dni obserwowano padnięcie części zwierząt oraz martwicze zapalenie: śluzówki nosa, krtani i oskrzeli. W innym doświadczeniu butano-2,3-dion podawano do części ustnej gardła w jednorazowych dawkach: 0; 100; 200 lub 400 mg/kg mc. W badaniu histopatologicznym płuc, wykonanym po 4 dniach po podaniu tylko dawki 400 mg/kg mc. butano-2,3-dionu, wykazano ogniska proliferacji włóknikowo-histocytowej z niewielkimi zmianami zapalnymi lub ich brakiem – w miejscu połączenia oskrzelików końcowych z przewodami pęcherzykowymi. W opinii autorów pracy zmiany te miały cechy zarostowego zapalenia oskrzelików, jakie obserwowano u ludzi narażonych na do włóknikowo-ropnego (Morgan i in. 2008).

U królików w standardowym teście *Draize'a* dawka 500 mg/24 h butano-2,3-dionu wywierała umiarkowane pierwotne działania drażniące na skórę (RTECS 2009).

Toksyczność przewlekła

Grupy szczurów liczące po 15 samców i 15 samic, otrzymywały *per os* do żołądka butano-2,3-dion (diacetyl) w dawkach: 0; 10; 30; 90 lub 540 mg/kg mc./dzień przez okres 90 dni. U obu płci zwierząt, otrzymujących badany związek w najwyższej dawce (540 mg/kg mc./dzień), obserwowano zahamowanie przyrostu masy ciała odpowiednio po upływie 2 i 6 tygodni doświadczenia. W tych samych grupach zwierząt występował wzrost spożycia wody w stosunku do grupy kontrolnej o 25 ÷ 30% od 3. tygodnia doświadczenia. Po 7 i 13 tygodniach narażenia zwierząt na butano-2,3-dion w dawce 540 mg/kg mc./dzień, zarówno u samców, jak i samic, obserwowano zmiany hematologiczne we krwi obwodowej. Zmiany te wyrażały się: spadkiem liczby erytrocytów, wartości hematokrytu i stężenia hemoglobiny oraz wzrostem liczby retikulocytów i leukocytów. W odsetkowym obrazie leukocytów tylko u samic obserwowano wzrost odsetka neutrofilii i spadek odsetka limfocytów, natomiast u samców wystąpił wzrost odsetka monocytów. W surowicy krwi nie stwierdzono zmian aktywności aminotransferazy alaninowej (ALT) i asparaginowej (AST). Względne masy: mózgu, wątroby, nerek, nadnerczy i gonad oraz przysadki mózgowej u samców były podwyższone, natomiast u samic były podwyższone tylko względne masy: wątroby, nerek, nadnerczy oraz przysadki mózgowej. W badaniu histopatologicznym wykazano owrzodzenia nabłonka gruczołowego żołądka oraz przerost nabłonka płaskiego w tym narządzie (Colley i in. 1969).

W innym doświadczeniu (Morgan i in.

2008) oceniono wpływ butano-2,3-dionu na strukturę i czynność układu oddechowego u samców myszy C57BI/6. W warunkach narażenia przerywanego myszy otrzymywały badany związek tylko drogą donosową o stężeniach: 0; 358; 716 lub 1432 mg/m³ przez 1 h/dzień, 5 dni/tydz. przez 4 tygodnie lub o stężeniu 0 lub 4296 mg/m³ 2 razy dziennie przez 15 min, 5 dni/tydz. przez 2 tygodnie. U zwierząt tych obserwowano: zmiany zapalne błony śluzowej nosa i krtani oraz okołoskrzelowe i okołoskrzelikowe nacieki limfocytarne (Morgan i in. 2008).

W innym doświadczeniu myszy samce C57BI/6 narażano na butano-2,3-dion o stężeniach: 0; 89,5; 179 lub 358 mg/m³ przez 6 h/dzień, 5 dni/tydz. przez 6 lub 12 tygodni. W grupach zwierząt narażonych na związek o stężeniach 179 lub 358 mg/m³ obserwowano odwracalny spadek częstości akcji oddechowej po 3 lub 6 tygodniach narażenia i zahamowanie przyrostu masy ciała tylko przy najwyższym stężeniu (358 mg/m³). W grupach tych ponadto stwierdzono: martwicę i metaplazję nabłonka oddechowego oraz metaplazję i zanik nabłonka węchowego w błonie śluzowej nosa, po 6 i 12 tygodniach narażenia. Niektóre z tych zmian jeszcze się utrzymywały przez 6 tygodni po przerwaniu narażenia. W tym samym czasie w płucach zwierząt narażonych na butano-2,3-dion, głównie o stężeniu 358 mg/m³, obserwowano okołoskrzelowe nacieki zapalne z limfocytów połączone z zanikiem nabłonka migawkowego, odsłonięciem warstwy podnabłonkowej i zmianami regeneracyjnymi. W popłuczynach oskrzelowo-pęcherzykowych (BAL) wykazano statystycznie znamienne wzrost aktywności dehydrogenazy mleczanowej (LDH) w grupie zwierząt narażonych na buta-

no-2,3-dion o stężeniu 176 mg/m³ przez 6 tygodni oraz o stężeniu 352 mg/m³ przez 6 i 12 tygodni. W grupie narażonej na najmniejsze stężenie butano-2,3-dionu (88 mg/m³) zmiany w układzie oddechowym były stosunkowo słabo zaznaczone. Na podstawie wyników tego doświadczenia można przyjąć wartość LOAEL dla butano-2,3-dionu na poziomie 88 mg/m³ (Morgan i in. 2008).

U szczurów, którym butano-2,3-dion podawano podskórnie w dawce 200 mg/kg mc./dzień przez 40 tygodni, nie stwierdzono neurotoksycznego działania tego związku na nerwy obwodowe. Obserwowano jedynie czasowy spadek amplitudy potencjałów czynnościowych w mięśniach szkieletowych (Nagano i in. 1983).

Odległe skutki toksyczne.

Działanie mutagenne

Butano-2,3-dion (diacetyl) wykazywał słabe działanie mutagenne w teście Ames a u *Salmonella Typhimurium* szczepy: TA100, TA102 i TA104 (Bjeldanes i in. 1979; Marnett i in. 1985; Dorado i in. 1992). Działanie mutagenne tego związku stwierdzono również u *Escherichia coli*, szczep WP2 uvrA, ale nie u *E. coli* PQ37 w teście SOS-Chromotest (Kato i in. 1989; von der Hude i in. 1988). Butano-2,3-dion indukował wymiany chromatyd siostrzanych (SCEs) w komórkach AUXB1 jajnika chomika chińskiego (CHO), (Tucker i in. 1989).

W badaniu na komórkach chłoniaka myszy L5178Y oceniono mutagenne działanie butano-2,3-dionu w obecności frakcji S9 z wątroby ludzkiej. Związek ten o stężeniach 100 ÷ 250 µg/ml, działających cytotoksycznie, wykazywał silne działanie mutagenne.

W innym badaniu, w tym samym te-

ście, obserwowano wzrost częstości występowania małych kolonii wskazujące, że butano-2,3-dion powoduje uszkodzenie wielu *loci* genowych na chromosomie 11 oprócz utraty *locus* genowego dla kinazy tymidynowej (Whittaker i in. 2008).

W badaniu *in vivo* stwierdzono ponad 10-krotny wzrost inkorporacji trytownej tymidyny do DNA oraz nieplanową syntezę DNA w błonie śluzowej żołądka szczurów samców F344, którym podano butano-2,3-dion *per os* w jednorazowych dawkach 300 ÷ 1500 mg/kg mc. Zmiany te wykazywały zależność od dawki diacetylu (Furihata i in. 1985). Natomiast w teście mikrojądrowym u myszy uzyskano wynik negatywny w zakresie dawek diacetylu do 500 mg/kg mc. (NTP 1994).

Działanie rakotwórcze

U szczurów samców F344 oceniono aktywność butano-2,3-dionu (diacetylu) jako inicjatora i promotora procesu nowotworowego w części gruczołowej żołądka. Zwierzętom podawano badany związek

per os w dawkach jednorazowych: 300 ÷ 1500 mg/kg mc. U samców w błonie śluzowej okolicy odźwiernikowej żołądka stwierdzono, zależny od dawki, wzrost aktywności dekarboksylazy ornitynowej z maksimum po 16 h od podania oraz około 10-krotny wzrost biosyntezy DNA. Obie zmiany, zależne od dawki, zdaniem autorów wskazują na inicjacyjne i promocyjne właściwości butano-2,3-dionu (Furihata i in. 1985).

Działanie embriotoksyczne, fetotoksyczne, teratogenne oraz wpływ na rozrodczość

W dostępnym piśmiennictwie nie znaleziono informacji na temat: gonadotoksycznego, embriotoksycznego, fetotoksycznego i teratogennego działania butano-2,3-dionu (diacetylu) u ludzi i zwierząt. Nie ma również danych co do wpływu tego związku na pourodzeniowy rozwój potomstwa.

TOKSYKOKINETYKA

Wchłanianie

W dostępnym piśmiennictwie nie znaleziono informacji na temat wchłaniania butano-2,3-dionu (diacetylu) do organizmu.

Rozmieszczenie

Po godzinie od podania butano-2,3-dionu (diacetylu) samcom szczurów Wistar w jednorazowej dawce 5 mmol/kg mc. *per os* stwierdzono obecność tego związku w: wątrobie, nerkach i mózgu. Stężenie

w wątrobie było około 2-krotnie większe niż w nerkach czy mózgu. Po podaniu w taki sam sposób acetoiny (acetyloetanolu) stężenia butano-2,3-dionu w wątrobie i mózgu były podobne, natomiast były około 3,4 razy większe niż w nerkach. Po podaniu butano-2,3-dionu *per os* samcom szczurów Wistar również w jednorazowej dawce 5 mmol/kg mc., stężenie butano-2,3-dionu w wątrobie było około 3,7 i 7,0 razy większe niż w mózgu i nerkach (Otsuka i in. 1996).

Metabolizm

Na podstawie wyników przeprowadzonych eksperymentów na szczurach wykazano, iż butano-2,3-dion (diacetyl) jest związkiem endogennym. Stężenia butano-2,3-dionu w: wątrobie, nerkach i mózgu mieściły się w zakresie $2 \div 3,5$ nmol/g tkanki (Otsuka i in. 1996). Badania dotyczące endogennego powstawania tej substancji prowadzono w związku z oceną metabolizmu etanolu. Stwierdzono, że butano-2,3-dion w niewielkich ilościach powstaje z acetoiny (acetyloetanolu). Acetoina jest produktem reakcji enzymatycznej (z udziałem kompleksu dehydrogenazy pirogronianowej) lub nieenzymatycznej

między aldehydem octowym i pirogronianem w obecności tiaminy. Acetoina ulega redukcji do 2,3-butandiolu, który następnie jest sprzęgany do β -glukuronidu. Przemiany metaboliczne wymienionych związków czterowęglowych przebiegają przy udziale dehydrogenaz zależnych od nukleotydów nikotynamidoadenylowych (Otsuka i in. 1996).

Wydalenie

W dostępnym piśmiennictwie nie znaleziono danych na temat dróg i kinetyki wydalania butano-2,3-dionu (diacetylu) z organizmu.

MECHANIZM DZIAŁANIA TOKSYCZNEGO

Kluczową zmianą patologiczną indukowaną przez butano-2,3-dion (diacetyl) u ludzi jest zarostowe zapalenie oskrzelików. Uważa się, że butano-2,3-dion bezpośrednio uszkadza nabłonek dróg oddechowych. Następowy proces regeneracyjny polega na niekontrolowanej proliferacji fibroblastów i mioblastów. Zmiany w układzie oddechowym, obserwowane w tym zespole, różnią się od zmian w: dychawicy oskrzelowej, rozlanym zapaleniu płuc lub zapaleniu pęcherzyków płucnych. Mechanizm zarostowego zapalenia oskrzelików nie jest znany (Harber i in. 2006).

Butano-2,3-dion jest czynnikiem wywołującym wiele zmian biochemicznych w układach biologicznych w wyniku bezpośredniej reakcji z częścią guanidynową argininy obecnej w białkach, m.in. enzymatycznych. Prowadzi to do zahamowania aktywności, m.in. enolazy w mięśniach (Pietkiewicz i in. 1991) i kinazy

pirogronianowej w ludzkich erytrocytach (Kilinc i in. 1984). Kinaza pirogronianowa jest kluczowym enzymem glikolizy. W badaniu w warunkach in vitro wykazano, że butano-2,3-dion chemicznie modyfikuje argininę w błonie wewnętrznej mitochondriów, co upośledza przepuszczalność błony przez zamykanie jej porów (Eriksson i in. 1998). Modyfikowana przez butano-2,3-dion reszta argininowa w pepsynie świni w pH 6,0 powodowała utratę przez enzym połowy aktywności proteolitycznej po upływie 2,5 h oraz $80 \div 85\%$ aktywności po 24 h (Huang i in. 1972). Butano-2,3-dion hamuje powinowactwo ligandów (muscimolu i flunitrazepamu) do GABA-ergicznego receptora benzodiazepinowego w sposób zależny od dawki. Skutek hamowania ulega odwróceniu za pomocą nadmiaru egzogennej argininy (Widdows i in. 1987). Wykazano, że butano-2,3-dion powoduje

zależne od dawki i czasu zmniejszenie liczby miejsc wiążących nitrendipiny, blokerów kanałów wapniowych typu L, w strukturach błonowych mózgu królika, nie zmieniając jej stałej dysocjacji (Costa i in. 1996).

DZIAŁANIE ŁĄCZNE

W dostępnym piśmiennictwie nie znaleziono danych na temat łącznego działania butano-2,3-dionu (diacetylu) z innymi ksenobiotykami

ZALEŻNOŚĆ SKUTKU TOKSYCZNEGO OD WIELKOŚCI NARAŻENIA

Zależność między skutkami narażenia na butano-2,3-dion (diacetyl) i wielkością narażenia na ten związek wykazano w badaniach epidemiologicznych i doświadczalnych na zwierzętach.

W grupie 117 osób, w wieku 18 ÷ 67 lat zatrudnionych przy produkcji prażonej kukurydzy, w tym 52 kobiet, obserwowano 2,6-krotnie częstsze występowanie kaszlu i duszności oraz 2-krotnie częstszą obecność dychawicy oskrzelowej i zapalenia oskrzeli w stosunku do wartości oczekiwanych. Narażenie o charakterze mieszanym na butano-2,3-dion i respirabilną frakcję pyłu było zależne od stanowiska pracy. Narażenie na butano-2,3-dion na stanowisku kontroli i konserwacji wynosiło 2,1 (1,06 ÷ 3,17) mg/m³, a na stanowisku pakowania kukurydzy do produkcji prażonej kukurydzy – 6,7 (0,7 ÷ 23,9) mg/m³. Największe stężenia badanych substancji, tj. butano-2,3-dionu i respirabilnej frakcji pyłu, uzyskano podczas mieszania substancji aromatyzujących do żywności zawierających butano-2,3-dion. Wynosiły one odpowiednio: 115,5 (4, 8 ÷ 3350,6) mg/m³ i 0,34 (0,12 ÷ 0,78) mg/m³. Chorobowość związana z niedrożnością dróg oddechowych wzrastała wraz ze wzrostem skumulowanego narażenia (iloczyn stężenia i czasu narażenia) na butano-2,3-dion. Odsetek pracowników z:

dusznością wysiłkową, regularnymi kłopotami z oddychaniem, dwoma lub więcej objawami oddechowymi, ogólnym zmęczeniem i podrażnieniem skóry na stanowisku kontroli jakości, konserwacji, pakowania kukurydzy i mieszania substancji aromatyzujących, był statystycznie istotnie większy niż w grupie osób narażonych na najmniejsze stężenie butano-2,3-dionu (0,15 mg/m³) i respirabilną frakcję pyłu (0,05 mg/m³). Średnie wartości FEV₁ były zmniejszone o 4,5 ÷ 12,5% w stosunku do wartości należnych. Również odsetek pracowników z małymi wartościami FVC narastał w zakresie 10,3 ÷ 27,6%. Stopniowy spadek wartości FEV₁ korelował z narażeniem skumulowanym, której wartości 2 ÷ 4 kwartyła wynosiły odpowiednio: 2,327; 16,11 i 39,38 mg/m³ · lata. Ryzyko wystąpienia niedrożności dróg oddechowych u osób z objawami oddechowymi, wyrażone ilorazem szans, wynosiło 4,2 (95-procentowy CI: 1,1 ÷ 15,6), a po standaryzacji na wiek i palenie tytoniu sięgało wartości 10,5 (95-procentowy CI: 2,7 ÷ 40,1), (Kreiss i in. 2002).

W dwóch grupach pracowników o różnicowanym narażeniu na butano-2,3-dion, wynoszącym odpowiednio: 0,043 ÷ 26,85 i 0,005 ÷ 0,045 mg/m³ i średnim czasie narażenia 2,9 i 7,7 lat tylko w grupie o większym narażeniu obserwowano podwyższoną liczbę neutrofilów w ślinie w stosunku do grupy

kontrolnej oraz podwyższony iloraz szans dla wzrostu liczby tych komórek w ślinie (OR = 3,8; 95-procentowy CI: 1,3 ÷ 11,5). U osób narażonych obserwowano podwyższone stężenie interleukiny IL-8 i zależny od wielkości narażenia wzrost stężenia eozynofilowego białka kationowego, wskazujące na zmiany zapalne w drogach oddechowych. Natomiast nie wykazano istotnych zmian wskaźników spirometrycznych (Akpinar-Elci i in. 2005).

W badaniach przeprowadzonych wśród pracowników kilku zakładów pracy wykazano zróżnicowane narażenie na butano-2,3-dion. Podczas mieszania przypraw narażenie to mieściło się w zakresie 0,0 ÷ 350,8 mg/m³, natomiast podczas pakowania kukurydzy

z przyprawami – 0,0 ÷ 24,3 mg/m³. U pracowników narażonych na butano-2,3-dion dłużej niż 12 miesięcy częstość dolegliwości ze strony układu oddechowego, w tym: przewlekłego kaszlu, duszności wysiłkowej, świszczącego oddechu i obniżonych wartości FEV₁, była istotnie większa w porównaniu z pracownikami krócej narażonymi (Kanwal i in. 2006).

Zależność między wielkością narażenia na butano-2,3-dion i częstością występowania zarostowego zapalenia oskrzelików (BO) u pracowników zatrudnionych przy mieszaniu substancji aromatyzujących do żywności lub pakowaniu kukurydzy wraz z tymi substancjami przedstawiono w tabeli 2.

Tabela 2.
Zależność między stanowiskiem pracy, wielkością narażenia na butano-2,3-dion (diacetyl), (stacjonarny monitoring środowiskowy lub dozymetria indywidualna) i częstością występowania zarostowego zapalenia oskrzelików u pracowników zatrudnionych przy produkcji prażonej kukurydzy (SCOEL 2013)

Zakład pracy	Stanowisko pracy	Narażenie, mg/m ³	Liczba przypadków/ liczba narażonych
Missouri (USA) A	mieszanie przypraw pakowanie	107,4 ÷ 143,2 (3,58 ÷ 350,8)	5/13
		6,8 (0,72 ÷ 24,3)	4/121
B	mieszanie przypraw pakowanie	2,15 (1,43 ÷ 3,58)	1/?
		2,15 (1,43 ÷ 2,51) ^a	
		2,51 (1,43 ÷ 4,3)	
C	mieszanie przypraw pakowanie	1,79 (0,72 ÷ 3,58) ^a	0
		1,43 (0,072 ÷ 3,22)	
		0,107 (0,036 ÷ 0,143) ^a	
		0,107 (0,036 ÷ 0,143)	
D	mieszanie przypraw pakowanie	0,072 (0,036 ÷ 0,143) ^a	0
		0,72 (0,004 ÷ 2,153)	
		0,072 (0,004 ÷ 0,179) ^a	
		0,0143 (0,004 ÷ 0,107)	
E	mieszanie przypraw pakowanie	0,007 (< 0,004 ÷ 0,18) ^a	1/?
		2,15 (1,07 ÷ 3,22)	
		1,43 ^a	
F	mieszanie przypraw pakowanie	0,716 (0,72 ÷ 1,43)	3/?
		2,15 (1,07 ÷ 4,30) ^a	
		4,30 (1,79 ÷ 9,67)	
Produkcja diacetylu	operatorzy procesowi	3,58 (0,72 ÷ 7,16) ^a	1/?
		0,72 (do 0,107)	
		0,072 (do 0,107) ^a	0
		(2,148 ÷ 358,0)	4/102

Objaśnienia:

^a – stężenia butano-2,3-dionu (diacetylu) z dozymetrii indywidualnej; nie podano liczby narażonych pracowników.

Lockey i in. wykazali procentowy spadek wartości należnej FEV_1 oraz 8- ÷ 10-krotnie podwyższone ryzyko obstrukcji dróg oddechowych (wyrażone stosunkiem FEV_1/FVC i wartością FEV_1 poniżej dolnej granicy fizjologicznej) w grupie 725 pracowników zatrudnionych w czterech zakładach produkujących prażoną kukurydzę przeznaczoną do przygotowania w kuchence mikrofalowej (Lockey i in. 2009). Chociaż spadek czynności oddechowej był statystycznie istotny, to wielkość tych zmian była stosunkowo mała (średnio $3,1 \div 6,7\%$), co mogło nie mieć znaczenia klinicznego. Podwyższone ryzyko obstrukcji dróg oddechowych obserwowano tylko u pracowników mieszających przyprawę, narażonych na butano-2,3-dion w zakresie średnich stężeń $1,23 \div 3,03 \text{ mg/m}^3$ lub z narażeniem skumulowanym $\geq 2,8 \text{ mg/m}^3 \cdot \text{lata}$. W grupie pracowników niemieszających przyprawę, narażonych na związek o mniejszych stężeniach butano-2,3-dionu, średnio w zakresie $0,05 \div 0,26 \text{ mg/m}^3$, nie obserwowano skutków szkodliwych ze strony układu oddechowego. Autorzy pracy zasugerowali, że próg działania szkodliwego butano-2,3-dionu na układ oddechowy występuje w zakresie stężeń $0,26 \div 1,23 \text{ mg/m}^3$.

Szczurom odstawionym od matek, po 21 dniach po urodzeniu, w grupach liczących po 15 samców i 15 samic, podawano *per os* do żołądka butano-2,3-dion w dawkach: 0; 10; 30; 90 lub 540 mg/kg mc./dzień przez 90 dni. W grupach otrzymujących największą dawkę badanego związku (540 mg/kg mc./dzień) obserwowano zahamowanie przyrostu masy ciała, począwszy od 2. i 6. tygodnia narażenia, odpowiednio u samców i samic. Po 7 i 13 tygodniach narażenia, odpowiednio u samców i samic, obserwowano zmiany

hematologiczne we krwi obwodowej wyrażone: spadkiem liczby erytrocytów, wartości hematokrytu i stężenia hemoglobiny oraz wzrostem liczby retikulocytów i leukocytów. W odsetkowym obrazie leukocytów tylko u samic wystąpił wzrost liczby neutrofilii i spadek liczby limfocytów, podczas gdy u samców wzrost liczby monocytów. U samców obserwowano podwyższone względne masy: mózgu, wątroby, nerek, nadnerczy, gonad i przysadki mózgowej, natomiast u samic podwyższeniu uległy względne masy: wątroby, nerek, nadnerczy i przysadki mózgowej. Na podstawie wyników badania histopatologicznego wykazano owrzodzenia gruczołowego nabłonka i przerost nabłonka płaskiego w żołądku (Colley i in. 1969).

W innym badaniu (tab. 3.) oceniono wpływ butano-2,3-dionu na strukturę i czynność układu oddechowego u samców myszy C57Bl/6. W doświadczeniu podprzewlekłym myszy narażano na pary butano-2,3-dionu o stężeniach: 0; 89,5; 179 lub 358 mg/m³ przez 6 h/dzień, 5 dni/tydzień przez 6 lub 12 tygodni. W grupie myszy narażonych na związek o najwyższym stężeniu butano-2,3-dionu (179 lub 358 mg/m³) obserwowano odwracalny spadek częstości oddechu po 3 lub 6 tygodniach narażenia i zahamowanie przyrostu masy ciała tylko po 358 mg/m³. W tych samych grupach myszy obserwowano martwicę i metaplastję nabłonka oddechowego oraz metaplastję i zanik nabłonka węchowego w błonie śluzowej nosa po 6 i 12 tygodniach narażenia. Niektóre z tych zmian utrzymywały się jeszcze po 6 tygodniach od zakończenia narażenia. W tym samym czasie w płucach zwierząt, narażonych głównie na związek o największym stężeniu butano-2,3-dionu (358 mg/m³) obserwowano: okołoskrzelowe nacieki

zapalne z limfocytów połączone z zanikiem nabłonka migawkowego oraz odsłonięcie warstwy podnabłonkowej i zmiany regeneracyjne w tym rejonie. W badaniu BAL wykazano istotnie podwyższoną aktywność LDH w grupie zwierząt narażonych na butano-2,3-dion o stężeniu 179 mg/m³ przez 6 tygodni oraz o stężeniu 358 mg/m³ przez 6 i 12 tygodni (Morgan i in. 2008).

Tabela 3.

Zmiany w układzie oddechowym u myszy narażonych na diacetyl (Morgan i in. 2008)

Typ zmian szkodliwych/czas narażenia	Stężenie, mg/m ³			
	0	89,5	179,0	358,0
Okołooskrzelowe zapalenie limfocytowe/6 tygodni	0/5	3/5 (1,0)	5/5 (1,6)	5/5 (2,6)
Zanik nabłonka oskrzelowego z odsłonięciem/6 tygodni	0/5	0/5	1/5 (1,0)	5/5 (2,8)
Regeneracja nabłonka oskrzelowego/6 tygodni	0/5	0/5	0/5	5/5 (2,8)
Okołooskrzelikowe zapalenie limfocytowe/6 tygodni	2/5 (1,0)	0/5	1/5 (1,0)	3/5 (1,0)
Okołooskrzelowe zapalenie limfocytowe/12 tygodni	0/5	2/5 (1,0)	4/5 (1,5)	5/5 (2,6)
Zanik nabłonka oskrzelowego z odsłonięciem/12 tygodni	0/5	0/5	0/5	5/5 (3,0)
Regeneracja nabłonka oskrzelowego/12 tygodni	0/5	0/5	0/5	5/5 (3,0)
Okołooskrzelikowe zapalenie limfocytowe/12 tygodni	0/5	0/5	0/5	3/5 (1,3)

Objaśnienia:

Wyniki wyrażono liczbą zwierząt ze zmianami w układzie oddechowym/ogólną liczbę zwierząt w grupie; w nawiasach podano stopień nasilenia zmian: 1 – minimalny; 2 – łagodny; 3 – umiarkowany; 4 – znaczny.

NAJWYŻSZE DOPUSZCZALNE STĘŻENIE (NDS) W POWIETRZU ŚRODOWISKA PRACY ORAZ DOPUSZCZALNE STĘŻENIE W MATERIALE BIOLOGICZNYM (DSB)

Istniejące wartości NDS

W Polsce dotychczas nie ustalono wartości najwyższego dopuszczalnego stężenia (NDS) dla butano-2,3-dionu (diacetylu). W 2008 r. w OSHA zaproponowano wartość dopuszczalnego poziomu narażenia (PEL) dla tego związku na poziomie 88 mg/m³ (OSHA 2008).

W 2010 r. w SCOEL zaproponowano wartość OEL na poziomie 0,352 mg/m³ (SCOEL 2010). Natomiast w 2014 r., po konsultacjach publicznych i publikacji nowych wyników badań, zmniejszono tę wartość w SCOEL do

0,07 mg/m³ (0,02 ppm) oraz zalecono wartość STEL na poziomie 0,36 mg/m³ (0,1 ppm), (SCOEL 2014). Podstawą tej wartości były wyniki badań epidemiologicznych dotyczących zmian w układzie oddechowym u pracowników zawodowo narażonych na butano-2,3-dion ze szczególnym uwzględnieniem zarostowego zapalenia oskrzelików.

W 2011 r. w ACGIH ustalono wartości TLV i STEL dla butano-2,3-dionu wynoszące odpowiednio: 0,04 mg/m³ (0,01 ppm) i 0,07 mg/m³ (0,02 ppm), (ACGIH 2012) na podstawie wyników badań (Kanwala i in. 2006).

Podstawy proponowanej wartości NDS

U pracowników produkujących i stosujących na skalę przemysłową przyprawę do żywności zawierające butano-2,3-dion (diacetyl) dochodziło do subklinicznych zmian czynnościowych układu oddechowego oraz utrwalonej niedrożności (obstrukcji) dróg oddechowych, które mogły ewaluować w kierunku zarostowego zapalenia oskrzelików.

Zarostowe zapalenie oskrzelików jest stanem nieodwracalnej, stałej obstrukcji dróg oddechowych w wyniku podśluzówkowego zwłóknienia lub rozwoju tkanki włóknistej w przydanie naczyń i w przyległych przegrodach pęcherzykowych.

Wartości maksymalnej pojemności wydechowej pierwszosekundowej (FEV_1) poniżej 60% wartości należnej oraz obniżenie wartości maksymalnej pojemności życiowej płuc (FVC) i stosunku FEV_1/FVC wskazują na obstrukcję dystalnego odcinka dróg oddechowych (Galbraith i in. 2009).

U gryzoni, jednorazowe lub powtarzane narażenie na butano-2,3-dion o maksymalnych stężeniach do 1200 mg/m^3 prowadziło do włóknikowo-ropnego lub martwiczego zapalenia: błony śluzowej nosa, krtani, tchawicy i oskrzeli (Hubbs i in. 2008; Morgan i in. 2008). U myszy i szczurów zmiany patologiczne indukowane przez butano-2,3-dion obejmowały głównie górne drogi oddechowe w wyniku oddychania tych zwierząt wyłącznie przez nos.

U człowieka krytycznym miejscem działania butano-2,3-dionu są dystalne drogi oddechowe, głównie oskrzeliki. Związek ten wywołuje zmiany obstrukcyjne i restrykcyjne dróg oddechowych oraz prowadzi do zarostowego zapalenia oskrzelików.

W modelowaniu farmakokinetycznym

(PBPK) wykazano, że u człowieka dawka butano-2,3-dionu osiągająca oskrzeliki jest 40-krotnie większa niż u szczura (Morris i in. 2009; Gloede i in. 2011). Zwrócono uwagę na metody oznaczania stężenia butano-2,3-dionu w powietrzu. Stwierdzono, że metoda NIOSH 2557 zaniża wyniki oznaczeń około 3-krotnie w porównaniu ze zmodyfikowaną metodą OSHA PV2118 (Cox-Ganser i in. 2011; SCOEL 2014). Należy zaznaczyć, że niedoszacowanie stężeń ksenobiotyku w powietrzu prowadzi do przeszacowania ryzyka zdrowotnego i odwrotnie.

Ze względu na: różnice miejsc toksycznego działania butano-2,3-dionu między człowiekiem i gryzoniami, różnice farmakokinetyki i wrażliwości międzygatunkowej, wyniki badań doświadczalnych na zwierzętach nie mogą być podstawą do obliczenia wartości NDS.

Podstawą do obliczenia wartości NDS mogą być natomiast wyniki badań nad zależnością między narażeniem skumulowanym ($\text{mg/m}^3 \cdot \text{lata}$) na butano-2,3-dion i objawami ze strony układu oddechowego, innych układów i skóry (Kreiss i in. 2002). W badaniach tych wykazano większą częstość występowania: przewlekłego kaszlu, duszności, sapania, astmy, przewlekłego zapalenia oskrzeli i niedrożności dróg oddechowych (spadek wartości FEV_1) wraz ze wzrostem narażenia. Wielkość stężenia, które nie wywołuje dających się zaobserwować szkodliwych skutków (NOAEC), wynosi $2,327 \text{ mg/m}^3 \cdot \text{lata}$ ($0,65 \text{ ppm} \cdot \text{lata}$). Podobne, chociaż nieco wyższe wyniki uzyskano w badaniach Lockey'a i in., gdzie wartość ta wynosiła $5,728 \text{ mg/m}^3 \cdot \text{lata}$ ($1,6 \text{ ppm} \cdot \text{lata}$), (Lockey i in. 2009).

Przyjmuje się, że przewlekła obstrukcja dróg oddechowych i zarostowe zapalenie oskrzelików są zmianami nieodwracalnymi i zmiany te są proporcjonalne do wielkości

stężenia diacetylu i czasu narażenia. Podstawą obliczenia wartości dopuszczalnej może być prawo Habera stwierdzające, że wielkość stężenia · czas = constans (SCOEL 2014). Zatem, dzieląc narażenie skumulowane przez 40 lat można dokonać korekty NOAEC:

$$\text{NOAEC} : 40 = 2,327 \text{ mg/m}^3 \cdot \text{lata} : 40 \text{ lat} = 0,0582 \text{ mg/m}^3.$$

Dokonując korekty stężenia butano-2,3-dionu w powietrzu, otrzymuje się wartość NOAEC po korekcie:

$$0,0582 \text{ mg/m}^3 \cdot 3 = 0,1746 \text{ mg/m}^3.$$

Wartość NDS butano-2,3-dionu obliczono na podstawie wzoru:

$$\begin{aligned} \text{NDS} &= \text{NOAEC} : A \cdot B \cdot C \cdot D \cdot E, \\ \text{NDS} &= 0,1746 \text{ mg/m}^3 : 2 \cdot 1 \cdot 1 \cdot 1 \cdot 2, \\ \text{NDS} &= 0,1746 \text{ mg/m}^3 : 4, \\ \text{NDS} &= 0,0437 \text{ mg/m}^3, \\ \text{NDS} &= 0,044 \text{ mg/m}^3, \end{aligned}$$

gdzie:

- $A = 2$, dla różnic wrażliwości osobniczej u ludzi,
- $B = 1$, dla różnic międzygatunkowych,
- $C = 1$, dla narażenia przewlekłego,
- $D = 1$, dla zastosowanego NOAEC,
- $E = 2$, współczynnik modyfikujący (działanie mutagenne).

Ponieważ butano-2,3-dion wykazuje znaczne wahania stężeń w powietrzu środowiska pracy, dlatego jest uzasadnione ustalenie wartości NDSCh na podstawie wzoru:

$\log \text{NDSCh} = \log \text{NDS} + u(P_1) \cdot \log S_g$, gdzie:

$u(P_1)$ – współczynnik związany z prawdopodobieństwem przekroczenia wartości krótkoterminowej = 1,53,

$\log S_g$ – logarytm standardowego odchylenia geometrycznego w zakresie stężeń $0,18 \div 0,30$.

$$\begin{aligned} \log \text{NDSCh} &= \log 0,044 + 1,53 \cdot 0,197 = \\ &= -1,357 + 0,301 = -1,056, \\ \text{NDSCh} &= 0,088 \text{ mg/m}^3. \end{aligned}$$

Po dyskusji i głosowaniu na 77. posiedzeniu Międzyresortowej Komisji ds. NDS i NDN w dniu 14.01.2015 r. przyjęto dla butano-2,3-dionu (diacetylu) wartości zaproponowane w SCOEL i umieszczone w projekcie dyrektywy ustalającej 4. wykaz wskaźnikowych wartości narażenia zawodowego (Doc. 1893/14), tj. wartość NDS na poziomie $0,07 \text{ mg/m}^3$ oraz wartość NDSCh na poziomie $0,36 \text{ mg/m}^3$. Ponadto zalecono oznakowanie substancji literą „P” (substancja o działaniu drażniącym).

Różnica obliczonej wartości NDS dla butano-2,3-dionu i przyjętej przez Międzyresortową Komisję ds. NDS i NDN wg SCOEL wynika z 2-krotnie większej wartości współczynnika niepewności zastosowanego w obliczeniach własnych. Czterokrotnie większa wartość STEL w stosunku do obliczonej wartości NDSCh wynika z faktu stosowania przez SCOEL arbitralnie przyjętego współczynnika 5, którym jest dzielona wartość OEL (SCOEL 2013).

Przyjęcie przez Międzyresortową Komisję ds. NDS i NDN wartości NDS i NDSCh na poziomach zalecanych przez SCOEL jest wyrazem dostosowania w Polsce wartości dopuszczalnych wielkości narażenia zawodowego do zaleceń Unii Europejskiej.

ZAKRES BADAŃ WSTĘPNYCH I OKRESOWYCH, NARZĄDY (UKŁADY) KRYTYCZNE, PRZECIWSKAZANIA LEKARSKIE DO ZATRUDNIENIA

dr n. med. EWA WĄGROWSKA-KOSKI

Instytut Medycyny Pracy

im .prof. dr. med. Jerzego Nofera

91-348 Łódź

ul. św. Teresy od Dzieciątka Jezus 8

Zakres badania wstępnego

Ogólne badanie lekarskie ze zwróceniem uwagi na: układ oddechowy, błony śluzowe oczu i skórę.

Badania pomocnicze: spirometria, w zależności od wskazań lekarskich rtg. klatki piersiowej.

Zakres badania okresowego

Ogólne badanie lekarskie ze zwróceniem uwagi na: układ oddechowy, błony śluzowe oczu i skórę.

Badania pomocnicze: spirometria, w zależności od wskazań lekarskich rtg. klatki piersiowej. Częstotliwość badań okresowych: co 2 ÷ 3 lata.

U w a g a:

Lekarz przeprowadzający badanie profilaktyczne może poszerzyć jego zakres o dodatkowe specjalistyczne badania lekarskie oraz badania pomocnicze, a także wyznaczyć krótszy termin następnego badania, jeżeli stwierdzi, że jest to niezbędne do prawidłowej oceny stanu zdrowia pracownika lub osoby przyjmowanej do pracy.

Zakres ostatniego badania okresowego przed zakończeniem aktywności zawodowej

Ogólne badanie lekarskie ze zwróceniem uwagi na: układ oddechowy, błony śluzowe

we oczu i skórę.

Badania pomocnicze: spirometria, w zależności od wskazań lekarskich rtg. klatki piersiowej.

Narządy (układy) krytyczne

Układ oddechowy, aparat ochronny oczu, skóra.

Przeciwwskazania lekarskie do zatrudnienia

Przeciwwskazaniami lekarskimi do zatrudnienia są: astma oskrzelowa, przewlekła obturacyjna choroba płuc, przewlekłe przerostowe i zanikowe zapalenie błon śluzowych górnych dróg oddechowych, przewlekłe stany zapalne błon śluzowych oczu oraz przewlekłe stany zapalne skóry.

U w a g a

Wymienione przeciwwskazania dotyczą kandydatów do pracy.

O przeciwwskazaniach w przebiegu zatrudnienia powinien decydować lekarz sprawujący opiekę profilaktyczną, biorąc pod uwagę wielkość i okres trwania narażenia zawodowego oraz ocenę stopnia zaawansowania i dynamikę zmian chorobowych. Ze względu na działanie drażniące na układ oddechowy, w badaniu podmiotowym należy uwzględnić wywiad w kierunku nałogu palenia papierosów.

PIŚMIENICTWO

- ACGIH (2012) Threshold limit values for chemical substances and physical agents & biological exposure indices. American Conference of Governmental Industrial Hygienists.
- Akpinar-Elci M., Travis W.D., Lynch D.A., Kreiss K.* (2004) Bronchiolitis obliterans syndrome in popcorn production plant workers. *Eur. Respir. J.* 24, 298–302.
- Akpinar-Elci M., Stemple K.J., Enright P.L., Fahy J.V., Bledsoe T.A., Kreiss K., Weissman D.N.* (2005) Induced sputum evaluation in microwave popcorn production workers. *Chest* 128, 991–997.
- BASF Aktiengesellschaft (1993) Study on the acute inhalation toxicity LC50 of diacetyl FCC as a vapor in rats 4 hour exposure. Ludwigshafen [cyt. za: Harber i in. 2006].
- Bjeldanes L.F., Chew H.* (1979) Mutagenicity of 1,2-dicarbonyl compounds: maltol, kojic acid, diacetyl and related substances. *Mutat. Res.* 67(4), 367–371.
- Boylstein R., Piacitelli C., Grote A., Kanwal R., Kullmaqn G., Kreiss K.* (2006) Diacetyl emissions and airborne dust from butter flavorings used in microwave popcorn production. *J. Occup. Environ. Hyg.* 3, 530–535.
- Colley J., Gaunt I.F., Lansdown A.B.G., Grasso P.* (1969) Acute and short-term toxicity of diacetyl in rats. *Food Cosmet. Toxicol.* 7, 571–580.
- Costa B., Giusti L., Martini C., Lucacchini A.* (1996) 2,3-Butanedione inactivates the [3H] nitrendipine binding sites, whereas diethylpyrocarbonate does not. *Neurochem. Int.* 29(6), 623–627.
- Cox-Ganser J., Ganser G., Saito R., Hobbs G., Boylstein R., Hendricks W. i in.* (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 Melado J.M.* (1992) A contribution to the study of the structure-mutagenicity relationship for a-dicarbonyl compounds using the Ames test. *Mutat. Res.* 269(2), 301–306.
- Eriksson O., Fontaine E., Bernardi P.* (1998) Chemical modification of arginines by 2,3-butanedione and phenylglyoxal causes closure of the mitochondrial permeability transition pore. *J. Biol. Chem.* 273(20), 12669–12674.
- Fujioka K., Shibamoto T.* (2006) Determination of toxic carbonyl compounds in cigarette smoke. *Environ. Toxicol.* 21, 47–54.
- Furihata C., Yoshida S., Matsushima T.* (1985) Potential initiating and promoting activities of diacetyl and glyoxal in rat stomach mucosa. *Jpn. J. Cancer Res. (Gann)* 76, 809–814.
- Galbraith D., Weill D.* (2009) Popcorn lung and bronchiolitis obliterans: a critical appraisal. *Int. Arch. Occup. Environ. Health* 82, 407–416.
- Gloede E., Cichocki J.A., Baldino J.B., Morris J.B.* (2011) A validated hybrid computational fluid dynamics-physiologically based pharmacokinetic model for respiratory tract vapor absorption in the human and rats and its application to inhalation dosimetry of diacetyl. *Toxicol. Sci.* 123, 231–246 [cyt. za: ACGIH 2012].
- Harber P., Kaochoy Saechao K., Boomus C.* (2006) Diacetyl – induced lung disease. *Toxicol. Rev.* 25(4), 261–272.
- Hendrick D.J.* (2008) “Popcorn worker’s lung” in Britain in a man making potato crisp flavoring. *Thorax* 63, 267–268.
- HSDB, Hazardous Substances Data Bank (2009) Diacetyl [<http://csi.micromedex.com/assm.asp?HS297>].
- Huang W.Y., Tang J.* (1972) Modification of an arginyl residue in pepsin by 2,3-butane-dione. *J. Biol. Chem.* 247(9), 2704–2710.
- Hubbs A.F., Battelli L.A., Goldsmith W.T., Porter D.W., Frazer D., Friend S., Schwegler-Berry D., Mercer R.R., Reynolds J.S., Grote A., Castranova V., Kullman G., Fedan J.S., Dowdy J., Jones W.G.* (2002) Necrosis of nasal and airway epithelium in rats inhaling vapors of artificial butter flavoring. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 185, 128–135.
- Hubbs A.F., Goldsmith W.T., Kashon M.L., Frazer D., Mercer R.R., Battelli L.A., Kullman G.J., Schwegler-Berry D., Friend S., Castranova V.* (2008) Respiratory toxicologic pathology of inhaled diacetyl in Sprague-Dawley rats. *Toxicol. Path.* 36, 330–344.
- IPCS (2005) International Programme on Chemical Safety and the Commission of the European Communities 2,3-Butanedione. ICSC 1168 [<http://www.inchem.org/documents/icsc/icsc/icsc1168.htm>].

- Jenner P.M., Hagan E.C., Taylor J.M., Cook E.L., Fitzhugh O.G. (1964) Food flavourings and compounds of related structure. I. Acute oral toxicity. *Food Cosmet. Toxicol.* 2, 327–331.
- Jeżewska A. (2007) [materiały niepublikowane].
- 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. *JOEM* 48(2), 149–157.
- Kato F., Araki A., Nozaki M., Matsushima T. (1989) Mutagenicity of aldehydes and diketones. *Mutat. Res.* 216, 366–367.
- Kilinc K., Özer N. (1984) Irreversible inactivation of human erythrocyte pyruvate kinase by 2,3-butanedione. *Arch. Biochem. Biophys.* 230(1), 321–326.
- Kreiss K., Gomaa A., Kullman G., Fedan K., Simoes E.J., Enright P.L. (2002) Clinical bronchiolitis obliterans in workers at a microwave-popcorn plant. *N. Engl. J. Med.* 347(5), 330–338.
- 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.
- Lockey J.E., Hilbert T.J., Levin L.P. (2009) Airway obstruction related to diacetyl exposure at microwave popcorn production facilities. *Eur. Resp. J.* 34, 63–71 [cyt. za: Maier i in. 2010].
- Maier A., Kohrman-Vincent M., Parker A., Haber L.T. (2010) Evaluation of concentration-response options for diacetyl in support of occupational risk assessment. *Reg. Toxicol. Pharmacol.* 58, 285–296.
- Marnett L.J., Hurd H.K., Hollstein M.C., Levin D.E., Esterbauer H., Ames B.N. (1985) Naturally occurring carbonyl compounds are mutagens in *Salmonella* tester strain TA 104. *Mutat. Res.* 148(1–2), 25–34.
- The Merck Index (2006) An encyclopedia of chemicals, drugs, and biologicals. 14th ed., Inc. Whitehouse Station, NJ, USA, Merck & Co. 504.
- Morgan D.L., Flake G.P., Kirby P.J., Palmer S.M. (2008) Respiratory toxicity of diacetyl in C57Bl/6 mice. *Toxicol. Sci.* 103(1), 169–180.
- Morris J.B., Hubbs A.F. (2009) Inhalation dosimetry of diacetyl and butyric acid, two components of butter flavoring vapors. *Toxicol. Sci.* 108, 173–183 [cyt. za: SCOEL 2012].
- Nagano M., Misumi J., Nomura S. (1983) An electrophysiological study on peripheral neurotoxicity of 2,3-butanedione, 2,4-pentanedione and 2,5-hexanedione in rats. *Jpn. J. Ind. Health* 25, 471–477.
- NTP (1994) Summary of data for chemical selection 2,3-butanedione (431-03-8) [http://ntp.niehs.nih.gov/ntp/htdocs/Chem_Background/ExSumPdf/431-03-8.pdf].
- OSHA (2008) Occupational Safety & Health Administration [<http://www.osha.gov/dts/sltc/methods/partial/t-pv2118/t-pv2118.html>].
- 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.
- Parmet A.J., von Essen S. (2002) Rapidly progressive, fixed airway obstructive disease in popcorn workers: a new occupational pulmonary illness? *JOEM* 44(3), 216–218.
- Pietkiewicz J., Wolny M. (1991) Inactivation of enolase from carp (*Cyprinus carpio*) muscle by 2,3-butanedione. *Biochem. Int.* 23(1), 69–74.
- RTECS (2009) Registry of Toxic Effects of Chemical Substances. 2,3-Butanedione [<http://csi.micromedex.com/assm.asp?RTEK2625000>].
- SCOEL (2010) Recommendation from the Scientific Committee on Occupational Exposure Limits for diacetyl. SCOEL/SUM/149.
- SCOEL (2014) Recommendation from the Scientific Committee on Occupational Exposure Limits for Diacetyl. DRAFT for 6-month consultation November 2013 – May 2014.
- Tucker J.D., Taylor R.T., Christensen M.L., Strout C.L., Hanna M.L., Carrano A.V. (1989) Cytogenetic response to 1,2-dicarbonyls and hydrogen peroxide in Chinese hamster ovary AUXBI cells and human peripheral lymphocytes. *Mutat. Res.* 224(2), 269–279.
- Visscher D.W., Myers J.L. (2006) Bronchiolitis. The pathologist's perspective. *Proc. Am. Thorac. Soc.* 3, 41–47.
- van Rooy F.G.B.G.J., Rooyackers J.M., Prokop M., Houba R., Smit L.A.M., Heederik D.J.J. (2007) Bronchiolitis obliterans syndrome in chemical workers producing diacetyl for food flavorings. *Am. J. Resp. Crit. Care Med.* 176, 498–504.

- van Rooy F.G.B.G.J., Smit L.A.M., Houba R., Zaat V.A.C., Rooyackers J.M., Heederik D.J.J. (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(2), 81–94.
- Whittaker P., Clarke J.J., San R.H.C., Begley T.H., Dunkel V.C.* (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.
- Widdows K.B., Kirkness E.F., Turner A.J.* (1987) Modification of the GABA/benzodiazepine receptor with the arginine reagent, 2,3-butanedione. *FEB* 222(1), 125–128.