

Richtwerte für monocyclische Monoterpene (Leitsubstanz *d*-Limonen) in der Innenraumluft

Mitteilung der Ad-hoc-Arbeitsgruppe Innenraumrichtwerte der Innenraumluftthygiene-Kommission des Umweltbundesamtes und der Obersten Landesgesundheitsbehörden


Vorbemerkung

Limonen zählt wie die strukturisomeren Phellandrene, Terpinene und Terpinolen zur Stoffgruppe der monocyclischen Monoterpene mit Cyclohexanring. Die Vertreter dieser Stoffgruppe weisen eine einfache Ringstruktur und zwei Doppelbindungen auf und unterscheiden sich dadurch in ihrer Struktur deutlich von den bicyclischen Monoterpenen, für die bereits Richtwerte für die Innenraumluft abgeleitet worden sind [1].

Limonen weist ein chirales Zentrum auf und kommt in den beiden Stereoisomeren *d*- und *l*-Limonen vor. In dieser Bewertung wird *d*-Limonen als Leitkomponente der monocyclischen Monoterpene herangezogen, da dieses am häufigsten vorkommt und die meisten Wirkuntersuchungen mit dieser Substanz durchgeführt wurden. Zu *l*-Limonen liegen nur sehr wenige Wirkuntersuchungen vor, ebenso zu dem als Dipenten bezeichneten Razemat.

1 Stoffidentifizierung [2, 3, 4]

Systematischer Name: (R)-1-Methyl-4-(1-Methylethenyl)cyclohexen
 Synonyme: *d*-(+)-Limonen, (R)-(+)-Limonen,

(R)-(+)-*para*-Mentha-1,8-dien,
 (+)-4-Isopropenyl-1-Methyl-cyclohexen
 CAS-Nummer: 5989-27-5 (*d*-(+)-Limonen)
 5989-54-8 (*l*-(-)-Limonen)
 138-86-3 (Dipenten)
 EINECS-Nummer: 227-813-5
 Kennzeichnung (für Dipenten): Xn, N, R 10, R 38, R 43, R 50/53
 Summenformel: C₁₀H₁₆
 Strukturformel:  **Abb. 1**

1.1 Physikalische und chemische Eigenschaften [2, 5]

Molekulargewicht: 136,23 g/mol
 Schmelzpunkt: -74,35 °C
 Siedepunkt: 175,5 – 176 °C bei 1013 hPa
 Dichte: 0,84 g/cm³
 Dampfdruck: 190 Pa bei 20 °C
 Relative Gasdichte (Luft = 1): 4,7
 Wasserlöslichkeit: 13,8 mg/ml bei 25 °C

Verteilungskoeffizient lg K_{Octanol/Wasser}: 4,23
 Umrechnung (bei 25 °C): 1 mg/m³ = 0,18 ppm, 1 ppm = 5,6 mg/m³

1.2 Stoffeigenschaften und Anwendung

Limonen ist eine farblose Flüssigkeit. Es ist das in Nahrungspflanzen am häufigsten vorkommende Monoterpene [6]. *d*-Limonen weist einen angenehmen, zitrusähnlichen Geruch auf und findet sich in hoher Konzentration in Zitrus-, aber auch in vielen anderen etherischen Ölen, etwa von Fenchel und Kümmel, sowie in vielen Nahrungspflanzen [3]. *l*-Limonen findet sich in Pfefferminze und Baldrian, insbesondere aber in Fichtennadelöl und Terpentin, sein Geruch ist eher scharf und terpenartig mit Zitrusnote [7, 8]. Das Racemat (Dipenten) kommt unter

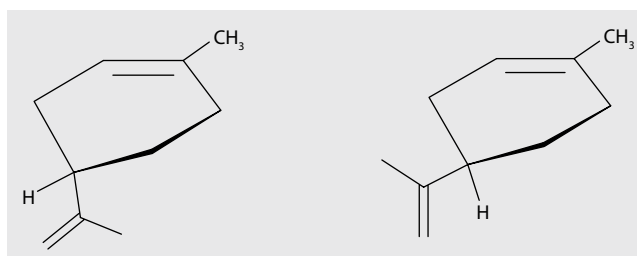


Abb. 1 ◀ Strukturformel von *l*-(-)- und *d*-(+)-Limonen

anderem ebenfalls in Ölen von Nadelhölzern und in einigen etherischen Ölen wie etwa dem der Muskatnuss vor. Technisches Dipenten ist ein Gemisch, das neben Limonen wechselnde Mengen verschiedener anderer Terpene (unter anderem Myrcen, α - und β -Pinen, Sabinen und 3-Caren) enthält [2].

Unter Licht- und Luftenwirkung oxidiert Limonen leicht und geht dabei über anfänglich gebildete instabile Hydroperoxide und Epoxide in verschiedene sauerstoffhaltige Oxidationsprodukte wie Carveol und Carvon über [3].

d-Limonen sowie technisches Dipenten werden als Lösemittel in der Lackindustrie und im Heimwerker- und Haushaltsbereich (zum Beispiel als Abbeizmittel, Pinselreiniger, Lasur, Pflegemittel, Politur) eingesetzt; *d*-Limonen außerdem im Kosmetikbereich als Duftstoff sowie in der Lebensmittelindustrie zur Aromatisierung von Lebensmitteln [3, 6, 7]. Außerdem findet Limonen, zusammen mit anderen etherischen Ölen, medizinische Verwendung bei der Behandlung von Erkältungskrankheiten.

2 Exposition

2.1 Innenraumluft

Der Eintrag aus der Außenluft ist für die Belastung der Innenraumluft mit Limonen und anderen monocyclischen Terpenen von untergeordneter Bedeutung. Die Konzentration von Monoterpenen insgesamt in der Luft von Nadelwäldern ist großen Schwankungen unterworfen. liegt aber für gewöhnlich im Bereich von 0,001–0,01 mg/m³ [2].

Limonen stellt zusammen mit bicyclischen Monoterpenen (α -, β -Pinen, 3-Caren) die wichtigsten und häufigsten terpenoiden Innenraumluft-Komponenten [9]. Die gemessenen Konzentrationen variieren abhängig von vorhandenen Innenraumquellen über einen weiten Bereich von etwa 0,002–0,5 mg/m³. Kurzzeitig höhere Werte wurden etwa bei der Anwendung von Pflegemitteln für Möbel (um 1 mg/m³) und beim Schälen von Zitrusfrüchten (um 2 mg/m³) gemessen [10].

Zum Vorkommen von Limonen (ohne Spezifizierung des Isomers) in der Luft von Wohnungen in Deutschland liegt eine Reihe von Untersuchungen vor (■ **Tabelle 1**). In einer Untersu-

chung von 52 Innenräumen im Zeitraum von 1999 bis 2003 konnte Limonen bei der überwiegenden Mehrzahl der Messungen nachgewiesen werden. Bei einem Vergleich von Daten des Umwelt-Survey 1985/86 mit späteren Untersuchungen zeigte sich, dass die Kennwerte des Umwelt-Surveys 1985/86 und des Erwachsenen-Umwelt-Surveys 1990/92 bei späteren Untersuchungen praktisch nicht mehr erreicht wurden, wenn auch nach wie vor in Einzelfällen ähnlich hohe Maximalwerte zu verzeichnen waren. Als Ursache für die zurückgehende Belastung der Innenraumluft wird ein zurückgegangener Einsatz von Haushaltsprodukten, die Limonen enthalten, und der Ersatz derartiger Produkte wie etwa „Biofarben und Lacke“ durch terpenfreie wässrige Systeme angenommen [11, 12].

Für andere monocyclische Terpene liegen keine aussagekräftigen Daten vor.

2.2 Nahrungsmittel und Verbraucherprodukte

Limonen ist in Pflanzen und pflanzlichen Nahrungsmitteln weit verbreitet. Besonders hohe Gehalte finden sich in Zitrusfrüchten und daraus hergestellten Säften

Tabelle 1

Konzentration von Limonen in der Luft ausgewählter Innenräume

Innenraum/Studie	N	BG ($\mu\text{g}/\text{m}^3$)	N > BG (% > BG)	Median ($\mu\text{g}/\text{m}^3$)	95. Perzentil ($\mu\text{g}/\text{m}^3$)	Maximalwert ($\mu\text{g}/\text{m}^3$)	Referenz
Wohn- und Büroräume/RKI 1999–2003	52	1	49 (94)	10	92	272	[11]
n.a./B.A.U.C.H. 1989–1999	705	n.a.	n.a.	8	74	n.a.	[11]
n.a./GFU 1995–2000	761	n.a.	n.a.	7	88	n.a.	[11]
Umwelt-Survey 1985/86	479	0,7	n.a.	13	103	315	[13]
Erwachsenen-Umwelt-Survey 1990–1992	113	1	113 (100)	32	155	480	[14]
Wohnungen, S-H, 2000–2001	79	0,17	n.a.	8,4	n.a.	171	[15]
Wohnungen, KUS 2003–2006	555	1	517 (93)	11,5	103	400	[16]
v. a. Schlaf-, Wohnzimmer, Büroräume, Klassenräume/AGÖF 2008	2394	0,8–8	2197 (92)	6	56	2500	[12]
Büroräume, M-V, 2004–2009	86	1	79 (92)	5	110	621	[17]
Schulen und Kindergärten, S-H, 2005–2007	285	1	82	3	51	880	[18]
Wohnungen, Büroräume, Kindereinrichtungen, M-V, 2004–2009	150	1	139 (93)	7	82	621	[17]

* n.a.: nicht angegeben

(ca. 200 mg *d*-Limonen/l) sowie in ätherischen Ölen und Gewürzen [19].

2.3 Gesamtexposition

Der Gehalt an Limonen in der Luft trägt unter üblichen Expositionsbedingungen in der Allgemeinbevölkerung nur in untergeordnetem Maße (< 5 %) zur Gesamtbelastung bei. Die Aufnahme aus der Innenluft beläuft sich auf eine Größenordnung von 0,01 mg/kg KG · d, die Aufnahme aus der Außenluft ist vernachlässigbar (~0,0001 mg/kg KG · d).

Der weit überwiegende Teil (> 90 %) der Gesamtexposition an Limonen erfolgt über die Nahrung. Für die US-amerikanische Bevölkerung wurde eine tägliche Aufnahme von 0,27 mg/kg KG abgeschätzt, für andere Länder liegen keine Angaben vor. Die Aufnahme mit der Nahrung hängt jedoch sehr stark von den Ernährungsgewohnheiten ab und kann bei Konsum von Zitrusfruchtsäften 1 mg/kg · d bei Erwachsenen und 2 mg/kg · d bei Kindern erreichen [19]. Neuere Abschätzungen belaufen sich auf eine durchschnittliche tägliche Pro-Kopf-Zufuhr von *d*-Limonen mit der Nahrung in Europa beziehungsweise den USA in Höhe von etwa 40 mg beziehungsweise 13 mg, entsprechend 0,66 mg/kg · d beziehungsweise 0,21 mg/kg · d [20].

3 Toxikokinetik

3.1 Aufnahme und Verteilung

Limonen wird in der Lunge gut resorbiert. Bei einer zweistündigen Exposition von Probanden gegenüber gasförmigem *d*-Limonen in Konzentrationen von 10 mg/m³ Raumluft wurden bei leichter körperlicher Tätigkeit durchschnittlich 63 % der angebotenen Menge über die Atemwege aufgenommen, auch bei höheren Konzentrationen (225 und 450 mg/m³) war die Aufnahme praktisch unverändert hoch (68 %) [21]. Bei oraler Zufuhr wird Limonen vom Menschen und Versuchstieren rasch und praktisch vollständig aufgenommen [2]. Aufgenommenes Limonen verteilt sich mit dem Blutstrom rasch im Körper, bevorzugt in lipidreiche Gewebe, darunter auch das Gehirn. Bei Ratten wurden die

höchsten Gehalte in Leber und Nieren gefunden.

3.2 Metabolismus und Ausscheidung

Limonen wird von mikrosomalen Monooxygenasen hydroxyliert, die gebildeten Metabolite werden als Glukuronsäure-Konjugate oder nach weiterer Oxidation als Carbonsäuren mit dem Urin ausgeschieden. Hauptstoffwechselprodukte des *d*-Limonens beim Menschen sind *d*-Limonen-8,9-diol und dessen Glukuronid sowie Perillasäure (4-Isopropenyl-1-cyclohexen-1-carbonsäure), daneben werden auch Dihydroxy-perillasäure und Limonen-1,2-diol gebildet [2, 3]. Untersuchungen mit Mikrosomen aus der Leber verschiedener Tierarten und des Menschen zeigen, dass *d*- und *l*-Limonen gleichermaßen hydroxyliert werden. Als Hauptprodukte treten bei Menschen, Javaneraffen, Ratten und Mäusen Carveol (2-Methyl-5-(1-methylethenyl)-2-cyclohexen-1-ol) und Perillaalkohol (1-Hydroxymethyl-4-isopropenyl-1-cyclohexen) auf, bei Hunden, Meerschweinchen und Kaninchen außerdem Carvon [22, 23].

Die Clearance von *d*-Limonen aus dem Blut folgt beim Menschen einer dreiphasigen Kinetik mit Halbwertszeiten zwischen zwei und 12,5 Stunden. Limonen wird in unveränderter Form nur zu einem geringen Anteil (1 %) ausgeatmet und nur in Spuren im Urin ausgeschieden [21]. Die gebildeten Metabolite werden vom Menschen ebenso wie von Versuchstieren rasch und zum größten Teil mit dem Urin ausgeschieden und akkumulieren nicht im Körper [3, 5].

4 Wirkungen

Angaben über toxische Wirkungen von Limonen beim Menschen liegen bis auf einzelne Fallberichte zur oralen Verabreichung nicht vor. Befunde an Tumorpatienten im Rahmen der Dosisfindung für die Tumorbehandlung in experimentellen klinischen Studien ergaben bei mehrwöchiger, zum Teil bis zu einem Jahr fortgesetzter oraler Verabreichung maximal tolerable Dosen von etwa 190 mg/kg · d, dabei waren die toxischen Wirkungen auf

lokale Reaktionen im Verdauungstrakt (Erbrechen, Durchfall) beschränkt. In anderen klinischen Studien führten 20 g Limonen oral verabreicht ebenfalls zu Durchfällen und Krämpfen des Verdauungstrakts, außer einer leichten Proteinurie jedoch zu keinen klinisch-chemischen Veränderungen von Leber-, Nieren und Bauchspeicheldrüsenwerten [2, 5, 7].

Limonen ist ein Kontaktallergen der menschlichen Haut. Positive Reaktionen wurden in zahlreichen Epikutantests beschrieben. Dabei war jedoch in vielen Fällen nicht klar, ob es sich nicht um eine Kreuzreaktion auf ähnliche Substanzen wie etwa Carvon handelt und welche Rolle Verunreinigungen, zum Beispiel durch Terpentinöl, oder Oxidationsprodukte spielen. Neuere Untersuchungen an Probanden und Versuchstieren haben gezeigt, dass reines *d*- und *l*-Limonen sowie das Razemat nicht oder allenfalls schwach sensibilisierend wirken. Unter Lufteinfluss erfolgt jedoch eine rasche Autoxidation, und solcherart oxidiertes Limonen zeigt bei Testung an Patienten und im Tierversuch kontaktallergene Wirkung. Die sensibilisierende Wirkung ist vermutlich auf Limonenhydroperoxide sowie Limonen-1,2-oxid zurückzuführen [24].

Hinweise auf atemwegsensibilisierende Wirkungen von Limonen, dessen Oxidationsprodukten oder anderen monocyclischen Terpenen liegen nicht vor.

4.1 Irritative Wirkungen

Die Wirkung einer inhalativen Exposition von *d*-Limonen auf den Atemtrakt wurde in einer kontrollierten Humanstudie untersucht. Die zweistündige Exposition gegenüber 10, 225 oder 450 mg/m³ in einer Klimakammer unter leichter körperlicher Belastung führte bei keinem der Probanden (acht erwachsene, gesunde Männer) zu Beschwerden, Reizungen oder zentralnervösen Wirkungen. Bei der höchsten Konzentration wurde eine im Vergleich zur niedrigsten Konzentration signifikante, jedoch geringe Verminderung der Vitalkapazität um 2 % festgestellt; alle anderen Lungenfunktionsparameter wie Atemwegwiderstand und totale Lungenkapazität blieben unbeeinflusst. Bei 225 mg/m³ traten keine Veränderungen auf [21].

Im Vergleich mit bicyclischen Monoterpenen scheint die irritative Wirkung von Limonen geringer zu sein. In entsprechend durchgeführten Untersuchungen derselben Arbeitsgruppe verursachten bereits 225 mg $+$ (α)-Pinen/m³ bei einem Teil der Probanden und 450 mg/m³ bei allen ausgeprägte Reizungen von Nase, Auge und Rachen, noch stärker war die augenreizende Wirkung von 450 mg 3-Caren/m³. Ein Gemisch von 240 mg/m³ α -Pinen, 50 mg/m³ β -Pinen und 160 mg/m³ 3-Caren führte nach zweistündiger Exposition zu einer signifikanten Zunahme des Atemwegwiderstands. Nach mehrtägiger Exposition gegenüber einem ähnlichen Gemisch von 280 mg α -Pinen/m³, 30 mg β -Pinen/m³ und 140 mg 3-Caren/m³ fanden sich in der abschließend vorgenommenen bronchoalveolären Lavage Zeichen einer entzündlichen Reaktionen in der Lunge [1]. Entsprechende Untersuchungen mit mehrfacher Exposition gegenüber Limonen liegen nicht vor.

In einer Untersuchung zur augenreizenden Wirkung von Monoterpenen wurden bei 12 Probanden für kurze Zeit (2 min) mithilfe spezieller Brillen ausschließlich die Augen exponiert. Dabei lag die Schwelle für beginnende Reizungen durch *l*-Limonen zwischen 1700 und 3400 mg/m³, *d*-Limonen wurde nicht untersucht. Die augenreizende Wirkung des bicyclischen Monoterpens 3-Caren war stärker (Schwellenwert unter 1250 mg/m³), für α -Pinen war wegen zu weniger positiver Reaktionen keine Auswertung möglich [25].

Im Tierversuch mit BALB/c-Mäusen wurde die sensorische Wirkung von *d*- und *l*-Limonen, die durch eine Reizung des Trigemini in der Nasenschleimhaut verursacht wird, anhand der Abnahme der Respirationsrate und Veränderungen von Atemvolumen und expiratorischer Flussrate untersucht. Nach einer zehnmütigen Einwirkung war eine Verminderung der Atemrate um 50 % (RD₅₀) bei 6026 mg *d*-Limonen/m³ und 8215 mg *l*-Limonen/m³ zu verzeichnen. Eine Verlängerung der Expositionsdauer auf 30 min führte zu keiner Wirkungsverstärkung. Konzentrationen von 571 mg *d*-Limonen/m³ oder 1299 mg *l*-Limonen/m³ verursachten keinen derartigen Effekt (RD₀). Beide Enantiomeren bewirkten oberhalb

Bundesgesundheitsbl · 2010 · 53:1206–1215
DOI 10.1007/s00103-010-1155-3
© Springer Verlag 2010

Richtwerte für monocyclische Monoterpene (Leitsubstanz *d*-Limonen) in der Innenraumluft. Mitteilung der Ad-hoc-Arbeitsgruppe Innenraumrichtwerte der Innenraumlufthygiene-Kommission des Umweltbundesamtes und der Obersten Landesgesundheitsbehörden

Zusammenfassung

Zum Schutz der Gesundheit der Bevölkerung setzt die Ad-hoc-Arbeitsgruppe Innenraumrichtwerte des Umweltbundesamtes und der Obersten Landesgesundheitsbehörden Richtwerte für die Innenraumluft fest. Für eine gesundheitliche Bewertung von monocyclischen Monoterpenen in der Raumluft sind nur für Limonen bewertungsrelevante Angaben vorhanden. Angaben über toxische Wirkungen von Limonen beim Menschen liegen bis auf einzelne Fallberichte zur oralen Verabreichung nicht vor. Die Ableitung der Richtwerte basiert daher auf tierexperimentellen Untersuchungen mit chronischer oraler Exposition. Als niedrigste nachteilige Wirkungskonzentration für den Endpunkt histologische Veränderungen in der Leber bei Exposition an fünf Tagen/Woche über zwei Jahre sieht die Ad-hoc-Arbeitsgruppe einen Wert von 500 mg Limonen/kg KG*Tag an. Bei Umrechnung auf eine kontinuierliche Exposition (sieben

Tage/Woche) entspricht dies einer Dosis von 357 mg/kg · d (LOAEL). Aus dem LOAEL von 357 mg/kg lässt sich unter Verwendung einer Atemrate von 20 m³ pro Tag, einem Körpergewicht des Menschen von 70 kg, einer Absorption von 63% von Limonen bei Inhalation, eines Faktors 10 für die Interspeziesextrapolation, eines Faktors 10 für die interindividuelle Variabilität sowie eines Faktors 2 zur Berücksichtigung der besonderen Physiologie bei Kindern ein Richtwert II (Gefahrenrichtwert) von 10 mg Limonen/m³ ableiten. Der Richtwert I wird um eine Größenordnung niedriger festgesetzt und liegt damit bei 1 mg/m³. Dieser Richtwert liegt im unteren Bereich der berichteten Geruchsschwellen von Limonen.

Schlüsselwörter

Monocyclische Monoterpene · Limonen · Innenraumluft · Geruch · Richtwert

Indoor air guide values for monocyclic monoterpenes (limonene)

Abstract

The German Working Group on Indoor Air Guidelines of the Federal Environment Agency and the States' Health Authorities is issuing indoor air guide values to protect public health. For health evaluation of monocyclic monoterpenes in indoor air valid inhalation studies are missing. Therefore, indoor air guide values have to be derived from animal feeding studies with limonene and chronic exposure (feeding: 5 days per week over two years). The Lowest Adverse Effect Level based on histological lesions of liver tissue was observed with 500 mg limonene/kg bw * day. The extrapolation to continuous exposure (7 days/week) corresponds to a dose of 357 mg/kg * d (LOAEL). The indoor air guide values are calculated using 20 m³ as rate of inhala-

tion per day, a standard body weight of 70 kg for man, the standard factors of 10 * 10 for interspecies and interindividual variability, a factor of two for the specific physiology of children (higher breathing rate compared to adults) and an absorption factor of 63% for inhalative incorporation of limonene. A health hazard guide value (RW II) of 10 mg limonene/m³ in indoor air and a health precaution guide value (RW I) of 1 mg limonene/m³ are derived. The precaution guide value of 1 mg/m³ coincides with the lower range of reported odour thresholds of limonene.

Keywords

Monocyclic monoterpenes · Limonene · Indoor air · Odour · Guide value

von 5600 mg/m³ eine leichte Verengung der Bronchien, Anzeichen einer pulmonalen Reizung oder zentralnervöser Wirkungen fanden sich nicht [26]. In einer weiteren Untersuchung an BALB/c-Mäusen führte auch die einstündige Exposition gegenüber 263 mg *d*-Limonen/m³ (andere Konzentrationen wurden nicht untersucht) weder zu einer sensorischer Reizung der oberen Atemwege noch zu einer pulmonalen Reizung [27].

In der einzigen vorliegenden Untersuchung mit mehrtägiger inhalativer Exposition von *d*-Limonen wurden ovalbumin-sensibilisierte Brown-Norway-Ratten eine Woche lang kontinuierlich gegenüber 700 mg/m³ exponiert. Während dieser Phase wurde jeden zweiten Tag eine allergische asthmatische Reaktion durch Inhalation von Ovalbumin ausgelöst. Sensibilisierte, nicht limonenexponierte Tiere reagierten darauf mit einer Erhöhung des intrapleurales Widerstands, während die Reaktion der Tiere, die gegenüber Limonen exponiert waren, auf dem Niveau nicht sensibilisierter Kontrollen lag. Histopathologisch fanden sich in der Lunge Hinweise auf eine geringere entzündliche Reaktion der limonenexponierten Tiere [28].

4.2 Nephro- und Hepatotoxizität

Humanstudien mit wiederholter Exposition sowie tierexperimentelle Studien mit wiederholter inhalativer Exposition liegen nicht vor.

Zielorgane der Wirkung von *d*-Limonen sind Niere und Leber. Dabei sind die Wirkungen auf die Niere ausschließlich auf männliche Ratten beschränkt. Bei diesen kommt es dosisabhängig zu einer Nephropathie mit Anreicherung hyaliner Tropfen und α 2u-Globulin sowie einer Schädigung der Epithelzellen im proximalen Nierentubulus. Diese Organschädigung ist an die geschlechtsspezifische Bildung des α 2u-Proteins bei männlichen Ratten gebunden. Wird die Bildung dieses Proteins durch Inhibitoren unterdrückt, so bleibt die nephrotoxische Wirkung von Limonen aus. Ebenso zeigen männliche NCI-Black-Reiter-Ratten, ein Stamm, der kein α 2u-Globulin produziert, nach Behandlung mit Limonen keine Nierenläsionen [29, 30].

In der einzigen vorliegenden Studie mit oraler Verabreichung von *l*-Limonen über 28 Tage verursachte bereits die niedrigste eingesetzte Dosis von 800 mg/kg · d leichte Veränderungen der Leber (fokale Infiltrate von Entzündungszellen) sowie die beschriebenen Veränderungen der Niere (hyaline Tropfen, erhöhter Gehalt an α 2u-Globulin, Schädigung der proximalen Tubulusepithelzellen) [29].

In einer subchronischen Studie mit oraler Verabreichung (per Schlundsonde) von 0, 2, 5, 10, 30 oder 75 mg *d*-Limonen/kg KG · d an je 10 männliche F344-Ratten an fünf Tagen/Woche über bis zu 13 Wochen traten bereits nach acht Tagen ab der Dosis von 10 mg/kg · d dosisabhängig die oben genannten Nierenschäden auf. Am Ende des Behandlungszeitraums war außer dem relativen Nieren- auch das relative Lebergewicht ab 30 mg/kg · d erhöht, jedoch nur bei der höchsten Dosis (75 mg/kg · d) signifikant. Histopathologisch wurden keine Veränderungen im Lebergewebe beobachtet, sodass das erhöhte Organgewicht mit einer durch Limonen bedingten Induktion mikrosomaler hepatischer Enzyme in Verbindung gebracht wurde [31]. Eine solche Induktion mikrosomaler Monooxygenasen sowie von Glutathion- und Glukuronyltransferasen durch *d*-Limonen, verbunden mit einer Erhöhung des relativen Lebergewichts, wurde in mehreren anderen Untersuchungen an männlichen und weiblichen Ratten nach oraler Verabreichung mit der Schlundsonde (400 mg/kg · d über 30 d) oder im Futter (5%, zwei Wochen) sowie nach intraperitonealer Gabe (40 mg/kg · d, 3 d) festgestellt [2].

Auch bei je 5 männlichen und weiblichen Beagle-Hunden führte die sechsmonatige orale Verabreichung von täglich 100 mg Limonen oder 1000 mg Limonen pro kg Körpergewicht (Schlundsonde, jeweils auf zwei Tagesdosen verteilt) dosisabhängig und in der höheren Dosis signifikant zu erhöhtem Nieren- und Lebergewicht; histopathologische Veränderungen in den Organen traten nicht auf [32].

In einer chronischen Toxizitäts-/Kanzergenitätsstudie mit oraler Verabreichung (Schlundsonde) wurden F344/N-Ratten und B6C3F1-Mäuse an fünf Tagen pro Woche 103 Wochen lang mit *d*-Limonen behandelt. Die Dosierungen lagen bei

0, 75 und 150 mg/kg · d für männliche und bei 0, 300 und 600 mg/kg · d für weibliche Ratten. Männliche Mäuse erhielten 0, 250 und 500 mg/kg · d, weibliche 0, 500 und 1000 mg/kg · d. Bei männlichen und weiblichen Ratten war in der Gruppe mit der höheren Dosierung im Vergleich zur Kontrolle die Körpergewichtszunahme leicht (4 bis 7%) vermindert, bei weiblichen Tieren außerdem die Überlebensrate signifikant verkürzt. Andere substanzbedingte Wirkungen traten bei den Weibchen nicht auf. Bei den männlichen Ratten war die Niere das Zielorgan der toxischen Wirkung. Dosisabhängig kam es ab der niedrigsten Dosis zu einer Nephropathie zu einer verstärkten Mineralisation mit Hyperplasie des Tubulusepithels und des Übergangsepithels der Papillen sowie zur Entstehung von Adenomen und Adenokarzinomen (siehe Abschnitt 4.4.). Andere substanzbedingte Wirkungen traten nicht auf.

Bei den weiblichen Mäusen war die Gewichtszunahme bei der höheren Dosierung um 5 bis 15% vermindert, andere substanzbedingte Wirkungen traten nicht auf. Bei den männlichen Tieren zeigten sich in der höchsten Dosisgruppe Veränderungen in der Leber, und zwar traten vermehrt vielkernige Hepatozyten (Inzidenz in der Kontrolle: 8/49, Niedrigdosis: 4/36, Hochdosis: 32/50 Tieren) und Zytomegalie (23/49, 11/36, 38/50) auf [30].

4.3 Reproduktionstoxizität

Befunde aus epidemiologischen Untersuchungen am Menschen liegen nicht vor.

Bei trächtigen Wistar-Ratten führte die orale Verabreichung von *d*-Limonen per Schlundsonde am 9. bis 16. Tag der Gestation in einer Dosierung von 2869 mg/kg · d zu stark toxischen Wirkungen auf die Muttertiere (75% Letalität, geringe Gewichtszunahme). Bei den Foeten überlebender Muttertiere traten vorübergehende Verzögerungen in der Skelettverknöcherung und später eine leicht verminderte Körper- und Organgewichtsentwicklung auf, jedoch keine teratogenen Wirkungen. Eine Dosierung von 591 mg/kg · d hatte keine substanzbedingten Effekte. In einer ähnlichen Untersuchung an trächtigen ICR-Mäusen, die vom 7. bis 12. Tag der Gestation behandelt wurden, traten bei

2363 mg/kg · d ebenfalls toxische Wirkungen auf die Muttertiere auf (verminderte Gewichtszunahme). Bei den Foeten traten Skelettvariationen (Rippenverschmelzungen) auf, jedoch keine teratogenen Wirkungen, außerdem waren im weiteren Verlauf Körpergewichtsentwicklung und die Verknöcherung der Extremitäten verzögert. Auch hier verursachten 591 mg/kg · d keine Wirkungen. Bei trächtigen Kaninchen führte die Gabe von 500 mg/kg · d zu einer verminderten Futtermittelaufnahme und Gewichtszunahme, 1000 mg/kg · d wirkten auf ein Drittel der behandelten Tiere letal, 250 mg/kg hatten keinen Effekt. Bis auf eine leicht verzögerte Verknöcherung im Extremitätenskelett einiger Jungtiere traten bei allen Dosierungen keine substanzbedingten Wirkungen auf die Nachkommen auf [29]. In allen diesen Untersuchungen traten somit bei den Nachkommen leichte, vorübergehende Entwicklungsverzögerungen auf, teratogene Wirkungen jedoch erst bei Dosen, die auf die Muttertiere bereits stark toxisch oder letal wirkten. Untersuchungen zur Beeinträchtigung der Fortpflanzungsfähigkeit liegen nicht vor.

4.4 Kanzerogenität und Gentoxizität

Untersuchungen am Menschen liegen nicht vor.

In der in Abschnitt 4.2 vorgestellten Langzeitstudie traten nach oraler Verabreichung von *d*-Limonen an fünf Tagen pro Woche über 103 Wochen in Dosierungen von 75 bzw. 150 mg/kg · d bei männlichen F₃₄₄/N-Ratten außer den in Abschnitt 0 beschriebenen Nierenschäden dosisabhängig Adenome und Adenokarzinome der Niere auf (kombinierte Inzidenz, Kontrolle: 0%, niedrige Dosis: 8%, hohe Dosis: 11%). Hingegen fanden sich nach Verabreichung von bis zu 600 mg/kg · d an weibliche F₃₄₄/N-Ratten sowie bis zu 1000 mg/kg · d an B₆C₃F₁-Mäuse keine Hinweise auf eine krebserzeugende Wirkung [30]. In einer Untersuchung an A/He-Mäusen führte die intraperitoneale Verabreichung von *d*-Limonen (bis 1000 mg/kg · d, einmal wöchentlich, 24 Wochen) nicht zur Bildung von Lungentumoren [7]. In mehreren Initiations-Promotionsstudien mit verschiedenen initi-

ierenden Kanzerogenen wurde eine tumorhemmende Wirkung von *d*-Limonen bei oraler Verabreichung beobachtet [7, 33].

Aus allen vorliegenden In-vitro- und In-vivo-Untersuchungen ergeben sich keine Hinweise auf eine gentoxische Wirkung von Limonen. In Mutagenitätstests an Bakterien und Säugerzellen wirkte die Substanz in An- und Abwesenheit eines exogenen metabolischen Aktivierungssystems nicht mutagen und induzierte in Säugerzellen weder cytogenetische Veränderungen noch Zelltransformationen. Auch für den Metaboliten *d*-Limonen-1,2-oxid fanden sich keine Hinweise auf mutagene Wirkungen. Nach Verabreichung von Limonen in vivo fanden sich bei Ratten und Mäusen weder DNA-Schäden im Comet-Assay noch Mutationen. Limonen hemmte die zelltransformierende Wirkung von Benzo[a]pyren in vitro und die mutagene Wirkung von Ethylnitrosoharnstoff in vivo [2, 7, 29, 34].

4.5 Geruchswahrnehmung

Die Bewertung der Wahrnehmung von Gerüchen orientiert sich, wenn möglich, an der Geruchswahrnehmungsschwelle. Diese stellt konventionsgemäß diejenige Konzentration dar, bei der die Hälfte der angebotenen Geruchsproben von dem Untersuchungskollektiv wahrgenommen wird. Diese Definition ist jedoch insbesondere in älteren Studien nicht immer verwendet worden, sodass sich daraus unterschiedliche Angaben in der Literatur ergeben. Abgesehen davon wird die geruchliche Wahrnehmung durch eine Reihe von Faktoren beeinflusst, die in älteren Studien nicht hinreichend kontrolliert worden sind und deshalb zu einer starken Variabilität der Ergebnisse führten. In neueren Untersuchungen wird zumeist eine Referenzsubstanz, zum Beispiel *n*-Butanol, verwendet.

Diese Heterogenität findet sich auch in den Daten zur Geruchswahrnehmung von Limonen. In der in den Abschnitten 3.1 und 4.1 bereits beschriebenen Studie konnten alle Probanden den Geruch von 10 mg *d*-Limonen/m³ geruchlich wahrnehmen [21]. In einer zusammenfassenden Bewertung wird ohne nähere Angaben 1,1 mg/m³ als Geruchsschwelle für

d-Limonen und 2,8 mg/m³ für *l*-Limonen angegeben [8]. In einer Untersuchung, in der *n*-Butanol als Referenzsubstanz verwendet wurde, lag die Geruchsschwelle (Wahrnehmung durch 50% der Teilnehmer) für *l*-Limonen bei 12 mg/m³ [25].

4.6 Kombinationswirkungen mit anderen Stoffen

Infolge der Anwesenheit von zwei Doppelbindungen unterliegt Limonen leicht Oxidationsreaktionen unter Bildung einer Vielzahl von Folgeprodukten. Seit langem wird diskutiert, ob die Oxidationsprodukte von Limonen und anderen (mono- und bicyclischen) Terpenen eine stärkere Reizwirkung auf die Schleimhäute ausüben als die Terpene selbst und inwieweit ihre Bildung in der Innenraumluft zu Reizwirkungen beiträgt. Untersucht wurden insbesondere die sensorischen Wirkungen von Gemischen, die bei der Reaktion von Terpenen mit Ozon entstehen.

In einer kontrollierten Humanstudie wurde die augenreizende Wirkung von Limonen-Oxidationsprodukten (LOP) bei 10 gesunden, nicht rauchenden Männern untersucht. Die 20 min dauernde Exposition wurde mithilfe eines speziellen Augenglases, das von Luft mit oder ohne Substanzzusatz durchströmt wurde, auf ein Auge beschränkt. Als Maß für die Augenreizung diente die erhöhte Blinkfrequenz des Lidschlags im Vergleich zur Reinluftexposition (Kontrolle), die Wirkung von Limonen selbst wurde nicht untersucht. Die LOP wurden jeweils durch Mischen von reinem gasförmigem Limonen mit frisch erzeugtem Ozon gebildet und der Reinluft zugemischt. Eine Identifizierung der LOP erfolgte nicht, die Konzentration an LOP wurde aus reaktionskinetischen Daten berechnet. 10 min nach der Reaktion enthielten die Ansätze noch zwischen 0,2 und 0,6 mg/m³ Limonen sowie 0,076 – 0,08 mg/m³ Ozon. Im Vergleich zu Reinluft führte die Exposition mit LOP bereits ab der niedrigsten ermittelten Konzentration von 0,1 mg/m³ zu einer um 12 bis 34% erhöhten Blinkfrequenz und zu einer als subjektiv schwach bis mäßig empfundenen Augenreizung. Eine Konzentrations-Wirkungs-Beziehung war jedoch nicht erkennbar [35].

An BALB/c-Mäusen wurde die sensorische Reizung einer Mischung von 269 mg *d*-Limonen/m³ und 8 mg Ozon/m³ untersucht, die vor der Exposition der Tiere frisch angesetzt wurde und wenige Sekunden reagierte. Infolge der raschen Reaktion lag die Ozonkonzentration, der die Tiere ausgesetzt wurden, unter 0,06 mg/m³ und damit unter der Wirkungsschwelle. Die Reaktionsmischung verminderte die Atemrate um 30 %. Ein Teil der Reaktionsprodukte konnte identifiziert werden (unter anderem Hydroperoxide, 1-Methyl-4-acetylcyclohexen, 3-Isopropenyl-6-oxoheptanal, Formaldehyd und Ameisensäure), doch konnte die beobachtete Reizung nicht auf die identifizierten Produkte allein zurückgeführt werden. Es wurde daher vermutet, dass noch weitere Substanzen mit sensorischer Reizwirkung gebildet wurden. In weiterführenden Untersuchungen fanden sich außerdem Hinweise auf eine Veränderung von Lungenfunktionsparametern der unteren Atemwege bei einer Limonenexposition im unmittelbaren Anschluss an die Exposition gegenüber dem Limonen-Ozon-Ansatz. Eine physiologische Erklärung dieser Reaktion sowie deren Bedeutung steht aus. In einer weiteren Untersuchung konnte gezeigt werden, dass die Effekte auf gasförmige Reaktionsprodukte und nicht auf gebildete Partikel zurückzuführen sind. Wurde die Reaktionszeit von 280 mg *d*-Limonen/m³ mit 2–7 mg Ozon/m³ vor der Exposition der Tiere von 16 bis 30 sec auf 60 bis 90 sec verlängert oder/ und die relative Luftfeuchtigkeit von < 2 % auf 32 % erhöht, so fiel die sensorische Reizung signifikant schwächer aus. Eine Mischung von 280 mg *d*-Limonen/m³ und 1 mg Ozon/m³ hatte auch bei kurzer Reaktionszeit und geringer Luftfeuchtigkeit keinen anderen Effekt als Limonen allein [27, 36, 37, 38].

Biochemische und histologische Veränderungen in der Lunge infolge einer Exposition gegen Limonen-Ozon-Gemische wurden an weiblichen F344-Ratten unterschiedlichen Alters untersucht. Die Tiere wurden im Alter von zwei oder 18 Monaten drei Stunden lang gegenüber einem frisch hergestellten Reaktionsansatz aus 34 mg *d*-Limonen/m³ und 1,6 mg Ozon/m³, (die Restkonzentration an Ozon nach der Reaktion lag bei 0,062 ppm)

oder Reinluft exponiert. In der bronchoalveolären Lavage (BAL) fanden sich direkt im Anschluss und 20 h nach der Exposition im Vergleich zur Kontrolle keine Veränderungen von Proteingehalt oder Zahl von Alveolarmakrophagen und Typ-II-Alveolarzellen. Dagegen waren TNF- α (tumour necrosis factor), COX-2 (Cyclooxygenase 2) und SOD (Superoxiddismutase) nur oder in erhöhtem Maße im Lungengewebe exponierter Tiere nachweisbar, auch andere Faktoren, die bei entzündlichen Reaktionen beteiligt sind, waren expositionsabhängig vermehrt oder vermindert. Im Vergleich zu jüngeren Tieren waren einige Reaktionen bei älteren Tieren weniger ausgeprägt [39].

5 Bewertung

Zu anderen monocyclischen Monoterpenen als Limonen liegen keine bewertungsrelevanten Angaben vor. Die wenigen Wirkungsdaten zu *l*-Limonen sprechen dafür, dass dieses Stereoisomer in ähnlicher Weise verstoffwechselt wird wie das besser untersuchte *d*-Limonen und keine stärkere sensorische Reizwirkung hervorruft als dieses. Damit stützt sich die Bewertung auf Daten zu *d*-Limonen.

Die atemwegreizende (und augenreizende) Wirkung von Limonen ist nach den Befunden kontrollierter Humanstudien und tierexperimenteller Untersuchungen gering und im Vergleich zu Vertretern aus der Stoffgruppe der bicyclischen Monoterpene schwächer ausgeprägt. Allerdings fehlen Befunde beim Menschen und tierexperimentelle Studien mit mehrfacher inhalativer Exposition zur Bestätigung dieser Befunde aus Studien mit einmaliger Exposition.

Als Zielorgane der Wirkung von Limonen bei wiederholter Exposition haben sich im Tierversuch die Niere und die Leber erwiesen. Dabei sind die histopathologischen Veränderungen in der Niere auf männliche Ratten beschränkt. Als Folge dieser nephrotoxischen Wirkung treten bei männlichen Ratten Nierentumoren (Adenome und Adenokarzinome) auf. In umfangreichen Untersuchungen mit Limonen und anderen Substanzen – in sehr vielen Fällen handelt es sich dabei wie beim Limonen um lipophile Kohlenwasserstoffe –, die dieselben spezies-, ge-

schlechts- und organspezifischen Wirkungen wie Limonen aufweisen, wurde der Wirkungsmechanismus, der zur Nierenschädigung mit Tumorbildung führt, detailliert untersucht. Demnach ist die Reaktion an die Anwesenheit eines spezifischen Proteins, des α 2u-Globulins, gebunden, dass nur in der Leber männlicher Ratten gebildet wird, nicht aber bei weiblichen Tieren, anderen Nagern, Hunden oder dem Menschen. Es besteht daher Übereinstimmung in der Beurteilung, dass diese Effekte für die Bewertung des Risikos von Limonen für den Menschen nicht relevant sind [2, 19, 29, 30, 34].

Die Wirkungen auf die Leber zeigen sich zum einen in einer Erhöhung des Organengewichts, die mit einer Induktion der Aktivität mikrosomaler Phase-I- und Phase-II-Enzymen der Biotransformation einhergeht, jedoch ohne histopathologische Veränderungen. Zum anderen wurden vermehrt vielkernige Hepatozyten und Zytomegalie beobachtet.

Hinweise auf reproduktionstoxische Wirkungen von Limonen beim Menschen liegen nicht vor. Im Tierversuch treten derartige Wirkungen erst bei Konzentrationen auf, die bereits zu schweren allgemeintoxischen Wirkungen auf die Muttertiere führen.

Eine sensibilisierende Wirkung von Limonen bei dermalen Exposition ist im Tierversuch und für den Menschen belegt. Die allergische Reaktion ist nicht oder in untergeordnetem Maße auf Limonen selbst, sondern auf Autoxidationsprodukte zurückzuführen. Im Tierversuch scheint Limonen allergische Atemwegsreaktionen abschwächen zu können, nähere Untersuchungen fehlen. Hinweise auf eine atemwegsensibilisierende Wirkung von Limonen beim Menschen liegen nicht vor.

5.1 Bestehende Regelungen

Die IARC hat Limonen hinsichtlich seiner krebserzeugenden Wirkung zuletzt im Jahre 1999 bewertet. Dabei wurde die Evidenz für eine kanzerogene Wirkung von Limonen beim Menschen als inadäquat und bei Versuchstieren als ausreichend bewertet. Weiterhin kam die IARC zu dem Ergebnis, dass Limonen Nierentumoren bei männlichen Ratten ohne DNA-

reaktive Mechanismen durch eine α 2u-vermittelte Reaktion hervorruft. Daher ist der Mechanismus, durch den Limonen die Inzidenz von Tumoren der Nierenzell-tubuli erhöht, für den Menschen nicht relevant. In der Gesamtbewertung wird Limonen hinsichtlich der kanzerogenen Wirkung auf den Menschen als nicht einstuftbar („not classifiable“, Gruppe 3) bewertet [34].

Für Limonen hat die Senatskommission zur Prüfung gesundheitsschädlicher Arbeitsstoffe der DFG (MAK-Kommission) in ihrer letzten Bewertung eine maximale Arbeitsplatzkonzentration (MAK-Wert) von 110 mg/m^3 (20 ppm) festgelegt. Ausgangspunkt der Ableitung ist ein NOAEL von $30 \text{ mg/kg} \cdot \text{d}$ für Wirkungen bei männlichen Ratten. (Dieser Wert stammt vermutlich aus der Studie von Webb et al. [31], dies wird aber in dem betreffenden Abschnitt, in dem der MAK-Wert genannt wird, nicht ausdrücklich angegeben.) Der NOAEL wird mithilfe einer Pfad-zu-Pfad-Extrapolation unter Annahme eines Atemvolumens von 10 m^3 in acht Stunden und eines Körpergewichts von 70 kg in eine Konzentration von $210 \text{ mg Limonen pro m}^3$ Luft umgerechnet. Von dieser wird ohne weitere Begründung der genannte MAK-Wert abgeleitet. Auch die MAK-Kommission sieht alle Kriterien, die von der IARC für einen durch α 2u-Globulin vermittelten Mechanismus der kanzerogenen Wirkung formuliert wurden, als erfüllt und den Mechanismus der kanzerogenen Wirkung somit als nicht relevant beim Menschen an [29].

In Schweden wurde als Grenzwert am Arbeitsplatz ein OEL (Occupational Exposure Limit) für Limonen ein Wert von 150 mg/m^3 festgelegt. Dieser Wert entspricht dem für Terpene allgemein festgelegten OEL [40].

Zum Schutz vor toxischen Wirkungen in Raumschiffen wurde vom NRC [5] ein SMAC-Wert (Spacecraft Maximum Allowable Concentration) für längere Expositionszeiten ($\geq 180 \text{ d}$) in Höhe von 115 mg/m^3 (20 ppm) festgelegt. Basis dieser Ableitung ist der NOAEL von $250 \text{ mg/kg} \cdot \text{d}$ für Wirkungen auf die Leber bei männlichen Mäusen bei chronischer oraler Verabreichung ([30]). Dieser Wert wird mithilfe eines Interspeziesextrapolationsfaktors

von 10, einem Körpergewicht von 70 kg , einem Atemvolumen von $20 \text{ m}^3/\text{d}$ und einer inhalativen Absorption von 76% in die genannte Konzentration umgerechnet. Die Absorptionsquote von 76% wurde aus der Studie in Abschnitt o beschriebenen Studie [21] abgeleitet und ergibt sich als geschätztes 95. Perzentil der Messwerte (Mittelwert + $2 \text{ SD} = 68\% + 2 \times 4\%$). Auch das NRC sieht die Kriterien hinsichtlich eines durch α 2u-Globulin vermittelten Mechanismus als erfüllt an und zieht die Befunde zur Nephrotoxizität und Kanzerogenität bei männlichen Ratten zur Risikobewertung daher nicht heran [5].

Vom gemeinsamen Komitee der WHO und der FAO wurde für Limonen in seiner neuesten Bewertung kein ADI (acceptable daily intake) mehr festgelegt, da für diesen Stoff bei der geschätzten derzeitigen Aufnahme keine Sicherheitsbedenken bestehen [20].

5.2 Ableitung von Richtwerten für die Innenraumluft

Gemäß Basisschema sind zur Ableitung der Richtwerte vorrangig Humanstudien zu verwenden. Zur Wirkung von Limonen auf den Menschen liegen jedoch lediglich Studien mit einmaliger Exposition vor, in denen bis zur höchsten eingesetzten Konzentration keine adversen Wirkungen auf den Atemtrakt oder andere Wirkungen festgestellt wurden. Die Festsetzung von Richtwerten für Limonen als Vertreter der monocyclischen Monoterpene stützt sich daher auf tierexperimentelle Grundlagen.

Untersuchungen mit wiederholter inhalativer Exposition, die für die Ableitung relevante Wirkungen berichten, liegen nicht vor. Daher greift die Bewertung auf Untersuchungen mit oraler Verabreichung zurück, und die Ableitung des Richtwerts erfolgt auf Basis einer Pfad-zu-Pfad-Extrapolation. Dies erscheint gerechtfertigt, da es sich bei den bewertungsrelevanten Wirkungen nicht um lokale, sondern um systemische Wirkungen handelt.

Richtwert II

Für die Festsetzung eines Richtwertes II ist nach dem Basisschema von einem LOAEL auszugehen (Ad-hoc-AG IRK/AG-LMB, 1996), also der niedrigsten beobach-

teten adversen Wirkungskonzentration (LOAEL: lowest observed adverse effect level) [41]. Angesichts der vorliegenden Datenbasis stellt die systemische Wirkung auf die Leber den kritischen Effekt von *d*-Limonen dar.

Die niedrigste Dosis, bei der eine signifikante Wirkung auf die Leber auftrat, lag bei $75 \text{ mg/kg} \cdot \text{d}$. Im selben Konzentrationsbereich lässt sich eine Induktion mikrosomaler Enzyme des Fremdstoffmetabolismus nachweisen, es treten jedoch noch keine histopathologischen Veränderungen auf. Es ist somit davon auszugehen, dass es sich um adaptive physiologische Vorgänge handelt, die noch nicht als advers anzusehen sind. Die Dosis von $75 \text{ mg/kg} \cdot \text{d}$ stellt somit einen LOEL (lowest observed effect level), jedoch noch keinen LOAEL dar, und wird daher nicht als Ausgangspunkt der Richtwertableitung herangezogen.

Zur Ableitung des Richtwerts eignen sich die Befunde an männlichen Mäusen aus der Studie des NTP. Bei den Tieren zeigten sich in der höchsten Dosisgruppe von $500 \text{ mg/kg} \cdot \text{d}$ nach chronischer Verabreichung an 5 Tagen/Woche über zwei Jahre histologische Veränderungen in der Leber in Form vermehrt auftretender vielkerniger Hepatozyten sowie einer Zytomegalie [30].

Bei Unsicherheiten über das Ausmaß der Wirkungen am LOAEL soll entsprechend dem Basisschema ein weiterer Unsicherheitsfaktor von 3 verwendet werden [41]. Dieser Faktor wird damit begründet, die Differenz zwischen dem beobachteten LOAEL im Versuch und der Wirkungsschwelle (oberhalb eines NOAEL) zu verringern, da in toxikologischen Studien häufig die Konzentrationen mit einem Faktor 10 angestuft sind. Im vorliegenden Fall liegt der LOAEL nur um den Faktor 2 über der Konzentration, bei der keine Vermehrung vielkerniger Hepatozyten oder Zytomegalie auftrat (NOAEL). Ein zusätzlicher Unsicherheitsfaktor entfällt daher.

Bei Umrechnung auf kontinuierliche Exposition (sieben Tage/Woche) entspricht die Dosis von $500 \text{ mg/kg} \cdot \text{d}$ einer Dosis von $357 \text{ mg/kg} \cdot \text{d}$ (LOAEL).

Da der LOAEL aus einer Langzeitstudie abgeleitet wurde, entfallen Faktoren zur Extrapolation von kürzerer auf chro-

nische Exposition. Nach toxikokinetischen Befunden wird Limonen bei oraler Verabreichung vollständig absorbiert. Zur Umrechnung dieser zugeführten Dosis auf eine Konzentration von Limonen in Luft als Richtwert II sind somit folgende Faktoren zu berücksichtigen:

- Körpergewicht des Menschen: 70 kg,
- Atemrate: 20 m³/d,
- Absorption von Limonen aus dem Atemtrakt bei Inhalation: 63 % (bei 10 mg/m³, siehe Abschnitt o),
- Faktor zur Interspeziesextrapolation: 10 (Standardwert),
- Faktor zur Berücksichtigung interindividueller Variabilität: 10 (Standardfaktor),
- Faktor zur Berücksichtigung der besonderen Physiologie von Kindern (erhöhte Atemrate im Vergleich zu Erwachsenen): 2 (Standardfaktor).

Somit: (357 mg/kg KG · d) x 70 kg KG : 20 m³/d : (10 x 10 x 2): 0,63 = 9,9 mg/m³.

Als Richtwert II ergibt sich eine Konzentration von *d*-Limonen als Leitsubstanz für monocyclische Monoterpene in Höhe von 10 mg/m³.

Dieser Wert liegt im oberen Bereich der in Abschnitt 4.5 genannten Geruchsschwellen von *d*-Limonen. Es ist somit davon auszugehen, dass manche Menschen den Geruch von Limonen unterhalb des RW II wahrnehmen.

Hinsichtlich Kombinationswirkungen mit sensorisch reizend wirkenden Oxidationsprodukten von Limonen (LOP) durch dessen Reaktion mit Ozon ist festzustellen, dass nach Befunden im Tierversuch (siehe Abschnitt 4.6) die sensorischen Reizungen bei Ozonkonzentrationen von ≤ 1 mg/m³ nicht stärker als durch Limonen allein ausfallen. Derart hohe Ozonkonzentrationen werden in Innenräumen nicht erreicht. Die Befunde weisen somit nicht daraufhin, dass mit sensorischen Reizungen durch LOP gerechnet werden müsste, sollten jedoch durch weitere Studien, darunter auch kontrollierte Humanstudien, überprüft werden.

Richtwert I

Nach dem Basisschema wird der Richtwert I um eine Größenordnung niedriger festgesetzt und liegt damit bei 1 mg/m³. Dieser Wert liegt im unteren Bereich der berichteten Geruchsschwellen (siehe Abschnitt 4.5).

Anmerkungen

Diese Mitteilung wurde federführend von Dr. Jens-Uwe Voss erstellt und im April 2010 von der Ad-hoc-Arbeitsgruppe Innenraumrichtwerte verabschiedet. Die Literaturrecherche wurde im Oktober 2009 abgeschlossen.

Literatur

1. Sagunski H, Heinzow B (2003) Richtwerte für die Innenraumluft: Bicyclische Terpene (Leitsubstanz α -Pinen). Bundesgesundheitsbl Gesundheitsforsch Gesundheitsschutz 46:346–352
2. CICAD (1998) Limonene. In: World Health Organization (WHO) (ed.): Concise International Chemical Assessment Document (CICAD) 5, Online: www.who.int/entity/ipcs/publications/cicad/en/cicad05.pdf
3. NICNAS (2002) Limonene. Priority existing chemical assessment report. 22, Sydney, Australia. Online: http://nicnas.gov.au/Publications/CAR/PEC/PEC22/PEC_22_Full_Report_PDF.pdf
4. HvdB (2009) Gefahstoffinformationssystem (GESTIS). Online: www.dguv.de/bgia/de/gestis/stoffdb/index.jsp. Hauptverband der Berufsgenossenschaften (HvdB), Berufsgenossenschaftliches Institut für Arbeitsschutz, St. Augustin
5. NRC (2008) Limonene. In: Committee on Spacecraft Exposure Guidelines, Committee on Toxicology Board on Environmental Studies and Toxicology Division on Earth and Life Studies National Research Council NRC (ed.): Spacecraft Maximum Allowable Concentrations for Selected Airborne Contaminants, Vol. 5, Chapter 13 p. 250–274. The National Academic Press, Washington, D.C., USA
6. Watzl B (2002) Monoterpene. Ernährungs-Umschau 49:322–324
7. DFG (1989) D-Limonen. In: Deutsche Forschungsgemeinschaft (DFG) (ed.): Gesundheitsschädliche Arbeitsstoffe, Toxikologisch-arbeitsmedizinische Begründungen von MAK-Werten, Loseblattsammlung. Wiley-VCH, Weinheim, Germany
8. JRC (2005) The INDEX project 2005. Critical appraisal of setting and implementation of indoor exposure limits in the EU. European Commission, Joint Research Centre JRC (Ed.). Ispra, Italy. Online: http://ec.europa.eu/health/ph_projects/2002/pollution/fp_pollution_2002_frep_02.pdf

9. BMU (2005) Verbesserung der Luftqualität in Innenräumen – Ausgewählte Handlungsschwerpunkte aus Sicht BMU. Online: www.apug.de/archiv/pdf/BMU_bericht_innenraumluft_2005.pdf
10. Kephelopoulou S, Kotzias D, Koistinen K, et al. (2007) Impact of Ozone-initiated Terpene Chemistry on Indoor Air Quality and Human Health. European Collaborative Action (ECA). Urban Air, Indoor Environment and Human Exposure. Environment and Quality of Life. 26. European Commission, Joint Research Centre, Institute for Health & Consumer Protection, Physical & Chemical Exposure Unit
11. Eis D, Helm D, Laußmann T, et al. (2005) Berliner Studie zu umweltbezogenen Erkrankungen. Im Auftrag des Bundesgesundheitsministeriums, Berlin. Online: www.apug.de/archiv/pdf/Berichtsband_Berliner-Studie.pdf
12. Hofmann H, Plieninger P (2008) Bereitstellung einer Datenbank zum Vorkommen von flüchtigen organischen Verbindungen in der Raumluft. Forschungsbericht 205 61 243. Arbeitsgemeinschaft ökologischer Forschungsinstitute (AGÖF) e.V., im Auftrag des Umweltbundesamtes, Online: www.umweltbundesamt.de/publikationen/fpdf-l/3637.pdf
13. Moriske, H J (2000) Vol. III-4.2: Chemische Innenraumluftverunreinigungen. In: Moriske, H. J. und Turowski, E. (ed.): Handbuch für Bioklima und Lufthygiene. Ecomed, Landsberg, Deutschland
14. Umweltbundesamt (2002) Gesundheit und Umwelthygiene. Umwelt-Survey 1990/92. Online: www.umweltbundesamt.de/gesundheitsurvey/us9092/atem.htm
15. Hippelein M (2004) Background concentrations of individual and total volatile organic compounds in residential indoor air of Schleswig-Holstein, Germany. J Environ Monit 6:745–752
16. Umweltbundesamt (2008) Vergleichswerte für flüchtige organische Verbindungen (VOC und Aldehyde) in der Innenraumluft von Haushalten in Deutschland. Bundesgesundheitsbl Gesundheitsforsch Gesundheitsschutz 51:109–112
17. Baudisch C (2010) Anlassbezogene Messungen unter Betriebsbedingungen in Wohnungen, Büros und Kindereinrichtungen in Mecklenburg-Vorpommern. Landesamt für Gesundheit und Soziales des Landes Mecklenburg-Vorpommern. Persönliche Mitteilung an die Ad-hoc-Arbeitsgruppe "Innenraumrichtwerte" (Ed.)
18. Ostendorp G, Riemer D, Harmel K, Heinzow B (2009) Aktuelle Hintergrundwerte zur VOC-Belastung in Schulen und Kindergärten in Schleswig-Holstein. Umweltmed Forsch Prax 14:135–152
19. IARC (1993) d-Limonene. Some naturally occurring substances: Food items and constituents, heterocyclic aromatic amines and mycotoxins: Summary of Data Reported and Evaluation. Chapter 56, pp. 135–162. World Health Organization (WHO), International Agency for Research on Cancer (IARC)

20. JECFA (2005) Evaluation of certain food additives: sixty-third report of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives. WHO technical report series 928. World Health Organization, Geneva, Switzerland
21. Falk-Filipsson A, Lof A, Hagberg M, Hjelm E W, Wang Z (1993) d-limonene exposure to humans by inhalation: uptake, distribution, elimination, and effects on the pulmonary function. *J Toxicol Environ Health* 38:77–88
22. Miyazawa M, Shindo M, Shimada T (2002) Metabolism of (+)- and (-)-limonenes to respective carveols and perillyl alcohols by CYP2C9 and CYP2C19 in human liver microsomes. *Drug Metab Dispos* 30:602–607
23. Shimada T, Shindo M, Miyazawa M (2002) Species differences in the metabolism of (+)- and (-)-limonenes and their metabolites, carveols and carvones, by cytochrome P450 enzymes in liver microsomes of mice, rats, guinea pigs, rabbits, dogs, monkeys, and humans. *Drug Metab Pharmacokinet* 17:507–515
24. DFG (1998) D-Limonen. In: *Deutsche Forschungsgemeinschaft (DFG) (ed.): Gesundheitsschädliche Arbeitsstoffe, Toxikologisch-arbeitsmedizinische Begründungen von MAK-Werten, Loseblattsammlung 27. Lieferung*, p. 1–9. Wiley-VCH, Weinheim, Germany
25. Mölhav L, Kjaergaard S K, Hempel-Jorgensen A, et al. (2000) The eye irritation and odor potencies of four terpenes which are major constituents of the emissions of VOCs from Nordic soft woods. *Indoor Air* 10:315–318
26. Larsen S T, Hougaard K S, Hammer M, et al. (2000) Effects of R-(+)- and S-(-)-limonene on the respiratory tract in mice. *Hum Exp Toxicol* 19:457–466
27. Rohr A C, Wilkins C K, Clausen P A, et al. (2002) Upper airway and pulmonary effects of oxidation products of (+)-alpha-pinene, d-limonene, and isoprene in BALB/c mice. *Inhal Toxicol* 14:663–684
28. Keinan E, Alt A, Amir G, Bentur L, Bibi H, Shosyov D (2005) Natural ozone scavenger prevents asthma in sensitized rats. *Bioorg Med Chem* 13:557–562
29. DFG (2006) D-Limonen. In: *Deutsche Forschungsgemeinschaft (DFG) (ed.): Gesundheitsschädliche Arbeitsstoffe, Toxikologisch-arbeitsmedizinische Begründungen von MAK-Werten, Loseblattsammlung 40. Lieferung*, p. 1–15. Wiley-VCH, Weinheim, Germany
30. NTP (1990) NTP Toxicology and Carcinogenesis Studies of d-Limonene (CAS No. 5989-27-5) in F344/N Rats and B6C3F1 Mice (Gavage Studies). NTP TR 347:1–165
31. Webb DR, Ridder GM, Alden CL (1989) Acute and subchronic nephrotoxicity of d-limonene in Fischer 344 rats. *Food Chem Toxicol* 27:639–649
32. Webb DR, Kanerva RL, Hysell DK, Alden CL, Lehman-McKeeman LD (1990) Assessment of the subchronic oral toxicity of d-limonene in dogs. *Food Chem Toxicol* 28:669–675
33. Giri RK, Parija T, Das BR (1999) d-limonene chemoprevention of hepatocarcinogenesis in AKR mice: inhibition of c-jun and c-myc. *Oncol Rep* 6:1123–1127
34. IARC (1999) d-Limonene. Some chemicals that cause tumours of the kidney or urinary bladder in rodents and some other substances: Summary of Data Reported and Evaluation. Chapter 73, pp. 307–328. World Health Organization (WHO), International Agency for Research on Cancer (IARC)
35. Nojgaard JK, Christensen K, Wolkoff P (2005) The effect on human eye blink frequency of exposure to limonene oxidation products and methacrolein. *Toxicol Lett* 156:241–251
36. Clausen PA, Wilkins CK, Wolkoff P, Nielsen GD (2001) Chemical and biological evaluation of a reaction mixture of R-(+)-limonene/ozone: formation of strong airway irritants. *Environ Int* 26:511–522
37. Wolkoff P, Clausen PA, Larsen K, Hammer M, Larsen S T, Nielsen GD (2008) Acute airway effects of ozone-initiated d-limonene chemistry: importance of gaseous products. *Toxicol Lett* 181:171–176
38. Wilkins CK, Wolkoff P, Clausen PA, Hammer M, Nielsen GD (2003) Upper airway irritation of terpene/ozone oxidation products (TOPS). Dependence on reaction time, relative humidity and initial ozone concentration. *Toxicol Lett* 143:109–114
39. Sunil VR, Laumbach RJ, Patel KJ, et al. (2007) Pulmonary effects of inhaled limonene ozone reaction products in elderly rats. *Toxicol Appl Pharmacol* 222:211–220
40. Swedish Work Environment Authority (2005) Occupational exposure limit values and measures against air contaminants. Provisions of the Swedish Work Environment Authority on Occupational Exposure Limit Values and Measures against Air Contaminants, together with General Recommendations on the implementation of the Provisions. *Statute Book of the Swedish Work Environment Authority Online*: www.av.se/dokument/inenglish/legislations/eng0517.pdf
41. **Ad-hoc-AG IRK/AGLMB (1996) Basisschema zur Ableitung von Richtwerten für die Innenraumluft.** *Bundesgesundheitsblatt* 39:422–426