CODING FORM FOR SRC INDEXING

REVISED 10/15/86

Microfiche No.

OTS0529732

New Doc I.D.

89-910000127

Old Doc I.D.

8EHQ-0591-1177

Date Produced

5/01/91

Date Recieved

5/07/91

TSCA section

8E

Submitting Organization

BASF CORP

Contractor

Document Title

LETTER FROM BASF CORPORATION TO USEPA SUBMITTING ENCLOSED FOLLOW-UP INFORMATION CONCERNING ENCLOSED REPORTS AND STUDIES ON IRON PENTACARBONYL WITH ATTACHMENTS

Chemical Category

IRON PENTACARBONYL

CONTAINS NO CBI

BASF Corporation

BASF

Certified Mail
Return Receipt Requested

May 1, 1991

91 MAY -7 AM 8:06

8EHQ-0591-1177 FLWP
88910000093 : PDCN

7/- Pages

Document Processing Center (TS-790)
Attention: 8(e) Coordinator
Office of Toxic Substances
U. S. Environmental Protection Agency
401 M Street, SW
Washington, DC 20460

Ladies and Gentlemen:

Subject: Supplement to EPA Document Control Number 8EHQ-0291-1177, Iron Pentacarbonyl

Per your response to the referenced submission, enclosed are copies of reports for studies that have been conducted on iron pentacarbonyl by BASF AG, Ludwigshafen, Germany. 89910000127:DCN

1. Acute Oral Toxicity
   (date: April 9, 1958; Report in German)

2. Acute Inhalation Toxicity
   (date: May 29, 1959; Report in German)

3. Skin Irritation (OECD 404)
   (date: September 19, 1988; Report in English)

4. Acute Toxicity, golden orfe
   (date: January 4, 1989; Report in English)

5. Ames Test
   (date: January 5, 1989; Report in English)

6. Eye Irritation (OECD 405)
   (date: January 20, 1989; Report in English)

89910000127

As we have indicated previously, a copy of the final report of the subject study will be submitted when it is received.

If you have any questions, please feel free to call me at (313) 246-6211.

Very truly yours,

BASF Corporation

Daniel C Steinmetz

Daniel C. Steinmetz
Manager, Industrial Hygiene &
Product Safety

Enclosures

1609 Biddle Avenue, Wyandotte, Michigan 48192 (313) 246-6100

BASF Aktiengesellschaft

BASF

Toxicology/MW Ecology

APR 29 1991

BASF Aktiengesellschaft · D-6700 Ludwigshafen

Mr. Daniel C. Steinmetz
Industrial Toxicologist
BASF Corporation
Chemical Division
1609 Biddle Avenue

Wyandotte, Michigan 48192

USA

Apr. 23, 91/gl2037-4
ZST - Z 470
Dr. Mellert
Tel. 60-5 66 12
Telefax 60-5 17 34
Telex 4 65 222

Iron pentacarbonyl - Studies conducted at BASF

Dear Mr. Steinmetz

Attached you will find the reports of the studies, which have been conducted at BASF AG Ludwigshafen with iron pentacarbonyl:

1. Acute Oral Toxicity (date: April 9, 1958; Report in German language)
2. Acute Inhalation Toxicity (date: May 29, 1959; Report in German language)
3. Skin Irritation (OECD 404) (date: September 19, 1988; Report in English language)
4. Acute Toxicity, golden orfe (date: January 04, 1989; Report in English language)
5. Ames Test (date: January 05, 1989; Report in English language)
6. Eye Irritation (OECD 405) (date: January 20, 1989; Report in English language)

Please initiate the further transmission of the reports to the EPA. We can translate the German reports into English language, if this will be requested.

The report of the 28-day inhalation study is in preparation and will be submitted to you as soon as possible.

Sincerely yours

BASF Aktiengesellschaft

Treiber Hildebrand

Enclosures (as mentioned above)

Lg.-Nr. 9030500

Telefon (0621) 60-0 (Vermittlung)
Telefax (0621) 60-42525 (Zentrale)
Telex 46499-0 bas d (Vermittlung)
Teletex 62157 = BASF (Vermittlung)
Telegramme: BASF Ludwigshafenrhein

Bankverbindung: Landeszentralbank
6700 Ludwigshafen, Girokonto 54507300
(BLZ 54500000)
Sitz der Gesellschaft: D-6700 Ludwigshafen
Aufsichtsratsvorsitzender: Hans Albers
Vorstand: Jürgen Strube, Vorsitzender;
Wolfgang Jentzsch, stellv. Vorsitzender;

Detlef Dibbern; Albrecht Eckell;
Max D. Kley; Ingo Paetzke;
Hans-Jürgen Quadbeck-Seeger;
Hanns-Helge Stechl; Dieter Stein;
Dietmar Werner; Gerhard Wolf
Registergericht: Amtsgericht Ludwigshafen,
Eintragungsnummer HRB 3000

BASF
Gewerbehygienisch-Pharmakologisches Institut

CONTAINS NO CBI

An

Hochdruck-Abteilung
Herrn Dir.Dr.Pistor

Note: As per talk w/ Author this attachment contains NO CBI. M.S. DCO 5/8/91

Ihre Zeichen	Ihre Nachricht vom	Unsere Nachricht vom	Ruf-Nr.	Unsere Zeichen	Ludwigshafen a. Rhein
				VII/264	9.4.58/z

Betreff

Untersuchungen über die akute Toxizität von Eisencarbonyl.

Die Hochdruckabt./Nickelfabrik (Dr.Oestreicher) übersandte uns auf Anforderung folgendes Produkt zur toxikologischen Prüfung:

Eisencarbonyl = Eisenpentacarbonyl $Fe(CO)_5$ uns.Vers.Nr

= gelbe Flüssigkeit, die unter Wasser aufbewahrt wurde. VII/264
Mol.Gew.195,9; Dichte: D=1,46; Schmelzpunkt: F = -21°C;
Siedepunkt: Kp = 105°C (nach Angabe des Chemikerkalenders);
Dampfdruck (nach Angabe des Herstellers): 30 Torr/20°C.

Fragestellung:

Die akute Toxizität von Eisencarbonyl sollte mit der von Ferrocen (Dicyclopentadienyleisen) verglichen werden. Da über die Toxizität von Eisencarbonyl nichts bekannt ist und die gewerbetoxikologisch wichtige Inhalationsversuche noch nicht durchgeführt werden konnten, wurde zunächst die akute Toxizität von Eisencarbonyl bei enteraler und parenteraler Verabfolgung untersucht.

V E R S U C H E .

I. Akute Toxizität an kleinen Nagetieren.

Methodik: Insgesamt 127 Mäusen im Gewicht von 17-31 g (Mittelgewicht 22,6 g) und 55 Ratten im Gewicht von 110-184 g (Mittelgewicht 135-8 g), einer Zucht entstammend und unter gleichen Ernährungs- und Umweltbedingungen gehalten, wurde Eisencarbonyl in wässriger Emulsion unter Zusatz von 1% Traganth per os (Schlundsonde) bzw. intraperitoneal verabfolgt. Die ALD 50 (approximative Dosis, nach deren Verabreichung 50% der Versuchstiere innerhalb von 8 Tagen verenden) wurde mit der Methode nach BEHRENS (zit.nach J.H.BURN: Biol.Standardization 1937) bestimmt. Die Versuche fanden in den Monaten Oktober bis Dezember 1957 statt.

ERGEBNIS: Tabelle 1 (Anlage) zeigt die Einzelergebnisse unserer Toxizitätsbestimmungen, die folgendes Gesamtergebnis hatten:

ALD 50 von Eisencarbonyl bei kleinen Nagetieren (mg/kg, wässrige 0,1-1%ige Emulsion, bezogen auf Eisencarbonyl)

Tierart	Applikation	ALD 50	Tierzahl
Maus	per os	100	60
Maus	intraperitoneal	60	67
Ratte	per os	25	45

Aus der Tabelle ist zu entnehmen, daß Eisencarbonyl als sehr toxisch a zusprechen ist. Das Vergiftungsbild war unspezifisch. Die Tiere erschi nen nach Applikation des Produktes teilnahmslos und schlaff, die Atmur war forciert und häufig stoßweise. Tödlich vergiftete Tiere verendeter nicht akut, sondern innerhalb von 1-4 Tagen. Die Überlebenden Tiere wu den nach 14 Tagen getötet und seziert. An den Organen ließ sich makros kopisch kein krankhafter Befund erheben.

II. Akute Toxizität bei höheren Tieren.

Die akute Toxizität von Eisencarbonyl ist nach der gleichen Methodik w unter I auch an 9 Kaninchen und 8 Katzen bestimmt worden. Die Ergebnis zeigt Tabelle 2.

Tabelle 2
Akute Toxizität von Eisencarbonyl bei oraler Verabfolgung an Kaninchen und Katzen (0,5-2%ige wässrige Dispersionen mit 1% Traganth, Dosen in mg/kg)

Tierart	Dosis	Ergebnis: tot/gesamt	nach x Tagen	Nachbeob. zeit (Tg.)	ALD 50
Kaninchen per os	100	1/1	1		
	50	1/1	1		
	20	1/2	2	11	ca. 2
	12,6	0/2	-	11, 11	
	7,9	0/2	-	8, 11	
	3,2	0/1	-	8	
Katze per os	159	0/2	38	35	
	100	1/2	3	14	ca.100-
	50	0/2	-	21, 21	
	2o	0/2	-	14, 21	

Vergiftungsbild:

3 tödlich vergiftete Kaninchen nahmen kein Futter mehr an, sonst ware keine Vergiftungssymptome zu beobachten; die Tiere verendeten nach 1- Tagen. Bei der Sektion fand sich ausnahmslos ein Lungenoedem, in 2 vc 3 Fällen ein Hydrothorax. Dosen von weniger als 12 mg/kg wurden von 3 Kaninchen völlig symptomlos vertragen.

Auffälligerweise waren Katzen gegen Eisencarbonyl weniger empfindlic als Kaninchen. So überlebten 2 Tiere die einmalige orale Applikation 160 mg/kg bei einer Nachbeobachtungszeit von 35 Tagen. Die Tiere nahm etwa 8 Tage praktisch kein Futter an und verloren ca.0,4kg an Gewicht (Ausgangsgewicht 1,81 bzw.1,87 kg). Nach 35 Tagen hatte eine Katze ih

Ausgangsgewicht wieder erreicht (Gewichtsabnahme maximal 20% des Ausgangsgewichtes), während das zweite Tier ständig weiterabmagerte und a 38.Beobachtungstag verendete. Bei der Sektion zeigte sich eine gelbe V färbung des Unterhautgewebes, sodaß eine Gelbsucht, von einem Lebersch den ausgehend, vermutet wurde. Über die histologischen Untersuchungen, die noch nicht abgeschlossen sind, wird gesondert berichtet.

Eine Katze verendete am 3.Tag nach der oralen Applikation von 100 mg/k Sektionsbefund: Herdförmige Pneumonie.

Bei 5 von 8 Katzen sind 8 und 14 Tage nach oraler Gabe von 100 mg/kg (ein Tier), 50 mg/kg (2 Tiere) und 20 mg/kg (2 Tiere) Leber- und Niere funktionsprüfungen durchgeführt worden (Bromsulphthaleintest, Blutharn stoffbestimmung). Die Ergebnisse lagen ausnahmslos im Bereich der Norm

B E U R T E I L U N G .

Eisencarbonyl ist bei akuter oraler und parenteraler Applikation sehr toxisch. Die ALD 50-Werte lagen für Katzen, Mäuse, Ratten und Kaninche zwischen ca.200 mg/kg (Katzen) und ca.20 mg/kg (Kaninchen) und nahmen der angegebenen Reihenfolge ab. Die Vergiftung verlief zunächst praktisch symptomlos. Tödlich vergiftete Tiere verendeten nicht sofort, s dern 1-4 Tage nach der oralen Applikation von Eisencarbonyl. Auffälli war der Befund, daß tödlich vergiftete Kaninchen bei der Sektion ein Lungenoedem mit Pleuraerguß zeigten.

Eisencarbonyl wird vom Magen-Darmtrakt gut resorbiert; das zeigt der ringe Toxizitätsunterschied zwischen oraler (ALD 50 = 100 mg/kg) und intraperitonealer (ALD 50 = 60 mg/kg) Applikation bei der Maus.

Leber und Niere scheinen - soweit aus Funktionsprüfungen dieser Organ bei Katzen (20-100 mg/kg per os) geschlossen werden darf - bei akuter oraler Eisencarbonylvergiftung funktionell nicht geschädigt.

Bei sachgemäßer Handhabung wird eine Aufnahme von Eisencarbonyl durch den Magen-Darmtrakt praktisch nicht in Betracht kommen. Man muß aber mit rechnen, daß Eisencarbonylvergiftungen ähnlich wie Nickelcarbonyl vergiftungen zunächst symptomarm verlaufen und es erst nach einer gewissen Latenzzeit zur Ausbildung klinischer Symptome, vielleicht zu Lungenoedem kommen wird. Bis zum Vorliegen von experimentellen Unterl gen über die Inhalationstoxizität von Eisencarbonyl ist es ratsam, di gleichen Schutz- und Sicherheitsmaßnahmen wie beim Umgang mit Nickelcarbonyl anzuwenden, um auch Vergiftungen durch Inhalation von Eisencarbonyl zu vermeiden.

(Prof.Dr.med.H.OETTEL) (Dr.med.E.STÜRMER)

Anlage: Tabelle 1

BASF
Gewerbehygienisch-Pharmakologisches Institut

Anlage
Blatt

Empfänger Hochdruckabteilung Tag 9.4.58

Betr. VII/264

Tabelle 1

Toxizität von Eisencarbonyl bei kleinen Nagetieren
(mg/kg, wässrige 0,1-1%ige Emulsion, bezogen auf Eisencarbonyl)

Tierart Applik.	Dosis	Ergebnis (tot/gesamt) nach 24h	n.48h	n.4 Tg.	n.7 Tg.	ALD 50
Maus per os	32	0/5	0/5	0/5	0/5	100
	50	0/5	0/5	0/5	0/5	
	63	0/10	0/10	0/10	0/10	
	79	1/15	2/15	2/15	2/15	
	100	1/15	3/15	6/15	6/15	
	126	2/5	3/5	3/5	3/5	
	159	1/5	3/5	5/5	5/5	
Maus i.p.	20	0/5	0/5	0/5	0/5	60
	32	0/22	2/22	2/22	2/22	
	50	0/15	0/15	0/15	0/15	
	63	2/5	2/5	4/5	4/5	
	79	4/15	8/15	10/15	11/15	
	100	0/5	2/5	4/5	4/5	
Ratte per os	2,0	0/5	0/5	0/5	0/5	25
	7,9	0/5	0/5	0/5	0/5	
	15,9	0/5	0/5	0/5	0/5	
	20,4	0/5	1/5	2/5	2/5	
	25,1	0/5	0/5	1/5	1/5	
	31,6	0/5	4/5	4/5	4/5	
	40,0	5/5	5/5	5/5	5/5	
	63,0	3/5	5/5	5/5	5/5	
	316,0	3/5	5/5	5/5	5/5	

CONTAINS NO CBI
~~Vertraulich~~

BASF
Gewerbehygienisch-Pharmakologisches Institut

An

Hochdruck-Abteilung
Herrn Dir.Dr.Sönksen

Ihre Zeichen	Ihre Nachricht vom	Unsere Nachricht vom	Ruf-Nr.	Unsere Zeichen	Ludwigshafen a. Rhein
				VII/264	29.5.59/z

Betreff

Bericht über die akute Inhalationstoxizität von Eisenpentacarbonyl.

In Ergänzung zu unserem Gutachten vom 9.4.58 berichten wir im folgend Über die Prüfung der akuten Inhalationstoxizität von Eisenpentacarbon (uns.Versuchs-Nr. VII/264=Nachlieferung VIII/116=VIII/125).

Inhalationstoxizität.

Zur Prüfung der akuten Inhalationstoxizität wurde durch da[illegible] in einer Frittenflasche befindliche Produkt ein Stickstoffstrom von 10 l/h ge[illegible]tet und dieser mit den Eisenpentacarbonyldämpfen gesättigt. Stickstoffstrom bis zur gewünschten Endkonzentration mit Luft weiter [illegible] (Unterschreitung der unteren Explosionsgrenze!). Die versc[illegible]enen Carbonylkonzentrationen wurden durch Inhalationskäfige gel[illegible]nen sich die Versuchstiere (Mäuse, Ratten, Meerschweinchen und Katzen) befanden. Die Expositionszeit betrug einmal 30 Zeit wurde gewählt, um die Ergebnisse mit den aus der Lite[illegible]ten Befunden über Nickelcarbonyl vergleichen zu können.

Die Konzentrationsbestimmung erfolgte teils durch Berechnu[illegible] aus der verflüchtigten Eisencarbonylmenge und dem verwendeten Luftvolumen, [illegible] analytisch durch die L.K.Abt. (Dr.Kindler). Die analytisch ermittel[illegible] Konzentrationen lagen meist niedriger als die berechneten, was auf e[illegible] teilweise Zersetzung der Eisencarbonyldämpfe unter der Einwirkung v[illegible] Licht und Luft schließen läßt. Bei der Auswertung der Versuchsergebn[illegible] sind nur die analytisch bestimmten Eisencarbonylkonzentrationen berü[illegible]sichtigt worden. Die Ergebnisse sind in Tabelle 1 dargestellt.

Tabelle 1
Akute Inhalationstoxizität von Eisenpentacarbonyl bei einmaliger 30 Minuten langer Einwirkung.

Konzentr. ppm	Gestorbene Tiere/Gesamttierzahl				
	Katzen	Kaninchen	Meerschweinchen	Ratten	Mäuse
ca.500	-	-	-	+ 6/6	
ca.300	0/2	+ 2/2	+ 1/2	+ 6/6	+ 1/[illegible]
ca.180	0/2	+ 2/2	+ 1/2	-	
ca.140	0/2	+ 2/2	+ 1/2	+ 9/12	+ 5/2
ca. 70	-	-	-	0/6	0/1
ca. 40	0/2	+ 2/2	0/2	-	-
ca. 20	-	-	-	0/6	+ 1/[illegible]
ca. 12	-	-	-	0/6	0/[illegible]

Die Tiere wiesen während der Exposition - auch bei den angewandten Höchstkonzentrationen - keine besonderen Symptome auf. Innerhalb der ersten 24 Stunden nach dem Versuch stellte sich jedoch bei den vergifteten Tieren Freßunlust, starke Apathie und anschließend erschwerte Atmung ein. Die tödlich vergifteten Tiere starben meist nach 1-5 Tagen unter zunehmender Atemnot.

Die Sektion und die histologische Untersuchung der verendeten Tiere ergab fast ausnahmslos Lungenschädigungen mit Lungenödem und / oder Pneumonitis, d.h. einer interstitiellen Lungenentzündung. Neben diesen Lungenschädigungen wurden bei einem großen Teil der Ratten und Mäuse toxische Leberschädigungen festgestellt. Die überlebenden Tiere waren meist erst nach 6-8 Tagen wieder symptomfrei.

Nach diesen Versuchen besteht gegenüber der toxischen Wirkung des Eisenpentacarbonyls eine unterschiedliche Empfindlichkeit der einzelnen Tierarten, wobei die Empfindlichkeit etwa in der Reihenfolge Katze < Maus < Meerschweinchen < Ratte < Kaninchen zunimmt. Kaninchen gingen bereits bei nur 1 x 30 Minuten langer Inhalation einer Eisenpentacarbonylkonzentration von 40 ppm an typischen Lungenschädigungen zugrunde, die tödliche Konzentration liegt vermutlich noch niedriger.

In der folgenden Tabelle 2 sind unsere Versuchsergebnisse an Katzen, Ratten und Mäusen, soweit sie einen Vergleich zulassen, den aus der Literatur (KINCAID et al.: Arch.Ind.Hyg.a.Occ.Med. 8, S.48, 1953) bekannten und annähernd vergleichbaren Ergebnissen mit Nickelcarbonyl gegenübergestellt.

Tabelle 2

Vergleich der Inhalationstoxizität von Eisenpentacarbonyl und Nickelcarbonyl bei einmal 30 Minuten langer Einwirkung.

Konzentr. ppm	Gestorbene Tiere/Gesamttierzahl					
	EISENCARBONYL			NICKELCARBONYL		
	Katzen	Ratten	Mäuse	Katzen	Ratten	Mäuse
ca. 300	0/2	+6/6	+12/12	+3/3	-	-
ca. 70	-	0/6	0/12	0/1	+12/12	-
ca. 20	-	0/6	+ 1/12	0/1	0/6	
ca. 12	-	0/6	0/12	-	-	+12/22

Der Tabelle ist zu entnehmen, daß auch gegenüber Nickelcarbonyl eine unterschiedliche Empfindlichkeit der einzelnen Versuchstierarten besteht. Auch hier scheinen Katzen am resistentesten zu sein, während Nagetiere empfindlicher sind. Der Vergleich zeigt weiterhin, daß Eisenpentacarbonyl für Katzen, Ratten und Mäuse weniger toxisch ist als Nickelcarbonyl.

./

B E U R T E I L U N G .

Eisenpentacarbonyl besitzt im akuten Inhalationsversuch grundsätzlich die gleiche Wirkung wie Nickelcarbonyl. Das Produkt scheint zwar für Katzen, Ratten und Mäuse akut weniger toxisch zu sein als Nickelcarbon doch liegt die für Kaninchen nach nur 1 x 30 Minuten langer Inhalation tödliche Eisenpentacarbonylkonzentration unter 40 ppm. Die klinische Symptomatologie und die pathologisch-anatomischen Befunde der Eisen-carbonylvergiftung entsprechen denen der Nickelcarbonylvergiftung.

Unsere Befunde an kleinen Nagetieren stehen im Einklang mit neuerliche Untersuchungsergebnissen von SUNDEMAN u.Mitarb. (Journ.Ind.Health 19,S 1959), wonach die LC 50 von Eisenpentacarbonyl bei 1 x 30 Minuten lang Exposition für Mäuse ca.270 und für Ratten ca.110 ppm beträgt. Auch in diesen Versuchen erwiesen sich Ratten empfindlicher als Mäuse. Nach Un suchungen des Industrial Hygiene Research Department der I.C.I. sterbe Ratten bereits nach 1 x 5 1/2-stündiger Inhalation einer Eisencarbonyl-konzentration von nur 26 ppm und nach 2 x 5 1/2-stündiger Inhalation e solchen von nur 12 ppm. Auch diese Befunde verdeutlichen die hohe Tox tät des Eisenpentacarbonyls.

Den tierexperimentellen Befunden über Eisencarbonyl scheinen allerdin die mehr als 30-jährigen praktischen Betriebserfahrungen entgegenzust wonach - ganz im Gegensatz zu Nickelcarbonyl - Vergiftungen durch Eis carbonyl beim Menschen bisher nicht beobachtet wurden. Dies mag darin gründet liegen, daß sich Eisenpentacarbonyl unter Licht- und Lufteinf leichter zersetzt als Nickelcarbonyl und dadurch toxische Konzentrati gar nicht erreicht werden. Obgleich also die absolute Toxizität von Eisenpentacarbonyl - wenigstens im Tierversuch - ähnlich hoch ist wie für Nickelcarbonyl, ist seine Gefährlichkeit vielleicht geringer.

Ob Eisenpentacarbonyl für den Menschen absolut weniger toxisch ist als Ni carbonyl, kann nur durch wiederholt durchgeführte Konzentrationsbesti gen an den verschiedenen Arbeitsplätzen ermittelt werden. Die Durchfü rung solcher zur Ergänzung der Tierversuche unbedingt erforderlichen zentrationsbestimmungen wurde bereits vor einem Jahr (30.4.58) anläßl einer Besprechung bei der L.K.Abt. beschlossen.

Nach dem Ergebnis der Tierversuche müssen jedenfalls beim Umgang mit Eisenpentacarbonyl die gleichen Vorsichtsmaßnahmen wie bei der Handha von Nickelcarbonyl eingehalten werden. Der MAK-Wert von Nickelcarbony von 0,1 ppm darf auch bei Eisenpentacarbonyl nicht überschritten werd

(Prof.Dr.med.H.OETTEL) (Dr.med.H.Th.HOFMANN)

Vertraulich

KURZFASSUNG NICHT FÜR WEITERGABE AN EXTERNE STELLEN

BASF
Abteilung Toxikologie
Department of Toxicology

10

RCA - C 400 über
RC - M 300

19. SEP. 1988

ZST - Z 470/ro; 1091-26
Herr Dr. Gamer
Tel. 5 64 96

Prüfung der akuten Hautreiz-/Ätzwirkung an der intakten Rückenhaut weißer Kaninchen in Anlehnung an OECD
Prüfung der akuten Hautreiz-/Ätzwirkung an der intakten Rückenhaut weißer Kaninchen (Kurzzeittest)
(englisch)

Substanz-Nr.: 88/473

Substanzname: Eisenpentacarbonyl

Kurzfassung
Primäre Hautreizwirkung (Kaninchen, OECD-Test, 404, Kurzzeittest 3 min, 1 h): Einwirkungszeit: 4 h, 1 h, 3 min Bewertung: nicht reizend*
Kennzeichnung: nicht erforderlich* Gefahrenhinweise: nicht erforderlich* Es sind die beim Umgang mit Chemikalien üblichen Vorsichtsmaßregeln zu beachten. * gemäß Kriterien GefStoffV vom 26. August 1986.
Für eine endgültige Kennzeichnung und die zu treffenden Vorsichtsmaßnahmen sind gegebenenfalls noch die Ergebnisse weiterer Untersuchungen, gesetzliche Bestimmungen sowie andere toxikologische Kenntnisse über das Produkt zu berücksichtigen.

Einzelergebnisse siehe Anlage/n

Wir gehen davon aus, daß Sie weitere Interessenten bzw. Abnehmer von diesem Befund unterrichten.

A. O. Gamer Ki
Gamer

Anlage/n

VD: DOA - H 308, Fr. Dr. Bondorf

3537 *23.09.88

PRJ. NO. 18H0473/882200 SHEET 1

REPORT ON THE ACUTE DERMAL IRRITATION/CORROSIVITY TO THE INTACT DORSAL SKIN OF THE WHITE RABBIT BASED ON OECD *

TESTING FACILITY:	BASF AKTIENGESELLSCHAFT DEPARTMENT OF TOXICOLOGY D-6700 LUDWIGSHAFEN / RHEIN, FRG
AIM OF THE STUDY:	ASSESSMENT OF A POSSIBLE IRRITATING OR CORROSIVE POTENTIAL TO THE SKIN
PROJECT NUMBER:	18H0473/882200
NAME OF TEST SUBSTANCE:	EISENPENTACARBONYL **

Kirsch Sept 16, 1988

DR.MED.VET. P. KIRSCH
(HEAD OF SECTION)

A.O. Gamer, Sept. 16th, 1988

DR. MED. VET. A.O. GAMER
(STUDY DIRECTOR)

* METHOD AND ASSESSMENT BASED ON OECD GUIDELINE (404) FOR TESTING OF CHEMICALS ADOPTED MAY 12TH, 1981

** A DETAILED PRODUCT CHARACTERIZATION IS INCLUDED IN THE RAW DATA

THIS REPORT IS THE PROPERTY OF BASF AKTIENGESELLSCHAFT AND MAY NOT BE COMMUNICATED TO THIRD PERSONS, REPRODUCED, OR PUBLISHED IN ANY FORM EXCEPT WITH THE PROPRIETOR'S EXPLICIT PERMISSION.

THIS REPORT CONSISTS OF 6 PAGES.

ACUTE SKIN IRRITATION/CORROSIVITY (OECD)

METHOD

ANIMAL SPECIES:	RABBIT/WHITE VIENNA
ANIMAL BREEDER:	SAVO: MED. VERSUCHSTIERZUCHTEN GMBH, D-7964 KISSLEGG/ALLGAU FRG
TYPE OF CAGE:	CAGE MADE OF STAINLESS STEEL WITH WIRE MESH WALK FLOORS. FLOOR AREA: 40 CM X 51 CM
NO. OF ANIMALS PER CAGE:	1
ANIMAL IDENTIFICATION:	EAR TATTOO (= ANIMAL NO.)
ROOM TEMPERATURE/ RELATIVE HUMIDITY:	THE ANIMALS WERE HOUSED IN FULLY AIR-CONDITIONED ROOMS. CENTRAL AIR-CONDITIONING GUARANTEED A RANGE OF 20 - 24 DEGREES CELSIUS FOR TEMPERATURE AND OF 30 - 70% FOR RELATIVE HUMIDITY. THERE WERE NO DEVIATIONS FROM THESE RANGES WHICH INFLUENCED THE RESULTS OF THE STUDY.
DAY/NIGHT RHYTHM:	12 H/12 H (6.00 - 18.00 HOURS/ 18.00 - 6.00 HOURS)
BEDDING:	NO BEDDING IN THE CAGES; SAWDUST IN THE WASTE TRAYS
DIET:	KLIBA 341, 4 MM; FIRMA KLINGENTALMUEHLE AG CH-4303 KAISERAUGST, SWITZERLAND (ABOUT 130 G PER ANIMAL PER DAY)
DRINKING WATER:	ABOUT 250 ML TAP WATER PER ANIMAL PER DAY
ACCLIMATIZATION PERIOD:	AT LEAST 8 DAYS BEFORE THE BEGINNING OF THE STUDY; SAME HOUSING CONDITIONS AS DURING THE STUDY
CLIPPING OF THE FUR:	AT LEAST 15 HOURS BEFORE THE BEGINNING OF THE STUDY

3

ACUTE SKIN IRRITATION/CORROSIVITY (OECD)

EXPOSURE PERIOD:	4 H	SEMIOCCLUSIVE
NUMBER OF ANIMALS MA:	2	
FE:	1	
MEAN WEIGHT (KG) MA:	2.15	
FE:	2.22	
APPLICATION AREA:	2.5 CM X 2.5 CM	
FORM OF APPLICATION:	UNCHANGED	
APPLICATION VOLUME:	APPLICATION OF 0,5 ML OF THE UNDILUTED TEST SUBSTANCE TO THE TEST PATCH (2,5 CM X 2,5 CM)	
APPLICATION SITE:	UPPER THIRD OF THE BACK OR FLANKS	
REMOVAL OF THE TEST SUBSTANCE:	AT THE END OF THE EXPOSURE PERIOD WITH LUTROL AND LUTROL/WATER (1:1)	
OBSERVATION PERIOD:	72 H	
READINGS:	30 - 60 MINUTES AFTER REMOVAL OF THE TEST PATCHES AND 24 H, 48 H, 72 H, AFTER THE BEGINNING OF APPLICATION	
NEGATIVE CONTROL:	UNTREATED SKIN SITES OF THE SAME ANIMAL	

* TEST PATCHES WERE SECURED IN POSITION WITH A POROUS DRESSING (FOUR LAYERS OF ABSORBENT GAUZE + POROUS BANDAGE).

ACUTE SKIN IRRITATION/CORROSIVITY (OECD)

STORAGE OF THE REPORT AND RAW DATA:	ON COMPLETION OF THE REPORT ALL RAW DATA AND STUDY DOCUMENTS ARE RETAINED AT BASF AKTIENGESELL-SCHAFT.
DATA INPUT:	BENZ
DATA CONTROL:	Reinfrank Aug. 24, 88
DATE OF APPLICATION:	AUG. 15. 88

RESULTS ACUTE SKIN IRRITATION/CORROSIVITY (OEC)

ANIMAL	1	2	3
ANIMAL NO.	0718	0746	0720
A.WEIGHT(KG)	2.07	2.22	2.24
SEX	MA	FE	MA

READ-INGS	ANI-MAL	INTACT SKIN R	ED	SYMPTOMS
4 H	1	2	0	
	2	1	0	
	3	1	0	
24 H	1	0	0	
	2	0	0	
	3	0	0	
48 H	1	0	0	
	2	0	0	
	3	0	0	
72 H	1	0	0	
	2	0	0	
	3	*	*	SO2
ME	1	0.0	0.0	
ME	2	0.0	0.0	

D

RESULTS ACUTE SKIN IRRITATION/CORROSIVITY (OECD)

EVALUATION OF ERYTHEMA (R) AND EDEMA (ED):

0 = NONE
1 = VERY SLIGHT
2 = WELL-DEFINED
3 = MODERATE TO SEVERE
4 = SEVERE TO VERY SEVERE

CALCULATION OF THE MEAN ACCORDING TO 83/467/EEC CRITERIA OF JULY 29TH, 1983
(FOR CALCULATION OF THE MEANS OF ERYTHEMA AND EDEMA ONLY THE READINGS OF 24, 48 AND 72 HOURS ARE USED).

KEY:
MA = MALE
FE = FEMALE
H = HOUR
ME = MEAN

EXPLANATIONS OF SYMPTOMS:

S02 - ANIMAL DIED 72 H AFTER APPLICATION (NOT SUBSTANCE-INDUCED)

Confidential

SEP 19 198

17

PRJ. NO. 16H0473/882195 SHEET 1

REPORT ON THE ACUTE DERMAL IRRITATION/CORROSIVITY TO THE INTACT DORSAL SKIN OF THE WHITE RABBIT (SHORT-TERM TEST)

TESTING FACILITY:	BASF AKTIENGESELLSCHAFT DEPARTMENT OF TOXICOLOGY D-6700 LUDWIGSHAFEN / RHEIN, FRG
AIM OF THE STUDY:	ASSESSMENT OF A POSSIBLE IRRITATING OR CORROSIVE POTENTIAL TO THE SKIN
PROJECT NUMBER:	16H0473/882195
NAME OF TEST SUBSTANCE:	EISENPENTACARBONYL **

Kirsch Sept 16, 1988

DR.MED.VET. P. KIRSCH
(HEAD OF SECTION)

A.O. Gamer, Sept. 16th, 1988

DR. MED. VET. A.O. GAMER
(STUDY DIRECTOR)

** A DETAILED PRODUCT CHARACTERIZATION IS INCLUDED IN THE RAW DATA

THIS REPORT IS THE PROPERTY OF BASF AKTIENGESELLSCHAFT AND MAY NOT BE COMMUNICATED TO THIRD PERSONS, REPRODUCED, OR PUBLISHED IN ANY FORM EXCEPT WITH THE PROPRIETOR'S EXPLICIT PERMISSION.

THIS REPORT CONSISTS OF 7 PAGES.

PRJ. NO. 16H0473/882195

SKIN IRRITATION (SHORT-TERM TEST)

METHOD

ANIMAL SPECIES:	RABBIT/WHITE VIENNA
ANIMAL BREEDER:	GAUKLER; D-6050 OFFENBACH/MAIN, FRG
TYPE OF CAGE:	CAGE MADE OF STAINLESS STEEL WITH WIRE MESH WALK FLOORS. FLOOR AREA: 40 CM X 51 CM
NO. OF ANIMALS PER CAGE:	1
ANIMAL IDENTIFICATION:	EAR TATTOO (= ANIMAL NO.)
ROOM TEMPERATURE/ RELATIVE HUMIDITY:	THE ANIMALS WERE HOUSED IN FULLY AIR-CONDITIONED ROOMS. CENTRAL AIR-CONDITIONING GUARANTEED A RANGE OF 20 - 24 DEGREES CELSIUS FOR TEMPERATURE AND OF 30 - 70% FOR RELATIVE HUMIDITY. THERE WERE NO DEVIATIONS FROM THESE RANGES WHICH INFLUENCED THE RESULTS OF THE STUDY.
DAY/NIGHT RHYTHM:	12 H/12 H (6.00 - 18.00 HOURS/ 18.00 - 6.00 HOURS)
BEDDING:	NO BEDDING IN THE CAGES; SAWDUST IN THE WASTE TRAYS
DIET:	KLIBA 341, 4 MM; FIRMA KLINGENTALMUEHLE AG CH-4303 KAISERAUGST, SWITZERLAND (ABOUT 130 G PER ANIMAL PER DAY)
DRINKING WATER:	ABOUT 250 ML TAP WATER PER ANIMAL PER DAY
ACCLIMATIZATION PERIOD:	AT LEAST 8 DAYS BEFORE THE BEGINNING OF THE STUDY; SAME HOUSING CONDITIONS AS DURING THE STUDY
CLIPPING OF THE FUR:	AT LEAST 15 HOURS BEFORE THE BEGINNING OF THE STUDY

SKIN IRRITATION (SHORT-TERM TEST)

EXPOSURE PERIOD:		3 M	1 H	SEMIOCCLUSIVE *
NUMBER OF ANIMALS	MA:	1	1	
	FE:	0	0	
MEAN WEIGHT (KG)	MA:	2.98	2.98	
	FE:	--	--	

APPLICATION AREA: 2.5 CM X 2.5 CM

FORM OF APPLICATION: UNCHANGED
UNCHANGED

APPLICATION VOLUME: APPLICATION OF 0,5 ML OF THE UNDILUTED TEST SUBSTANCE TO THE TEST PATCH(2,5 CM X 2,5 CM)

APPLICATION SITE: UPPER THIRD OF THE BACK OR FLANKS

REMOVAL OF THE TEST SUBSTANCE: AT THE END OF THE EXPOSURE PERIOD WITH LUTROL AND LUTROL/WATER (1:1)

OBSERVATION PERIOD: 72 H (3 M) 72 H (1 H)

ASSESSMENT: BASED ON J.H. DRAIZE: APPRAISAL OF THE SAFETY OF CHEMICALS IN FOODS, DRUGS AND COSMETICS. IN DERMAL TOXICITY PP. 46 - 59. 1959. AUSTIN, TEX.: ASSOCIATION OF FOOD AND DRUG OFFICIALS OF THE UNITED STATES, TEXAS, STATE DEPARTMENT OF HEALTH

READINGS: 30 - 60 MINUTES AFTER REMOVAL OF THE TEST PATCHES AND
24 H, 48 H, 72 H, (3 M)
24 H, 48 H, 72 H, (1 H)
AFTER THE BEGINNING OF APPLICATION

NEGATIVE CONTROL: UNTREATED SKIN SITES OF THE SAME ANIMAL

* TEST PATCHES WERE SECURED IN POSITION WITH A POROUS DRESSING (FOUR LAYERS OF ABSORBENT GAUZE + POROUS BANDAGE).

PRJ. NO. 16H0473/882195 SHEET 4

SKIN IRRITATION (SHORT-TERM TEST)

STORAGE OF THE REPORT AND RAW DATA:	ON COMPLETION OF THE REPORT ALL RAW DATA AND STUDY DOCUMENTS ARE RETAINED AT BASF AKTIENGESELL-SCHAFT.
DATA INPUT:	BENZ
DATA CONTROL:	Reinfrank Aug. 24,88
DATE OF APPLICATION:	JULY 4, 88

RESULTS SKIN IRRITATION (SHORT-TERM TEST)

EXPOSURE PERIOD: 3 M
FORM OF APPLICATION: UNCHANGED

ANIMAL : 1
ANIMAL NO. : 0611
A.WEIGHT(KG) : 2.98
SEX : MA

READINGS	ANIMAL	INTACT SKIN R	ED	SYMPTOMS
3 M	1	0	0	
24 H	1	0	0	
48 H	1	0	0	
72 H	1	0	0	
ME	1	0	0	

RESULTS SKIN IRRITATION (SHORT-TERM TEST)

EXPOSURE PERIOD: 1 H
FORM OF APPLICATION: UNCHANGED

ANIMAL : 1
ANIMAL NO. : 0611
A.WEIGHT(KG) : 2.98
SEX : MA

READ-INGS	ANI-MAL	INTACT SKIN R	ED	SYMPTOMS
1 H	1	0	0	
24 H	1	0	0	
48 H	1	0	0	
72 H	1	0	0	
ME	1	0	0	

RESULTS SKIN IRRITATION (SHORT-TERM TEST)

EVALUATION OF ERYTHEMA (R) AND EDEMA (ED):

0 = NONE
1 = VERY SLIGHT
2 = WELL-DEFINED
3 = MODERATE TO SEVERE
4 = SEVERE TO VERY SEVERE

CALCULATION OF THE MEAN ACCORDING TO 83/467/EEC CRITERIA OF JULY 29TH, 1983
(FOR CALCULATION OF THE MEANS OF ERYTHEMA AND EDEMA ONLY THE READINGS OF 24, 48 AND 72 HOURS ARE USED).

KEY:
MA = MALE
FE = FEMALE
H = HOUR
M = MINUTE
ME = MEAN

BASF
Abteilung Toxikologie
Department of Toxicology

Vertraulich

KURZFASSUNG NICHT ZUR WEITERGABE AN EXTERNE STELLEN

RCA - Q 514 über
RC - M 300

04. JAN. 1988

ZNT - Z 470/ro; 10 5-2
Herr Dr. Munk
Tel. 5 59 44

Bericht über die Prüfung der akuten Toxizität an der Goldorfe (Leuciscus idus L., Goldvariante); englische Fassung
Prüfung zur Einstufung in Wassergefährdungsklasse

Substanz-Nr.: 87/350

Substanzname: Eisencarbonyl

Kurzfassung

LC 50 (96 Std.): 990 mg/l

"No Observable Effect Concentration" (= NOEC): 100 mg/l

Höchste geprüfte Konzentration ohne Mortalität: 100 mg/l

Niedrigste geprüfte Konzentration, die 100 % Mortalität verursacht: > 2150 mg/l

Mehrere Vorversuche zeigten unklare Konzentrations-Wirkungsbeziehungen (Löslichkeit?). Die Mortalität war hier zum Teil höher als im Hauptversuch. Daher wird ein Wert zur Einstufung in Wassergefährdungsklassen von ca. 1000 mg/l empfohlen.

Empfohlener Wert zur Einstufung: LC_{50} (48 Std.): ca. 1000 mg/l

Für eine endgültige Kennzeichnung und die zu treffenden Vorsichtsmaßnahmen sind gegebenenfalls noch die Ergebnisse weiterer Untersuchungen, gesetzliche Bestimmungen sowie andere toxikologische Kenntnisse über das Produkt zu berücksichtigen

Einzelergebnisse siehe Anlage/n

Wir gehen davon aus, daß Sie weitere Interessenten bzw. Abnehmer von diesem Befund unterrichten.

Munk

0107 *08.01.88

Anlage/n

Confidential

JAN 04 1988

25

BASF AKTIENGESELLSCHAFT
DEPARTMENT OF TOXICOLOGY

REPORT ON THE STUDY OF THE ACUTE TOXICITY

NAME OF TEST SUBSTANCE: EISENCARBONYL

ANIMAL SPECIES: GOLDEN ORFE (LEUCISCUS IDUS L., GOLDEN VARIETY)

PROJECT NO.: 10F0350/875160

SPONSOR: BASF AKTIENGESELLSCHAFT

SUMMARY AND EVALUATION:

LC 50 (MG/L; NOMINAL CONCENTRATIONS) AFTER

1H	GREATER	2200	(MG/L)	(1% SIGNIFICANCE LEVEL)
4H	GREATER	2200	(MG/L)	(10% SIGNIFICANCE LEVEL)
24H	EQUALS	2130	(MG/L)	SLOPE FACTOR = 1.76
48H	EQUALS	1880	(MG/L)	SLOPE FACTOR = 4.07
72H	EQUALS	1640	(MG/L)	SLOPE FACTOR = 3.88
96H	EQUALS	991	(MG/L)	SLOPE FACTOR = 2.94

SYMPTOMS :
APATHY, TUMBLING

NO OBSERVABLE EFFECT CONCENTRATION: 100 MG/L

MAXIMUM CONCENTRATION CAUSING NO MORTALITY: 100 MG/L

MINIMUM CONCENTRATION CAUSING 100% MORTALITY: > 2150 MG/L

Kirsch Jan. 4, 1988
DR.MED.VET. P.KIRSCH

Munk, Dec. 28, 1987
DR.RER.NAT. R.MUNK
STUDY DIRECTOR

THIS REPORT IS THE PROPERTY OF BASF AKTIENGESELLSCHAFT AND MAY NOT BE COMMUNICATED TO THIRD PERSONS, REPRODUCED, OR PUBLISHED IN ANY FORM EXCEPT WITH THE PROPRIETOR'S EXPLICIT PERMISSION.

TEST SUBSTANCE:

TEST SUBSTANCE NO.: 87/350

NAME OF TEST SUBSTANCE: EISENCARBONYL

BATCH NO.: 2.6.87

DEGREE OF PURITY: > 99.5%

HOMOGENEITY: ENSURED SINCE THE TEST SUBSTANCE IS A GENUINE LIQUID

SOLUBILITY IN WATER: ABOUT 70 MG/L (CF. REMARKS P. 6)

CHARACTERIZATION: DETAILS ON THE CHARACTERIZATION ARE INCLUDED IN THE RAW DATA AND MAY BE REQUESTED FROM THE SPONSOR.

METHOD:

THE METHOD USED CLOSELY FOLLOWED THE GUIDELINE OF DIN 38 412 "TESTVERFAHREN MIT WASSERORGANISMEN (GRUPPE L). ALLGEMEINE HINWEISE ZUR PLANUNG, DURCHFUEHRUNG UND AUSWERTUNG BIOLOGISCHER TEST-VERFAHREN (L1)" UND "BESTIMMUNG DER WIRKUNG VON WASSERINHALTSSTOFFEN AUF FISCHE - FISCHTEST (L15)", JUNE 1982, USING A STATIC PROCEDURE.

PHOTOPERIOD: 16 HOURS LIGHT AND 8 HOURS DARKNESS

REASONS FOR THE SELECTION OF THE CONCENTRATIONS:
BASED ON THE RESULTS OF RANGE FINDING STUDIES
(LC 50 AFTER 96 H: BETWEEN 100 AND 1000 MG/L) AND TO BE SURE TO OBTAIN THE NOEC THE CONCENTRATIONS WERE FIXED AS FOLLOWS:
3.16, 10.0, 31.6, 100, 215, 464, 1000 AND 2150 MG/L.
THE CONCENTRATIONS EXCEEDED THE NORMAL UPPER LIMIT FOR ACUTE STUDIES IN FISH BECAUSE IT WAS THE AIM TO TEST HIGHER CONCENTRATION FOR CLASSIFICATION OF HAZARDS TO WATER (WASSERGEFAEHRDUNGSKLASSEN).

AERATION: SLIGHT

PREPARATION OF THE TEST SUBSTANCE: THE PRODUCT WAS ADDED TO THE TEST WATER WITHOUT ANY PRETREATMENT; SUBSEQUENTLY THE FISH WERE PLACED INTO THE AQUARIA.

RETENTION OF RECORDS:

THE RAW DATA AND THE ORIGINAL OF THE REPORT ARE STORED IN THE BASF AKTIENGESELLSCHAFT.

TEST ANIMALS:

ANIMAL SPECIES: GOLDEN ORFE (LEUCISCUS IDUS L., GOLDEN VARIETY)

CONSIGNMENT DATED: SEP. 29, 1987

SUPPLIER: FISCHZUCHT PAUL EGGERS
D-2354 HOHENWESTEDT, FRG

BREEDER: CF. SUPPLIER

BODY LENGTH: 5.3 CM (RANGE: 4.7 - 5.7)

BODY WEIGHT: 3.7 G (RANGE: 2.1 - 4.9)

CORPULENCE FACTOR OF THE BATCH*: 2.5 (DETERMINED OCT. 22, 1987)

POSITIVE CONTROL OF ANIMALS CONDUCTED WITH CHLOROACETAMIDE
LC 50 AFTER 48 H: ABOUT 26 MG/L (DETERMINED NOV. 2, 1987)

THIS LETHAL CONCENTRATION CORRESPONDS TO THE NORMAL SENSITIVITY.

HOUSING:
THE FISH WERE KEPT IN A FLOW-THROUGH TANK IN TAP WATER CLEANED BY ACTIVE CARBON AND AERATED WITH OIL-FREE AIR.
PHOTOPERIOD: 16 HOURS LIGHT AND 8 HOURS DARK

TOTAL HARDNESS	: ABOUT 2.5 MMOL/L
ACID CAPACITY	: ABOUT 5.5 MMOL/L
OXYGEN CONTENT	: > 60% OF MAXIMUM SATURATION
PH	: ABOUT 8.0

DURATION OF HOUSING AND ADAPTATION: ABOUT 4 WEEKS

WATER TEMPERATURE: 20 CENTIGRADE

MORTALITY DURING THE LAST 2 WEEKS OF HOUSING: 0%
MORTALITY DURING THE ADAPTATION PERIOD: 0%

MEDICAL TREATMENT: TWICE WITH 0.05 MG/L MALACHITE GREEN CHLORIDE
ONCE WITH 10 MG/L TETRACYCLINE HYDROCHLORIDE

DIET: GROWING FEED F/B 50
SSNIFF SPEZIALDIAETEN GMBH
D-4770 SOEST, FRG
AD LIBITUM

* THE CORPULENCE FACTOR K IS CALCULATED FROM THE WEIGHT W (G) AND THE LENGTH L (CM) MEASURED FROM THE TIP OF THE MOUTH TO THE END OF THE TAIL FIN ACCORDING TO THE FORMULA K=100*W/L**3.

TEST PROCEDURE:

THE STUDY WAS CARRIED OUT ACCORDING TO THE SPECIFIC STANDARD OPERATING PROCEDURES (SOP) OF THE LABORATORY OF FISH TOXICOLOGY.

TEST WATER: RECONSTITUTED FRESHWATER ACCORDING TO
DIN 38 412, PART 11, DRAFT SEPT. 1981
PREPARATION FROM FULLY DEMINERALIZED TAP WATER
CONDUCTIVITY: MAX. 10 MICRO MHO

THE RESALTING IS CARRIED OUT BY ADDITION OF

294.0 MG/L CACL2 . 2 H2O
123.3 MG/L MGSO4 . 7 H2O
64.8 MG/L NAHCO3
5.8 MG/L KCL

CONTINUOUS AERATION WITH OIL-FREE AIR

TEST WATER READY FOR USE:

TOTAL HARDNESS	: 2.5 MMOL/L
ACID CAPACITY	: 0.8 MMOL/L
RATIO CA/MG IONS	: 4 : 1
RATIO NA/K IONS	: 10 : 1
PH	: ABOUT 8.0

VOLUME OF WATER: 10 LITERS

NO. OF ANIMALS PER TEST CONCENTRATION: 10

LOADING (G FISH / L TEST WATER): 3.7

TEST VESSELS: ALL-GLASS AQUARIUM (30 CM X 22 CM X 24 CM)

TEST TEMPERATURE: 20 CENTIGRADE +-1

ADAPTATION TO TEST WATER AND TEST TEMPERATURE: 3 DAYS

TEST PERIOD: OCT. 26 - OCT. 30, 1987

WITHDRAWEL OF FOOD BEFORE EXPOSURE: 1 DAY

EXAMINATIONS:

DETERMINATION OF MORTALITY AND SYMPTOMS:

DETERMINATION OR CALCULATION OF THE MEDIAN LETHAL CONCENTRATION (LC 50) AND, IF POSSIBLE, THE LC 5 AND [illegible] USING THE PROBIT ANALYSIS* AFTER HOURS (NOMINAL CONC.): [illegible], 4, 24, 48, 72, 96

REMARKS: UNDISSOLVED TEST SUBSTANCE WAS VISIBLE ON THE BOTTOM OF THE AQUARIA INCREASING WITH [illegible] CONCENTRATION.

---

* FINNEY, D.J., PROBIT ANALYSIS, CAMBR[illegible] CERTAIN ASPECTS OF THIS METHOD HAVE [illegible] THE EXACT PROCEDURE CAN BE SEEN FROM THE STANDARD OPERATING PROCEDURES OF THE LABORATORY.

RESULTS :

NOMINAL CONC. (MG/L)	NUMBER OF FISH	DEAD FISH AFTER 1 H	4 H	24 H	48 H	72 H	96 H
3.16	10	0	0	0	0	0	0
10.00	10	0	0	0	0	0	0
31.60	10	0	0	0	0	0	0
100.00	10	0	0	0	0	0	0
215.00	10	0	0	0	1	1	1
464.00	10	0	0	0	2	2	3
1000.00	10	0	0	1	2	3	4
2150.00	10	0	2	5	6	6	8
0.00	10	0	0	0	0	0	0

NOMINAL CONC. (MG/L)	SYMPTOMS 1 H	4 H	24 H	48 H	72 H	96 H
3.16						
10.00						
31.60						
100.00						
215.00			T			
464.00						A
1000.00						
2150.00	T	T				
0.00						

EXPLANATION OF SYMPTOMS:

A=APATHY
B=ABDOMINAL DISTENSION
E=EXOPHTHALMOS
F=ESCAPE REFLEX
H=HYPERREFLEXIA
K=CONVULSIONS
L=GASPING
N=NARCOTIC-LIKE STATE
T=TUMBLING
U=RESTLESSNESS
V=DISCOLORATION
W=HEADSTAND
X=ACCELERATED RESPIRATION
Y=

RESULTS :

NOMINAL CONC. (MG/L)	PH BEGINNING	4 H	24 H	48 H	72 H	96 H
3.16	7.9		7.9	7.9	8.0	8.0
10.00	7.8		7.7	7.7	7.7	7.8
31.60	7.8		7.7	7.8	7.8	7.8
100.00	7.8		7.8	7.9	7.9	8.0
215.00	7.8		7.8	7.9	7.9	8.0
464.00	7.8		7.8	7.9	7.9	8.0
1000.00	7.8		7.8	7.9	7.9	7.9
2150.00	7.8		7.9	8.0	8.0	8.1
0.00	8.0		8.0	8.0	8.0	8.1

NOMINAL CONC. (MG/L)	OXYGEN CONTENT (MG/L) BEGINNING	4 H	24 H	48 H	72 H	96 H
3.16	8.6		8.6	8.7	8.5	8.5
10.00	8.3		7.8	7.8	8.0	7.9
31.60	8.3		8.1	8.2	8.1	8.1
100.00	8.4		8.5	8.5	8.4	8.4
215.00	8.5		8.7	8.4	8.5	8.4
464.00	8.5		8.6	8.6	8.4	8.6
1000.00	8.4		8.3	8.2	8.2	8.7
2150.00	8.6		8.9	8.9	8.5	8.6
0.00	8.7		8.7	8.8	8.5	8.6

RESULTS :

NOMINAL CONC. (MG/L)	TEMPERATURE (CENTIGRADE) BEGINNING	4 H	24 H	48 H	72 H	96 H
3.16	19		19	20	20	20
10.00	19		19	20	20	20
31.60	19		20	20	20	20
100.00	19		20	20	20	20
215.00	20		20	20	20	20
464.00	19		20	20	20	20
1000.00	19		20	20	20	20
2150.00	20		20	20	20	20
0.00	19		19	20	20	20

STATISTICAL EVALUATION

NOMINAL CONCENTRATION

FISH TOXICITY AFTER	1 H	PAGE 11
	4 H	PAGE 12
	24 H	PAGE 13
	48 H	PAGE 14
	72 H	PAGE 15
	96 H	PAGE 16

NOMINAL CONCENTRATIONS

FISH TOXICITY : AFTER 1H

CONCEN-TRATION (MG/L)	NUMBER OF FISH START	AFTER	DEAD FISH 1H	MOR-TALITY (%)	CONCEN-TRATION USED
3.16	10		0	0.0	
10.00	10		0	0.0	
31.60	10		0	0.0	
100.00	10		0	0.0	
215.00	10		0	0.0	
464.00	10		0	0.0	
1000.00	10		0	0.0	
2150.00	10		0	0.0	*

LC50 > 2150.00 (1% SIGNIFICANCE LEVEL)

NOMINAL CONCENTRATIONS

FISH TOXICITY : AFTER 4H

CONCEN-TRATION (MG/L)	NUMBER OF FISH START	AFTER	DEAD FISH 4H	MOR-TALITY (%)	CONCEN-TRATION USED
3.16	10		0	0.0	
10.00	10		0	0.0	
31.60	10		0	0.0	
100.00	10		0	0.0	
215.00	10		0	0.0	
464.00	10		0	0.0	
1000.00	10		0	0.0	
2150.00	10		2	20.0	*

LC50 > 2150.00 -(10% SIGNIFICANCE LEVEL)

NOMINAL CONCENTRATIONS

FISH TOXICITY : AFTER 24H

CONCEN-TRATION (MG/L)	NUMBER OF FISH START	AFTER	DEAD FISH 24H	MOR-TALITY (%)	CONCEN-TRATION USED
3.16	10		0	0.0	
10.00	10		0	0.0	
31.60	10		0	0.0	
100.00	10		0	0.0	
215.00	10		0	0.0	
464.00	10		0	0.0	*
1000.00	10		1	10.0	*
2150.00	10		5	50.0	*

MODEL OF THE DOSE RESPONSE RELATIONSHIP

F(P) = A + B * LN(K)

SYMBOLS :

K = CONCENTRATION

P = RELATIVE FREQUENCY OF DEAD ANIMALS AFTER EXPOSURE WITH K

F = INVERSE FUNCTION OF THE CUMULATIVE STANDARD NORMAL DISTRIBUTION

LN = NATURAL LOGARITHM

A,B = MODEL PARAMETERS

RESULT

A = -13.61 STAND. ERROR A = 5.66
B = 1.78 STAND. ERROR B = 0.77

A CHANGE IN CONCENTRATION BY SLOPE FACTOR = 1.76
RESULTS IN A CHANGE IN EFFECT OF 1 PROBIT

DEGREES OF FREEDOM = 1

TESTING FOR HOMOGENEITY

CHI**2 VALUE = 0.05
DEGREES OF FREEDOM = 1
CHI**2 PROBABILITY = 17.51%
HOMOGENEITY = YES

	CONCENTRATION	CONFIDENCE LIMITS 95% LOWER	UPPER
LC50	2130.49	1492.91	11669.34
LC 5	843.52	28.39	1261.97
LC95	5380.98		

NOMINAL CONCENTRATIONS

FISH TOXICITY : AFTER 48H

CONCEN-TRATION (MG/L)	NUMBER OF FISH START		DEAD FISH 48H	MOR-TALITY (%)	CONCEN-TRATION USED
3.16	10	AFTER	0	0.0	
10.00	10		0	0.0	
31.60	10		0	0.0	
100.00	10		0	0.0	*
215.00	10		1	10.0	*
464.00	10		2	20.0	*
1000.00	10		2	20.0	*
2150.00	10		6	60.0	*

MODEL OF THE DOSE RESPONSE RELATIONSHIP

F(P) = A + B * LN(K)

SYMBOLS :

K = CONCENTRATION

P = RELATIVE FREQUENCY OF DEAD ANIMALS AFTER EXPOSURE WITH K

F = INVERSE FUNCTION OF THE CUMULATIVE STANDARD NORMAL DISTRIBUTION

LN = NATURAL LOGARITHM

A,B = MODEL PARAMETERS

RESULT

A = -5.37 STAND. ERROR A = 1.64

B = 0.71 STAND. ERROR B = 0.24

A CHANGE IN CONCENTRATION BY SLOPE FACTOR = 4.07
RESULTS IN A CHANGE IN EFFECT OF 1 PROBIT

DEGREES OF FREEDOM = 3

TESTING FOR HOMOGENEITY

CHI**2 VALUE = 1.45
DEGREES OF FREEDOM = 3
CHI**2 PROBABILITY = 30.65%
HOMOGENEITY = ACCEPTABLE

	CONCENTRATION	CONFIDENCE LIMITS 95% LOWER	UPPER
LC50	1879.67	998.93	14410.13
LC 5	186.45	8.35	397.88
LC95	18949.81		

NOMINAL CONCENTRATIONS

FISH TOXICITY : AFTER 72H

CONCEN-TRATION (MG/L)	NUMBER OF FISH START	AFTER	DEAD FISH 72H	MOR-TALITY (%)	CONCEN-TRATION USED
3.16	10		0	0.0	
10.00	10		0	0.0	
31.60	10		0	0.0	
100.00	10		0	0.0	*
215.00	10		1	10.0	*
464.00	10		2	20.0	*
1000.00	10		3	30.0	*
2150.00	10		6	60.0	*

MODEL OF THE DOSE RESPONSE RELATIONSHIP F(P) = A + B * LN(K)

SYMBOLS :
- K = CONCENTRATION
- P = RELATIVE FREQUENCY OF DEAD ANIMALS AFTER EXPOSURE WITH K
- F = INVERSE FUNCTION OF THE CUMULATIVE STANDARD NORMAL DISTRIBUTION
- LN = NATURAL LOGARITHM
- A,B = MODEL PARAMETERS

RESULT A = -5.46 STAND. ERROR A = 1.61
B = 0.74 STAND. ERROR B = 0.24

A CHANGE IN CONCENTRATION BY SLOPE FACTOR = 3.88
RESULTS IN A CHANGE IN EFFECT OF 1 PROBIT
DEGREES OF FREEDOM = 3

TESTING FOR HOMOGENEITY
CHI**2 VALUE = 0.57
DEGREES OF FREEDOM = 3
CHI**2 PROBABILITY = 9.77%
HOMOGENEITY = YES

	CONCENTRATION	CONFIDENCE LIMITS 95% LOWER	UPPER
LC50	1637.24	905.52	8292.06
LC 5	175.80	11.50	369.48
LC95	15247.86		

NOMINAL CONCENTRATIONS

FISH TOXICITY : AFTER 96H

CONCEN-TRATION (MG/L)	NUMBER OF FISH START	AFTER	DEAD FISH 96H	MOR-TALITY (%)	CONCEN-TRATION USED
3.16	10		0	0.0	
10.00	10		0	0.0	
31.60	10		0	0.0	
100.00	10		0	0.0	*
215.00	10		1	10.0	*
464.00	10		3	30.0	*
1000.00	10		4	40.0	*
2150.00	10		8	80.0	*

MODEL OF THE DOSE RESPONSE RELATIONSHIP F(P) = A + B * LN(K)

SYMBOLS :

K = CONCENTRATION
P = RELATIVE FREQUENCY OF DEAD ANIMALS AFTER EXPOSURE WITH K
F = INVERSE FUNCTION OF THE CUMULATIVE STANDARD NORMAL DISTRIBUTION
LN = NATURAL LOGARITHM
A,B = MODEL PARAMETERS

RESULT A = -6.40 STAND. ERROR A = 1.66
B = 0.93 STAND. ERROR B = 0.25

A CHANGE IN CONCENTRATION BY SLOPE FACTOR = 2.94
RESULTS IN A CHANGE IN EFFECT OF 1 PROBIT
DEGREES OF FREEDOM = 3

TESTING FOR HOMOGENEITY
CHI**2 VALUE = 0.93
DEGREES OF FREEDOM = 3
CHI**2 PROBABILITY = 18.12%
HOMOGENEITY = YES

	CONCENTRATION	CONFIDENCE LIMITS 95% LOWER	UPPER
LC50	991.23	620.92	2018.98
LC 5	168.04	30.36	315.25
LC95	5847.12		

Eisencarbonyl

Vertraulich

BASF
Abteilung Toxikologie
Department of Toxicology

41

KURZFASSUNG NICHT ZUR WEITERGABE
AN EXTERNE STELLEN

RCA - C 400 über
RC - M 300

05. JAN. 1989

ZST - Z 470/db; 987-1
Herr Dr. Engelhardt
Tel. 5 67 62

Ames-Test (Standard plate test and preincubation test with Salmonella typhimurium)
(englisch)

Substanz-Nr.: 88/473

Substanzname: Eisenpentacarbonyl

Kurzfassung
Nach den vorliegenden Untersuchungsergebnissen wirkt die Substanz Eisenpentacarbonyl unter den gewählten Versuchsbedingungen im Ames-Test nicht mutagen.

Einzelergebnisse siehe Anlage/n

Wir gehen davon aus, daß Sie weitere Interessenten bzw. Abnehmer von diesem Befund unterrichten.

Engelhardt

Anlage/n

0131 *12.01.89

Confidential

BASF
Abteilung Toxikologie
Department of Toxicology

6700 Ludwigshafen
West Germany

42

en-db/973 JAN 05 1989

REPORT

on the Study of

Eisenpentacarbonyl

(ZST Test Substance No.: 88/473)

in the

AMES TEST

(Standard Plate Test and Preincubation Test
with Salmonella typhimurium)

Project No. 40M0473/884270

Testing facility: BASF Aktiengesellschaft
Department of Toxicology, Z 470
6700 Ludwigshafen/Rhein, FRG

Head of Department
of Toxicology: Prof. Dr.med. Dr.rer.nat. H.-P. Gelbke

This report consists of 14 pages and 8 tables.

Dieses Dokument enthält Betriebs- und Geschäftsgeheimnisse der BASF. Es ist Eigentum der BASF und darf nur zu dem von BASF vorgesehenen Zweck verwendet werden. Jede andere oder darüber hinausgehende Verwendung, Verwertung, Weitergabe, Vervielfältigung oder Veröffentlichung bedarf der Einwilligung der BASF.

This document contains manufacturing and trade secrets of BASF. It is the property of BASF and may be used only for that purpose for which it was intended by BASF. Every other or additional use, exploitation, reproduction, publication or submission to other parties require the written permission of BASF.

BASF
Abteilung Toxikologie
Department of Toxicology

CONTENTS

		Page
1.	SUMMARY	1
2.	INTRODUCTION	2
3.	MATERIAL AND METHOD	3
3.1.	Test substance	3
3.2.	Tissue preparation	4
3.2.1.	S-9 fraction	4
3.2.2.	S-9 mix	5
3.3.	Bacteria	5
3.4.	Mutagenicity tests	7
3.4.1.	Standard plate test	7
3.4.2.	Preincubation test	7
3.5.	Titer determination	8
3.6.	Checking out the tester strains	9
3.7.	Controls	10
3.7.1.	Negative control	10
3.7.2.	Positive controls	10
3.8.	Evaluation criteria	11
3.9.	Tester strains, doses, number of plates	11
3.10.	Retention of records	11
4.	RESULTS	12
4.1.	Mutagenicity tests	12
4.1.1.	Standard plate test	12
4.1.1.1.	Tests without S-9 mix	12
4.1.1.2.	Tests with S-9 mix	12
4.1.2.	Preincubation test	13
4.1.2.1.	Tests without S-9 mix	13
4.1.2.2.	Tests with S-9 mix	13
4.2.	Toxicity	13
4.3.	Solubility	13
5.	LITERATURE	14
	Annex: Tables 1 to 8	

BASF
Abteilung Toxikologie
Department of Toxicology

1. SUMMARY

The substance Eisenpentacarbonyl was tested for mutagenicity in the Ames test.

Strains:	TA 1535, TA 100, TA 1537, TA 98
Dose range:	20 µg - 5000 µg/plate
Test conditions:	Standard plate test and preincubation test both with and without metabolic activation (S-9 mix).
Solubility:	Complete solubility of the test substance in DMSO.
Toxicity:	No bacteriotoxic effect was observed.

Mutagenicity:

An increase in the number of his^+ revertants was not observed both in the standard plate test and in the preincubation test either without S-9 mix or after the addition of a metabolizing system.

Assessment:

According to the results of the present study, the test substance Eisenpentacarbonyl is not mutagenic in the Ames test under the experimental conditions chosen here.

Dec. 28. 1988
Dr.rer.nat. H.D. Hoffmann
(Head of Section)

Dec. 20, 1988
Dr.rer.nat. G. Engelhardt
(Study director)

2. *INTRODUCTION*

The Ames test is a short-term test in bacteria (1, 2) and is used as a screening method for detecting a point mutagenic effect of chemical substances.

Since most of the substances are not mutagenic or carcinogenic themselves, but only after metabolic transformation, and since the main part of all metabolic processes is catalyzed by the enzyme systems of the liver, the Ames test is carried out not only directly, but also in the presence of a metabolizing system obtained from rat livers. For this purpose, rats are pretreated with Aroclor 1254 for an activation of the enzymes which metabolize foreign substances.

The test is carried out in accordance with the 'OECD guideline for testing of chemicals "Genetic Toxicology: Salmonella typhimurium, Reverse Mutation Assay", No. 471'.

3. MATERIAL AND METHOD

3.1. Test substance:

Name of test substance:	Eisenpentacarbonyl
Test substance No.:	88/473
Degree of purity:	> 99.5%
Appearance, consistency:	Yellow-red liquid
Storage:	+4°C to +6°C

More detailed information about the test substance can be found in the raw data and may be requested from the sponsor (RCA; BASF Aktiengesellschaft).

3.2. Tissue preparation

3.2.1. S-9 fraction

The S-9 fraction is prepared according to Ames et al. (2).

5 male Sprague-Dawley rats (200 - 300 g) receive a single intraperitoneal injection of 500 mg Aroclor 1254 (as a 20% solution in peanut oil - w/v) per kg body weight 5 days before sacrifice.

During this time the animals are housed in Makrolon cages in air-conditioned rooms. The day/night rhythm is 12 hours (light period from 6.00 - 18.00 hours and dark period from 18.00 - 6.00 hours).

Standardized pelleted feed and tap water from bottles are available ad libitum.

5 days after administration the rats are sacrificed, and the livers are prepared (all preparation steps for obtaining the liver microsome enzymes are carried out using sterile solvents and glassware at a temperature of +4°C). The livers are weighed and washed in an equivalent volume of a 150 mM KCl solution (1 ml ≙ 1 g wet liver), then cut into small pieces and homogenized in three volumes of KCl solution. After centrifugation of the homogenate at 9000 x g for 10 minutes at +4°C, 5 ml portions of the supernatant (so-called S-9 fraction) are quickly deep-frozen in dry ice and stored at -70°C to -80°C for 2 months at the most.

Preparation of S-9 fraction: October 25, 1988 (1st experiment) and November 11, 1988 (2nd experiment).

3.2.2. S-9 mix

The S-9 mix is prepared freshly prior to each experiment (1, 2). For this purpose, a sufficient amount of S-9 fraction is thawed at room temperature and 3 volumes of S-9 fraction are mixed with 7 volumes of S-9 supplement (cofactors). This preparation, the so-called S-9 mix, is kept on ice until used. The concentrations of the co-factors in the S-9 mix are:

$MgCl_2$	8 mM
KCl	33 mM
glucose-6-phosphate	5 mM
NADP	4 mM
phosphate buffer (pH 7.4)	100 mM.

The phosphate buffer is prepared by mixing an Na_2HPO_4 solution with an NaH_2PO_4 solution in a ratio of about 4 : 1.

3.3. Bacteria

The rate of induced back mutations of several bacteria mutants from histidine auxotrophy to histidine prototrophy is determined (2, 3, 4). The indicator organisms TA 1535, TA 1537, TA 98 and TA 100 selected by Ames especially for this purpose are derivatives of Salmonella typhimurium. All strains have a defective excision repair system (uvrB), which prevents the repair of lesions which are induced in the DNA, and this deficiency results in greatly enhanced sensitivity of some mutagens. Furthermore, all strains show a considerably reduced hydrophilic polysaccharide layer (rfa), which leads to an increase in permeability to lipophilic substances.

The strains TA 1535 and TA 100 are d[illegible]histidine-prototrophic Salmonella strains by the substitution mutation his G 46 and are used to detect base pair substitutions. TA 1537 and TA 98 are strains for the detection of frameshift mutagens. These strains carry different frameshift markers, i.e. the +1 mutant his C 3076 in the case of TA 1537 and the +2 type his D 3052 in the case of TA 98.

The strains TA 98 and TA 100 carry an R factor plasmid pKM 101 (4) and, in addition to havi[illegible] antibiotics, they have a modified po[illegible] pair system, which increases the mutation rate by inducing a defective repair in the DNA; this again leads to a considerable increase in sensitivi[illegible].

For testing, deep-frozen (-70°C to -[illegible] tures (1 ml in 15 ml glass tubes) ar[illegible] perature, 0.1 ml of this bacterial s[illegible] lated in nutrient broth solution (8 g Difco nutrient broth + 5 g NaCl/liter) and incubated [illegible] water bath at 37°C for 16 hours. As a rule, a germ density of $\geq 10^8$ bacteria/ml is reached. These cultures grown overnight are kept in iced water from the beginning of the experiment until the end in order to prevent further growth.

3.4. Mutagenicity tests

3.4.1. Standard plate test

The experimental procedure is based on the method of Ames et al. (1, 2).

Test tubes containing 2 ml portions of soft agar which consists of 100 ml agar (0.6% agar + 0.6% NaCl) and 10 ml amino acid solution (minimal amino acid solution for the determination of mutants: 0.5 mM histidine + 0.5 mM biotin) are kept in a water bath at 45°C, and the remaining components are added in the following order:

0.1 ml test solution
0.1 ml bacterial suspension
0.5 ml S-9 mix (in tests with metabolic activation)
or
0.5 ml phosphate buffer (in tests without metabolic activation)

After mixing, the samples are poured onto Vogel-Bonner agar plates (minimal glucose agar plates) within approx. 30 seconds.

3.4.2. Preincubation test

The experimental procedure is based on the method described by Yahagi et al. (5) and Matsushima et al. (6).

0.1 ml test solution, 0.1 ml bacterial suspension and 0.5 ml S-9 mix are incubated at 37°C for the duration of 20 minutes. Subsequently, 2 ml of soft agar is added and, after mixing, the samples are poured onto the Vogel-Bonner agar plates within approx. 30 seconds.

Composition of the minimal glucose agar:

980 ml aqua dest.
20 ml Vogel-Bonner E medium
15 g Difco bacto agar
20 g D-glucose, monohydrate.

After incubation at 37°C for 48 hours in the dark, the bacterial colonies (his^+ revertants) are counted.

3.5. Titer determination

In general, the titer is determined only in the experiments with S-9 mix both without test substance (solvent only) and after adding the two highest amounts of substance. For this purpose, 0.1 ml of the overnight cultures (see 3.3.) is diluted to 10^{-6} in each case. Test tubes containing 2 ml portions of soft agar containing maximal amino acid solution (5 mM histidine + 0.5 mM biotin) are kept in a water bath at 45°C, and the remaining components are added in the following order:

0.1 ml solvent (without and with test substance)
0.1 ml bacterial suspension (dilution: 10^{-6})
0.5 ml S-9 mix

After mixing, the samples are poured onto the Vogel-Bonner agar plates within approx. 30 seconds. After incubation at 37° for 48 hours in the dark, the bacterial colonies are counted.

3.6. Checking out the tester strains

The Salmonella strains are checked for the following characteristics at regular intervals: deep rough character (rfa); UV sensitivity (Δ uvrB); ampicillin resistance (R factor plasmid).

Histidine auxotrophy is automatically checked in each experiment via the spontaneous rate.

3.7. Controls

3.7.1. Negative control

Parallel with each experiment with and without S-9 mix a negative control (solvent control, sterility control) is carried out for each tester strain in order to determine the spontaneous mutation rate.

3.7.2. Positive controls

The following positive control substances are used to check the mutability of the bacteria and the activity of the S-9 mix:

with S-9 mix	10 µg 2-aminoanthracene (dissolved in DMSO) for the strains TA 100, TA 98, TA 1537 and TA 1535
without S-9 mix	5 µg N-methyl-N'-nitro-N-nitroso-guanidine (MNNG) (dissolved in DMSO) for the strains TA 100 and TA 1535
	10 µg 4-nitro-o-phenylendiamine (dissolved in DMSO) for the strain TA 98
	100 µg 9-aminoacridine chloride monohydrate (dissolved in DMSO) for the strain TA 1537.

3.8. Evaluation criteria

In general, a substance to be characterized as positive in the Ames test has to fulfill the following requirements:

- doubling of the spontaneous mutation rate (control)
- dose-response relationship
- reproducibility of the results.

3.9. Tester strains, doses, number of plates

1st Experiment:

Strains:	TA 1535, TA 100, TA 1537, TA 98
Doses:	0, 20, 100, 500, 2500 and 5000 µg/plate
Solvent:	DMSO
Type of test, test condition:	standard plate test with and without S-9 mix
Number of plates:	3 test plates per dose or per control

2nd Experiment:

Strains:	TA 1535, TA 100, TA 1537, TA 98
Doses:	0, 20, 100, 500, 2500 and 5000 µg/plate
Solvent:	DMSO
Type of test, test condition:	preincubation test with and without S-9 mix
Number of plates:	3 test plates per dose or per control

3.10. Retention of records

The raw data, protocol and the original of this report will be stored at BASF Aktiengesellschaft.

4. *RESULTS* (Tables 1 - 8)

The substance Eisenpentacarbonyl was tested for mutagenicity in the Ames test (standard plate test and preincubation test) both in the presence and in the absence of a metabolizing system obtained from rat liver (S-9 mix) using the strains TA 1535, TA 100, TA 1537 and TA 98.

4.1. Mutagenicity tests

4.1.1. Standard plate test (Tables 1 - 4)

4.1.1.1. Tests without S-9 mix

TA 1535:	
TA 100:	No increase in the number
TA 1537:	of his$^+$ revertants
TA 98:	

4.1.1.2. Tests with S-9 mix

TA 1535:	
TA 100:	No increase in the number
TA 1537:	of his$^+$ revertants
TA 98:	

4.1.2. Preincubation test
(Tables 5 - 8)

4.1.2.1. Tests without S-9 mix

TA 1535:
TA 100: No increase in the number
TA 1537: of his$^+$ revertants
TA 98:

4.1.2.2. Tests with S-9 mix

TA 1535:
TA 100: No increase in the number
TA 1537: of his$^+$ revertants
TA 98:

4.2. Toxicity

No bacteriotoxic effect (reduc[illegible] growth) was observed.

4.3. Solubility

Complete solubility of the test substance in DMSO

5. LITERATURE

1. Ames, B.N.; Durston, W.W.; Yamasaki, E.; Lee, F.D.:

Carcinogens are mutagens: A simple test system combining liver homogenates for activation and bacteria for detection.

Proc. Nat. Acad. Sci. USA, 70, 2281 - 2285 (1973)

2. Ames, B.N.; McCann, J.; Yamasaki, E.:

Methods for detecting carcinogens and mutagens with the Salmonella/mammalian-microsome mutagenicity test.

Mut. Res., 31, 347 - 364 (1975)

3. Ames, B.N.; Lee, F.D.; Durston, W.E.:

An improved bacterial test system for the detection and classification of mutagens and carcinogens.

Proc. Nat. Acad. Sci. USA, 70, 782 - 786 (1973)

4. McCann, J.; Spingarn, N.E.; Kobori, J.; Ames, B.N.:

Detection of carcinogens as mutagens: Bacterial tester strains with R factor plasmids.

Proc. Nat. Acad. Sci. USA, 72, 979 - 983 (1975)

5. Yahagi, T.; Nagao, M.; Seino, Y.; Matsushima, T.; Sugimura, T.; Okada, M.:

Mutagenicities of N-nitrosoamines in Salmonella.

Mut. Res., 48, 121 - 130 (1977)

6. Matsushima, T.; Sugimura, T.; Nagao, M.; Yahagi, T.; Shirai, A.:

Factors modulating mutagenicity in microbial tests.

In: Norpoth, K.H. and R.C. Garner, Short-Term Test Systems for Detecting Carcinogens.
Springer Verlag Berlin, Heidelberg, New York (1980).

3. A. S. F. A. G. TABLE : 1 STUDY NUMBER: 88427
DEPARTMENT OF TOXICOLOGY STUDY DIREC. : EN
OPERATOR : SCH
AMES TEST WITH : 88/473 DATE : 27. 11.
METHOD : STANDARD PLATE TEST STRAIN: TA1535

DOSE MCG/PL	REVERTANTS / PLATE -S9	M	SD	+S9*	M	SD	TITER DIL. EXP-6	QUOTIENT -S9	+S9*
NEGATIVE CONTROL DMSO	13 16 13	14	2	- 19 21	20	1	41 41 30	1.0	1.0
20	12 15 13	13	2	17 18 17	17	1		1.0	0.9
100	18 11 13	14	4	13 17 17	16	2		1.0	0.8
500	13 16 12	14	2	17 13 15	15	2		1.0	0.8
2500	13 14 12	13	1	11 15 12	13	2	30 23 33	0.9	0.6
5000	- 15 14	15	1	8 14 15	12	4	32 36 33	1.0	0.6
POSITIVE CONTROL 2-AA 10				342 268 293	301	38			15.
POSITIVE CONTROL MNNG 5	1780 1540 1490	1603	155					114.5	

* : S-9 FRACTION/COFACTORS = 3:7 EXP :EXP. TO 10
-: CONTAMINATION

B. A. S. F. A. G.
DEPARTMENT OF TOXICOLOGY

TABLE : 2

STUDY NUMBER
STUDY DIREC.
OPERATOR
DATE :

AMES TEST WITH : 88/473
METHOD : STANDARD PLATE TEST

STRAIN: TA100

DOSE MCG/PL	REVERTANTS / PLATE -S9	M	SD	+S9*	M	SD	TITER DIL. EXP-6	QUOTIENT -S9	+S9*
NEGATIVE CONTROL DMSO	107 110 105	107	3	122 114 121	119	4	43 22 15	1.0	[illegible]
20	107 113 98	106	8	136 125 107	123	15		[illegible]	[illegible]
100	101 123 111	112	11	131 99 128	119	18		1.0	
500	116 105 112	111	6	132 140 118	130	11		1.0	
2500	107 116 129	117	11	118 137 139	131	12	11 18 17	[illegible]	
5000	121 114 122	119	4	156 167 145	156	11	19 19 21	[illegible]	[illegible]
POSITIVE CONTROL 2-AA 10				1420 1450 1300	1390	79			
POSITIVE CONTROL MNNG 5	2100 2100 2150	2117	29					19.7	

* : S-9 FRACTION/COFACTORS = 3:7 EXP :EXP. TO 10

B. A.S.F. A.G. TABLE : 3 STUDY NUMBER :
DEPARTMENT OF TOXICOLOGY STUDY DIREC. :
OPERATOR :
AMES TEST WITH : 88/473 DATE :
METHOD : STANDARD PLATE TEST STRAIN: TA1537

DOSE MCG/PL	REVERTANTS / PLATE -S9	M	SD	+S9*	M	SD	TITER DIL. EXP-6	QUOTIENT -S9	+S9*
NEGATIVE CONTROL DMSO	11 14 14	13	2	13 12 10	12	2	39 21 17	1.0	1.0
20	12 14 11	12	2	14 13 13	13	1		0.9	[illegible]
100	11 13 10	11	2	10 11 11	11	1		0.9	0.9
500	9 9 8	9	1	10 9 10	10	1		0.7	0.8
2500	11 13 10	11	2	15 14 13	14	1	17 40 24	0.9	[illegible]
5000	15 10 10	12	3	13 12 12	12	1	33 23 26	0.9	[illegible]
POSITIVE CONTROL 2-AA 10				104 110 117	110	7			9.
POSITIVE CONTROL AAC 100	746 815 744	768	40					59.1	

* : S-9 FRACTION/COFACTORS = 3:7 EXP : EXP. TO 10

B. A. S. F. A. G. : TABLE : 4
DEPARTMENT OF TOXICOLOGY

STUDY NUMBER : 88427
STUDY DIREC. : EN
OPERATOR : SCH
DATE : 07. 11. 8

AMES TEST WITH : 88/473
METHOD : STANDARD PLATE TEST STRAIN: TA98

DOSE MCG/PL	REVERTANTS / PLATE -S9	M	SD	+S9*	M	SD	TITER DIL. EXP-6	QUOTIENT -S9	+S9*
NEGATIVE CONTROL DMSO	22 21 24	22	2	31 35 29	32	3	22 19 16	1.0	1.0
20	20 26 14	20	6	34 34 31	33	2		0.9	1.0
100	27 24 23	25	2	35 30 24	30	6		1.1	0.9
500	18 30 23	24	6	32 32 31	32	1		1.1	1.0
2500	25 23 18	22	4	28 22 28	26	3	18 18 19	1.0	0.8
5000	29 21 24	25	4	31 30 34	32	2	26 28 29	1.1	1.0
POSITIVE CONTROL 2-AA 10				831 804 868	834	32			26.1
POSITIVE CONTROL NPD 10	851 912 893	885	31					39.6	

* : S-9 FRACTION/COFACTORS = 3:7 EXP : EXP. TO 10

:. A. S. F. A. G. TABLE : 5 STUDY NUMBER: [illegible]
:EPARTMENT OF TOXICOLOGY STUDY DIREC.: [illegible]
OPERATOR : [illegible]
:MES TEST WITH : 88/473 DATE : [illegible]
:ETHOD : PREINCUBATION TEST STRAIN: TA 1535

DOSE MCG/PL	REVERTANTS / PLATE -S9	M	SD	+S9*	M	SD	TITER DIL. EXP-6	QUOTIENT -S9	+S9*
:EGATIVE	23	20	3	11	15	4	80	1.0	1.
:ONTROL	18			15			86		
:MSO	19			18			71		
20	21	22	1	15	17	2		1.1	1.
	22			18					
	23			17					
100	17	17	1	16	18	2		0.9	1.
	17			19					
	18			18					
500	16	15	3	12	15	3		0.8	
	12			17					
	17			17					
2500	9	18	8	13	16	3	42	0.9	
	25			16			61		
	21			18			57		
5000	20	22	3	15	15	3	43	1.1	
	22			18			52		
	25			12			54		
:OSITIVE				206	210	14		[illegible]	14.
:ONTROL				198					
:-AA				225					
10									
:OSITIVE	1390	1457	59					72.8	
:ONTROL	1500								
:NNG	1480								
5									

* : S-9 FRACTION/COFACTORS = 3:7 EXP :EXP. TO 10

3. A. S. F. A. G. TABLE : 6 STUDY NUMBER: 8[illegible]427
DEPARTMENT OF TOXICOLOGY STUDY DIREC. : EN
OPERATOR : [illegible]
AMES TEST WITH : 88/473 DATE : 23. 1[illegible]
METHOD : PREINCUBATION TEST STRAIN: TA 100

DOSE MCG/PL	REVERTANTS / PLATE -S9	M	SD	+S9*	M	SD	TITER DIL. EXP-6	QUOTIENT -S9	+S9*
NEGATIVE CONTROL DMSO	114 100 106	107	7	112 116 120	116	4	27 33 41	1.0	1
20	106 133 132	124	15	108 118 121	116	7		1.2	1
100	124 107 121	117	9	116 107 116	113	5		1.1	
500	107 107 105	106	1	105 108 98	104	5		1.0	
2500	116 129 95	113	17	106 126 135	122	15	24 26 31	1.1	
5000	120 134 125	126	7	113 143 153	136	21	19 22 18	1.2	
POSITIVE CONTROL 2-AA 10				1300 1270 1290	1287	15			1
POSITIVE CONTROL 4NNG 5	1600 1560 1470	1543	67					14.5	

* : S-9 FRACTION/COFACTORS = 3:7 EXP :EXP. TO 10

B. A. S. F. A. G. TABLE 7 STUDY NUMBER: 8427
DEPARTMENT OF TOXICOLOGY STUDY DIREC.: EN
OPERATOR : CH
AMES TEST WITH : 88/473 DATE : 25.11.8
METHOD : PREINCUBATION TEST STRAIN: TA1537

DOSE MCG/PL	REVERTANTS / PLATE -S9	M	SD	+S9*	M	SD	TITER DIL. EXP-6	QUOTIENT -S9	+S9*
NEGATIVE CONTROL DMSO	9	9	1	10	9	1	9	1.0	1.0
	9			8			4		
	10			8			10		
20	7	8	1	8	8	2		0.9	1.0
	9			10					
	8			7					
100	8	7	1	9	10	2		0.8	1.2
	8			9					
	6			12					
500	8	8	1	8	8	1		0.9	0.9
	8			8					
	9			7					
2500	9	9	2	9	9	4	7	1.0	1.1
	7			13			8		
	11			6			12		
5000	10	8	2	11	10	1	7	0.9	1.1
	8			9			6		
	7			9			8		
POSITIVE CONTROL 2-AA 10				109	114	6			13.1
				121					
				113					
POSITIVE CONTROL NAC 100	1070	1097	74					117.5	
	1040								
	1180								

* : S-9 FRACTION/COFACTORS = 3:7 EXP :EXP. TO 10

: A. S. F. A. G. TABLE : 8 STUDY NUMBER: 884270
EPARTMENT OF TOXICOLOGY STUDY DIREC. : ENC
OPERATOR : SCHW
MES TEST WITH : 88/473 DATE : 25. 11. 88
ETHOD : PREINCUBATION TEST STRAIN: TA98

DOSE MCG/PL	REVERTANTS / PLATE -S9	M	SD	+S9*	M	SD	TITER DIL. EXP-6	QUOTIENT -S9	+S9*
NEGATIVE CONTROL DMSO	25 24 23	24	1	40 35 44	40	5	6 13 10	1.0	1.0
20	19 22 22	21	2	33 34 31	33	2		0.9	0.8
100	19 21 20	20	1	29 41 37	36	6		0.8	0.9
500	22 21 24	22	2	37 29 34	33	4		0.9	0.8
2500	29 21 26	25	4	43 44 41	43	2	8 7 8	1.1	1.1
5000	20 20 17	19	2	37 43 37	39	3	5 6 5	0.8	1.0
POSITIVE CONTROL 2-AA 10				1070 927 944	980	78			24.
POSITIVE CONTROL NPD 10	664 695 629	663	33					27.6	

* : S-9 FRACTION/COFACTORS = 3:7 EXP :EXP. TO 10

Vertraulich Eisencarbonyl 66

KURZFASSUNG NICHT ZUR WEITERGABE AN EXTERNE STELLEN

BASF
Abteilung Toxikologie
Department of Toxicology

RCA - C 400 über
RC - M 300

20. JAN. 1989
ZST - Z 470/ro; 1389-74
Herr Dr. Kirsch
Tel. 5 61 09

Prüfung der akuten Reizwirkung am Auge weißer Kaninchen in Anlehnung an OECD
(englisch)

Substanz-Nr.: 88/473

Substanzname: Eisenpentacarbonyl

Kurzfassung
Primäre Schleimhautreizwirkung (Kaninchen, OECD-Test, 405): Bewertung: nicht reizend*
Kennzeichnung: nicht erforderlich* Gefahrenhinweise: nicht erforderlich* Es sind die beim Umgang mit Chemikalien üblichen Vorsichtsmaßregeln zu beachten. * gemäß Kriterien GefStoffV vom 26. August 1986.
Für eine endgültige Kennzeichnung und die zu treffenden Vorsichtsmaßnahmen sind gegebenenfalls noch die Ergebnisse weiterer Untersuchungen, gesetzliche Bestimmungen sowie andere toxikologische Kenntnisse über das Produkt zu berücksichtigen.

Einzelergebnisse siehe Anlage/n

Wir gehen davon aus, daß Sie weitere Interessenten bzw. Abnehmer von diesem Befund unterrichten.

Kirsch

Kirsch

Anlage/n

VD: DOA - H 308, Fr. Dr. Bonsdorf

0313 *25.01.89

Confidential

JAN 20 1989

67

PRJ. NO. 11H0473/882358 SHEET 1

REPORT ON THE ACUTE IRRITATION TO THE EYE OF THE WHITE RABBIT BASED ON OECD *

TESTING FACILITY:	BASF AKTIENGESELLSCHAFT DEPARTMENT OF TOXICOLOGY D-6700 LUDWIGSHAFEN / RHEIN, FRG
AIM OF THE STUDY:	ASSESSMENT OF A POSSIBLE IRRITATING POTENTIAL TO THE EYE AND TO THE EYE MUCOSA
PROJECT NUMBER:	11H0473/882358
NAME OF TEST SUBSTANCE:	EISENPENTACARBONYL **

DR.MED.VET. HILDEBRAND
(HEAD OF EXPERIMENTAL TOXICOLOGY)

DR.MED.VET. KIRSCH
(STUDY DIRECTOR)

* METHOD AND ASSESSMENT BASED ON OECD GUIDELINE (405) FOR TESTING OF CHEMICALS ADOPTED MAY 12TH, 1981

** A DETAILED PRODUCT CHARACTERIZATION IS INCLUDED IN THE RAW DATA

THIS REPORT IS THE PROPERTY OF BASF AKTIENGESELLSCHAFT AND MAY NOT BE COMMUNICATED TO THIRD PERSONS, REPRODUCED, OR PUBLISHED IN ANY FORM EXCEPT WITH THE PROPRIETOR'S EXPLICIT PERMISSION.

THIS REPORT CONSISTS OF 5 PAGES.

ACUTE EYE IRRITATION (OECD)

METHOD

ANIMAL SPECIES:	RABBIT/WHITE VIENNA
ANIMAL BREEDER:	GAUKLER; D-6050 OFFENBACH / MAIN, FRG SAVO; MED. VERSUCHSTIERZUCHTEN GMBH, 7964 KISSLEGG/ALLGAEU, FRG
TYPE OF CAGE:	CAGE MADE OF STAINLESS STEEL WITH WIRE MESH WALK FLOORS. FLOOR AREA: 40 CM X 51 CM
NO. OF ANIMALS PER CAGE:	1
ANIMAL IDENTIFICATION:	EAR TATTOO (= ANIMAL NO.)
ROOM TEMPERATURE/ RELATIVE HUMIDITY:	THE ANIMALS WERE HOUSED IN FULLY AIR-CONDITIONED ROOMS. CENTRAL AIR-CONDITIONING GUARANTEED A RANGE OF 20 - 24 DEGREES CELSIUS FOR TEMPERATURE AND OF 30 - 70% FOR RELATIVE HUMIDITY. THERE WERE NO DEVIATIONS FROM THESE RANGES WHICH INFLUENCED THE RESULTS OF THE STUDY.
DAY/NIGHT RHYTHM:	12 H/12 H (6.00 - 18.00 HOURS/ 18.00 - 6.00 HOURS)
BEDDING:	NO BEDDING IN THE CAGES; SAWDUST IN THE WASTE TRAYS
DIET:	KLIBA 341, 4 MM; FIRMA KLINGENTALMUEHLE AG CH-4303 KAISERAUGST, SWITZERLAND (ABOUT 130 G PER ANIMAL PER DAY)
DRINKING WATER:	ABOUT 250 ML TAP WATER PER ANIMAL PER DAY
ACCLIMATIZATION PERIOD:	AT LEAST 8 DAYS BEFORE THE BEGINNING OF THE STUDY; SAME HOUSING CONDITIONS AS DURING THE STUDY

PRJ. NO. 11H0473/882358

ACUTE EYE IRRITATION (OECD)

NUMBER OF ANIMALS	MA:	1
	FE:	2
MEAN WEIGHT (KG)	MA:	2.98
	FE:	3.04
APPLICATION VOLUME:		0.1 ML (UNCHANGED)
APPLICATION SITE:		SINGLE APPLICATION TO THE CONJUNCTIVAL SAC OF THE RIGHT EYELID; THE SUBSTANCE WAS NOT WASHED OUT
OBSERVATION PERIOD:		72 H
READINGS:		1 H, 24 H, 48 H, 72 H, AFTER APPLICATION
NEGATIVE CONTROL:		UNTREATED EYE
STORAGE OF THE REPORT AND RAW DATA:		ON COMPLETION OF THE REPORT ALL RAW DATA AND STUDY DOCUMENTS ARE RETAINED AT BASF AKTIENGESELLSCHAFT.
DATA INPUT:		REINFRANK
DATA CONTROL:		Benz, Jan. 6, 1989
DATE OF APPLICATION:		DEC. 20. 88 (ANIMAL NO. 0868)
		JAN. 2, 89 (ANIMAL NOS. 0894 AND 0915)

RESULTS ACUTE EYE IRRITATION (OECD)

ANIMAL	1	2	3
ANIMAL NO.	0868	0894	0915
A.WEIGHT(KG)	3.35	2.98	2.73
SEX	FE	MA	FE

REAL-INGS	ANI-MAL	CORNEA OP	CORNEA AR	IRIS	CONJUNCTIVA RED	CONJUNCTIVA SW	CONJUNCTIVA DI	SYMPTOMS
1 H	1	0	0	0	1	0	0	
	2	0	0	0	1	0	0	
	3	0	0	0	1	0	0	
24 H	1	0	0	0	0	0	0	
	2	0	0	0	1	0	0	
	3	0	0	0	1	0	0	
48 H	1	0	0	0	0	0	0	
	2	0	0	0	1	0	0	
	3	0	0	0	0	0	0	
72 H	1	0	0	0	0	0	0	
	2	0	0	0	0	0	0	
	3	0	0	0	0	0	0	
ME	1	0.0		0.0	0.0	0.0		
	2	0.0		0.0	0.7	0.0		
	3	0.0		0.0	0.3	0.0		
ME		0.0		0.0	0.3	0.0		

RESULTS ACUTE EYE IRRITATION (OECD)

SCALE FOR SCORING OCULAR LESIONS:

CHEMOSIS (SW) AND CORNEA (OP)
(OPACITY-DEGREE OF DENSITY):

0 = NONE
1 = SLIGHT
2 = WELL-DEFINED
3 = SEVERE
4 = VERY SEVERE

AREA OF CORNEA INVOLVED (AR):

1 = > 0 ; < 1/4
2 = >= 1/4 ; < 1/2
3 = >= 1/2 ; < 3/4
4 = >= 3/4

CONJUNCTIVAE REDNESS (RED):

0 = NORMAL
1 = SLIGHT
2 = WELL-DEFINED
3 = SEVERE

DISCHARGE (DI):

0 = NORMAL
1 = SLIGHTLY INCREASED
2 = CLEARLY INCREASED
3 = DISTINCTLY INCREASED

IRIS:

0 = NORMAL
1 = CIRCUM-CORNEAL INJECTION
2 = IRITIS

CALCULATION OF THE MEAN ACCORDING TO 83/467/EEC CRITERIA OF JULY 29TH, 1983 (FOR CALCULATION OF THE MEANS OF OPACITY, IRIS, REDNESS AND SWELLING ONLY THE READINGS OF 24, 48 AND 72 HOURS ARE USED).

KEY: MA = MALE
FE = FEMALE
ME = MEAN
H = HOUR

CERTIFICATE OF AUTHENTICITY

THIS IS TO CERTIFY that the microimages appearing on this microfiche are accurate and complete reproductions of the records of U.S. Environmental Protection Agency documents as delivered in the regular course of business for microfilming.

Data produced 8 8 91 Marcia Tubolino
(Month) (Day) (Year) Camera Operator

Place Syracuse New York
(City) (State)

AMTEK corp