



The Chemical Company

Helping Make
Products Better™

RECEIVED
DEPT. DATE

07 JAN 31 AM 6:24

FED EX # 7990 7712 2595
7990 7712 2584

Date January 29, 2007

OPPT Document Control Office (DCO)
EPA East Room 6428
1201 Constitution Ave., N.W.
Washington DC, 20460
Attn: 8(d) Health and Safety Reporting Rule (Notification/Reporting)



Re : Submission of TSCA 8(d) Health and Safety Study reports – BASF Corporation

Dear 8(d) Coordinator:

In compliance with 40 CFR 716, BASF hereby submits requested Health and Safety Study reports for substances recently added to the list of subject chemicals (71 FR 47130).

This submission contains information for the following list of substances:

62-56-6	121-69-7	1738-25-6
83-41-0	127-68-4	3039-83-6
84-69-5	131-57-7	4316-73-8
96-22-0	137-20-2	61788-76-9
104-93-8	645-62-5	68188-18-1
110-18-9	939-97-9	68609-05-2
111-44-4	1111-78-0	68909-77-3

Should you have questions regarding this submission, please do not hesitate to contact me at 734-324-6593 or email kara.sparks@basf.com.

Sincerely,
BASF Corporation

Kara Sparks
Manager, North America
Product Regulatory Centre of Expertise

CONTAINS NO CBI

Contains No CBI

BASF Corporation
100 Campus Drive
Florham Park, NJ 07932
Tel: (800) 526-1072
www.basf.com/usa

302148

I U C L I D

D a t a S e t

Existing Chemical ID: 111-44-4
CAS No. 111-44-4
EINECS Name bis(2-chloroethyl) ether
EC No. 203-870-1
TSCA Name Ethane, 1,1'-oxybis[2-chloro-
Molecular Weight 143.01 g/mol
Molecular Formula C4 H8 Cl2 O

Producer Related Part
Company: BASF AG
Creation date: 18-OCT-2006

Substance Related Part
Company: BASF AG
Creation date: 18-OCT-2006

Memo: master

Printing date: 17-JAN-2007
Revision date:
Date of last Update: 15-NOV-2006

Number of Pages: 19

Chapter (profile): Chapter: 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 10
Reliability (profile): Reliability: without reliability, 1, 2, 3, 4
Flags (profile): Flags: TSCA 8d



1.0.1 Applicant and Company Information

1.0.2 Location of Production Site, Importer or Formulator

1.0.3 Identity of Recipients

1.0.4 Details on Category/Template

1.1.0 Substance Identification

1.1.1 General Substance Information

1.1.2 Spectra

1.2 Synonyms and Tradenames

1.3 Impurities

1.4 Additives

1.5 Total Quantity

1.6.1 Labelling

1.6.2 Classification

1.6.3 Packaging

1.7 Use Pattern

1.7.1 Detailed Use Pattern

1.7.2 Methods of Manufacture

1.8 Regulatory Measures

1.8.1 Occupational Exposure Limit Values

1.8.2 Acceptable Residues Levels

1.8.3 Water Pollution

1.8.4 Major Accident Hazards

1.8.5 Air Pollution

1.8.6 Listings e.g. Chemical Inventories

1.9.1 Degradation/Transformation Products

1.9.2 Components

1.10 Source of Exposure

1.11 Additional Remarks

1.12 Last Literature Search

1.13 Reviews

2.1 Melting Point

2.2 Boiling Point

2.3 Density

2.3.1 Granulometry

2.4 Vapour Pressure

2.5 Partition Coefficient

2.6.1 Solubility in different media

2.6.2 Surface Tension

2.7 Flash Point

2.8 Auto Flammability

2.9 Flammability

2.10 Explosive Properties

2.11 Oxidizing Properties

2.12 Dissociation Constant

-

2.13 Viscosity

-

2.14 Additional Remarks

-

3.1.1 Photodegradation

3.1.2 Stability in Water

3.1.3 Stability in Soil

3.2.1 Monitoring Data (Environment)

3.2.2 Field Studies

3.3.1 Transport between Environmental Compartments

3.3.2 Distribution

3.4 Mode of Degradation in Actual Use

3.5 Biodegradation

3.6 BOD5, COD or BOD5/COD Ratio

3.7 Bioaccumulation

3.8 Additional Remarks

AQUATIC ORGANISMS**4.1 Acute/Prolonged Toxicity to Fish**

Type: static
 Species: Leuciscus idus (Fish, fresh water)
 Exposure period: 96 hour(s)
 Unit: mg/l Analytical monitoring: no
 NOEC: = 100
 LC0: = 316
 LC50: = 463.89
 LC100: = 681
 Limit Test: no

Method: other
 Year: 1984
 GLP: no
 Test substance: other TS

Method: The study was performed according to German industrial standard test guideline, DIN 38 412 L15, 1982.

Result: 48 h-LC50 of the positive control Chloroacetamide: about 28 mg/L (corresponds to normal sensitivity).

During the 96 h exposure to bis-2-chloroethylether, mortalities were as follows:

Nominal test concentration (mg/L)	Cumulative mortality (%) after x hours 1/4/24/48/72/96
Control	0/0/0/0/0/0
68.1	0/0/0/0/0/0
100.0	0/0/0/0/0/0
147.0	0/0/0/0/0/0
215.0	0/0/0/0/0/0
316.0	0/0/0/0/0/0
464.0	0/0/0/0/1/4
681.0	0/0/10/10/10/10

Symptoms of intoxication:

Nominal test concentration (mg/L)	Symptoms of intoxication after x hours 1/4/24/48/72/96
Control	-/-/-/-/-/-
68.1	-/-/-/-/-/-
100.0	-/-/-/-/-/-
147.0	-/Y/-/T/-/-
215.0	-/A/-/-/-/-
316.0	-/A/LA/L/L/L
464.0	YAL/AY/LY/LTNY/LTNY/LTN
681.0	YLTN/TNY/+/+/+/+

Definitions of Symptoms:

-: No symptoms
+: All fish dead
Y: Bleeding
N: Narcotic-like state
A: Apathy
T: Tumbling
L: Air snapping

All results refer to nominal test concentrations of bis-2-chloroethylether.
No analytical dose-verification if the test item was carried out.

Behavior of the test item during the test:
No remarkable observations.

Test condition: Test fish: *Leuciscus idus* (golden variety)
Supplier: Fischzucht Paul Eggers, 2354 Hohenweststadt, Germany

Body length: 6.6 cm (range 6.2 - 7.1 cm)
Body weight: 2.4 g (range 1.6 - 3.2 g)
Corpulence factor of the test fish batch: 0.84

Housing and adaption
Culture conditions: oil-free aerated and charcoal filtered tap water, flow-through system;
Water temperature: 14 - 20 °C
Duration of housing: 17 weeks
Mortality during the last 2 weeks of housing: 0.0 %
Medical treatment: Once with 0.05 mg/L malachite green chloride, one with 10 mg/L tetracycline hydrochloride

Diet: "fukosalm - Anschlussfutter 1, ad libitum.

Test procedure:
test water: reconstituted freshwater according to DIN 38412, Part II, 1982; prepared from fully demineralised tap water (conductivity: max 10 micro MHO) by adding:
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
Ration Na/K ions: 10 : 1
pH: about 7.8

Volume of water: 10 L

No of animals per test concentration and control: 10
Loading rate (g fish/L test water): 2.4
Test vessels: All glass aquaria (30 x 22 x 24 cm)

Test temperature: 20 +/- 1 °C
Adaption to test water and test temperature: 3 days
Photoperiod: 16 : 8 hours day-night regime
Aeration: slight
Exposure period: 96 h
pH during the test: 7.4 - 7.9
Oxygen content during the test: 7.1 - 8.9 mg/L
Withdrawal of food: 1 day before and during exposure.

Nominal test concentrations: 68.1, 100.0, 147.0, 215.0, 316.0, 464.0 and 681.0 mg/L (based on the results of a range-finding test). In addition, a control was tested in parallel.

Observation time: 0, 4, 24, 48, 72 and 96 h.
Endpoints investigated: mortality and symptoms of intoxication.

Preparation of the test item:
The test solution was prepared by adding the test item to the test media without any pre-treatment. Then, the fish were placed into the test aquaria.

Statistical evaluation of data:
Probit analysis (Finney 1971); The EC50 value was calculated as the geometrical mean of the LC0 and the LC100 value.

Test substance:

Bis-2-chloroethylether; CAS 111-44-4; batch No.: no data;
purity: no data; water solubility: 1.0 % (w/w)

Conclusion:

The 96 h results of bis-2-chloroethylether to fish were as follows:

The LC50 was 463.89 mg/L (nominal).
The LC0 and the LC100 were 316 and 681 mg/L (nominal), respectively.

Reliability:

The NOEC was 316 mg/L (nominal).

(2) valid with restrictions

Guideline study. Scientifically acceptable, however, the test item might evaporate from the test media.

Flag:

15-NOV-2006

TSCA 8d

(1)

4.2 Acute Toxicity to Aquatic Invertebrates

4.3 Toxicity to Aquatic Plants e.g. Algae

4.4 Toxicity to Microorganisms e.g. Bacteria

4.5 Chronic Toxicity to Aquatic Organisms

4.5.1 Chronic Toxicity to Fish

4.5.2 Chronic Toxicity to Aquatic Invertebrates

TERRESTRIAL ORGANISMS

4.6.1 Toxicity to Sediment Dwelling Organisms

4.6.2 Toxicity to Terrestrial Plants

4.6.3 Toxicity to Soil Dwelling Organisms

4.6.4 Toxicity to other Non-Mamm. Terrestrial Species

4.7 Biological Effects Monitoring

4.8 Biotransformation and Kinetics

4.9 Additional Remarks

5.0 Toxicokinetics, Metabolism and Distribution

5.1 Acute Toxicity

5.1.1 Acute Oral Toxicity

5.1.2 Acute Inhalation Toxicity

5.1.3 Acute Dermal Toxicity

5.1.4 Acute Toxicity, other Routes

5.2 Corrosiveness and Irritation

5.2.1 Skin Irritation

5.2.2 Eye Irritation

5.3 Sensitization

5.4 Repeated Dose Toxicity

5.5 Genetic Toxicity 'in Vitro'

Type: Ames test
System of testing: Salmonella typhimurium TA 1535, TA 100, TA 1537, TA 1538, TA 98
Concentration: 20 µg - 5000 µg/plate (TA 1537, TA 1538, TA 98)
 20 µg - 7500 µg/plate (TA 1535, TA 100)
Cytotoxic Concentration: > 2500 µg/plate
Metabolic activation: with and without

Method: other: according to Ames et al., Mut. Res. 31
Year: 1975
GLP: no

Method: Ames test, with and without metabolic activation. Standard plate test and preincubation test
Remark: Standard plate test and preincubation test
Result: No increase in the number of his+ revertants was noted in TA 1537, TA 1538, TA 98, TA 100.

In the standard plate test a weak positive reaction was found only in TA 1535 at doses > 2500 µg/plate. The maximal increase in the number of his+ revertants was about 2.3 - 3.0 (without S-9 mix) resp. 5.1 (with S-9 mix) at 5000 - 7500 µg/plate.

In the preincubation test in TA 1535 without metabolic activation only isolated increased values were found at doses > 2500 µg/plate. After addition of a metabolic system a marginal positive reaction was found at 2500 - 5000 µg/plate with an increase of the revertant colonies (about factor 2).

Test condition: Bacterial test strains were used, both in the standard plate test (SPT) and in the pre-incubation test (PIT), both in the presence and in the absence of metabolic activation (+S9, -S9, respectively). DMSO was used as solvent. 3 test plates per dose or per control were run in each of the three experiments. Positive controls were included by using 2-aminoanthracene with metabolic activation, N-methyl-N'-N-nitrosoguanidine, 4-nitro-o-phenylenediamine and 9-aminoacridine without metabolic activation.

Test substance: Bis-2-chlorethylether, test substance No. 84/40
Conclusion: According to the available results, the test substance showed a weak mutagenic effect in the Ames test under the test conditions chosen here.

Reliability: (2) valid with restrictions
Flag: TSCA 8d
 25-OCT-2006 (2)

5.6 Genetic Toxicity 'in Vivo'

5.7 Carcinogenicity

5.8.1 Toxicity to Fertility

5.8.2 Developmental Toxicity/Teratogenicity

5.8.3 Toxicity to Reproduction, Other Studies

5.9 Specific Investigations

5.10 Exposure Experience

5. Toxicity

date: 17-JAN-2007
Substance ID: 111-44-4

5.11 Additional Remarks

6.1 Analytical Methods

-

6.2 Detection and Identification

-

7.1 Function

7.2 Effects on Organisms to be Controlled

7.3 Organisms to be Protected

7.4 User

7.5 Resistance

8.1 Methods Handling and Storing

8.2 Fire Guidance

8.3 Emergency Measures

8.4 Possib. of Rendering Subst. Harmless

8.5 Waste Management

8.6 Side-effects Detection

8.7 Substance Registered as Dangerous for Ground Water

8.8 Reactivity Towards Container Material

- (1) BASF AG (1984). Bis-2-chlorethylether: Acute toxicity to fish, Golden orfe (*Leuciscus idus* L., golden variety). Department of Toxicology, unpublished data, Report No. 84/40, 27 Feb 1984.
- (2) BASF AG (1984). Department of Toxicology, Study of Bis-2-chlorethylether in the Ames Test, unpublished report No. 84/40, 30 March 1984

10.1 End Point Summary

-

10.2 Hazard Summary

-

10.3 Risk Assessment

-

CAS Number	Product Name	Study Title	Report Date	Laboratory	Comment	Study Report attached?	Report No.
111-44-4	Bis(2-chloroethyl)ether	Ames	30-Mar-84	BASF		yes	8.1
111-44-4	Bis(2-chloroethyl)ether	Bis(2-chloroethyl)ether. Acute toxicity to fish, Golden orfe (Leuciscus idus L., golden variety)	27-Feb-84	BASF		Yes	8.2



Vertraulich

8.1

BASF

BASF Aktiengesellschaft
Abteilung Toxikologie
Department Toxicology
D-6700 Ludwigshafen

en-br, 30. MRZ. 1984



Bericht über die Prüfung von

Bis-2-chlorethylether

(ZNT Substanz-Nr.: 84/40)

im

AMES-TEST

(Standard plate test und Preincubation test
mit *Salmonella typhimurium*)

024038n EM 163 (4/15277)

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.

INHALTSVERZEICHNIS

	Seite
1. ZUSAMMENFASSUNG	1
2. EINLEITUNG	3
3. MATERIAL UND METHODE	5
3.1. Substanz	5
3.2. Gewebepräparation	6
3.2.1. S-9 Fraktion	6
3.2.2. S-9 Mix	7
3.3. Bakterien	7
3.4. Versuchsansatz	8
3.4.1. Standard plate test	8
3.4.2. Preincubation test	8
3.5. Überprüfung der Teststämme	9
3.6. Kontrollen	10
3.6.1. Negative Kontrolle	10
3.6.2. Positive Kontrolle	10
3.7. Bewertungskriterien	11
3.8. Versuchsgröße	11
4. ERGEBNISSE	13
4.1. Mutagenitätsuntersuchung	13
4.2. Toxizität	14
4.3. Löslichkeit	14
4.4. Bewertung/Diskussion	15
5. LITERATUR	24

1. ZUSAMMENFASSUNG

Die Substanz Bis-2-chlorethylether wurde auf mutagene Wirkung im Ames-Test untersucht.

Stämme: TA 1535, TA 100, TA 1537, TA 1538, TA 98

Dosisbereich: 20 µg - 5000 µg/Platte (TA 1537,
TA 1538, TA 98)
20 µg - 7500 µg/Platte (TA 1535, TA 100)

Testbedingung: Standard plate test (alle Teststämme)
und Preincubation test (TA 100,
TA 1535), jeweils mit und ohne meta-
bolische Aktivierung (S-9 Mix).

Löslichkeit: Vollständige Löslichkeit der Substanz
in DMSO bis zur höchsten Dosierung
von 7500 µg/Platte.

Toxizität: Eine bakteriotoxische Wirkung (Rück-
gang der Zahl der his⁺ Revertanten,
reduziertes his⁻ Backgroundwachstum)
war nur nach Präinkubation der Substanz
ab Dosierungen > 2500 µg zu beobachten.

Mutagenität:

TA 1537: Keine Zunahme der Zahl der his⁺ Rever-
tanten unter den genannten Versuchsbe-
dingungen.
TA 1538:
TA 98:
TA 100:

TA 1535:

Im Standard plate test mit und ohne S-9 Mix schwach positive Reaktion ab ca. 2500 µg/Platte. Maximale Erhöhung der Zahl der his⁺ Revertanten etwa um den Faktor 2,3 - 3,0 (ohne S-9 Mix) bzw. 5,1 (mit S-9 Mix) bei 5000 µg - 7500 µg/Platte.

Im Preincubation test waren ohne metabolische Aktivierung bei Dosierungen \geq 2500 µg/Platte nur vereinzelt erhöhte Zahlenwerte festzustellen. Nach Zusatz eines metabolischen Systems konnte eine geringe positive Reaktion bei 2500 - 5000 µg/Platte mit einer Zunahme der Revertanten-Kolonien etwa um den Faktor 2 beobachtet werden.

Bewertung:

Nach den vorliegenden Untersuchungsergebnissen wirkt die Substanz Bis-2-chlorethylether unter den hier gewählten Versuchsbedingungen schwach mutagen im Ames-Test.

Priv.Doz. Dr.med. Dr.rer.nat. H.-P. Gelbke

H. P. Gelbke 22.3.84

G. Engelhardt 22.03.84
Dr.rer.nat. G. Engelhardt
(Versuchsdurchführung)

2. EINLEITUNG

Der Ames-Test ist ein Kurzzeittest an Bakterien (1, 2) und dient als Screening-Verfahren zum Nachweis einer punktmutagenen Wirkung chemischer Substanzen. Untersuchungen mit 300 Substanzen von McCann und Ames (3, 4) sowie eine ICI-Studie mit 120 Substanzen (5) waren die ersten umfangreichen Arbeiten, die eine hohe, jedoch nicht vollständige Korrelation zwischen mutagenen bzw. nicht-mutagenen Befunden im Ames-Test und cancerogener respektiver nicht-cancerogener Wirkung bestätigten. Somit stellt dieser Test auch ein gutes Screeningsystem auf cancerogene Wirkung dar, wobei jedoch die hohe Korrelation nicht für alle Substanzklassen bestehen dürfte (6, 7, 8, 9, 10).

Gemessen wird die Rate induzierter Rückmutationen von mehreren histidinauxotrophen Bakterienmutanten zur Histidinprototrophie (2, 11, 12). Die dazu von Ames speziell selektierten Indikatororganismen TA 1535, TA 1537, TA 1538, TA 98 und TA 100 sind Abkömmlinge der Gattung *Salmonella typhimurium*. Gemeinsam haben alle Stämme ein defektes Excisions-Reparatur-System (*uvrB*), wodurch die Reparatur von induzierten Schäden an der DNA, die unter natürlichen Bedingungen behoben werden, verhindert wird, sowie eine stark reduzierte hydrophile Polysaccharidschicht (*rfa*), was zu einer erhöhten Permeabilität für lipophile Substanzen führt.

Die Stämme TA 1535 und TA 100 leiten sich von histidinprototrophen *Salmonella*-stämmen durch die Substitutionsmutation *his G 46 ab* und dienen zum Nachweis von Basenpaarsubstitutionen. Bei TA 1537, TA 1538 und TA 98 handelt es sich um sog. Rasterschubmutanten zum Nachweis von Frameshiftmutagenen. Diese Stämme tragen verschiedene Frameshiftmarker, bei TA 1537 ist dies die + 1-Mutante *his C 3076*, bei TA 1538 und TA 98 der + 2-Typ *his D 3052*.

Die Stämme TA 98 und TA 100 leiten sich von TA 1538 bzw. TA 1535 ab und sind in bezug auf ihren genetischen Marker mit diesen Stämmen identisch. Sie tragen jedoch ein R-Faktor Plasmid pKM 101 (12) und besitzen neben Resistenzgenen gegen Antibiotika ein modifiziertes Postreplikations-DNA-Reparatursystem, das durch fehlerhafte Reparatur an der DNA die Mutationsrate erhöht, wodurch die Nachweisempfindlichkeit wesentlich gesteigert werden konnte.

Da die meisten Substanzen nicht per se, sondern erst nach metabolischer Umwandlung mutagen bzw. cancerogen wirken und da der Hauptanteil aller Stoffwechselprozesse durch die Enzymsysteme der Leber katalysiert wird, erfolgt die Testung im Ames-Test nicht nur direkt, sondern auch in Anwesenheit eines aus Rattenleber gewonnenen metabolisierenden Systems. Dazu werden Ratten zur Aktivierung der fremdstoff-metabolisierenden Enzyme mit Aroclor 1254 vorbehandelt (13).

Die Überprüfung im Ames-Test fand im Februar/März 1984 statt.

3. MATERIAL UND METHODE

3.1. Substanz

Substanzbezeichnung: Bis-2-chlorethylether

Substanz-Nr.: 84/40

Aussehen, Konsistenz: farblose Flüssigkeit

Aufbewahrung: +4 °C

Detailliertere Angaben zur Substanz befinden sich bei den Rohdaten bzw. beim Auftraggeber.

3.2. Gewebepreparation

3.2.1. S-9 Fraktion

Die Herstellung der S-9 Fraktion erfolgt nach den Angaben von Ames et al. (2).

5 männlichen Sprague-Dawley-Ratten (200 - 300 g) werden 5 Tage vor der Tötung 500 mg Aroclor 1254 (als 20 %ige Lösung in Erdnußöl - G/V) pro kg Körpergewicht einmal intraperitoneal appliziert.

Während dieser Zeit werden die Tiere einzeln in Makrolon-Käfigen, Typ M II, in klimatisierten Räumen gehalten. Der Tag-/Nachtrhythmus beträgt 12 Stunden (Lichtperiode von 6 - 18 Uhr, Dunkelperiode von 18 - 6 Uhr).

Standardisiertes pelletiertes Futter und Leitungswasser aus Flaschen stehen ad libitum zur Verfügung.

Am 5. Tage werden die Ratten durch Genickbruch getötet und die Lebern herauspräpariert (alle Präparationsschritte zur Gewinnung der Lebermikrosomenenzyme erfolgen unter Benutzung steriler Lösungsmittel und Gefäße bei einer Temperatur von +4 °C). Die Lebern werden gewogen und in einem äquivalenten Volumen einer 150 mM KCl-Lösung gewaschen (1 ml $\hat{=}$ 1 g nasse Leber), anschließend in kleine Stücke geschnitten und im 3fachen Volumen KCl-Lösung homogenisiert. Nach Zentrifugation des Homogenates bei 9 000 g für 10 Minuten bei +4 °C wird der Überstand (sog. S-9 Fraktion) in 5 ml Portionen in Trockeneis schnell tiefgefroren und bei -70 ° bis -80 °C für maximal 2 Monate aufbewahrt.

3.2.2. S-9 Mix

Der S-9 Mix wird vor jedem Versuch frisch zubereitet (1, 2). Dazu wird vor Versuchsbeginn genügend S-9 Fraktion bei Raumtemperatur aufgetaut und 3 Teile S-9 Fraktion werden mit 7 Teilen S-9 Supplement (Cofaktoren) gemischt. Diese Präparation, der sog. S-9 Mix, wird bis zum Gebrauch im Eis aufbewahrt. Die Konzentrationen der Cofaktoren im S-9 Mix betragen:

MgCl ₂	8 mM
KCl	33 mM
Glucose-6-Phosphat	5 mM
NADP	4 mM
Phosphatpuffer (pH 7,4)	100 mM

Der Phosphatpuffer wird durch Zusammenfügen einer Na₂HPO₄-Lösung (25,42 g/l) und einer NaH₂PO₄-Lösung (22,28 g/l) im Verhältnis etwa 4 : 1 hergestellt.

3.3. Bakterien

Tiefgefrorene (-70 °C bis -80 °C) Bakterienkulturen (1 ml in 15 ml Glaskulturröhrchen) werden bei Raumtemperatur aufgetaut, 0,1 ml dieser Bakteriensuspension in Nutrient Broth Lösung (8 g Difco Bacto Nutrient Broth + 5 g NaCl/Liter) überimpft und im Schüttelwasserbad für 16 Stunden bei 37 °C inkubiert. Hierbei wird in der Regel eine Keimdichte von $\geq 10^9$ Bakterien/ml erreicht. Diese über Nacht angewachsenen Kulturen werden vor Versuchsbeginn bis zum Ende des Versuchs zur Verhinderung eines weiteren Wachstums in Eiswasser gestellt.

3.4. Versuchsansatz

3.4.1. Standard plate test

Die Versuchsdurchführung erfolgt nach der Methode von Ames et al. (1, 2). Der Topagar (Softagar) bestehend aus 100 ml Agar (0,6 % Agar + 0,6 % NaCl) und 10 ml Aminosäurelösung (Minimalaminosäurelösung zur Bestimmung der Mutanten: 0,5 mM Histidin + 0,5 mM Biotin), wird in Mengen zu 2 ml in Zentrifugenröhrchen bei 45 °C im Wasser gehalten und die restlichen Komponenten in folgender Reihenfolge hinzugefügt:

0,1 ml Testlösung

0,1 ml Bakteriensuspension

0,5 ml S-9 Mix (bei Versuchen mit enzymatischer Aktivierung) bzw.

0,5 ml Phosphatpuffer (bei Versuchen ohne enzymatische Aktivierung)

Nach Mischen des Ansatzes erfolgt innerhalb von ca. 30 Sekunden die Verteilung auf die Nährbodenplatten.

3.4.2. Preincubation test

Die Versuchsdurchführung erfolgt in Anlehnung an die Beschreibung von Yahagi et al. (14) bzw. Matsushima et al. (15). 0,1 ml Testlösung, 0,1 ml Bakteriensuspension und 0,5 ml S-9 Mix werden bei 37 °C für die Dauer von 20 Minuten inkubiert. Anschließend werden 2 ml Topagar (Softagar) hinzugegeben und nach Mischen des Ansatzes erfolgt innerhalb von ca. 30 Sekunden die Verteilung auf die Nährbodenplatten.

Zusammensetzung des Nährbodens (Minimalagar):

980 ml aqua dest.
20 ml Vogel-Bonner E Medium
15 g Difco Bacto Agar
20 g D-Glucose, Monohydrat.

Nach Inkubation im Brutschrank für 48 Stunden bei 37 °C im Dunkeln werden die Bakterienkolonien (his⁺ Revertanten) ausgezählt.

3.5. Überprüfung der Teststämme

Die Salmonellastämme werden regelmäßig auf folgende Eigenschaften überprüft: deep rough character (rfa); UV-Empfindlichkeit (Δ uvrB); Ampicillinresistenz (R-Faktor Plasmid).

Die Überprüfung der Histidinauxotrophie erfolgt automatisch bei jedem Versuch durch die Spontanrate.

3.6. Kontrollen

3.6.1. Negative Kontrolle

Bei jedem Versuch läuft für jeden Bakterienstamm sowohl mit als auch ohne S-9 Mix parallel eine negative Kontrolle (Lösungsmittelkontrolle, Sterilitätskontrolle) zur Bestimmung der spontanen Mutationsrate mit.

3.6.2. Positive Kontrolle

Zur Überprüfung der Mutierbarkeit der Bakterien und der Aktivität des S-9 Mix werden folgende positive Kontrollsubstanzen eingesetzt:

Mit S-9 Mix 10 µg 2-Aminoanthracen (gelöst in DMSO)
für die Stämme TA 100, TA 98, TA 1538,
TA 1537 und TA 1535

Ohne S-9 Mix 5 µg N-Methyl-N'-nitro-N-nitroso-guanidin
(MNNG) (gelöst in DMSO) für die Stämme
TA 100 und TA 1535.

10 µg 4-Nitro-o-phenylendiamin (gelöst in
DMSO) für die Stämme TA 1538 und TA 98.

100 µg 9-Aminoacridiniumchlorid Monohydrat
(gelöst in DMSO) für den Stamm TA 1537.

3.7. Bewertungskriterien

In der Regel sind für eine im Ames-Test als positiv zu bezeichnende Substanz folgende Kriterien zu erfüllen

- Verdopplung der Keimzahl der Spontanrate (Kontrolle)
- Vorliegen einer Dosis-Effekt-Beziehung
- Reproduzierbarkeit der Ergebnisse

3.8. Versuchsgröße

1. Experiment

Stämme: TA 1535, TA 100, TA 1537, TA 1538, TA 98

Dosierung: 0, 20, 100, 500, 2500 und 5000 µg/Platte

Lösungsmittel: DMSO

Versuchsart, Testbedingung: Standard plate test mit und ohne S-9 Mix

Anzahl der Platten: 3 Testplatten pro Dosierung bzw. pro Kontrolle

2. Experiment

Stämme: TA 1535, TA 100

Dosierung: 0, 20, 100, 500, 2500, 5000 und 7500 µg/Platte

Lösungsmittel: DMSO

Versuchsart, Testbedingung: Preincubation test mit und ohne S-9 Mix

Anzahl der Platten: 3 Testplatten pro Dosierung bzw. pro Kontrolle

3. Experiment

Stamm: TA 1535

Dosierung: 0, 100, 500, 2500, 5000 und 7500 µg/
Platte

Lösungsmittel: DMSO

Versuchsart,
Testbedingung: Standard plate test mit und ohne
S-9 Mix

Anzahl der
Platten: 3 Testplatten pro Dosierung bzw. pro
Kontrolle

4. ERGEBNISSE (Tabellen 1 - 8)

Die Substanz Bis-2-chlorethylether wurde auf mutagene Wirkung im Ames-Test sowohl in Anwesenheit als auch in Abwesenheit eines aus Leber gewonnenen metabolisierenden Systems (S-9 Mix) an den Stämmen TA 1535, TA 100 (Standard plate test und Preincubation test) bzw. TA 1537, TA 1538 und TA 98 (Standard plate test) getestet.

Aufgrund der Resultate des 1. Experimentes sowie der in der Literatur (16, 17) zitierten Befunde beschränkten sich die Wiederholungsuntersuchungen nur noch auf die Basenpaarstämme TA 1535 (2. und 3. Experiment) und TA 100 (2. Experiment).

4.1. Mutagenitätsuntersuchung

a) Untersuchung ohne S-9 Mix

TA 1535: Schwach positive Reaktion im Standard plate test etwa ab 2500 µg/Platte (Faktor 1,6 - 2,4) mit einer maximalen Zunahme der Zahl der his⁺ Revertanten um den Faktor 2,3 - 3,0 bei 5000 µg - 7500 µg/Platte.

Im Preincubation test waren dagegen bei 2500 µg und 5000 µg nur vereinzelt erhöhte Zahlenwerte zu erhalten. Dosierungen > 2500 µg führten aufgrund einer bakteriotoxischen Wirkung bereits wieder zu einem reduzierten Backgroundwachstum bzw. zu einem Rückgang der Bakterien-Kolonienzahl.

TA 100: Sowohl im Standard plate test als auch
TA 1537: im Preincubation test keine Zunahme
TA 1538: der Zahl der his⁺ Revertanten.
TA 98:

b) Untersuchung mit S-9 Mix

TA 1535: Sowohl im Standard plate test als auch nach Präinkubation der Substanz war eine Erhöhung der Mutanten-Kolonienzahl ab ca. 2500 μg zu erkennen (Faktor 2,0 - 2,5). Während jedoch im Standard plate test eine dosisabhängige Wirkung bis zu 7500 $\mu\text{g}/\text{Platte}$ (Faktor 5,1) zu beobachten war, führte die Substanz nach Präinkubation aufgrund einer bakteriotoxischen Wirkung zu keiner deutlicheren mutagenen Wirkung.

Ganz allgemein war die positive Reaktion im Versuchsteil mit metabolischer Aktivierung im Vergleich zur Untersuchung ohne S-9 Mix geringfügig stärker ausgeprägt.

TA 100: Sowohl im Standard plate test als auch
TA 1537: im Preincubation test keine Zunahme
TA 1538: der Zahl der his^+ Revertanten.
TA 98:

4.2. Toxizität

Im Standard plate test konnte bis zu einer Dosisierung von 5000 μg (TA 100, TA 1537, TA 1538, TA 98) bzw. 7500 μg (TA 1535) keine bakteriotoxische Wirkung beobachtet werden. Dagegen war nach Präinkubation der Substanz ab Mengen $> 2500 \mu\text{g}$ ein reduziertes his^- Backgroundwachstum bzw. ein Rückgang der Zahl der his^+ Revertanten bei den beiden Basenpaarstämmen TA 100 und TA 1535 eindeutig zu erkennen.

4.3. Löslichkeit

Vollständige Löslichkeit des Bis-2-chlorethylether in DMSO bis zur höchst gewählten Dosierung von 7500 $\mu\text{g}/\text{Platte}$.

4.4. Bewertung/Diskussion

Nach den vorliegenden Untersuchungsergebnissen wirkt der Bis-2-chlorethylether direkt mutagen im Ames-Test. Entgegen Literaturangaben (16, 17) war jedoch die positive Reaktion im Routine-Verfahren (Standard plate test) im Vergleich zu einer modifizierten Methode (Preincubation test) deutlicher ausgeprägt, da eine bakteriotoxische Wirkung nach Präinkubation der Substanz eine Zunahme der Zahl der Bakterien-Kolonien ab Dosierungen $> 2500 \mu\text{g}/\text{Platte}$ verhinderte.

B.A.S.F. A.G.
ABTEILUNG TOXIKOLOGIE

TABELLE: 1

STUDIEN-NR. : 84/17/1
STUD.-LEITER: ENG
LABORANT : SCHW
MESS-DATUM: 10.02.84

STD-BEZ. AMES-TEST MIT :84/40
METHODE: STANDARD PLATE TEST

STAMM: TA1535

DOSIS IN MCG/PL	MUTANTEN PRO PLATTE						TITER VERD. EXP-6	QUOTIENT	
	-S9	M	SD	+S9*	M	SD		-S9	+S9*
NEGATIV- KONTROLLE DMSO	12 18 -	15	4	17 14 10	14	4	42 41 41	1.0	1.0
20	13 13 17	14	2	13 11 16	13	3		1.0	1.0
100	10 18 13	14	4	13 11 16	13	3		0.9	1.0
500	21 17 14	17	4	14 13 14	14	1		1.2	1.0
2500	20 23 27	23	4	39 27 23	30	8	32 31 42	1.6	2.2
5000	29 45 30	35	9	45 40 46	44	3	36 29 27	2.3	3.2
POSITIV- KONTROLLE 2-AA 10				440 412 298	383	75			28.0
POSITIV- KONTROLLE MNNG 5	1490 1520 1500	1503	15					100.2	

* : S-9 FRAKTION/COFAKTOREN = 3:7
-: KONTAMINATION

EXP : EXPONENT ZUR BASIS 10

-B.A.S.F. A.G.
ABTEILUNG TOXIKOLOGIE

TABELLE: 2

STUDIEN-NR. : 84/17/1
STUD.-LEITER: ENG
LABORANT : SCHW
MESS-DATUM: 10.02.84

STD-BEZ.AMES-TEST MIT :84/40
METHODE: STANDARD PLATE TEST

STAMM: TA100

DOSIS IN MCG/PL	MUTANTEN PRO PLATTE						TITER VERD. EXP-6	QUOTIENT	
	-S9	M	SD	+S9*	M	SD		-S9	+S9*
NEGATIV- KONTROLLE DMSO	145 123 102	123	22	106 116 94	105	11	69 76 59	1.0	1.0
20	116 97 107	107	10	104 116 104	108	7		0.9	1.0
100	101 103 100	101	2	100 116 128	115	14		0.8	1.1
500	105 108 109	107	2	90 123 124	112	19		0.9	1.1
2500	108 124 135	122	14	146 126 129	134	11	55 75 61	1.0	1.3
5000	122 160 142	141	19	129 142 151	141	11	21 29 30	1.1	1.3
POSITIV- KONTROLLE 2-AA 10				2800 2250 2250	2433	318			23.1
POSITIV- KONTROLLE MNNG 5	1930 1910 2100	1980	104						16.1

* : S-9 FRAKTION/COFAKTOREN = 3:7

EXP :EXPONENT ZUR BASIS 10

B.A.S.F. A.G.
ABTEILUNG TOXIKOLOGIE

TABELLE: 3

STUDIEN-NR. : 84/17/1
STUD.-LEITER: ENG
LABORANT : SCHW
MESS-DATUM: 10.02.84

STD-BEZ.AMES-TEST MIT :84/40
METHODE: STANDARD PLATE TEST

STAMM: TA1537

DOSIS IN MCG/PL	MUTANTEN PRO PLATTE						TITER VERD.	QUOTIENT	
	-S9	M	SD	+S9*	M	SD	EXP-6	-S9	+S9*
NEGATIV- KONTROLLE DMSO	7 8 8	8	1	11 7 6	8	3	64 56 63	1.0	1.0
20	8 6 5	6	2	7 9 9	8	1		0.8	1.0
100	9 5 8	7	2	10 8 16	11	4		1.0	1.4
500	5 5 7	6	1	12 11 10	11	1		0.7	1.4
2500	- 7 6	7	1	8 4 13	8	5	52 31 44	0.8	1.0
5000	9 5 -	7	3	8 10 7	8	2	16 - 17	0.9	1.0
POSITIV- KONTROLLE 2-AA 10				161 155 149	155	6			19.4
POSITIV- KONTROLLE AAC 100	784 491 439	571	186					74.5	

* : S-9 FRAKTION/COFAKTOREN = 3:7
-:KONTAMINATION

EXP :EXPONENT ZUR BASIS 10

B.A.S.F. A.G.
ABTEILUNG TOXIKOLOGIE

TABELLE: 4

STUDIEN-NR. : 84/17/1

STUD.-LEITER: ENG

LABORANT : SCHM

MESS-DATUM: 10.02.84

.STD-BEZ.AMES-TEST MIT :84/40
METHODE: STANDARD PLATE TEST

STAMM: TA1538

DOSIS IN MCG/PL	MUTANTEN PRO PLATTE						TITER VERD.	QUOTIENT	
	-S9	M	SD	+S9*	M	SD	EXP-6	-S9	+S9*
NEGATIV- KONTROLLE DMSO	16	15	3	32	31	3	53	1.0	1.0
	17			28			47		
	12			34			68		
20	16	14	2	30	28	4		0.9	0.9
	13			30					
	13			23					
100	11	11	1	24	30	7		0.7	1.0
	10			38					
	11			29					
500	13	11	2	27	29	4		0.7	0.9
	10			34					
	10			27					
2500	12	14	3	31	31	1	31	1.0	1.0
	13			31			24		
	18			32			22		
5000	17	11	6	23	25	3	12	0.7	0.8
	6			28			10		
	9			25			4		
POSITIV- KONTROLLE 2-AA 10				700 615 846	720	117			23.0
POSITIV- KONTROLLE NPD 10	470 390 408	423	42						28.2

* : S-9 FRAKTION/COFAKTOREN = 3:7

EXP : EXPONENT ZUR BASIS 10

B.A.S.F. A.G.
ABTEILUNG TOXIKOLOGIE

TABELLE: 5

STUDIEN-NR.: 84/17/1
STUD.-LEITER: ENG
LABORANT: SCHW
MESS-DATUM: 10.02.84

STD-BE2.AMES-TEST MIT :84/40
METHODE: STANDARD PLATE TEST

STAMM: TA98

DOSIS IN MCG/PL	MUTANTEN PRO PLATTE						TITER VERD. EXP-6	QUOTIENT	
	-S9	M	SD	+S9*	M	SD		-S9	+S9*
NEGATIV- KONTROLLE DMSO	22 25 20	22	3	39 44 30	38	7	79 94 65	1.0	1.0
20	24 23 21	23	2	42 47 42	44	3		1.0	1.2
100	20 22 32	25	6	50 48 46	48	2		1.1	1.3
500	26 31 26	28	3	43 38 43	41	3		1.2	1.1
2500	30 28 29	29	1	- 42 42	42	0	46 43 36	1.3	1.1
5000	24 29 36	30	6	36 41 39	39	3	22 26 21	1.3	1.0
POSITIV- KONTROLLE 2-AA 10				1020 1230 1380	1210	181			32.1
POSITIV- KONTROLLE NPD 10	1070 1050 1150	1090	53					48.8	

* : S-9 FRAKTION/COFAKTOREN = 3:7
- : KONTAMINATION

EXP : EXPONENT ZUR BASIS 10

B.A.S.F. A.G.
ABTEILUNG TOXIKOLOGIE

TABELLE: 6

STUDIEN-NR. : 84/17/2
STUD.-LEITER: ENG
LABORANT : SCHW
MESS-DATUM: 20.2.84

STD-BEZ. AMES-TEST MIT :84/40
METHODE: PREINCUBATION TEST

STAMM: TA1535

DOSIS IN MCG/PL	MUTANTEN PRO PLATTE						TITER VERD.	QUOTIENT	
	-S9	M	SD	+S9*	M	SD	EXP-6	-S9	+S9*
NEGATIV- KONTROLLE DMSO	18	16	2	16	14	3	216	1.0	1.0
	15			16			173		
	16			11			188		
20	12	15	3	18	17	2		0.9	1.2
	18			15					
	15			18					
100	11	14	5	16	16	0		0.9	1.1
	12			16					
	20			16					
500	23	18	5	10	11	2		1.1	0.8
	15			13					
	15			10					
2500	31	25	7	32	29	4		1.6	2.0
	27			31					
	18			24					
5000	27B	18	12	36	30	5		1.1	2.1
	5B			28					
	23B			26					
7500	B	-	-	B	-	-		-	-
	B			B					
	B			B					
POSITIV- KONTROLLE 2-AA 10				135	156	18			10.9
				165					
				168					
POSITIV- KONTROLLE MNNG 5	1980	2137	316					130.8	
	1930								
	2500								

* : S-9 FRAKTION/COFAKTOREN = 3:7
B: REDUZ. his- BACKGROUNDWACHSTUM

EXP : EXPONENT ZUR BASIS 10

B.A.S.F. A.G.
ABTEILUNG TOXIKOLOGIE

TABELLE: 7

STUDIEN-NR. : 84/17/2
STUD.-LEITER: ENG
LABORANT : SCHW
MESS-DATUM: 20.02.84

STD-BEZ.AMES-TEST MIT :84/40
METHODE: PREINCUBATION TEST

STAMM: TA100

DOSIS IN MCG/PL	MUTANTEN PRO PLATTE						TITER VERD. EXP-6	QUOTIENT	
	-S9	M	SD	+S9*	M	SD		-S9	+S9*
NEGATIV- KONTROLLE DMSO	116 133 123	124	9	120 92 101	104	14	273 293 237	1.0	1.0
20	110 105 104	106	3	108 123 -	116	11		0.9	1.1
100	105 103 102	103	2	98 105 107	103	5		0.8	1.0
500	96 100 98	98	2	109 114 110	111	3		0.8	1.1
2500	131 134 150	138	10	119 118 114	117	3		1.1	1.1
5000	B B B	-	-	92B 49B -	71	30		-	0.7
7500	0 0 0	0	0	B B B	-	-		0.0	-
POSITIV- KONTROLLE 2-AA 10				1500 1540 1510	1517	21			14.5
POSITIV- KONTROLLE MNNG 5	1330 2100 2250	1893	494						15.3

* : S-9 FRAKTION/COFAKTOREN = 3:7 EXP : EXPONENT ZUR BASIS 10
- : KONTAMINATION B: REDUZ. his- BACKGROUNDWACHSTUM

B.A.S.F. A.G.
ABTEILUNG TOXIKOLOGIE

TABELLE: 8

STUDIEN-NR. : 84/17/3
STUD.-LEITER: ENG
LABORANT : SCHW
MESS-DATUM: 01.03.84

STD-BEZ. AMES-TEST MIT :84/40
METHODE: STANDARD PLATE TEST

STAMM: TA1535

DOSIS IN MCG/PL	MUTANTEN PRO PLATTE						TITER VERD. EXP-6	QUOTIENT	
	-S9	M	SD	+S9*	M	SD		-S9	+S9*
NEGATIV- KONTROLLE DMSO	11 13 20	15	5	15 14 9	13	3	215 178 193	1.0	1.0
100	15 14 29	19	8	10 14 11	12	2		1.3	0.9
500	16 26 -	21	7	14 14 20	16	3		1.4	1.3
2500	29 42 33	35	7	32 32 31	32	1		2.4	2.5
5000	- 44 44	44	0	54 44 47	48	5		3.0	3.8
7500	43 42 46	44	2	67 57 69	64	6		3.0	5.1
POSITIV- KONTROLLE 2-AA 10				329 313 390	344	41			27.2
POSITIV- KONTROLLE MNGG 5	1480 1340 1370	1397	74					95.2	

* : S-9 FRAKTION/COFAKTOREN = 3:7
-:KONTAMINATION

EXP :EXPONENT ZUR BASIS 10

5. LITERATUR

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 mutageni-
city test.
Mut. Res., 31, 347 - 364 (1975)
3. McCann, J.; Ames, B.N.:
Detection of carcinogens as mutagens in the Salmo-
nella/microsome test: Assay of 300 chemicals.
Proc. Nat. Acad. Sci. USA, 72, 5135 - 5139 (1975)
4. McCann, J.; Ames, B.N.:
Detection of carcinogens as mutagens in the Sal-
monella/microsome test: Assay of 300 chemicals:
Discussion.
Proc. Nat. Acad. Sci. USA, 73, 950 - 954 (1976)
5. Purchase, I.F.H.; Longstaff, E.; Ashby, J.;
Styles, J.A.; Anderson, D.; Lefevre, P.A.;
Westwood, F.R.:
An evaluation of six short term tests for detecting
organic chemical carcinogens
Br.J. Cancer, 37, 837 - 959 (1978)
6. Ames, B.N.:
Identifying environmental chemicals causing mutation
and cancer
Science, 204, 587 - 593 (1979)
7. Andrews, A.E.; Thibault, L.H.; Lijinsky, W.:
The relationship between carcinogenicity and mutage-
nicity of some polynuclear hydrocarbons
Mut. Res., 51, 311 - 318 (1978)

8. Clayson, D.B.:
ICPEMC working paper 2/1
Comparison between in vitro and in vivo tests for
carcinogenicity.
An overview
Mut. Res., 75, 205 - 213 (1980)
9. Glatt, H.R.; Schwind, H.; Zajdela, F.; Croisy, A.;
Jacquignon, P.C.; Oesch, F.:
Mutagenicity of 43 structurally related heterocyclic
compounds and its relationship to their carcinoge-
nicity.
Mut. Res., 66, 307 - 328 (1979)
10. Rinkus, S.J.; Legator, M.S.:
Chemical characterization of 445 known or suspected
carcinogens and their correlation with mutagenic ac-
tivity in the Salmonella typhimurium system.
Cancer Res., 38, 3289 - 3319 (1979)
11. Ames, B.N.; Lee, F.D.; Durston, W.E.:
An improved bacterial test system for the detec-
tion and classification of mutagens and carcino-
gens.
Proc. Nat. Sci. USA, 70, 782 - 786 (1973)
12. 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)
13. Alvares, A.P.; Bickers, D.R.; Kappas, A.:
Polychlorinated biphenyls: A new type of inducer
of cytochrome P-448 in the liver.
Proc. Nat. Acad. Sci. USA, 70, 1321 - 1325 (1973)
14. Yahagi, T.; Nagao, M.; Seino, Y.; Mathsushima, T.;
Sugimura, T.; Okada, M.:
Mutagenicities of N-nitrosamines in Salmonella.
Mut. Res., 48, 121 - 130 (1977)

15. 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)
16. Simmon, V.F.; Kauhanen, K.; Tardiff, R.G.:
Mutagenic activity of chemicals identified in drinking water
In: Scott, D.; Bridges, B.A. and Sobels, F.H. (eds.), Progress in Genetic Toxicology, Elsevier/North-Holland Biomedical Press, 1977.
17. Fishbein, L.:
Potential halogenated industrial carcinogenic and mutagenic chemicals.
III. Alkane halides, alkanols and ethers.
The Science of the Total Environment, 11, 223 - 257 (1979)

Vertraulich

8.2

01. MRZ. 1984

84/40
GOLDORFE
(LEUCISCUS IDUS L., GOLDVARIANTE)

SEITE 1
BASF AKTIENGESELLSCHAFT
ABTEILUNG TOXIKOLOGIE *lv*

BERICHT UEBER DIE PRUEFUNG DER AKUTEN TOXIZITAET



SUBSTANZBEZEICHNUNG: BIS-2-CHLORETHYLETHER

TIERART: GOLDORFE (LEUCISCUS IDUS L., GOLDVARIANTE)

SUBSTANZ NR.: 84/40

AUFTRAGGEBER: CIX/PO

ZUSAMMENFASSUNG:

LC 50 (MG/L; NOMINALE KONZENTRATIONEN) NACH

1H	GROESSER	680	(MG/L)	(1 % SIGNIFIKANZLEVEL)
4H	GROESSER	680	(MG/L)	(5 % SIGNIFIKANZLEVEL)
24H	GROESSER	460	(MG/L)	(1 % SIGNIFIKANZLEVEL)
	KLEINER	680	(MG/L)	(1 % SIGNIFIKANZLEVEL)
48H	GROESSER	460	(MG/L)	(1 % SIGNIFIKANZLEVEL)
	KLEINER	680	(MG/L)	(1 % SIGNIFIKANZLEVEL)
72H	GROESSER	460	(MG/L)	(5 % SIGNIFIKANZLEVEL)
	KLEINER	680	(MG/L)	(1 % SIGNIFIKANZLEVEL)
96H	CIRCA	460	(MG/L)	

SYMPTOMATIK :
APATHIE, HAUTBLUTUNGEN, LUFTSCHNAPPEN, NARKOSEAEHNL. ZUSTAND,
TAUMELN

HOECHSTE KONZENTRATION OHNE BEOBACHTETE WIRKUNG: 100 MG/L

HOECHSTE KONZENTRATION OHNE MORTALITAET: 316 MG/L

NIEDRIGSTE KONZENTRATION MIT 100 % MORTALITAET: 681 MG/L

J. M. 28.2.84
PRIV. DOZ. DR. MED. DR. RER. NAT. H.-P. GELBKE

Munk, 27.02.1984
DR. RER. NAT. R. MUNK
VERSUCHSDURCHFUEHRUNG

DIESER BERICHT IST EIGENTUM DER BASF UND DARF NUR MIT DEREN
AUSDRUECKLICHER GENEHMIGUNG WEITERGEGEBEN, VERVIELFAELTIGT ODER
VEROEFFENTLICHT WERDEN.

84/40
GOLDORFE
(LEUCISCUS IDUS L., GOLDVARIANTE)

SEITE 2
BASF AKTIENGESELLSCHAFT
ABTEILUNG TOXIKOLOGIE

TESTSUBSTANZ:

SUBSTANZ NR.: 84/40

SUBSTANZBEZEICHNUNG: BIS-2-CHLORETHYLETHER

CHARAKTERISIERUNG: ANGABEN ZUR CHARAKTERISIERUNG DER SUBSTANZ
BEFINDEN SICH BEI DEN VERSUCHSUNTERLAGEN.

SUBSTANZHERKUNFT: CHEMIKALIENLAGER B 5; LAGER-NR. 41 13600
VON FA. MERCK

LOESLICHKEIT IN WASSER: 1.0 % (W/W)

84/40
GOLDORFE
(LEUCISCUS IDUS L., GOLDVARIANTE)

SEITE 3
BASF AKTIENGESELLSCHAFT
ABTEILUNG TOXIKOLOGIE

METHODE:

STATISCHER FISCHTEST NACH DIN 38 412, TESTVERFAHREN MIT WASSER-
ORGANISMEN (GRUPPE L). "ALLGEMEINE HINWEISE ZUR PLANUNG, DURCH-
FUEHRUNG UND AUSWERTUNG BIOLOGISCHER TESTVERFAHREN" (L1) UND
"BESTIMMUNG DER WIRKUNG VON WASSERINHALTSSTOFFEN AUF FISCHE -
FISCHTEST" (L15). JUNI 1982

TAG- NACHTRHYTHMUS: 16 STD. TAG, 8 STD. NACHT

BELUEFTUNG: SCHWACH

SUBSTANZAUFBEREITUNG: DAS PRODUKT WURDE OHNE VORBEHANDLUNG IN DAS
TESTWASSER GEGEBEN; ANSCHLIESSEND EINSETZEN
DER FISCHE.

ARCHIVIERUNG:

DIE ROHDATEN UND DAS ORIGINAL DES BERICHTES WERDEN IN DER BASF
AKTIENGESELLSCHAFT, ABTEILUNG TOXIKOLOGIE, ARCHIVIERT.

84/40
GOLDORFE
(LEUCISCUS IDUS L., GOLDVARIANTE)

SEITE 4
BASF AKTIENGESELLSCHAFT
ABTEILUNG TOXIKOLOGIE

VERSUCHSTIERE:

TIERART: GOLDORFE (LEUCISCUS IDUS L., GOLDVARIANTE)

LIEFERUNG VOM: 04.10.1983

LIEFERANT: FISCHZUCHT PAUL EGGERS
D-2354 HOHENWESTEDT

ZUECHTER: SIEHE LIEFERANT

FISCHLAENGE: 6,6 CM (SPANNE: 6.2 - 7.1)

FISCHGEWICHT: 2,4 G (SPANNE: 1.6 - 3.2)

KORPULENZFAKTOR DER LIEFERUNG*: 0,84

POSITIVKONTROLLE DER LIEFERUNG MIT CHLORACETAMID
LC 50 NACH 48 STD.: CA. 28 MG/L

DIESE LETALKONZENTRATION ENTSPRICHT DER NORMALEN EMPFINDLICHKEIT.

HAELTERUNG:

DIE HAELTERUNG ERFOLGTT IN UEBER AKTIVKOHLE GEREINIGTEM UND
ENTCHLORTEM LEITUNGSWASSER IN KONTINUIERLICHEM DURCHFLUSS BEI
BELUEFTUNG MIT OELFREIER LUFT.

TAG- NACHTRHYTHMUS: 16 STD. HELL, 8 STD. DUNKEL

GESAMTHAERTE : CA. 2.6 MMOL/L

KARBONATHAERTE : CA. 2.6 MMOL/L

SAUERSTOFFGEHALT: > 60 % DER MAX. SAETTIGUNG

PH WERT : CA. 7.5

DAUER: 17 WOCHEN

WASSEITEMPERATUR: 14 - 20 GRD.C.

MORTALITAET IN DEN 2 WOCHEN VOR VERSUCHSBEGINN: 0 %

MEDIZINISCHE BEHANDLUNG: 1 MAL MIT 0,05 MG/L MALACHITGRUENCHLORID
1 MAL MIT 10 MG/L TETRACYCLINHYDROCHLORID

FUTTER: "FUKOSALM" - ANSCHLUSSFUTTER 1
FUKO - KRAFTFUTTERFABRIK, D-7900 ULM

AD LIBITUM

* DER KORPULENZFAKTOR K WIRD AUS DEM GEWICHT G (G) UND DER
LAENGE L (CM), GEMESSEN VON DER MAULSPITZE BIS ZUM ENDE DER
SCHWANZFLOSSE, NACH DER FORMEL $K=100 \times G/L^{**3}$ BERECHNET.

84/40
GOLDORFE
(LEUCISCUS IDUS L., GOLDVARIANTE)

SEITE 5
BASF AKTIENGESELLSCHAFT
ABTEILUNG TOXIKOLOGIE

VERSUCHSDURCHFUEHRUNG:

DER VERSUCH WURDE GEMAESS DEN IM LABOR GUELTIGEN ALLGEMEINEN
ARBEITSANWEISUNGEN (SOP) DURCHGEFUEHRT.

TESTWASSER: SYNTH. SUESSWASSER NACH DIN 38 412, TEIL 11,
ENTWURF SEPT. 1981
HERSTELLUNG AUS VOLLENTSALZTEM LEITUNGSWASSER;
LEITFAEHIGKEIT: MAX. 10 MIKRO S/CM

DIE AUFSALZUNG ERFOLGT DURCH ZUGABE VON

294.0 MG/L $\text{CaCl}_2 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$
123.3 MG/L $\text{MgSO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$
64.8 MG/L NaHCO_3
5.8 MG/L KCl

KONTINUIERLICHE BELUEFTUNG MIT OELFREIER LUFT

GEBRAUCHSFERTIGES TESTWASSER:

GESAMTHAERTE	: 2,5 MMOL/L
KARBONATHAERTE	: 0.8 MMOL/L
VERHAELTNIS Ca/Mg IONEN	: 4 : 1
VERHAELTNIS Na/K IONEN	: 10 : 1
PH-WERT	: CA. 7.8

WASSERMENGE: 10 LITER

TIERZAHL PRO VERSUCHSGLIED: 10

BESATZDICHTE (G FISCH / LITER TESTWASSER): 2,4

TESTGEFAESSE: VOLLGLASAQUARIEN (30 CM X 22 CM X 24 CM)
INHALT: 10 LITER

TESTTEMPERATUR: 20 GRD.C. +-1

ADAPTATIONSZEIT: 3 TAGE

VERSUCHSZEITRAUM: 06.02.1984 - 10.02.1984

84/40
GOLDORFE
(LEUCISCUS IDUS L., GOLDVARIANTE)

SEITE 6
BASF AKTIENGESELLSCHAFT
ABTEILUNG TOXIKOLOGIE

UNTERSUCHUNGEN:

BESTIMMUNG DER MORTALITAET UND DER SYMPTOMATIK;

ABSCHAETZUNG BZW. BERECHNUNG DER MITTLEREN LETALEN KONZENTRATION
(LC 50) UND, WENN MOEGlich, DER LC 5 UND DER LC 95 MIT PROBITANA-
LYSE* NACH STUNDEN (NOMINALE KONZ.): 1, 4, 24, 48, 72, 96

* FINNEY, D.J., PROBIT ANALYSIS, CAMBR. UNIV. PRESS, 3. AUFL. 1971
DIE METHODE IST IN EINIGEN PUNKTEN MODIFIZIERT. DIE GENAUE
BESCHREIBUNG IST IN DEN ALLGEMEINEN ARBEITSANWEISUNGEN DES
LABORS BESCHRIEBEN.

ERGEBNISSE :

NOMINALE KONZ. (MG/L)	ANZAHL FISCHE BEGINN	TOTE FISCHE NACH					
		1 H	4 H	24 H	48 H	72 H	96 H
68.1	10	0	0	0	0	0	0
100.0	10	0	0	0	0	0	0
147.0	10	0	0	0	0	0	0
215.0	10	0	0	0	0	0	0
316.0	10	0	0	0	0	0	0
464.0	10	0	0	0	0	1	4
681.0	10	0	1	10	10	10	10
0.	10	0	0	0	0	0	0

NOMINALE KONZ. (MG/L)	SYMPTOME					
	1 H	4 H	24 H	48 H	72 H	96 H
68.1						
100.0						
147.0		Y				
215.0		A				
316.0		A	LA	L	L	L
464.0	YAL	AY	LY	LTNY	LTNY	LTN
681.0	YLTN	TNY				
0.						

SYMPTOMENSCHLUESSEL :

A=APATHIE
 E=EXOPHTHALMUS
 H=HYPERREFLEXIE
 L=LUFTSCHNAPPEN
 T=TAUMELN
 V=VERFAERBUNG
 X=BESCHLEUNIGTE ATMUNG

B=AUFGETRIEBENER BAUCH
 F=FLUCHTVERSUCHE
 K=KRAEMPFE
 N=NARKOSEAEHNL. ZUSTAND
 U=UNRUHE
 W=KOPFSTAND
 Y=HAUTBLUTUNGEN

84/40
GOLDORFE
(LEUCISCUS IDUS L., GOLDVARIANTE)

SEITE 8
BASF AKTIENGESELLSCHAFT
ABTEILUNG TOXIKOLOGIE

ERGEBNISSE :

NOMINALE KONZ. (MG/L)	PH-WERT				
	BEGINN	24 H	48 H	72 H	96 H
68.1	7.5	7.5	7.8	7.6	7.6
100.0	7.6	7.6	7.8	7.8	7.8
147.0	7.7	7.7	7.8	7.8	7.8
215.0	7.5	7.5	7.6	7.6	7.6
316.0	7.6	7.7	7.8	7.7	7.7
464.0	7.4	7.4	7.4	7.4	7.5
681.0	7.5	7.9			
0.	7.5	7.6	7.7	7.7	7.7

NOMINALE KONZ. (MG/L)	SAUERSTOFFGEHALT (MG/L)				
	BEGINN	24 H	48 H	72 H	96 H
68.1	8.3	8.2	8.2	8.6	8.2
100.0	8.6	8.5	8.5	8.7	8.6
147.0	8.8	8.6	8.6	8.8	8.6
215.0	8.2	8.0	8.8	8.4	8.2
316.0	8.5	8.5	8.8	8.6	8.4
464.0	8.0	7.8	8.0	7.2	7.1
681.0	8.4	8.9			
0.	8.0	8.3	8.7	8.8	8.2

84/40
GOLDORFE
(LEUCISCUS IDUS L., GOLDVARIANTE)

SEITE 9
BASF AKTIENGESELLSCHAFT
ABTEILUNG TOXIKOLOGIE

ERGEBNISSE :

NOMINALE KONZ. (MG/L)	TEMPERATUR (GRD.C.)				
	BEGINN	24 H	48 H	72 H	96 H
68.1	20	20	20	20	20
100.0	20	20	20	20	20
147.0	20	20	20	20	20
215.0	20	20	20	20	20
316.0	20	20	20	20	20
464.0	21	21	21	20	20
681.0	21	21			
0.	20	20	20	20	20

84/40
GOLDORFE
(LEUCISCUS IDUS L., GOLDVARIANTE)

SEITE 10
BASF AKTIENGESELLSCHAFT
ABTEILUNG TOXIKOLOGIE

STATISTISCHE AUSWERTUNG

NOMINALE KONZENTRATION

FISCHTOXIZITAET NACH	1 H	SEITE 11
	4 H	SEITE 12
	24 H	SEITE 13
	48 H	SEITE 14
	72 H	SEITE 15
	96 H	SEITE 16

NOMINALE KONZENTRATIONEN

FISCHTOXIZITAET : ZEITPUNKT 1H

KONZEN- TRATION (MG/L)	ANZAHL FISCHE BEGINN	TOTE FISCHE NACH 1H	MORTA- LITAET (%)	KONZEN- TRATION VER- WENDET
68.1	10	0	0.	
100.0	10	0	0.	
147.0	10	0	0.	
215.0	10	0	0.	
316.0	10	0	0.	
464.0	10	0	0.	
681.0	10	0	0.	*

LC50-WERT > 681.0 (1 % SIGNIFIKANZLEVEL)

84/40
GOLDORFE
(LEUCISCUS IDUS L., GOLDVARIANTE)

SEITE 12
BASF AKTIENGESELLSCHAFT
ABTEILUNG TOXIKOLOGIE

NOMINALE KONZENTRATIONEN

FISCHTOXIZITAET : ZEITPUNKT 4H

KONZEN- TRATION (MG/L)	ANZAHL FISCHE BEGINN	TOTE FISCHE NACH 4H	MORTA- LITAET (%)	KONZEN- TRATION VER- WENDET
68.1 ¹	10	0	0.	
100.0	10	0	0.	
147.0	10	0	0.	
215.0	10	0	0.	
316.0	10	0	0.	
464.0	10	0	0.	
681.0	10	1	10.0	*

LC50-WERT > 681.0 (5 % SIGNIFIKANZLEVEL)

NOMINALE KONZENTRATIONEN

FISCHTOXIZITAET : ZEITPUNKT 24H

KONZEN- TRATION (MG/L)	ANZAHL FISCHE BEGINN	TOTE FISCHE NACH 24H	MORTA- LITAET (%)	KONZEN- TRATION VER- WENDET
68.1	10	0	0.	
100.0	10	0	0.	
147.0	10	0	0.	
215.0	10	0	0.	
316.0	10	0	0.	
464.0	10	0	0.	*
681.0	10	10	100.0	*

LC50-WERT > 464.0 (1 % SIGNIFIKANZLEVEL)
LC50-WERT < 681.0 (1 % SIGNIFIKANZLEVEL)

NOMINALE KONZENTRATIONEN

FISCHTOXIZITAET : ZEITPUNKT 48H

KONZEN- TRATION (MG/L)	ANZAHL FISCHE BEGINN	TOTE FISCHE NACH 48H	MORTA- LITAET (%)	KONZEN- TRATION VER- WENDET
68.1	10	0	0.	
100.0	10	0	0.	
147.0	10	0	0.	
215.0	10	0	0.	
316.0	10	0	0.	
464.0	10	0	0.	*
681.0	10	10	100.0	*

LC50-WERT > 464.0 (1 % SIGNIFIKANZLEVEL)

LC50-WERT < 681.0 (1 % SIGNIFIKANZLEVEL)

84/40
GOLDORFE
(LEUCISCUS IDUS L., GOLDVARIANTE)

SEITE 15
BASF AKTIENGESELLSCHAFT
ABTEILUNG TOXIKOLOGIE

NOMINALE KONZENTRATIONEN

FISCHTOXIZITAET : ZEITPUNKT 72H

KONZEN- TRATION (MG/L)	ANZAHL FISCHE BEGINN	TOTE FISCHE NACH 72H	MORTA- LITAET (%)	KONZEN- TRATION VER- WENDET
68.1	10	0	0.	
100.0	10	0	0.	
147.0	10	0	0.	
215.0	10	0	0.	
316.0	10	0	0.	
464.0	10	1	10.0	*
681.0	10	10	100.0	*

LC50-WERT > 464.0 (5 % SIGNIFIKANZLEVEL)
LC50-WERT < 681.0 (1 % SIGNIFIKANZLEVEL)

84/40
GOLDORFE
(LEUCISCUS IDUS L., GOLDVARIANTE)

SEITE 16
BASF AKTIENGESELLSCHAFT
ABTEILUNG TOXIKOLOGIE

NOMINALE KONZENTRATIONEN

FISCHTOXIZITAET : ZEITPUNKT 96H

KONZEN- TRATION (MG/L)	ANZAHL FISCHE BEGINN	TOTE FISCHE NACH 96H	MORTA- LITAET (%)	KONZEN- TRATION VER- WENDET
68.1	10	0	0.	
100.0	10	0	0.	
147.0	10	0	0.	
215.0	10	0	0.	
316.0	10	0	0.	
464.0	10	4	40.0	*
681.0	10	10	100.0	

LC50-WERT CIRCA 464.0

302148

BASF CORPORATION

TSCA 8(d) HEALTH & SAFETY STUDY REPORTS SUBMISSION

**121-69-7
THRU
131-57-7**

BOOK 2 OF 5