

DIN EN 16418

ICS 85.060

Einsprüche bis 2012-06-23

Entwurf

**Papier und Pappe –
Bestimmung der Zytotoxizität in wässrigen Extrakten unter Verwendung
einer metabolisch kompetenten Hepatom-Zelllinie (HepG2);
Deutsche Fassung prEN 16418:2012**

Paper and board –

Determination of the cytotoxicity of aqueous extracts using a metabolically competent hepatoma cell line (HepG2);

German version prEN 16418:2012

Papier-carton –

Détermination de l'effet cytotoxique des extraits aqueux en utilisant une lignée cellulaire d'origine hépatique possédant des enzymes du métabolisme (allèles HepG2);

Version allemande prEN 16418:2012

Anwendungswarnvermerk

Dieser Norm-Entwurf mit Erscheinungsdatum 2012-03-12 wird der Öffentlichkeit zur Prüfung und Stellungnahme vorgelegt.

Weil die beabsichtigte Norm von der vorliegenden Fassung abweichen kann, ist die Anwendung dieses Entwurfes besonders zu vereinbaren.

Stellungnahmen werden erbeten

- vorzugsweise als Datei per E-Mail an npa@din.de in Form einer Tabelle. Die Vorlage dieser Tabelle kann im Internet unter www.din.de/stellungnahme oder für Stellungnahmen zu Norm-Entwürfen der DKE unter www.dke.de/stellungnahme abgerufen werden;
- oder online im Norm-Entwurfs-Portal des DIN unter www.entwuerfe.din.de, sofern dort wiedergegeben;
- oder in Papierform an den Normenausschuss Papier, Pappe und Faserstoff (NPp) im DIN, 10772 Berlin (Hausanschrift: Burggrafenstr. 6, 10787 Berlin).

Die Empfänger dieses Norm-Entwurfs werden gebeten, mit ihren Kommentaren jegliche relevanten Patentrechte, die sie kennen, mitzuteilen und unterstützende Dokumentationen zur Verfügung zu stellen.

Gesamtumfang 23 Seiten

Normenausschuss Papier, Pappe und Faserstoff (NPp) im DIN

Nationales Vorwort

Diese Europäische Norm wurde vom Technischen Komitee CEN/TC 172 „Faserstoff, Papier und Pappe“ erarbeitet, dessen Sekretariat vom DIN (Deutschland) gehalten wird. Entscheidendes Gremium innerhalb des CEN/TC 172 ist die WG 12 „Messung der Zytotoxizität“, die unter dem Vorsitz Finnlands steht.

Das zuständige deutsche Gremium ist der Arbeitsausschuss NA 074-02-01 AA „Chemisch-technologische Prüfverfahren für Papier, Pappe, Faserstoff und Chemiezellstoff“ im Normenausschuss Papier, Pappe und Faserstoff (NPa).

Papier und Pappe — Bestimmung der Zytotoxizität von wässrigen Extrakten unter Verwendung einer metabolisch kompetenten Hepatom-Zelllinie (HepG2)

Papier et carton — Détermination de l'effet cytotoxique des extraits aqueux en utilisant une lignée cellulaire d'origine hépatique possédant des enzymes du métabolisme (allules HepG2)

Paper and board — Determination of the cytotoxicity of aqueous extracts using a metabolically competent hepatoma cell line (HepG2)

ICS:

Deskriptoren

Dokument-Typ: Europäische Norm
Dokument-Untertyp:
Dokument-Stage: CEN-Umfrage
Dokument-Sprache: D

X:\TA3\TG3-1\NA 074\DIN\NA 074-02-01 AA\Projekte\DIN_EN_16418\EN_16418_(D)_tr.doc
RC2

Inhalt

Seite

Vorwort	4
1 Anwendungsbereich	5
2 Normative Verweisungen	5
3 Begriffe	5
4 Kurzbeschreibung	6
5 Reagenzien	6
6 Zelllinie.....	8
6.1 Generieren des Zellstamms	8
6.2 Erhaltung des Zellstamms	8
6.3 Lagerung des Zellstamms	9
7 Lebensmittelsimulantien für die Prüfung.....	9
8 Reinigung der Labor-Glasgeräte	9
8.1 Reinigungs-Flüssigkeiten für Labor-Glasgeräte	9
8.2 Reinigungsverfahren für Labor-Glasgeräte	9
9 Ausrüstung	10
9.1 Ausrüstung für den Migrationstest.....	10
9.2 Zellkulturausrüstung	10
9.3 Ausrüstung für die Zytotoxizitätsprüfung.....	10
10 Probenvorbereitung.....	11
10.1 Allgemeines	11
10.2 Papier und Karton, vorgesehen für den Feuchtekontakt.	11
11 Zytotoxizitäts-Prüfung.....	11
11.1 Kurzbeschreibung	11
11.2 Allgemeines	11
11.3 Zell-Beimpfung.....	12
11.4 Probenvorbereitung.....	12
11.5 Behandlung der Zellkultur	12
11.6 Vorbereitung des Chromatographieblattes	13
11.7 Kinetik der Uridin-Aufnahme in die Zell-RNS	13
11.8 Messung der RNS-Synthese.....	13
12 Angabe der Ergebnisse.....	14
12.1 Graphische Darstellung der Ergebnisse	14
12.2 Berechnung der prozentualen RNS-Synthese und der Gültigkeit des Versuchs	15
12.2.1 Allgemeines	15
12.2.2 Referenzprobe.....	15
12.2.3 Negativ-Kontrollprobe	15
12.2.4 Positivkontrollprobe	15
12.2.5 Versuchsprobe.....	16
13 Interpretation der Ergebnisse.....	16
13.1 Ergebnisse der Referenzprobe.....	16
13.2 Ergebnisse der Positivkontrollprobe.....	16
13.3 Ergebnisse der Versuchsprobe.....	16
14 Präzision	17
15 Prüfbericht.....	17
Anhang A (informativ) 96-Well-Plattenkonfiguration.....	18

Anhang B (informativ) Arbeitsablauf des Zytotoxizitätstests zur RNS-Syntheseratehemmung	19
Anhang C (informativ) Validierung der beiden Verfahren (Option A und B)	20
Literaturhinweise	21

Vorwort

Dieses Dokument (prEN 16418:2012) wurde vom Technischen Komitee CEN/TC 172 „Faserstoff, Papier und Pappe“ erarbeitet, dessen Sekretariat vom DIN gehalten wird.

Dieses Dokument ist derzeit zur CEN-Umfrage vorgelegt.

1 Anwendungsbereich

Dieses Dokument legt ein Prüfverfahren für die Laboruntersuchung des potentiellen zytotoxischen Effekts von Lebensmittelkontaktmaterialien aus Papier oder Pappe, spezifisch unter Verwendung der HepG2-Zelllinie, fest.

Im Vergleich zur EN 15845 [1] repräsentieren HepG2-Zellen besser den oralen Kontakt des Menschen mit Xenobiotika aufgrund des Vorhandenseins von Phase I, II und III –Stoffwechselenzymen in den Zellen.

2 Normative Verweisungen

Die folgenden zitierten Dokumente sind für die Anwendung dieses Dokuments erforderlich. Bei datierten Verweisungen gilt nur die in Bezug genommene Ausgabe. Bei undatierten Verweisungen gilt die letzte Ausgabe des in Bezug genommenen Dokuments (einschließlich aller Änderungen).

EN 645, *Papier und Pappe vorgesehen für den Kontakt mit Lebensmitteln — Herstellung eines Kaltwasserextraktes*

EN 647, *Papier und Pappe vorgesehen für den Kontakt mit Lebensmitteln — Herstellung eines Heißwasserextraktes*

EN ISO 3696, *Wasser für analytische Laborzwecke — Spezifikation und Prüfverfahren*

3 Begriffe

Für die Anwendung dieses Dokuments gelten die folgenden Begriffe.

3.1

Referenzwasser

Leitungswasser, das folgenden Bearbeitungsschritten unterzogen werden sollte: Vorfiltrierung, Umkehr-Osmose, Filterung durch Aktivkohlepulver (Adsorption) und Mischbett-Ionenaustauscherharzen (Demineralisierung), Ultrafiltration (Molekulargewichts-Trenngrenze bei 10 kDa) und UV-Photooxidation

ANMERKUNG Alternativ kann auch jede andere Reinigungs-Prozedur verwendet werden, die Wasser von HPLC-Qualität hervorbringt (Widerstand > 18,0 MΩ/cm, gesamt organisch gebundener Kohlenstoff < 3 ppb, keine Mikroorganismen) oder Wasser der Qualität 1 oder 2 nach EN ISO 3696.

3.2

Wasserextrakt

Referenzwasser, welches in Kontakt mit Papier oder Pappe gebracht wurde

ANMERKUNG Siehe EN 645 oder EN 647 mit äquivalenten Modifizierungen.

3.3

Negativkontrollwasser

Referenzwasser, welches unter den gleichen Bedingungen wie der Wasserextrakt behandelt wurde, jedoch ohne dem Kontakt mit Papier oder Pappe ausgesetzt gewesen zu sein

3.4

Positivkontrollwasser

Kaliumdichromat-Lösung (CAS 7778-50-9), 2,5 mg/l Lösung wird mit Referenzwasser frisch hergestellt und anschließend durch Filtration (0,22 µm) sterilisiert. Lösung wird bei Raumtemperatur im Dunkeln aufbewahrt sowie eine Stammlösung aus 2 µm/ml Benzo[a]pyren-Lösung (CAS 50-32-8), welche in Dimethylsulfoxid (DMSO) hergestellt und bei 4 °C im Dunkeln gelagert wird. Diese ist vor Verwendung 1 000-fach in Referenzwasser zu verdünnen.