DIN EN 15634-4:2023-05 (D)

Lebensmittel - Nachweis von Lebensmittelallergenen mit molekularbiologischen Verfahren - Teil 4: Erdnuss (Arachis hypogaea) - Qualitativer Nachweis einer spezifischen DNA-Sequenz in Schokolade mittels Real-time PCR; Deutsche Fassung EN 15634-4:2023

Inhalt

Seite

Europäisches Vorwort ... 3

Einleitung ... 4

1 Anwendungsbereich ... 5

2 Normative Verweisungen ... 5

3 Begriffe ... 5

4 Kurzbeschreibung ... 5

5 Reagenzien ... 5
5.1 Allgemeines ... 5
5.2 Extraktionsreagenzien ... 5
5.3 DNA-Aufreinigung mittels Festphasenextraktion ... 6
5.4 Real-time-PCR-Reagenzien ... 7

6 Geräte und Ausstattung ... 7
6.1 Allgemeines ... 7
6.2 DNA-Extraktion ... 7
6.3 PCR ... 8

7 Durchführung ... 8
7.1 Allgemeines ... 8
7.2 Probenvorbereitung ... 8
7.3 Herstellung der Extrakte ... 8
7.3.1 DNA-Extraktion mit CTAB und DNA-Aufreinigung ... 8
7.3.2 Quantifizierung der DNA-Konzentration und Reinheits-/Qualitätskontrolle ... 9
7.4 Einstellungen für die Real-time-PCR ... 9
7.4.1 Reaktionsansatz für die Real-time-PCR ... 9
7.4.2 Positivkontrolle der DNA-Targets ... 11
7.4.3 Negativkontrolle der DNA-Targets ... 11
7.4.4 PCR-Inhibitionskontrolle ... 11
7.4.5 Amplifikations-Reagenzienkontrolle ... 11
7.4.6 Negative Extraktionskontrolle ... 11
7.4.7 Positive Extraktionskontrolle ... 11
7.4.8 Temperatur-Zeit-Programm (Real-time-PCR) ... 11
7.4.9 Kriterien für Annahme/Zurückweisung ... 12
7.4.10 Identifizierung ... 12

8 Validierung ... 13
8.1 Allgemeines ... 13
8.2 Spezifität ... 13
8.3 Validierungsstudie im Ringversuch ... 13
8.3.1 Aufbau des Ringversuchs ... 13
8.3.2 Ergebnisse der Ringversuch-Validierung ... 14

9 Untersuchungsbericht ... 15

Literaturhinweise ... 16