



Qualitätssicherung. **Vom Landwirt bis zur Ladentheke.**



**QS. Ihr Prüfsystem
für Lebensmittel.**

14. Februar 2013

Zur Thematik „Pferdefleisch in Fleischerzeugnissen“ Laboranalytik zur Bestimmung der Fleischanteile

Entlang der Lebensmittelkette, insbesondere im Lebensmitteleinzelhandel, werden derzeit verstärkt Untersuchungen zur Bestimmung der Fleischanteile in Fleisch und in Fleischerzeugnissen durchgeführt. Die nachfolgenden Hinweise zur Laboranalytik beschreiben das Verfahren und geben Auskunft zur Verlässlichkeit der Analyseergebnisse.

Gängige Methode für die Bestimmung von Fleischanteilen ist die DNA-Analyse, ein molekularbiologisches Verfahren, das Rückschlüsse auf die verwendeten Arten zulässt.

Entscheidend für den Erfolg jeder DNA-analytischen Untersuchung ist die Verfügbarkeit möglichst reiner DNA in ausreichender Menge. Die Qualität und die Quantität der aus einem Ausgangsmaterial isolierten DNA ist direkt abhängig von dessen Verarbeitungsgrad. Je stärker das Material verarbeitet ist, umso kürzer wird die durchschnittliche Fragmentlänge der ursprünglich sehr langen DNA sein.

In der DNA-Analytik wird zwischen den Verfahren *Endpunkt-PCR* und *realtime PCR* unterschieden.

1. Endpunkt-PCR

Bei der *Endpunkt-PCR* werden große unspezifische Abschnitte der DNA vermehrt. Diese Abschnitte werden anschließend chemisch zerschnitten und anhand ihres Musters identifiziert. Die *Endpunkt-PCR* eignet sich wegen des beschriebenen Prozesses für die Bestimmung von Fleischanteilen in nicht oder nur schwach verarbeiteten Produkten.

2. realtime-PCR

Die *realtime PCR* vermehrt ein winziges, spezifisches DNA-Fragment, das durch Anlagerung einer spezifischen Sonde sichtbar gemacht wird. Für die Durchführung einer *realtime-PCR* reichen aus diesem Grund bereits die kurzen DNA-Fragmente aus, die in hochverarbeiteten Produkten zu finden sind.



Qualitätssicherung. **Vom Landwirt bis zur Ladentheke.**



**QS. Ihr Prüfsystem
für Lebensmittel.**

Die *realtime-PCR* ist die gängige Methode zur Bestimmung von Fleischanteilen in hochverarbeiteten Produkten.

- Für die Durchführung der *realtime-PCR* gibt es keine amtliche (§ 64 LFGB) Methode. Die Labore haben eigene Methoden im Labor standardisiert, validiert und akkreditiert.
- Die DNA-Analyse nach dem *realtime-PCR*-Verfahren liefert in 1 bis 3 Tagen Ergebnisse. Die Kosten für eine Analyse liegen abhängig vom konkreten Anbieter zwischen EUR 75,00 und EUR 120,00. Als Probematerial muss 1 Originalprobe eingereicht werden.
- In rohem unverarbeitetem Fleisch liegt die Nachweisgrenze für Fleischanteile bei deutlich unter 0,1%, in verarbeiteten Produkten liegt sie mit > 0,5 % deutlich darüber. Durch Erhitzungsprozesse verringert sich der Anteil verwertbarer DNA.

Bei Fertiggerichten wird die Probe gewöhnlich aus dem Fleischanteil entnommen. Das Ergebnis wird gegen den Gesamtfleischgehalt quantifiziert (quantitative Aussage: Anteil an Fremdfleisch liegt über der Nachweisgrenze von x % relativen Anteil Fleisch).

Grundsätzlich ist die DNA stabil. Durch Erhitzungsprozesse kann DNA denaturiert werden. Vom Labor wird der Verarbeitungsgrad eines Produktes durch Inhibitionskontrollen geprüft. Das Ergebnis ist abhängig vom Ausgangsprodukt: Liegt etwa ein hoher Fettanteil vor, kann dies das Ergebnis negativ beeinflussen. Kreuzreaktionen mit anderen Bestandteilen von z.B. Fertigprodukten sind zwar nicht bekannt. Ob aber in dieser Frage ausreichende Erkenntnisse und Erfahrungen vorliegen, können wir nicht beurteilen.

Für die Auswahl des Laborpartners ist aus unserer Sicht entscheidend, dass das dort angewendete Verfahren zur Bestimmung von Fleischanteilen standardisiert, validiert und akkreditiert ist und die Labore über ausreichende Erfahrung in der DNA-Analytik verfügen.

Aus dem Kreis der im QS-System anerkannten Labore haben wir drei Labore exemplarisch herausgegriffen, die nach unserer Einschätzung über Expertise im Bereich der qualitativen und quantitativen DNA-Analyse verfügen:

- Genial GmbH/Troisdorf, Frau Dr. Mücher, Tel. 02241 2522980, www.genial.de
- lifeprint GmbH/Illertissen, Frau Dr. Rösel, Tel. 07303 951950, www.lifeprint.de
- Impetus Bioscience/Bremerhaven, Herr Dr. Rüggeberg, Tel. 0471 4832 340 www.impetus-bioscience.de

Darüber hinaus bieten eine Anzahl weiterer Labore vergleichbare Leistungen an.

QS Qualität und Sicherheit GmbH



Qualitätssicherung. **Vom Landwirt bis zur Ladentheke.**



**QS. Ihr Prüfsystem
für Lebensmittel.**

Anlage: Die *realtime-PCR* im Detail

Die *realtime-PCR* im Detail

Polymerase Kettenreaktion

Bei der PCR handelt es sich um eine enzymatische Methode, die innerhalb von ca. 2 Stunden eine milliardenfache Vermehrung (Amplifikation) eines gewünschten Teilabschnittes der DNA generiert.

Wie ist der Ablauf:

Denaturierung

Das Reaktionsgemisch mit allen zur Synthese von neuer DNA notwendigen Komponenten wird auf ca. 95° C erhitzt. Dadurch wird die doppelsträngige DNA denaturiert, d.h. in zwei Einzelstränge zerlegt.

Annealing (Prozess der Anlagerung eines Primers an DNA Sequenzen)

An definierte Abschnitte der denaturierten DNA binden hochspezifisch – wenn in der Probe vorhanden – so genannte Primer, d.h. kurze einzelsträngige DNA-Sequenzen. Eine grundsätzliche Bedingung zur Herstellung spezifischer Primer ist die Verfügbarkeit von DNA-Sequenz-Informationen, d.h. es muss bekannt sein, welche Sequenzen für bestimmte Spezies, Ordnungen, Klassen etc. typisch sind. Diese Informationen sind in vielen Fällen in internationalen Datenbanken abrufbar.

Elongation

In diesem Schritt erkennt das Enzym – die Polymerase – den kurzen doppelsträngigen DNA-Bereich, der aus der denaturierten Ziel-DNA und dem daran gebundenen Primer gebildet wird. Von diesem Startpunkt aus wird der neue DNA-Strang synthetisiert, wobei der komplementäre Einzelstrang als Matrize dient.

Detektion

Die Detektion von PCR-Produkten erfolgt üblicherweise online, d.h. durch den Einsatz von Farbstoff-markierten Sonden. In diesem Fall wird mit Hilfe entsprechender Geräte die Amplifikation direkt gemessen und ermöglicht eine sehr sensitive und genaue Quantifizierung.