

# 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