

DIN EN 17882



ICS 07.080; 67.020; 67.120.10

**Lebensmittelauthentizität –
DNA-Barcoding von Fleisch von Säugetieren und Vögeln anhand
definierter mitochondrialer Cytochrom b- und Cytochrom
c-Oxidase-I-Gensegmente;
Deutsche Fassung EN 17882:2024**

Food authenticity –

DNA barcoding of meat derived from mammals and birds using defined mitochondrial cytochrome b and cytochrome c oxidase I gene segments;

German version EN 17882:2024

Authenticité des aliments –

Codage à barres de l'ADN de viande dérivée de mammifères et d'oiseaux à l'aide de segments définis du gène du cytochrome b mitochondrial et de la cytochrome c oxydase I;

Version allemande EN 17882:2024

Gesamtumfang 22 Seiten

DIN-Normenausschuss Lebensmittel und landwirtschaftliche Produkte (NAL)

Nationales Vorwort

Das Dokument EN 17882:2024 wurde vom Technischen Komitee CEN/TC 460 „Lebensmittelauthentizität“ erarbeitet, dessen Sekretariat von DIN (Deutschland) gehalten wird.

Das zuständige deutsche Normungsgremium ist der Arbeitskreis NA 057-08-02-02 AK „Molekularbiologische Speziesanalytik“ im DIN-Normenausschuss Lebensmittel und landwirtschaftliche Produkte (NAL).

Dieses Dokument enthält im Unterabschnitt 8.3.3 sowie in Abschnitt 11, Tabelle 7, Nationale Fußnoten, die ergänzende oder erläuternde Hinweise zur Anwendung des Dokuments geben.

Aktuelle Informationen zu diesem Dokument können über die Internetseiten von DIN (www.din.de) durch eine Suche nach der Dokumentennummer aufgerufen werden.

Deutsche Fassung

Lebensmittelauthentizität —
DNA-Barcoding von Fleisch von Säugetieren und Vögeln
anhand definierter mitochondrialer Cytochrom b- und
Cytochrom c-Oxidase-I-Gensegmente

Food authenticity —
DNA barcoding of meat derived from mammals and
birds using defined mitochondrial cytochrome b and
cytochrome c oxidase I gene segments

Authenticité des aliments —
Codage à barres de l'ADN de viande dérivée de
mammifères et d'oiseaux à l'aide de segments définis du
gène du cytochrome b mitochondrial et de la
cytochrome c oxydase I

Diese Europäische Norm wurde vom CEN am 17. Juni 2024 angenommen.

Die CEN-Mitglieder sind gehalten, die CEN/CENELEC-Geschäftsordnung zu erfüllen, in der die Bedingungen festgelegt sind, unter denen dieser Europäischen Norm ohne jede Änderung der Status einer nationalen Norm zu geben ist. Auf dem letzten Stand befindliche Listen dieser nationalen Normen mit ihren bibliographischen Angaben sind beim CEN-CENELEC-Management-Zentrum oder bei jedem CEN-Mitglied auf Anfrage erhältlich.

Diese Europäische Norm besteht in drei offiziellen Fassungen (Deutsch, Englisch, Französisch). Eine Fassung in einer anderen Sprache, die von einem CEN-Mitglied in eigener Verantwortung durch Übersetzung in seine Landessprache gemacht und dem Management-Zentrum mitgeteilt worden ist, hat den gleichen Status wie die offiziellen Fassungen.

CEN-Mitglieder sind die nationalen Normungsinstitute von Belgien, Bulgarien, Dänemark, Deutschland, Estland, Finnland, Frankreich, Griechenland, Irland, Island, Italien, Kroatien, Lettland, Litauen, Luxemburg, Malta, den Niederlanden, Norwegen, Österreich, Polen, Portugal, der Republik Nordmazedonien, Rumänien, Schweden, der Schweiz, Serbien, der Slowakei, Slowenien, Spanien, der Tschechischen Republik, der Türkei, Ungarn, dem Vereinigten Königreich und Zypern.



EUROPÄISCHES KOMITEE FÜR NORMUNG
EUROPEAN COMMITTEE FOR STANDARDIZATION
COMITÉ EUROPÉEN DE NORMALISATION

CEN-CENELEC Management-Zentrum: Rue de la Science 23, B-1040 Brüssel

Inhalt

	Seite
Europäisches Vorwort	3
Einleitung	4
1 Anwendungsbereich	5
2 Normative Verweisungen	5
3 Begriffe	5
4 Symbole und Abkürzungen	7
5 Kurzbeschreibung	7
6 Reagenzien und Materialien	7
7 Geräte	8
8 Durchführung	9
8.1 Probenvorbereitung	9
8.2 DNA-Extraktion	9
8.3 PCR	9
8.3.1 Allgemeines	9
8.3.2 PCR-Ansatz	9
8.3.3 PCR-Kontrollen	10
8.3.4 Thermocycling	10
8.4 Bewertung der PCR-Produkte	11
8.5 Bewertung der PCR-Ergebnisse	11
9 Sequenzierung	12
9.1 Sequenzierung der PCR-Produkte	12
9.2 Bewertung der Sequenzdaten	12
9.3 Abgleich der Sequenz mit öffentlichen Datenbanken	12
9.3.1 Allgemeines	12
9.3.2 Abgleich der <i>cytb</i> - und/oder <i>cox1</i> -Amplikonsequenzen mit GenBank®	13
9.3.3 Sequenzvergleich von <i>cox1</i> -DNA-Sequenzen mit BOLD	14
10 Interpretation von Ergebnissen der Datenbankabfrage	14
11 Validierungsstatus und Leistungskriterien	15
12 Prüfbericht	19
Literaturhinweise	20

Tabellen

Tabelle 1 — Oligonukleotide für die Amplifikation der <i>cytb</i> -Genregion [1]	8
Tabelle 2 — Oligonukleotide für die Amplifikation der <i>cox1</i> -Genregion [2]	8
Tabelle 3 — Komponenten für die <i>cytb</i> -PCR und die <i>cox1</i> -PCR	9
Tabelle 4 — Temperatur-Zeit-Programm für die <i>cytb</i> - und <i>cox1</i> -PCR	11
Tabelle 5 — Validierungsdaten aus dem <i>cytb</i> -Ringversuch	16
Tabelle 6 — Auswertung der Ergebnisse des <i>cytb</i> -Ringversuchs in Abhängigkeit von der Tierart	16
Tabelle 7 — Validierungsdaten aus dem <i>cox1</i> -Ringversuch	17
Tabelle 8 — Auswertung der Ergebnisse des <i>cox1</i> -Ringversuchs in Abhängigkeit von der Tierart	17

Europäisches Vorwort

Dieses Dokument (EN 17882:2024) wurde vom Technischen Komitee CEN/TC 460 „Lebensmittelaauthentizität“ erarbeitet, dessen Sekretariat von DIN gehalten wird.

Diese Europäische Norm muss den Status einer nationalen Norm erhalten, entweder durch Veröffentlichung eines identischen Textes oder durch Anerkennung bis Januar 2025, und etwaige entgegenstehende nationale Normen müssen bis Januar 2025 zurückgezogen werden.

Es wird auf die Möglichkeit hingewiesen, dass einige Elemente dieses Dokuments Patentrechte berühren können. CEN ist nicht dafür verantwortlich, einige oder alle diesbezüglichen Patentrechte zu identifizieren.

Rückmeldungen oder Fragen zu diesem Dokument sollten an das jeweilige nationale Normungsinstitut des Anwenders gerichtet werden. Eine vollständige Liste dieser Institute ist auf den Internetseiten von CEN abrufbar.

Entsprechend der CEN CENELEC Geschäftsordnung sind die nationalen Normungsinstitute der folgenden Länder gehalten, diese Europäische Norm zu übernehmen: Belgien, Bulgarien, Dänemark, Deutschland, die Republik Nordmazedonien, Estland, Finnland, Frankreich, Griechenland, Irland, Island, Italien, Kroatien, Lettland, Litauen, Luxemburg, Malta, Niederlande, Norwegen, Österreich, Polen, Portugal, Rumänien, Schweden, Schweiz, Serbien, Slowakei, Slowenien, Spanien, Tschechische Republik, Türkei, Ungarn, Vereinigtes Königreich und Zypern.

Einleitung

Die betrügerische Fälschung von Fleisch in Lebensmitteln gefährdet sowohl die öffentliche Sicherheit als auch den Handel. Sie kann sich auf Personen, die sich an ethnologische Ernährungsregeln halten, sowie auf die wirtschaftliche Entwicklung und die soziale Stabilität auswirken. In den letzten drei Jahrzehnten hat im Handel mit Lebensmitteln ein Globalisierungsprozess stattgefunden. Die Handelswege für Fleisch werden immer länger und komplexer, sodass zuverlässige Verfahren zur Rückverfolgbarkeit benötigt werden, um die Lebensmittelsicherheit sicherzustellen. Die korrekte Kennzeichnung von Lebensmitteln ist eine Voraussetzung für sichere Fleischerzeugnisse und fairen Handel. Die Erarbeitung von zuverlässigen, harmonisierten und standardisierten Verfahrensvorschriften zur Authentifizierung von Fleisch und Fleischerzeugnissen ist notwendig, um den Verbraucherschutz und den Nachweis von potenziellem Lebensmittelbetrug (en: Food Fraud) sicherzustellen.

1 Anwendungsbereich

Dieses Dokument legt ein Verfahren zur Identifizierung von Fleisch von Säugetieren und Vögeln auf Gattungs- oder Artebene fest und ermöglicht die Identifizierung einer großen Anzahl sowohl kommerziell bedeutender als auch exotischer Tierarten mittels DNA-Barcoding.

Das Verfahren wurde an DNA validiert, die aus einzelnen Stücken rohen Fleisches isoliert wurde. Dieses Verfahren kann auch zur Identifizierung von einzelnen Fleischtierarten in einigen verarbeiteten Erzeugnissen angewendet werden.

Für die Untersuchung stark verarbeiteter Lebensmittel mit stark degradierter DNA, bei denen die Fragmentlängen nicht für eine Amplifikation der Zielsequenzen ausreichen, ist das beschriebene Verfahren nicht geeignet. Außerdem ist es nicht anwendbar auf komplexe Fleischerzeugnisse, die Mischungen aus zwei oder mehr Fleischsorten enthalten.

Die Identifizierung der Tierart erfolgt durch PCR-Amplifikation entweder eines Segments des mitochondrialen Cytochrom-b-Gens (*cytb*) oder des Cytochrom-c-Oxidase-I-Gens (*cox1*, synonym *COI*) oder von beiden, gefolgt von der Sequenzierung der PCR-Produkte und einem anschließenden Datenbankabgleich der Sequenzen.

2 Normative Verweisungen

Die folgenden Dokumente werden im Text in solcher Weise in Bezug genommen, dass einige Teile davon oder ihr gesamter Inhalt Anforderungen des vorliegenden Dokuments darstellen. 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).

ISO 16577, *Molecular biomarker analysis — Vocabulary for molecular biomarker analytical methods in agriculture and food production*

EN ISO 20813, *Untersuchung auf molekulare Biomarker — Verfahren zur Identifizierung und zum Nachweis von Tierarten in Lebensmitteln (Nukleinsäureverfahren) — Allgemeine Anforderungen und Definitionen (ISO 20813)*

3 Begriffe

Für die Anwendung dieses Dokuments gelten die Begriffe nach ISO 16577 und die folgenden Begriffe.

ISO und IEC stellen terminologische Datenbanken für die Verwendung in der Normung unter den folgenden Adressen bereit:

- ISO Online Browsing Platform: verfügbar unter <https://www.iso.org/obp>
- IEC Electropedia: verfügbar unter <https://www.electropedia.org/>

3.1

Alignment

Sequenz-Alignment

Anordnung von Nukleinsäuresequenzen oder Proteinsequenzen nach den Ähnlichkeitsbereichen

Anmerkung 1 zum Begriff: Das Sequenz-Alignment ist ein Prozess oder Ergebnis eines Abgleichs der Nukleotide zweier oder mehrerer biologischer Sequenzen, um eine maximale Übereinstimmung zu erzielen.

[QUELLE: ISO 16577:2022, 3.7.18 – modifiziert, Anmerkung 1 zum Begriff ergänzt, alternative Benennung ergänzt.]