

## **Entwicklung einer leistungsfähigen Methode zur Bestimmung der Menge einer Tier- und Pflanzenart in Erzeugnissen mittels PCR**

Development of an efficient method for the quantification of animal and plant species in meat products by means of PCR

R. BINKE und F. SCHWÄGELE

### **Zusammenfassung**

Neben der ELISA-Technik gewinnt die Artenbestimmung unter Anwendung der PCR zunehmend an Bedeutung. Für viele Tierarten sind Testsysteme unterschiedlicher Hersteller erhältlich. Diese qualitativen Kits besitzen eine hohe Spezifität und können selbst geringste Zusätze verschiedener Tierarten in komplex zusammengesetzten Lebensmitteln identifizieren. Derzeit werden große Anstrengungen unternommen, quantitative Systeme zur Bestimmung von Tier- und Pflanzenzusätzen zu entwickeln. Hierbei müssen zwei zentrale Probleme gelöst werden. Einerseits werden Methoden benötigt, die beginnend mit der Extraktion, über die Vervielfältigung des Analyten bis hin zu seiner Detektion richtige und reproduzierbare Ergebnisse liefern. Andererseits müssen diese Ergebnisse auf festgelegte Referenzen bezogen werden, da Desoxyribonukleinsäure (DNA) einer bestimmten Tierart über verschiedene Zutaten wie beispielweise als Muskelfleisch, Fett, Eiweißhydrolysat, Blut oder Gelatine mit unterschiedlichen DNA-Gehalten und Qualitäten (unverändert oder in Bruchstücken) ins Lebensmittel gelangt. Eine quantitative Angabe ist demnach nur dann sinnvoll, wenn man die Zuverlässigkeit und Aussagekraft der angewandten Methode kennt und darüber hinaus relevante Angaben über die Art der zur Verarbeitung verwendeten Zutat hat.

In der nachfolgenden Arbeit wird eine Methode vorgestellt, die geeignet ist, Kontaminationen von wertbestimmenden Fleischanteilen in Fleischerzeugnissen mit Hilfe der PCR zu unterscheiden.

### **Summary**

PCR- and ELISA-techniques are of increasing importance for the identification of animal species. A number of commercially available kits are existing for various animal species. These detection systems are suitable for qualitative identification of very low amounts of added meat in food. At present quantitative PCR systems for the determination of animal and plant species are to be developed. For quantification two problems have to be solved. At first all analytical steps like nucleic acid extraction, amplification and detection must be validated. Secondly the obtained results must be correlated to specified standards because the amount of isolated DNA depends on the prevailing matrices like muscle meat, fat, isolated protein, blood or gelatine. A quantitative determination is practicable if there is sufficient knowledge about accuracy of the methods and the existing matrices in processed products.

In this report a PCR based method suitable for distinguishing varying amounts of meat and contaminations in meat products is presented.

---

**Schlüsselwörter**

DNA-Extraktionssystem – Quantifizierung – Tierartenbestimmung – Fleischerzeugnisse

**Key Words**

DNA extraction system – quantification – identification of animal species – meat products

---

## Einleitung

Zur Überprüfung von Deklarationen bei Fleisch und Fleischerzeugnissen ist eine möglichst präzise und richtige Analyse-methode für die Bestimmung verwendeter tierischer und pflanzlicher Zutaten in Fleischerzeugnissen von großer Bedeutung. Nach § 8 Lebensmittel-KennzeichnungsVO in Verbindung mit der QUID (engl. Quantitative Ingredient Declaration)-Regelung ist die Menge der Zutat im Zutatenverzeichnis anzugeben, wenn diese in der Verkehrsbezeichnung aufgeführt ist. Darüber hinaus zeigt die Diskussion über den Zusatz von gentechnisch veränderten Organismen (GVO) im Sinne der EG Verordnung (VO) Nr. 1139/98 zuletzt geändert durch EG VO Nr. 49/2000 vom 10. Januar 2000, dass die Kenntnis über Art und Anteil des gentechnisch veränderten Materials von zentraler Bedeutung sein kann. Zur Überprüfung von Grenzwerten bzw. von quantitativen Angaben müssen deshalb geeignete Methoden bereitgestellt werden.

Eine umfangreiche Auswahl an amtlichen Methoden nach § 35 LMGB steht den Analytikern derzeit für die Tierartidentifizierung (qualitativer Nachweis) zur Verfügung. Hierbei handelt es sich um Verfahren auf Protein- und Fettsäure-Basis, deren jeweilige Vor- und Nachteile von SCHWÄGELE (1999) und HONIKEL (2002) umfassend beschrieben wurden. Daraus stellt sich die Frage nach der Notwendigkeit weiterer Nachweisverfahren, welche in der Lage sind die Nachteile der bestehenden Methoden zu kompensieren. Eine Möglichkeit Tierarten in Lebensmitteln nachzuweisen besteht darin, artspezifische Fettsäure- oder Proteinmuster mit Standards der zu untersuchenden Tierart zu vergleichen. Diese Methoden versagen in der Regel, je mehr Tierarten im Lebensmittel verarbeitet wurden, insbesondere wenn die prozentualen Anteile stark variieren. Eine Zuordnung von Mustern ist dann nur noch bedingt oder gar nicht mehr möglich. Die Proteinanalytik bietet darüber hinaus die Möglichkeit, einzelne artspezifische Proteine nachzuweisen und damit die verarbeitete Tierart im Produkt zu identifizieren. Diese Methoden setzen je-

doch die definierte dreidimensionale Struktur der Proteine voraus, welche bei der Herstellung von Lebensmitteln beispielsweise durch Temperatur, pH-Wert oder durch den Verarbeitungsgrad so beeinflusst werden können, dass qualitative Nachweise zunehmend erschwert werden. Eine semi-quantitative Aussage ist derzeit nur in Kombination unterschiedlicher Verfahren und unter Kenntnis der verschiedenen Einflussfaktoren bei relativ großer Unsicherheit möglich.

## Prinzip der PCR Analyse

Wünschenswert ist demnach eine Zielsubstanz, die für jede Tierart spezifisch und relativ konstant im Organismus vorhanden ist sowie darüber hinaus eine strukturelle Spezifität auch in hochprozessierten Lebensmitteln beibehält. Eine geeignete Substanz, welche diese geforderten Eigenschaften hinreichend erfüllt, ist Desoxyribonucleinsäure (DNA). In tierischen Zellen ist DNA im Zellkern und in den Mitochondrien lokalisiert. Ihr Anteil wurde beispielsweise für Rindermuskulatur mit etwa 0,04-0,06 % (YOUNG *et al.*, 1987, HERBEL und MONTAG, 1987 und SAVAIANO *et al.*, 1983) bestimmt. Für den Nachweis werden DNA-Bereiche ausgewählt, die aufgrund ihrer unterschiedlichen Abfolge (Sequenz) der Nucleobasen spezifisch für eine Tierart sind. Mit Hilfe der Polymerase Kettenreaktion (PCR) wird dieser Sequenzbereich (Template) vervielfältigt und kann anschließend mit geeigneten Verfahren wie der Gelelektrophorese in Verbindung mit spezifischen Färbemethoden sichtbar gemacht und bewertet werden. Das Prinzip der PCR ist in Abbildung 1 dargestellt.

Dabei werden alle für die PCR benötigten Komponenten in geeigneten Konzentrationen in einem sogenannten Mastermix zusammen pipettiert und für die nachfolgende PCR in einen Thermocycler gestellt. Dieses Gerät steuert durch präzisen Temperaturverlauf die Vervielfältigung des DNA-Abschnitts.

Im ersten Schritt wird eine Temperatur von 95 °C eingestellt, bei der die DNA in ihre Einzelstränge aufgeschmolzen (denatu-

riert) wird. Kurze DNA-Abschnitte (Primer oder Startersequenzen) lagern sich bei Temperaturen zwischen 50-60 °C spezifisch an die getrennten DNA-Matrizen (Templates) an, indem sie die zu vervielfältigende Sequenz einschließen. Die DNA-Polymerase verlängert im letzten Schritt der PCR bei einer für sie optimalen Temperatur (beispielsweise 72 °C) die Primer, so dass am Ende eines Zyklus die Zielsequenz verdoppelt wurde. Die exponentielle Vermehrung ( $2^n$ , n=Anzahl der Zyklen) wird im Laufe der PCR durch die sich ändernde Zusammensetzung der

Mastermix-Komponenten und die abnehmende Aktivität der DNA-Polymerase zunehmend langsamer und kommt nach etwa 20-40 Runden zum Stillstand. Bei optimaler Einstellung der PCR sollte der Kurvenverlauf, insbesondere der Teil des exponentiellen Anstiegs, nur abhängig von der eingesetzten DNA-Menge sein. Alle Faktoren, die eine gleichbleibende PCR beeinflussen, wie beispielsweise unterschiedliche Reaktionsansätze, Reaktionsgefäße, Thermocycler und insbesondere die Qualität des DNA-Isolats müssen vorher standardisiert werden.

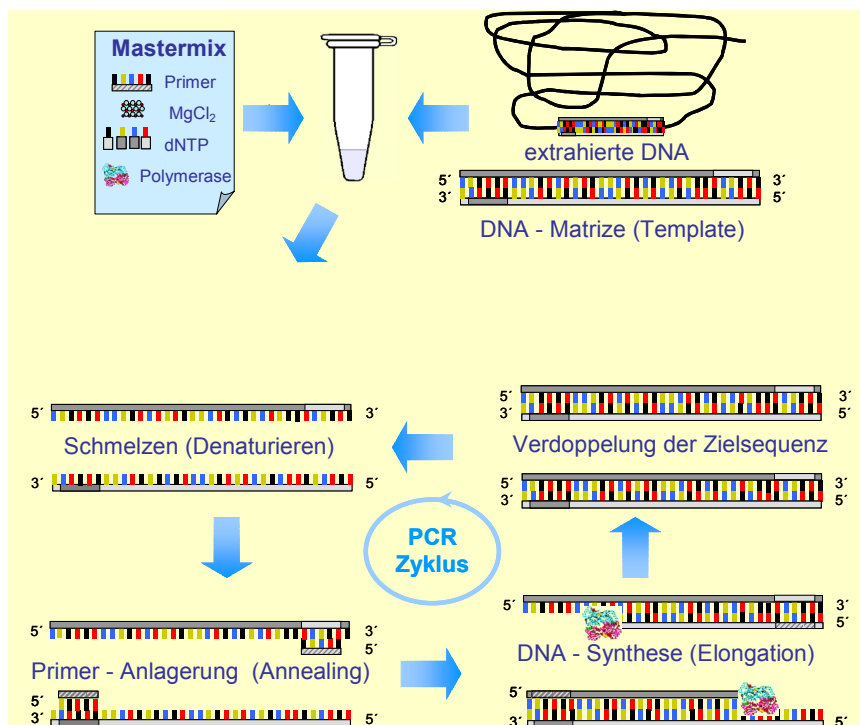


Abb. 1: Schematischer Ablauf der PCR

Die hier dargestellten Untersuchungen verfolgen das Ziel, quantitative PCR-Methoden insbesondere für die Bestimmung von Fleisch in Fleischerzeugnissen bereitzustellen. Sie sollen dazu beitragen, den Verbraucher vor Täuschung und gesundheitlichen Gefahren wie beispielsweise vor allergieauslösenden Bestandteilen zu schützen.

Mit Blick auf den 1(0,9)% Grenzwert für GVO-Zusätze und die Überprüfbarkeit von Mengenangaben soll gezeigt werden, wie reproduzierbar derzeit Nucleinsäure aus Fleisch und Fleischwaren isoliert werden kann und welchen Einfluss der Verarbei-

tungsgrad wie beispielsweise die Hitzebehandlung auf die Ergebnissicherheit der verwendeten PCR-Methode hat.

### Material und Methoden

Für die Isolierung von Nucleinsäuren aus Fleisch und Fleischerzeugnissen wurde ein geeignetes Extraktionssystem optimiert und validiert (BINKE *et al.*, 2003) welches nachfolgend kurz beschrieben wird.

Zur Lyse werden 25 mg bis 100 mg Fleisch bzw. 50 mg Fleischerzeugnis ein-

gewogen, mit Lysepuffer, einer salzhaltigen wässrigen Lösung, und dem proteinabbauenden Enzym Proteinase K versetzt. Der Ansatz wird über Nacht lysiert. Hierbei werden die proteinhaltigen Zellstrukturen zerstört, so dass die DNA nach erfolgter Lyse gelöst in der Suspension vorliegt. Nach Zugabe einer chloroformhaltigen Extraktionslösung werden alle nucleophilen Bestandteile in die organische Phase überführt, wohingegen nicht lysierte Proteine an der Interphase ausgefällt werden. Die Nucleinsäuren verbleiben in der wässrigen Lösung und werden durch Zentrifugation von den restlichen Probenbestandteilen abgetrennt. Der klare Überstand, in dem sich die DNA befindet, wird abpipettiert. Die Nucleinsäure wird anschließend mit Isopropanol ausgefällt (Präzipitation). Die DNA kann nun entweder durch Zentrifugation an die Wand des Reaktionsgefäßes (Abb. 2, System 1) oder an entsprechendes Säulenmaterial (Abb. 2, System 2) adsorbiert werden. Nach erfolgter Reinigung der DNA mit einer ethanolischen Waschlösung wird die DNA mit Hilfe eines wässrigen Puffers von der Säule eluiert bzw. in Puffer gelöst.

Der Nucleinsäuregehalt in den Extraktionslösungen wird nach dem Verfahren von WARBURG und CHRISTIAN (1942) bestimmt. Hierbei werden die Absorptionen der Lösungen bei Wellenlängen von 260 nm und 280 nm mit Hilfe eines Spektralphotometers gemessen und der Nucleinsäuregehalt in µg/ml berechnet.

Die Amplifikation der Zielsequenz erfolgt mit einem Thermocycler der Firma Perkin Elmer (PE 9600) oder dem Real Time PCR System von Corbett Research (Rotor Gene 2000). Die tierartspezifischen Primer werden von der Firma Cibus Biotech GmbH bezogen. Die Primersequenzen (GM03/GM04) für den Nachweis von Soja und die PCR-Bedingungen sind der § 35 Methode L 00.00-31 entnommen. Die Charakterisierung der PCR-Produkte erfolgt bei Verwendung des Thermocyclers PE 9600 nach gelelektrophoretischer Trennung (Probenvolumen 5 µl; 10 % Polyacrylamidgel; 85 V; < 200 mA; ca. 1,5 h; Molekulargewichtsmarker 322/Hae III, Qbiogen) durch Anfärben der Banden mit

dem Fluoreszenzfarbstoff Ethidiumbromid. Die Interpretation der Messdaten bei der Real Time PCR wird mittels Vergleich der Ct-Werte (engl. Ct-value, Ct=threshold cycle) durchgeführt. Dieser Wert ist definiert als der Punkt, an dem der Schwellenwert (Threshold) die Amplifikationskurve der Probe schneidet (Abb. 3). Der Ct-Wert ist bei gleicher Reaktions-Effizienz von Proben und Standards nur abhängig von der Ausgangsmenge der intakten Ziel-DNA im Reaktionsansatz. Die Reaktions-Effizienz einer 1:10 Verdünnung ist in Bezug auf den unverdünnten Standard der Theorie nach maximal, wenn dieser einen um 3,3 erhöhten Ct-Wert besitzt. Höhere Ct-Werte signalisieren eine nicht vollständige Verdopplung der Ziel-Sequenz pro PCR-Zyklus.

Zur Bestimmung der Nachweisgrenze wurden Brühwurgerzeugnisse bestehend aus 50 % Magerfleisch, 25 % Öl, 23 % Eis und 2 % Salz, Gewürzen und Zusatzstoffen, mit unterschiedlichen Anteilen an Pferdefleisch und Sojaprotein hergestellt und unterschiedlich stark erhitzt.

## Ergebnisse und Diskussion

**Extraktion der DNA.** Die bereits durchgeführten Arbeiten zeigen, dass ein brauchbares DNA-Extraktionssystem für Fleisch und Fleischerzeugnisse bei hoher Reproduzierbarkeit und Reinheit entwickelt wurde. Für tierisches Gewebe wurde ein relativer Verfahrensvariationskoeffizient bzw. eine relative Verfahrensstandardabweichung ( $CVx_0$ , engl. coefficient of variation) von < 10 % für 7 untersuchte Tierarten ermittelt (BINKE *et al.*, 2003).

Die Verfahrensstandardabweichung ist ein Maß für die Streuung der Analyseergebnisse bezogen auf den Mittelwert der Kalibriergerade (Abb. 4). Sie kann aus der Reststandardabweichung und der Steigung entsprechend der folgenden Gleichung berechnet werden und ist ein Indikator für die Präzision und Robustheit einer Methode.

$$CVx_0[\%] = \frac{s_y}{b \cdot x_0} \cdot 100$$

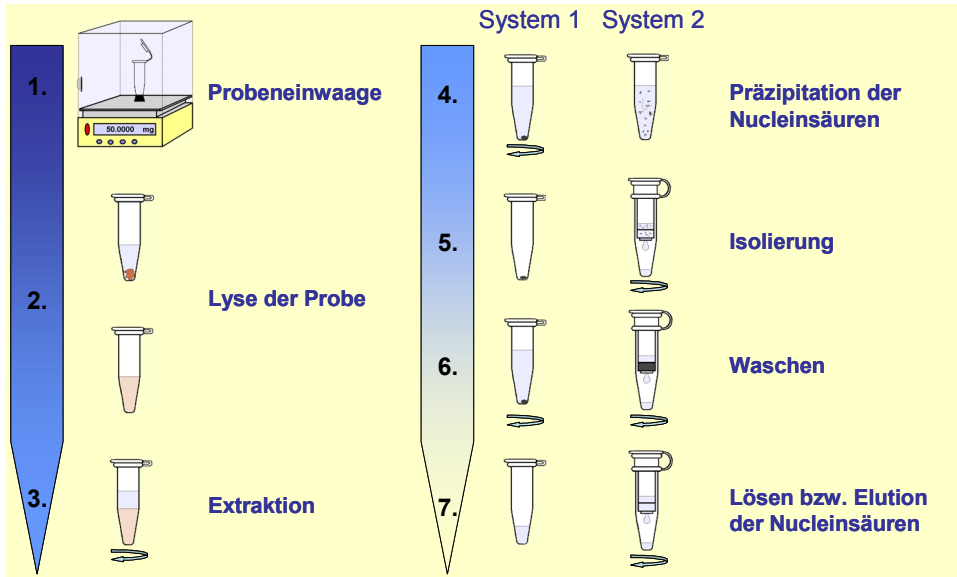


Abb. 2: Schematischer Ablauf der DNA Extraktion

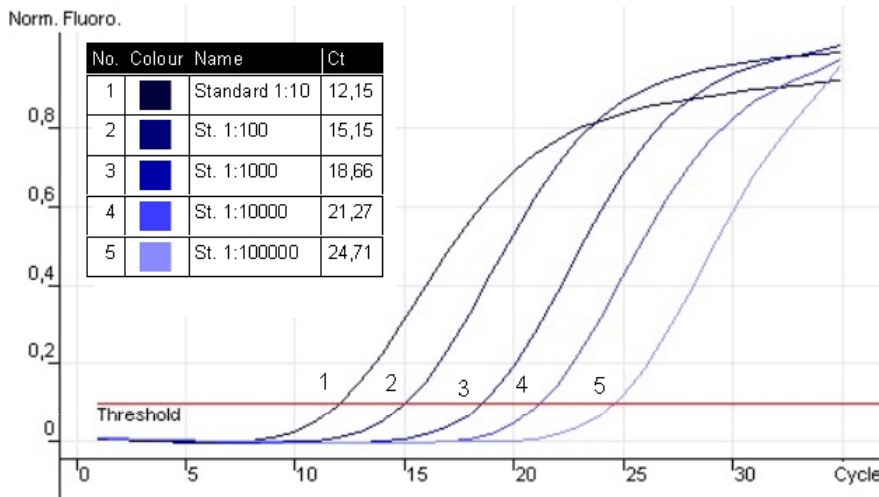


Abb. 3: Amplifikationsverlauf ausgewählter Standards am Beispiel von Pferdefleisch

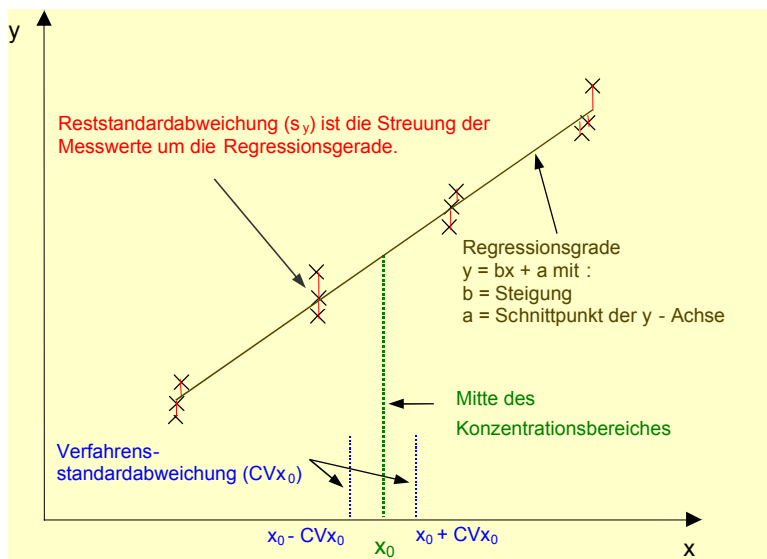


Abb. 4: Parameter zur Bestimmung der relativen Verfahrensstandardabweichung als Maß für die Robustheit und Präzision einer Methode

Die Eignung dieses Extraktionssystems wurde anschließend auf Fleischerzeugnisse ausgeweitet. Hierfür wurden insgesamt 44 kommerziell erhältliche Fleischerzeugnisse, davon 14 Rohwürste, 24 Brühwürste und 6 Kochwürste jeweils zweimal aufgearbeitet und der Nucleinsäuregehalt bestimmt. Die mittlere Abweichung der einzelnen Doppelbestimmungen lag bei 11,3 %. Es konnte gezeigt werden, dass auch Nucleinsäure aus Fleischwaren reproduzierbar isoliert werden kann.

**Nachweisgrenzen (NWG).** Als weiterer Parameter für die Validierung des Extraktionssystems wurden die Nachweisgrenzen (NWG) für eine Tierart (Pferd) und eine Pflanzenart (Sojaprotein) in verar-

beiteten Brühwürsten mittels PCR ermittelt. Nach DIN 32645 stellt die NWG eine Entscheidungsgrenze für das Vorhandensein eines Analyten da. Für die PCR-Analytik kommt diesem Parameter eine besondere Bedeutung zu, da im Gegensatz zu den meisten Bestimmungsmethoden hier der Analyt (DNA-Abschnitt) vor seiner Detektion millionenfach vermehrt (amplifiziert) wird und damit die Nachweisgrenze in der Praxis relativ frei wählbar ist. Für die Bestimmung der NWG kann aufgrund der Amplifikation der Zielsequenz nicht der Nachweis des Analyten entscheidend sein, sondern der Anteil, der sich signifikant von möglichen Kontaminationen unterscheidet. Die Ergebnisse dieser Untersuchung sind in Tabelle 1 dargestellt.

Tab. 1: Bestimmung der NWG für Pferd und Soja

Anteil Pferd	Erhit-zung	Nach-weis	Anteil Pferd	Erhit-zung	Nach-weis	Anteil Soja	Erhit-zung	Nach-weis	Anteil Soja	Erhit-zung	Nach-weis		
0,00 %	HK	schwach	0,50 %	HK	+	0,00 %	DK	-	0,10 %	DK	+		
	DK	schwach		DK	+							VK	+
	VK	-		VK	+							ÜP	-
	TK	-		TK	+								
	ÜP	-		ÜP	+								
0,05 %	HK	+	1,00 %	HK	+	0,01 %	DK	+	0,20 %	DK	+		
	DK	+		DK	+							VK	+
	VK	+		VK	+							ÜP	-
	TK	-		TK	+								
	ÜP	-		ÜP	+								
0,25 %	HK	+	45,7 %	HK	+	0,05 %	DK	+	1,00 %	DK	+		
	DK	+		DK	+							VK	+
	VK	+		VK	+							ÜP	-
	TK	+		TK	+								
	ÜP	+		ÜP	+								

HK = Halbkonzerve, DK = Dreiviertelkonzerve, VK = Vollkonzerve, TK = Tropenkonzerve, ÜP = überhitztes Produkt (F<sub>C</sub>-Wert = 32)

Die durchgeführten Untersuchungen ergaben, dass sowohl Pferdefleisch als auch Sojaprotein bis zu einer Konzentration von 0,05 % (VK) in Fleischerzeugnissen sicher identifiziert werden können. Der Nachweis wurde als positiv gewertet, wenn das für die jeweilige Art spezifische PCR Produkt nach gelelektrophoretischer Trennung und Färbung sichtbar war (Abb. 5 und 6).

Wie die Bahnen 2 und 7 der Abb. 6 zeigen, wurden mit dieser Methode nicht nur geringste Zusätze der entsprechenden

Tierart, sondern auch Kontaminationen identifiziert (Tab. 1). Abb. 6 zeigt aber sehr deutlich, dass diese Banden in ihrer Intensität wesentlich schwächer sind als beispielsweise der 0,05 % Zusatz. Derzeit laufen Untersuchungen, die sich mit der Kontaminationsgefahr bei der Herstellung von Fleischwaren und deren Auswirkungen auf die PCR-Analytik befassen. Durch geeignete Einstellungen der PCR lassen sich aber Kontaminationen von geringsten Zusätzen deutlich unterscheiden (Abb. 6, Bahn 2, 3 und 7).

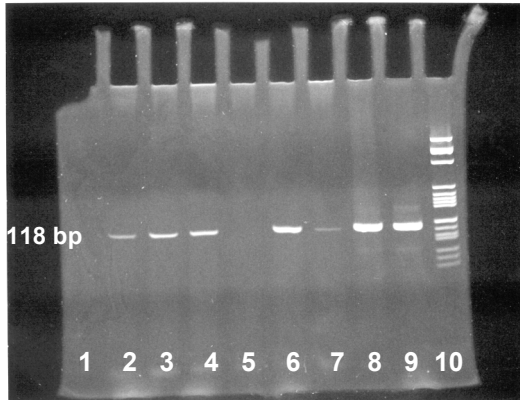


Abb. 5: Gelelektrophoretische Trennung der PCR-Produkte für den Nachweis von Sojaprotein in Fleischerzeugnissen (Dreiviertelkonserve).

1. Negativkontrolle, 2. 0,05 %, 3. 0,10 %, 4. 0,20 %, 5. ohne Soja, 6. 1,00 %, 7. 0,01 %, 8. Soja 100 %, 9. Soja 20 %, 10. Molekulargewichtsmarker 7-587 bp

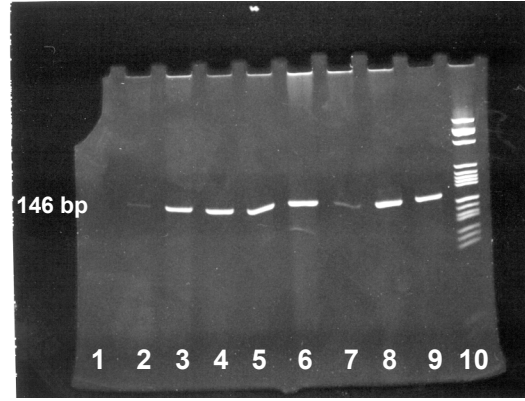


Abb. 6: Gelelektrophoretische Trennung der PCR-Produkte für den Nachweis von Pferdefleisch in Fleischerzeugnissen (Halbkonserve).

1. Negativkontrolle, 2. ohne Pferd, 3. 0,05 %, 4. 0,25 %, 5. 0,50 %, 6. 1,00 %, 7. ohne Pferd, 8. 45,7 %, 9. Pferd 1 %, 10. Molekulargewichtsmarker 7-587 bp

**Einfluss der DNA-Struktur.** Für die Effizienz der PCR ist neben der Anzahl der extrahierten Ausgangssequenzen die Qualität der DNA entscheidend, welche bei Fleischwaren maßgeblich von der Hitzebehandlung des Produktes abhängt. Um den Temperatureinfluss sichtbar machen zu können, wurden Untersuchungen mit Hilfe der Real Time PCR durchgeführt, da hier im Vergleich zur normalen PCR die Bildung der PCR-Produkte online verfolgt werden kann. Abb. 3 zeigt den typischen Verlauf ausgewählter Pferdefleisch-

standards. Bei optimaler Reaktions-Effizienz, das bedeutet alle Templates werden in jedem Zyklus verdoppelt, beträgt die  $\Delta Ct$  zweier benachbarter Standards mit einem Konzentrationsunterschied von einer Zehnerpotenz theoretisch 3,3 Zyklen (Abb. 3). Um zu zeigen, welche Auswirkungen die Hitzebehandlung der Fleischwaren auf die PCR hat, wurden Referenzproben in 5 Erhitzungsstufen mit 1%igem Pferdefleischzusatz und einem Pferdefleischstandard (roh, 1 %) untersucht (Abb. 7).

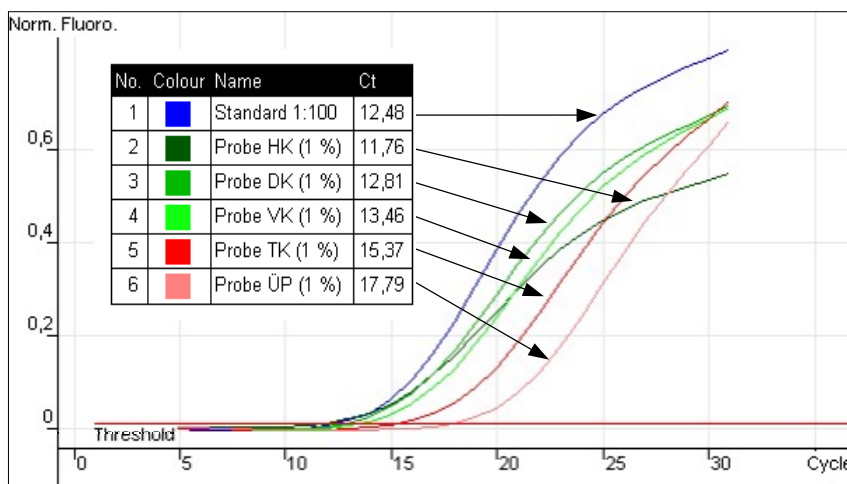


Abb. 7: Einfluss des Erhitzungsgrades auf die PCR am Beispiel von Referenzbrühwürsten mit 1 % Pferdefleischzusatz, Erhitzungsbedingungen siehe Tab. 1

Die Ergebnisse der PCR zeigen, dass bis zu einem F-Wert von 3,4, dies entspricht dem Erhitzungsgrad einer Vollkonserve (Probe Nr. 4), die Ct-Werte mit einem Unterschied von etwa 2 Zyklen relativ konstant bleiben und eine ähnliche Reaktions-Effizienz wie der Standard (1:100) besitzen. Hieraus ergibt sich eine Verfahrensunsicherheit von bis zu 1 Zehnerpotenz bezogen auf den 1 % Standard (d. h. 0,1 bis 10 %). Des Weiteren müssen unterschiedliche Nucleinsäuregehalte im Fleischgewebe, Schwankungen bei der Extraktion berücksichtigt und vergleichbare Reaktions-Effizienzen von Standard und Proben vorausgesetzt werden. Berücksichtigt man für diese Unsicherheiten nochmals eine Zehnerpotenz, ergibt sich eine Gesamtverfahrensunsicherheit von bis zu zwei Zehnerpotenzen. Davon ausgehend können derzeit folgende Anteile an Fleischzusätzen unterschieden werden:

1. Kontaminationen (<0,05 %), die bei der Herstellung von Fleischerzeugnissen unvermeidbar bzw. die bei der Probenaufarbeitung entstanden sind (Abb. 6, Bahn 2 und 7)
2. Proben, deren Kontaminationen im Bereich von etwa 0,1 - 1 % (entspricht dem 100 - 1.000fach verdünnten Standards) liegen
3. Proben, denen ein wertbestimmender Anteil (> 10 %) zugesetzt wurde.

Zur Absicherung der Ergebnisse, insbesondere um wertbestimmende Anteile von Kontaminationen zu unterscheiden, ist es sinnvoll, weitere Methoden wie die ELISA-Technik mit einer NWG um 1 % einzusetzen. Bei höheren Anteilen (> 5 %) können darüber hinaus Methoden wie beispielsweise die isoelektrische Fokussierung (IEF) bzw. die denaturierende Elektropho-

rese (PAGE) wertvolle Hilfen bei der Identifizierung tierartspezifischer Proteine sein.

### Schlussfolgerung

Eine quantitative Bestimmungsmethode, welche eine Aussage über den Gehalt einer Zutat im Produkt ermöglicht, ist derzeit bei der festgestellten Verfahrensunsicherheit weder für Pflanzenzusätze noch für tierische Zusätze in Fleischerzeugnissen, unabhängig von der angewendeten PCR Methode, verfügbar. Hierfür müssen weitere Faktoren, die eine reproduzierbare Quantifizierung beeinflussen, ermittelt und bei der Bestimmung hinreichend berücksichtigt werden. Die in der Literatur beschriebenen Systeme können in der Regel Anteile einer Tierart nur relativ bestimmen, indem sie die Kopienzahl eines nachgewiesenen tierartspezifischen Gens in Bezug zur Kopienzahl eines geeigneten Referenzgens setzen (WOLF *et al.*, 2001, PALISCH *et al.*, 2003). Aussagen über den absoluten Gehalt einer Zutat (z. B. Rindfleisch im Produkt) sind mit diesen Methoden nicht möglich. Zum jetzigen Zeitpunkt muss jedoch festgestellt werden, dass eine relative Bestimmung die einzige Möglichkeit ist, mit Hilfe der PCR Anteile von Fleisch- oder Pflanzenzusätzen zu quantifizieren.

### Danksagung

Diese Arbeit wurde finanziell unterstützt durch das EU-Projekt „MOLSPEC-ID“ (Development of quantitative and qualitative molecular biological methods to identify plant and animal species in foods). Projekt-Nr. QLK1-CT-2001-02373, Internetseite: <http://www.molspec.org>

### Literatur

Die Literatur kann bei den Verfassern angefordert werden.