

## 5. Zusammenfassung

Aus 110 Lebensmittelproben (Schweine-, Rinderschlachtkörper, Schweinehackfleisch, Käse, Schlachthähnchen) wurden insgesamt 157 Stämme der Gattung *Enterococcus* isoliert. Als Grundlage für die Speziesdifferenzierung dienten die Prüfung der biochemischen Eigenschaften sowie ein konventioneller Test: rapid ID 32 strep (bioMerieux). Danach konnten 73 *Ec. faecalis*, 25 *Ec. faecium*, 9 *Ec. hirae*, 8 *Ec. durans*, 2 *Ec. gallinarum* Stämme und 1 *Ec. casseliflavus* Stamm ausdifferenziert werden. Insgesamt 39 Stämme konnten nicht näher identifiziert werden.

Einige ausgewählte Stämme wurden auf ihr Phenylethylamin- und Tyraminbildungsvermögen geprüft. Als positiver Kontrollstamm diente ein *Ec. faecalis* Stamm, der vorher mittels Dünnschichtchromatographie auf Phenylethylaminbildung getestet worden war. Als Negativkontrolle wurde ein *Staphylococcus aureus* Stamm eingesetzt. Die Enterokokkenstämme wurden bei 30 °C über 72 Stunden bebrütet. Anschließend erfolgte die quantitative Bestimmung von Phenylethylamin und Tyramin mittels HPLC. Beim Referenzstamm erfolgte die Bestimmung außerdem nach 24 und 48 Stunden Bebrütung. Zusätzlich wurden bei allen Stämmen Keimzahl und pH-Wert der Nährbouillon ermittelt. Die Analyse der biogenen Amine erfolgte mit einem HPLC-System der Firma Kontron: Pumpe 422S, Autosampler 465, Fluoreszenzdetektor SFM 25. Es kam die Vorsäulenderivatisierung mit *o*-Phthaldialdehyd als Derivatisierungsreagenz zum Einsatz. Folgende Säulen wurden verwendet: Vorsäule: 30x4 mm LiChrosorb® RP-18,5 µm; Trennsäule: 250x4 mm LiChrosorb® RP-18,5 µm (Knauer).

Alle untersuchten *Ec. faecalis* Stämme waren in der Lage Phenylethylamin und Tyramin zu bilden. Tyramin wurde von allen untersuchten *Ec. faecium* Stämmen gebildet, bei zwei dieser Stämme konnte Phenylethylaminbildung nachgewiesen werden. Nur zwei von fünf untersuchten *Ec. durans* Stämmen waren in der Lage die gesuchten Amine zu bilden. Herauszustellen ist die Phenylethylamin- und Tyraminbildungskapazität der *Ec. hirae* Stämme. Hier konnte die größte Menge der gesuchten Amine nachgewiesen werden. Weder

die untersuchten *Ec. gallinarum* Stämme, noch der *Ec. casseliflavus* Stamm hatte die Fähigkeit zur Phenylethylamin- oder Tyraminbildung.

Die in den eigenen Untersuchungen geprüften Enterokokken konnten somit aufgrund der Intensität der Phenylethylaminbildung wie folgt eingeordnet werden: *Ec. hirae* > *Ec. faecalis* > *Ec. durans* > *Ec. faecium*. Aus lebensmitteltechnologischer Sicht sind v.a. die Stämme der Spezies *Ec. faecium* und *Ec. durans* interessant. In den eigenen Untersuchungen konnten Stämme dieser Spezies nachgewiesen werden, die die Fähigkeit zur Phenylethylamin-bildung bzw. Phenylethylamin- und Tyraminbildung nicht aufwiesen. Diese Stämme zeigten gute Säuerung und Keimvermehrung und wären als potenzielle Starterkulturen geeignet.

## Summary

### 2-phenylethylamine formation by enterococci from food of animal origin

From a total number of 110 food samples (butchered pigs and cows, minced pork, cheese and chicken) 157 strains of the genus *Enterococcus* were isolated. The testing of biochemical characteristics of the enterococci as well as a conventional test: rapid ID 32 strep (bioMérieux) were used as basis for the differentiation of the genera. Afterwards 73 *Ec. faecalis*, 25 *Ec. faecium*, 9 *Ec. hirae*, 8 *Ec. durans*, 2 *Ec. gallinarum* strains and 1 *Ec. casseliflavus* strain were grown. An overall number of 39 strains could not be identified specifically.

Some of the selected strains were tested for their ability to produce phenylethylamine and tyramine. An *Ec. faecalis* strain, which had been tested for phenylethylamine production by thin layer chromatography, was used as positive control strain. A *Staphylococcus aureus* strain was used as negative control. The enterococcus strains were incubated by 30 degree Celsius for 72 hours. Afterwards the quantity of phenylethylamine and tyramine was measured by high-performance liquid chromatography (HPLC). In the control strain the quantity was also measured after 24 and 48 hours of incubating. Additionally, for all strains the number of germs and the pH value of the culture medium were measured. The analysis of biogenetic amines was done with a HPLC-system of the company Kontron: pump 422S, autosampler 465, fluorescence detector SFM 25. The pre column derivation with o-phthaldialdehyd as derivation reagent was used. The following columns were used: pre-column 30x4 mm, LiChrosorb® RP-18,5 µm; separating column: 250x4 mm LiChrosorb® RP-18,5 µm (Knauer).

All analyzed *Ec. faecalis* strains were able to produce phenylethylamine and tyramine. Tyramine was also produced by all analyzed *Ec. faecium* strains; two of the five analyzed *Ec. durans* strains were also able to produce the searched for amines. The capacity of phenylethylamine and tyramine production of *Ec. hirae* strains has to be stressed. Large amounts of the searched for amines

were found here. Neither the analyzed *Ec. gallinarum* strains nor the *Ec. casseliflavus* strain had the ability to produce phenylethylamine and tyramine. The enterococci, which were analyzed in my own study, can be arranged in the following order of intensity of phenylethylamine production: *Ec. hirae* > *Ec. faecalis* > *Ec. durans* > *Ec. faecium*. In the view of food technology, the strains of the genus *Ec. faecium* and *Ec. durans* are particularly interesting. Several strains of this genus isolated in the present study did not produce phenylethylamine and/or tyramine. These strains showed ample acid production and ability to grow essential prerequisites for the use as starter cultures.