

OCENA WYBRANYCH EKSTRAKTÓW ROŚLIN PRZYPRAWOWYCH POD WZGLĘDEM ICH WŁAŚCIWOŚCI PRZECIWDROBNOUSTROJOWYCH ORAZ ZAWARTOŚCI FENOLOKWASÓW

Jolanta Piekut✉

Politechnika Białostocka

Streszczenie. W badaniach wykonano analizę obecności fenolokwasów w roślinach przyprawowych, takich jak: imbir, koper, kwiat nagietka, lubczyk i tymianek. Rośliny dobrano ze względu na częste wykorzystywanie ich w przygotowaniu potraw. Ekstrakty etanolewe z roślin, w których występuje duża różnorodność fenolokwasów oraz duża zawartość związków fenolowych, tj. koper, lubczyk i tymianek, powodowały zahamowanie wzrostu w hodowli bulionowej wybranych mikroorganizmów, pozostałe zaś wykazały stymulację wzrostu badanych szczepów. Najsilniejsze właściwości przeciwbakteryjne ekstraktu z lubczyka wykazano po 24 h inkubacji w odniesieniu do bakterii *Escherichia coli* (93%) i *Staphylococcus aureus* (87%), a po 48 h *Pseudomonas aeruginosa* (96%), *Bacillus subtilis* (91%) oraz w stosunku do grzybów *Candida albicans* (90%). Ekstrakt z tymianku również wykazuje właściwości hamujące namnażanie się bakterii, ale tylko w stosunku do dwóch szczepów: *Staphylococcus aureus* po 24 h inkubacji (82%) i po 48 h inkubacji (89%) oraz *Escherichia coli* po 48 h inkubacji w odniesieniu do bakterii (85%).

Słowa kluczowe: rośliny przyprawowe, kwasy fenolowe, właściwości przeciwdrobnoustrojowe

WSTĘP

Przyprawy to naturalne lub przetworzone części roślin zielarskich wykorzystywane jako dodatki do żywności. W przetwórstwie rolno-spożywczym odgrywają zasadniczą rolę, nadając produktom atrakcyjny aromat, barwę, przedłużają ich trwałość oraz podnoszą walory smakowe. W zależności od ich składu chemicznego przyprawy

✉j.piekut@pb.edu.pl

w zróżnicowany sposób wpływają na zmysły człowieka lub zwierząt. Mogą pobudzać apetyt, wzmacniać czynności wydzielnicze przewodu pokarmowego, regulować perystaltykę jelit, przyspieszać wydalanie niestrawionego pokarmu, działać pobudzająco lub uspokajająco, wpływać na pracę nerek i serca oraz działać bakteriostatycznie lub bakteriobójczo [Świątlikowska 2008]. Jakość sensoryczna żywności przetworzonej zależy w dużej mierze od jakości dodatków zapachowych i smakowych. Poza wzbogaceniem atrakcyjności sensorycznej artykułów żywnościowych, przyprawy mogą również wykazywać działanie przeciwdrobnoustrojowe i przeciwutleniające, co związane jest z występującymi w nich biologicznie aktywnymi związkami chemicznymi [Hoffmann 2007]. Niektóre bioaktywne substancje naturalnie występujące w żywności są specjalnie wprowadzane bądź uzyskiwane na skutek jej przetwarzania (zastosowania procesów technologicznych) i mają zdolność całkowitego zatrzymania lub zahamowania wzrostu mikroorganizmów. Określane są one jako konserwanty, inhibitory lub czynniki przeciwdrobnoustrojowe. W celu zapewnienia bezpieczeństwa żywności stosuje się dodatki o charakterze hamującym namnażanie mikroorganizmów. O biostatycznej sile działania dodatku decyduje stężenie, skład mieszanki i rodzaj ekstraktu roślinnego. W niektórych przypadkach wpływ ekstraktu na wzrost drobnoustroju powiązany jest z ich gatunkiem [Wojtatowicz i in. 2009]. Zioła wykorzystywane są również alternatywnie jako antybiotyki w paszach dla zwierząt. Wpływają korzystnie na stan zdrowia bydła, co przekłada się na lepszą wydajność produkcji. Naturalnie wzmacniają ich odporność, pomagają zachować równowagę mikrobiologiczną w układzie pokarmowym i poprawiają jakość mleka krowiego. Charakteryzują się lepszą przyswajalnością, a przy tym są łatwe w stosowaniu [Paschma i Wawrzyński 2007].

Celem pracy była ocena ekstraktów wybranych roślin przyprawowych pod względem ich właściwości przeciwdrobnoustrojowych oraz zawartości fenolokwasów. W badaniach wykonano analizę obecności fenolokwasów (anyżowego, cynamonowego, ferulowego, galusowego, gentyzynowego, kawowego, *p*-kumarowego, syryngowego, wanilinowego) w ekstraktach etanolowych roślin przyprawowych, takich jak: imbir, koper, kwiat nagietka, lubczyk i tymianek, oraz wyznaczono ogólną zawartość związków fenolowych metodą Folina–Ciocalteu. Wybór przypraw dokonano ze względu na dość częste wykorzystywanie ich w przygotowaniu potraw. Testy mikrobiologiczne były prowadzone na wybranych szczepach: bakterii – *Escherichia coli* (EC), *Pseudomonas aeruginosa* (PA), *Staphylococcus aureus* (SA), *Bacillus subtilis* (BS), oraz grzybów *Candida albicans* (CA).

MATERIAŁ I METODY

Materiał do badań stanowiły ekstrakty etanolowe imbiru, kopru, tymianku, lubczyku i kwiatu nagietka. Odważono po 2 g ($\pm 0,0001$ g) świeżego materiału roślinnego, następnie ekstrahowano dwukrotnie 20 cm³ wodnego roztworu etanolu o stężeniu 70%. Po zakończeniu ekstrakcji wyciągi połączono i przesączono. Każdą próbę uzupełniono do 50 cm³ roztworem etanolu.

Analizę chromatograficzną TLC prowadzono na płytkach pokrytych żelalem krzemionkowym Si60 GF₂₅₄. Dobór faz ruchomych dokonano na podstawie przeglądu literatury

oraz badań własnych. Najlepsze wyniki uzyskano, stosując mieszaninę rozpuszczalników: toluen, mrówczan etylu i kwas mrówkowy, w 5 : 4 : 1. Do analizy chromatograficznej TLC ekstraktów etanolowych wybranych roślin przyprawowych wykorzystano syntetyczne analogi kwasów fenolowych: anyżowego, cynamonowego, ferulowego, galusowego, gentyzynowego, kawowego, *p*-kumarowego, syryngowego, wanilinowego, które rozpuszczono w wodnym roztworze etanolu (stężenie 70%).

Ogólną zawartość polifenoli w ekstraktach oznaczano przy użyciu metody Folina–Ciocalteu (F-C) [Cheung 2003, Singleton i Rossi 1965]. Do wykreślenia krzywej wzorcowej użyto roztworu wodnego kwasu galusowego o stężeniu $2 \text{ g}\cdot\text{dm}^{-3}$ w wodzie dejonizowanej. Z przesączonego ekstraktu pobrano $0,25 \text{ cm}^3$ roztworu, dodano $1,25 \text{ cm}^3$ odczynnika Folina–Ciocalteu i wymieszano. Następnie dodano 1 cm^3 roztworu Na_2CO_3 , wymieszano i inkubowano w temperaturze pokojowej przez 2 h. Po tym czasie zmierzono absorbancję przy długości fali 760 nm z wykorzystaniem spektrofotometru UV-VIS firmy JASCO. Wyniki podano jako równoważnik mg kwasu galusowego (GAE) suchej masy [Djeridane i in. 2006]. Analizy wykonano w czterech powtórzeniach.

Celem badań była również ocena właściwości przeciwdrobnoustrojowych ekstraktów roślin przyprawowych w odniesieniu do pięciu testowanych szczepów mikroorganizmów. Pomiar gęstości optycznej miał na celu określenie poziomu zmętnienia zawiesiny bakteryjnej. Wiązka promieniowania jest zmniejszona na skutek rozproszenia, absorpcji i odbicia światła przez hodowlę bulionową, a wartość gęstości optycznej jest proporcjonalna do liczby komórek mikroorganizmów znajdujących się w roztworze. Wzrost bakterii w hodowli bulionowej obliczono z gęstości optycznej i wyrażono w procentach jako stopień zahamowania bądź stymulacji wzrostu mikroorganizmów. Wyniki podano jako wartość średnią z czterech pomiarów. Próba odniesienia był bulion zaszczerpiony bakteriami, bez dodatku żadnego z preparatów hamujących namnażanie. Przyjęto wartość 100%. Za działanie hamujące przyjęto próby, w których wartości były mniejsze niż 100%. Jeśli wyniki były większe niż 100%, uważano to za działanie stymulujące. Testy mikrobiologiczne były prowadzone na wybranych szczepach: bakterii – *Escherichia coli* (EC), *Pseudomonas aeruginosa* (PA), *Staphylococcus aureus* (SA), *Bacillus subtilis* (BS), oraz grzybów *Candida albicans* (CA). Drobnoustroje pochodziły ze zbiorów Polskiej Kolekcji Mikroorganizmów Polskiej Akademii Nauk działającej przy Instytucie Immunologii i Terapii Doświadczalnej we Wrocławiu. W badaniach użyto bulionu zaszczerpionego drobnoustrojami, którego użyto $4,75 \text{ cm}^3$ i dodawano $0,25 \text{ cm}^3$ roztworu badanych ekstraktów. Podłoże kontrolne stanowił bulion zaczepiony testowanym szczepem bez dodatku badanych preparatów. Wszystkie próby inkubowano w cieplarni w temperaturze 36°C w przypadku bakterii oraz w temperaturze 25°C w przypadku grzybów. Wzrost liczby komórek drobnoustrojów w hodowli bulionowej badano po 24 i 48 h inkubacji, wykonując pomiar gęstości optycznej roztworu przy długości fali 600 nm na spektrofotometrze UV-VIS firmy JASCO [Howard i Whitcombe 1995, Wilcks i in. 1998]. Liczbę komórek bakterii w podłożu bulionowym, w przeliczeniu na 5 cm^3 hodowli, określano metodą posiewu redukcyjnego na płytkach Petriego z podłożem agarowym. Miało to na celu standaryzację hodowli i pozwoliło na uzyskanie powtarzalności warunków pomiarowych.

Wyniki poddano analizie wariancji (ANOVA). Do określenia stopnia wzajemnych powiązań między poszczególnymi parametrami obliczano współczynnik korelacji (*r*)

Pearsona. Testowanie prowadzono na poziomie istotności $p \leq 0,05$. Wszystkie analizy wykonano w programie Statistica 10.0.

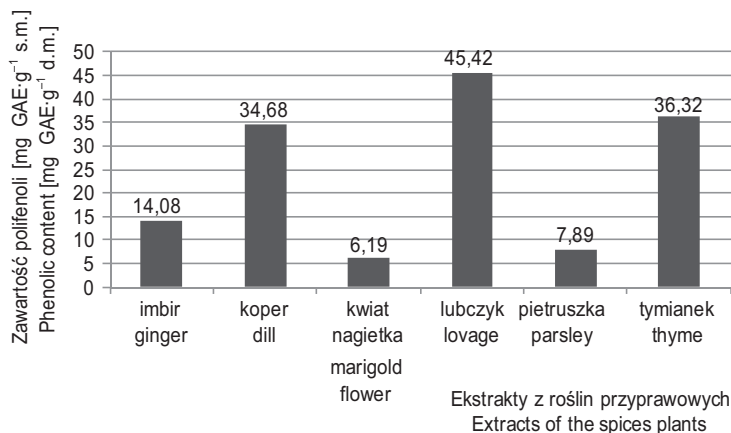
WYNIKI I Dyskusja

Związki fenolowe występują głównie jako hydroksylowe pochodne aromatycznych kwasów: benzoowego, fenyllooctowego, cynamonowego i fenylpropionowego. Analiza chromatograficzna TLC ekstraktów etanolowych wybranych roślin przyprawowych wykazała obecność kwasów: anyżowego, cynamonowego, ferulowego, galusowego, gentyzynowego, kawowego, *p*-kumarowego, syringowego, wanilinowego. Najwięcej kwasów oznaczono w ekstraktach z tymianku i lubczyka (tab). Największą zawartość związków fenolowych ogółem (rys. 1) stwierdzono w próbach wyekstrahowanych 70-procentowym etanolem z lubczyka (45,42 mg GAE·g⁻¹ s.m.), tymianku (36,32 mg GAE·g⁻¹ s.m.) i koprzu (34,68 mg GAE·g⁻¹ s.m.). Najmniejszą zawartość związków fenolowych odnotowano w kwiatach nagietka (6,19 mg GAE·g⁻¹ s.m.) oraz natce pietruszki (7,89 mg GAE·g⁻¹ s.m.). Badania potwierdziły istotną korelację między zawartością kwasów fenolowych

Tabela 1. Wyniki analizy TLC ekstraktów badanych roślin przyprawowych (faza stała Si60 GF₂₅₄, faza ruchoma – toluen : mrówczan etylu : kwas mrówkowy w 5 : 4 : 1)

Table 1. Results of TLC analysis of tested spice plants extracts (solid phase Si60 GF₂₅₄, mobile phase – toluene : ethyl formate : formic acid in a ratio of 5 : 4 : 1)

Badane kwasy Acids tested	Ekstrakt – Extracts					
	imbir ginger	kwiat nagietka marigold flower	koper dill	lubczyk lovage	pietruszka parsley	tymianek thyme
Kwas anyżowy Anisic acid			X	X		X
Kwas cynamonowy Cinnamic acid				X	X	
Kwas ferulowy Ferulic acid			X	X		
Kwas galusowy Gallic acid						X
Kwas gentyzynowy Gentisic acid	X			X		X
Kwas kawowy Caffeic acid	X	X				X
Kwas <i>p</i> -kumarowy <i>P</i> -Coumaric acid			X	X	X	X
Kwas syringowy Syringic acid	X			X		X
Kwas wanilinowy Vanillic acid			X			X

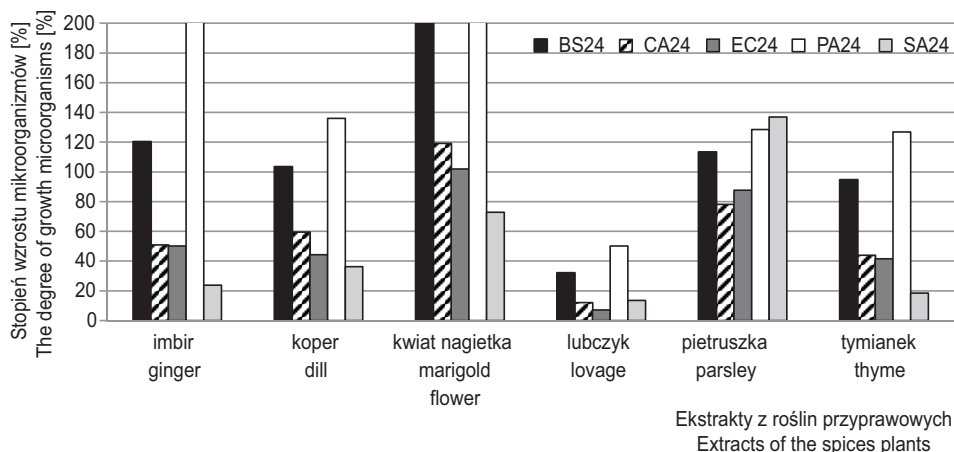


Rys. 1. Zawartość polifenoli ogółem wyrażona jako równoważnik kwasu galusowego (GAE) w ekstraktach etanolowych badanych roślin przyprawowych

Fig. 1. Total phenolic contents expressed as gallic acid equivalent (GAE) in ethanolic extracts of the spices plants

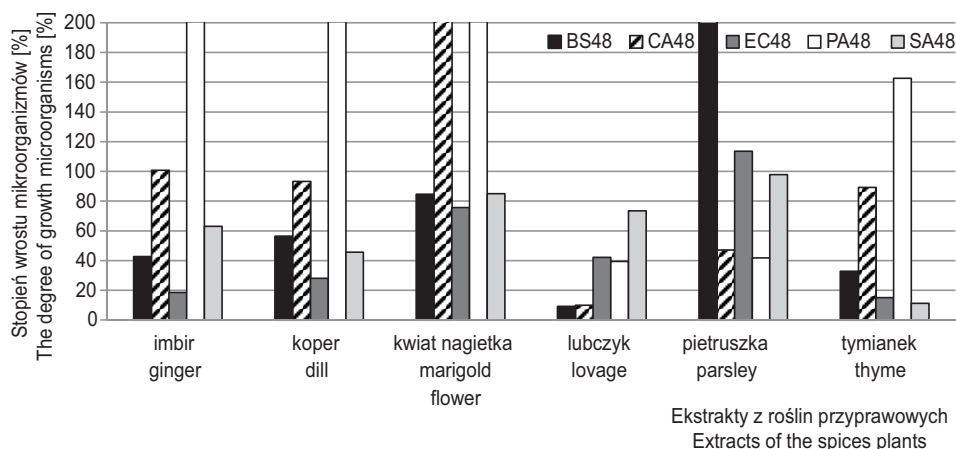
a ogólną zawartością polifenoli na poziomie 0,92, oraz między stopniem zahamowania bądź stymulacji wzrostu testowanych mikroorganizmów w hodowli bulionowej a ogólną zawartością polifenoli na poziomie 0,85.

Najsilniejsze właściwości hamujące wykazano w przypadku ekstraktu z lubczyka po 24 h (rys. 2) inkubacji wobec *Escherichia coli* (93%) i *Staphylococcus aureus* (87%), a po 48 h (rys. 3) w stosunku do *Pseudomonas aeruginosa* (96%), *Bacillus subtilis* (91%) oraz *Candida albicans* (90%).



Rys. 2. Stopień wzrostu testowanych mikroorganizmów w hodowli bulionowej po 24 h inkubacji z dodatkiem ekstraktów etanolowych badanych roślin przyprawowych

Fig. 2. The degree of growth of tested microorganisms in broth culture after 24 h of incubation with addition of the spice plants ethanol extracts



Rys. 3. Stopień wzrostu testowanych mikroorganizmów w hodowli bulionowej po 48 h inkubacji z dodatkiem ekstraktów etanolowych badanych roślin przyprawowych

Fig. 3. The degree of growth of tested microorganisms in broth culture after 24 h of incubation with addition of the spice plants ethanol extracts

Ekstrakt z tymianku wykazuje właściwości hamujące namnażanie się bakterii, ale tylko w stosunku do dwóch szczepów: *Staphylococcus aureus* po 24 h (rys. 2) inkubacji (82%) i po 48 h (rys. 3) inkubacji (89%) oraz *Escherichia coli* po 48 h (rys. 3) inkubacji (85%).

Porównując wyniki badań mikrobiologicznych syntetycznych analogów kwasów fenolowych występujących w badanych ekstraktach z wynikami prezentowanymi w pracy, można zauważyć, iż działanie pojedynczych związków fenolowych jest odmienne od tych samych substancji w układach biologicznych. Jednym z podstawowych problemów w wykorzystywaniu wyciągów roślinnych jako składników utrwalających artykuły rolno-spożywcze jest powtarzalność ich składu chemicznego. Naturalne pochodzenie czy różne partie ekstraktów wytwarzanych przez różnych producentów mogą wykazywać ilościowe i jakościowe zróżnicowanie.

Zatem jak twierdzi Smith i inni [2005], stosowanie ich w pełni wystandaryzowanych pod względem określonego profilu związków chemicznych i zdefiniowanej aktywności biologicznej w przetwórstwie surowców i produktów rolno-spożywczych jest bardzo trudne do zrealizowania. Często przeniesienie substancji do warunków *in situ* niesie ryzyko zmniejszenia siły bójczej. Uzyskanie stabilizacji mikrobiologicznej wiąże się wówczas ze zwiększeniem stężenia dodatku. W wielu produktach rolno-spożywczych można zaobserwować interakcję składników wyciągów z roślin przyprawowych z białkami, tłuszczami czy ze skrobią [Gutierrez i in. 2008, Cava-Roda i in. 2012, Kyung 2012], co wymaga ciągłej standaryzacji poszczególnych etapów produkcji. Przyprawy zależnie od formy, w jakiej są używane (olejki eteryczne, wyciągi wodne i etanolowe, świeże części roślin, susze), mają różny wpływ na zahamowanie wzrostu mikroorganizmów w artykułach żywnościowych. Według wielu badaczy najlepsze właściwości przeciwdrobnoustrojowe wykazują ekstrakty tłuszczowe, olejki eteryczne oraz wyciągi etanolowe roślin przyprawowych [Burt 2004, Suhaj 2006, Djeddi i in. 2007]. Ograniczają

rozwój, bądź eliminują z żywności takie mikroorganizmy, jak: *Escherichia coli*, *Bacillus cereus*, *Salmonella enteritidis*, *Salmonella typhimurium*, *Clostridium botulinum*, *Listeria monocytogenes*. Wyciągi z roślin przyprawowych są w stanie zastąpić konserwanty czy stabilizatory, co spowoduje zmniejszenie ilości składników receptury, a produkt stanie się bardziej bezpieczny dla konsumenta [Bakkali i in. 2008, Vergis i in. 2015]. Jak podaje Synowiec i inni [2011], obecnie do przedłużenia trwałości artykułów żywnościowych wykorzystuje się wyciągi roślinne z przypraw, takich jak: bazylia, pieprz, lebiodka, goździki i szaflwia. Ich zaletą jest duża skuteczność przeciwdrobnoustrojowa oraz możliwość kombinacji związków wchodzących w skład ekstraktów. Bazylia jest wykorzystywana głównie do produkcji gotowych dań i konserw.

WNIOSKI

1. Najwięcej fenolokwasów oznaczono w ekstraktach z tymianku (anyżowy, galusowy, gentyzynowy, kawowy, *p*-kumarowy, syryngowy, wanilinowy) i lubczyka (anyżowy, cynamonowy, ferulowy, gentyzynowy, *p*-kumarowy, syryngowy, wanilinowy).
2. Największą zawartość związków fenolowych ogółem stwierdzono w próbach wyekstrahowanych z lubczyka, tymianku i kopru.
3. Właściwości mikrobiologiczne pojedynczych związków fenolowych są odmienne od tych samych substancji w układach biologicznych.
4. Badania potwierdziły istotną korelację między zawartością kwasów fenolowych a ogólną zawartością polifenoli oraz stopniem zahamowania bądź stymulacji wzrostu testowanych mikroorganizmów w hodowli bulionowej.
5. Wyciągi z roślin przyprawowych mogą zastąpić konserwanty czy stabilizatory, co powoduje zmniejszenie ilości składników receptury, a produkt staje się bardziej bezpieczny dla konsumenta.

Podziękowania

Badania zostały zrealizowane w ramach pracy statutowej S/WBiŚ/2/15 i sfinansowane ze środków na naukę MNiSW.

LITERATURA

- Bakkali F., Averbeck S., Averbeck D., Idaomar M., 2008. Biological effects of essential oils – a review. *Food Chem. Toxicol.* 46, 446–475.
- Burt S., 2004. Essential oils, their antibacterial properties and potential applications in foods – a review. *Int. J. Food Microbiol.* 94, 223–253.
- Cava-Roda R., Taboada-Rodríguez A., Valverde-Franco M., Marín-Iniesta F., 2012. Antimicrobial activity of vanillin and mixtures with cinnamon and clove essential oils in controlling *Listeria monocytogenes* and *Escherichia coli* O157:H7 in milk. *Food Bioprocess Tech.* 5(6), 2120–2131.
- Cheung L.M., Cheung P.C.K., Ooi V.E.C., 2003. Antioxidant activity and total phenolics of edible mushroom extracts. *Food Chem.* 81(2), 249–255.

- Djeddi S., Bouchenah N., Settar I., Skaltsa H.D., 2007. Composition and antimicrobial activity of the essential oil of *Rosmarinus officinalis* L. from Algeria. *Chem. Nat. Compd.* 43, 4, 487–490.
- Djeridane A., Yousfi M., Nadjemi B., Boutassouna D., Stocker P., Vidal N., 2006. Antioxidant activity of some Algerian medicinal plants extracts containing phenolic compounds. *Food Chem.* 97, 654–660.
- Gutierrez J., Barry-Ryan C., Bourke P., 2008. The antimicrobial efficacy of plant essential oil combinations and interactions with food ingredients. *Int. J. Food Microbiol.* 124, 91–97.
- Hoffmann M., 2007. Jakość sensoryczna wybranych warzyw przyprawowych liofilizowanych i suszonych konwencjonalnie. *ŻNTJ* 2 (51), 91–97.
- Howard J., Whitcombe D.M., 1995. Diagnostic bacteriology protocols. W: *Methods in Molecular Biology* (46). Humana Press, Totowa, New Jersey, 155–156.
- Kyung K.H., 2012. Antimicrobial properties of *Allium* species. *Curr. Opin. Biotech.* 23(2), 142–147.
- Paschma J., Wawrzyński M., 2007. Effect of using herbs in pig diets on growth parameters, carcass traits and dietetic value of pork. *Pol. J. Nat. Sci.* 4, 71–76.
- Singleton V.L., Rossi J.A., 1965. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *Am. J. Enol. Vitic.* 16, 144–158.
- Smith R.L., Cohen S.M., Doull J., Feron V.J., Goodman J.I., Marnett L.J., Portoghesi P.S., Waddell W.J., Wagner B.M., Hall R.L., Higley N.A., Lucas-Gavin C., Adams T.B., 2005. A procedure for the safety evaluation of natural flavor complexes used as ingredients in food: essential oils. *Food Chem. Toxicol.* 43, 345–363.
- Suhaj M., 2006. Spice antioxidants isolation and their antiradical activity: a review. *J. Food Comp. Anal.* 19: 531–537.
- Synowiec A., Gniewosz M., Bączek K., Węglarz Z., 2011. Przeciwdrobnoustrojowe działanie wodno-etanolowego ekstraktu z liści borówki czernicy (*Vaccinium myrtillus* L.). *Bromat. Chem. Toksykol.* 44(3), 656–661.
- Świetlikowska K. (red.), 2008. Surowce spożywcze pochodzenia roślinnego. Wyd. II uzupełnione. Wydawnictwo SGGW, Warszawa.
- Vergis J., Gokulakrishnan P., Agarwal R.K., Kumar A., 2015. Essential oils as natural food antimicrobial agents: a review. *Critical Rev. Int. J. Food Sci. Nutr.* 55, 1320–1323.
- Wilcks A., Jayaswal N., Lereclus D., Andrup L., 1998. Characterization of plasmid pAW63, a second self-transmissible plasmid in *Bacillus thuringiensis* subsp. *kurstaki* HD73. *Microbiology* 144, 1263–1270.
- Wojtatowicz M., Stempniewicz R., Żarowska B. (red.), 2009. Mikrobiologia żywności. Teoria i ćwiczenia. Wydawnictwo Uniwersytetu Przyrodniczego we Wrocławiu, Wrocław.

EVALUATION OF SELECTED SPICE PLANTS EXTRACTS UNDER THEIR CONTROLS OF ANTIMICROBIAL PROPERTIES AND CONTENT OF PHENOLIC ACIDS

Summary. Natural or processed spices are parts of herbal plants used as food additives. They stand behind themselves because of their taste or aroma. In agri-food processing spices play a major role giving the products an attractive aroma, color, prolonging durability and enhancing the taste. In dependence of their chemical composition, they remind of a varied way of raising the senses of man or animals. They can stimulate appetite, increase secretion of food, regulate intestinal peristalsis, accelerate excretion, stimulate or calcify,

affect kidney and heart function and bacteriostatic or bactericidal action. The aim of this work is to evaluate the antimicrobial properties and the content of phenolic acids in selected spice plants. The paper presents an analysis of the presence of phenolic acids (anisic, cinnamic, ferulic, gallic, gentisic, caffeic, *p*-coumaric, syringic, vanillic) in ethanol extracts of spice plants such as ginger, dill, marigold flower, lovage, parsley and thyme. Ethanol extracts with plants that contain high quality phenolic compounds, i.e. dill, lovage and thyme, caused an inhibition of growth in broth cultures selected microorganisms, whereas the others showed stimulation of the growth of tested strains. The strongest antimicrobial properties were observed for lovage extract after 24 h of incubation in reference to *Escherichia coli* (93%), *Staphylococcus aureus* (87%), and after 48 h *Pseudomonas aeruginosa* (96%), *Bacillus subtilis* (91%) and *Candida albicans* (90%). Thyme extract also exhibits the properties of inhibiting bacterial growth but only in respect of two strains: *Staphylococcus aureus* after 24 h of incubation (82%), after 48 h of incubation (89%) and *Escherichia coli* after 48 h of incubation (85%).

Key words: spice plants, phenolic acids, antimicrobial properties