

LIŚĆ OLIWNY (*OLEAE FOLIUM*) JAKO ŹRÓDŁO FENOLI O DZIAŁANIU LECZNICZYM

Katarzyna Dąbrowska¹⁾, Marzena Matejczyk²⁾

¹⁾Instytut Biotechnologii Przemysłu Rolno-Spożywczego im. prof. Waława Dąbrowskiego,
Zakład Mikrobiologii, ul. Rakowiecka 36, 02-532 Warszawa

²⁾Politechnika Białostocka, Wydział Budownictwa i Inżynierii Środowiska,
Zakład Chemii, Biologii i Biotechnologii, ul. Wiejska 45E, 15-351 Białystok

katarzyna.dabrowska@ibprs.pl

Streszczenie

Celem pracy przeglądowej jest zaprezentowanie aktywności biologicznej i wynikających z tego właściwości prozdrowotnych fenoli obecnych w liściach oliwki europejskiej (*Olea europaea*). W liściach *O. europaea* najczęściej spotykane są związki fenolowe z grupy sekoirydoidów, w tym oleuropeina i jej pochodne. Wykazują one właściwości antyoksydacyjne, przeciwzapalne i antymikrobiologiczne. Odpowiednio selekcjonując materiał roślinny i dobierając właściwą metodę ekstrakcji można uzyskać ekstrakt o pożądanej zawartości związków bioaktywnych. Ilość fenoli w gotowym produkcie można określić wykorzystując metody chromatograficzne, spektroskopowe lub technologie biosensorowe. Dostępny komercyjnie ekstrakt z liści oliwki europejskiej jest najczęściej wystandaryzowany na zawartość oleuropeiny. Sprzedawany głównie jako suplement diety, stanowi również dodatek do żywności mogący zwiększać jej potencjał prozdrowotny i służący konserwacji produktów spożywczych.

Słowa kluczowe: liść oliwny, *Oleae folium*, *Olea europaea*, fenole, żywność

OLIVE LEAF (*OLEAE FOLIUM*) AS A SOURCE OF THERAPEUTIC PHENOLS

Summary

This review aims to bring attention to medicinal properties of phenols present in olive tree (*Olea europaea*) leaves. Secoiridoids – oleuropein and its derivatives, are the most abundant group of phenols found in the leaves of *O. europaea*. Those compounds possess antioxidative, anti-inflammatory and antimicrobial properties. Olive leaves extract with a desirable content of phenols can be obtained with a right selection of plant material and

extraction method. Content of phenolic compounds can be assessed using chromatographic, spectroscopic or biosensor methods. Commercially available extracts from leaves of olive tree are most often standardized to oleuropein content. Sold mainly as a dietary supplements, they can also serve as food additives with a therapeutic and preservative potential.

Key words: olive leaf, *Oleaefolium*, *Olea europaea*, phenols, food

WPROWADZENIE

Oliwka europejska (*Olea europaea*) w krajach gdzie jest uprawiana pełni od starożytności ważną rolę gospodarczą [Lins i in. 2018]. Jest drzewem niewymagającym, mogącym rosnąć na ubogich glebach. Wykazuje również odporność na suszę [Russel i in. 2008]. Produktem ubocznym uprawy i przetwórstwa oliwek są znaczne ilości liści *O. europaea*. Korzystne zatem pod względem ekonomicznym było by wykorzystanie liści oliwnych jako źródła bioaktywnych składników w farmacji lub przetwórstwie żywności [Manzanares in. 2011, Guinda i in. 2015, Abaza i in. 2015].

W liściach *O. europaea* obecne są liczne fenole o działaniu prozdrowotnym. Należą do nich głównie sekoirydoidy i flawonoidy. Szczególnym zainteresowaniem badaczy cieszy się, należąca do pierwszej z wymienionych grup, oleuropeina oraz jej pochodne. Ekstrakt z liści oliwnych, do którego przechodzą wspomniane związki fenolowe, wykazuje aktywność przeciwzapalną, antyoksydacyjną, antymikrobiologiczną czy przeciwwirusową [Abaza i in. 2015, Lins i in. 2018]. Przyswajalność przez organizm człowieka różni się dla poszczególnych fenoli [de Bock i in. 2013, Robles-Almazan i in. 2018].

W celu uzyskania ekstraktu z liści *O. europaea*, o pożądanej zawartości związków bioaktywnych, należy odpowiednio dobrać procedury przygotowania i ekstrakcji wyselekcjonowanego materiału roślinnego [Abaza i in. 2018, Lins i in. 2018]. Analiza ilościowa i jakościowa gotowego ekstraktu wykonywana jest najczęściej z zastosowaniem wysokosprawnej chromatografii cieczowej bądź spektrometrii-UV (Folin-Ciocalteu) [Şahin i Samli 2013, Abaza i in. 2015]. Do określenia biodostępności związków fenolowych w żywności wykorzystywane mogą być z powodzeniem biosensory [Matejczyk 2010, Xu i in. 2013].

1. Charakterystyka drzewa oliwnego i jego liści

Oliwka europejska (*Olea europaea*) to długowieczne, zimozielone drzewo uprawiane głównie na południu Europy [Reinhcholf i Steinbach 1998; Russel i in. 2008, Guinda

i in. 2015]. Gatunek *O. europaea* należy do rodziny *Oleaceae*, rzędu *Lamiales*, klasy *Rosopsida* i gromady *Magnoliophyta* [Wallander i Albert 2000; Besnard i in. 2009; Chiappetta i Muzzalupo 2012]. Obszar występowania *O. europaea* podyktowany jest wrażliwością rośliny na znaczące spadki temperatury. Oliwka europejska posiada znaczną odporność na suszę i może rosnąć nawet na pływających, kamienistych, alkalicznych glebach. W regionach o ciepłym klimacie jest więc rośliną niewymagającą w uprawie [Russel i in. 2008]. Jedyna plantacja oliwki europejskiej w Polsce znajduje się w Zielonkach niedaleko Krakowa. Według opinii doświadczonych plantatorów, niektóre odmiany *O. europaea* mogą rosnąć w warunkach naszej strefy klimatycznej, przy zastosowaniu pewnych zabiegów chroniących je przed zimą (<http://www.drzewkooliwnie.pl/PLANTACJA.html>). Oliwka europejska rośnie powoli, jednak nawet w wieku kilkuset lat potrafi wciąż dawać plon. Najstarszy na świecie, żywy okaz drzewa oliwnego liczy ok. 2 000 lat [Reinhcholf i Steinbach 1998; Russel i in. 2008]. *O. europaea* dorasta do 12 m wysokości. Posiada krótki, przysadzisty, skręcony, rozgałęziający się na wiele powyginanych konarów pień. U bardzo starych drzew bywa on pusty w środku. Bruzdowata kora młodej oliwki europejskiej ma kolor srebrzystoszary. Odmiana hodowlana nie posiada kolców [Reinhcholf i Steinbach 1998; Sutton 2003; Bärtels 2009]. Owoce *O. europaea* – oliwki – to pestkowce mierzące od 1 do 3 cm długości. W zależności od stopnia dojrzałości charakteryzują się barwą od zielonej aż po czarną. Kwiaty *O. europaea* są białe i niewielkie [Reinhcholf i Steinbach 1998]. Ich ułożenie w wiechach, umiejscowionych w kątach liści, widoczne jest na rysunku 1.

Liście *O. europaea* wykazują cechy będące elementem przystosowania rośliny do wzrostu w klimacie półpustynnym. Są stosunkowo małe (maksymalnie 1,5 cm szerokości i 5 cm długości). Posiadają grubą warstwę epidermy i kutykuli oraz charakteryzują się dużą gęstością tkanek. Małe przestwory międzykomórkowe i niewielki stosunek powierzchni do grubości liści chronią roślinę przed nadmierną utratą wody. Liście *O. europaea* mogą ulegać zwijaniu się w odruchu obronnym wywołanym przez stres suszy [Bacelar i in. 2003, Gryszczyńska i in. 2010]. Przed nadmiernym parowaniem wody zabezpieczone są dodatkowo dzięki obecności na ich spodniej, białobrązowej stronie niewielkich włosków. Liście oliwki europejskiej są skórzaste i z wierzchu ciemnozielone. Jak widać na rysunku 1, mają kształt wrzecionowaty. Ułożone wzdłuż pędu naprzeciwległe, nie opadają na zimę [Sutton 2003, Gryszczyńska i in. 2010, Johnson i More 2011]. W praktyce zielarskiej i farmaceutycznej stosuje się wobec liści *O. europaea* określenie pochodzące z łaciny – *Oleae folium*. Takie nazewnictwo ma na celu odróżnienie surowca zielarskiego jakim jest liść (łac. *folium*) od innych organów roślinnych, często posiadających odmienne składniki lecznicze, np. owocu

(łac. *fructus*) czy kwiatu (łac. *flos*) [Szweykowska i Szweykowski 2003].



Ryunek 1. Gałązka *Olea europaea* z liśćmi i kwiatami
Olea europaea twig with leaves and flowers
(https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Olea_europaea_-_K%C3%B6hler%E2%80%93Medizinal-Pflanzen-229.jpg)

Od kilku tysięcy lat oliwka europejska stanowi istotne źródło potrzebnych ludziom surowców, głównie oliwek i tłoczonego z nich oleju. W medycynie ludowej krajów śródziemnomorskich niegdyś tradycyjnie stosowano je w leczeniu objawów bólowych o charakterze reumatycznym, bóli zlokalizowanych w jamie brzusznej oraz przy odkażaniu ran [Bianco i in. 2006, Lins i in. 2018, Bonvino i in. 2018]. W ostatnich latach znacząco wzrosło zainteresowanie badaczy ekstraktami z organów roślinnych *O. europaea* [Dekanski i in. 2014, Lins i in. 2018]. Liście oliwki europejskiej stanowią surowiec łatwy do pozyskania w regionie jej uprawy. Są odpadem pochodzącym z przetwórstwa oliwek, jak również z zabiegów przycinania gałęzi. Według źródeł literaturowych zamiast palenia lub niszczenia i rozsypywania na polach, korzystniejszym pod względem ekonomicznym rozwiązaniem byłoby ich wykorzystanie jako surowca zawierającego liczne składniki bioaktywne, w tym związki o działaniu antyoksydacyjnym i antymikrobiologicznym [Manzanares in. 2011, Abaza i in. 2015, Guinda i in. 2015].

Najczęściej opisywanym w literaturze przykładem wykorzystania ekstraktu z *Olea folium*, jako dodatku do żywności, jest wzbogacanie nim olejów spożywczych, w celu podniesienia ich walorów smakowych i stabilności tlenowej [Erbay i Icier 2010a, Delgado-

Adáméz i in. 2014, Abaza i in. 2015, Martillanes i in. 2017]. Al-Rimawi i in. [2017] wspominają również o dodatku omawianego ekstraktu do surowych hamburgerów w celu ich konserwacji. Dodatek ekstraktów o działaniu przeciwutleniającym do żywności niesie za sobą korzyści prozdrowotne konsumentom i może przyczyniać się do zwiększenia stabilności tlenowej produktów spożywczych [Bouaziz i in. 2008, Chibane i in. 2018]. Ekstrakty roślinne wykazujące działanie antymikrobiologiczne, dodawane do produktów spożywczych, zwiększają bezpieczeństwo i spowalniają procesy psucia się żywności [Chibane i in. 2018]. Obecnie na rynku dostępny jest również płynny lub sproszkowany ekstrakt z liści oliwki europejskiej, reklamowany jako suplement diety [Abaza i in. 2015, <https://getthetea.com/shop/olive-leaf-extract/>].

2. Związki fenolowe o działaniu leczniczym obecne w ekstrakcie z liścia oliwnego

O. europaea jest cennym źródłem substancji o działaniu prozdrowotnym, m. in. antynocycyptywnym, hipotensyjnym, antyhiperglikemicznym, przeciwdrgawkowym, przeciwzapalnym, antyoksydacyjnym, przeciwbólowym, immunomodulatorowym, przeciwwirusowym, antymikrobiologicznym, gastroprotektoryjnym, przeciwnowotworowym oraz ułatwiającym gojenie ran [Pereira i in. 2007, Hashmi i in. 2015, Bonvino i in. 2018]. Bonvino i in. [2018] podzielili związki chemiczne znajdujące się w organach roślinnych *Olea europaea* na 13 głównych klas, do których należą: fenole, aminokwasy, sterole, fosfolipidy, kwasy triterpenowe, kwasy tłuszczowe, tokoferole, alifatyczne i aromatyczne alkohole, węglowodory, cukry, pigmenty, związki lotne oraz „inne” substancje [Bonvino i in. 2018, <https://www.mccordresearch.com.au>].

Według danych literaturowych, fenole stanowią najbardziej interesującą grupę substancji, pod względem potencjału prozdrowotnego, obecną w ekstrakcie z liści *O. europaea* [El i Sibel 2009, Omar 2010, Ferdousi i in. 2018]. Udowodniono, że związki fenolowe mogą wykazywać działanie przeciwzapalne, przeciwwirusowe i antymikrobiologiczne [Lockyer i in. 2012, Guinda i in. 2015]. Dowiedziono też znaczącej, antyoksydacyjnej aktywności tych substancji. Edgecombe i in. [2000] porównują ją do działania przeciwutleniającego, charakteryzującego α -tokoferol czy witaminę C [Edgecombe i in. 2000, Lins i in. 2018]. Lins i in. [2018] dowiedli istnienia znaczącego potencjału antyoksydacyjnego ekstraktu z *Oleae folium* w odniesieniu do biologicznie aktywnych form tlenu i azotu. Udowodniono również, że polifenole oddziałują na układ krążenia – przeciwdziałają nadciśnieniu czy arytmii [Pereira i in. 2007, Abaza i in. 2015]. Niektórzy autorzy wspominają o istotnym wpływie związków fenolowych na ciśnienie krwi i poziom cholesterolu w organizmach zwierząt [Lockyer i in.

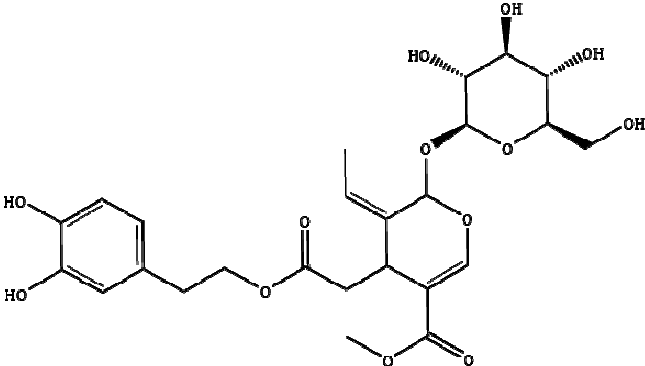
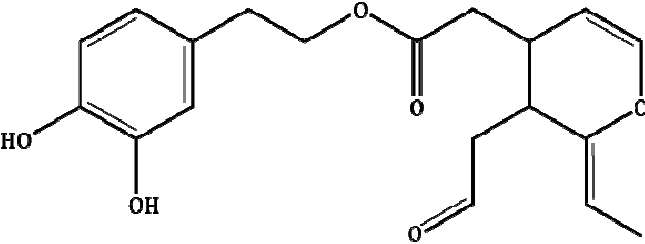
2012, Guinda i in. 2015]. Polifenole zawarte w ekstrakcie z liścia oliwnego mogą również przyczyniać się do hamowania skurczów mięśni gładkich jelit, zapobiegania agregacji płytek krwi, inhibicji enzymów towarzyszących stanowi zapalnemu czy hamowania aktywacji metabolicznej prokarcinogenów [Edgecombe i in. 2000, Boss i in. 2016].

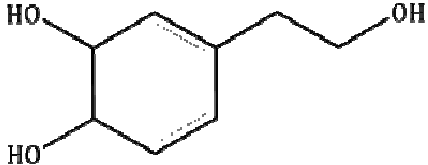
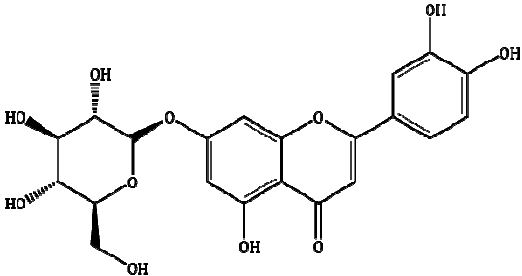
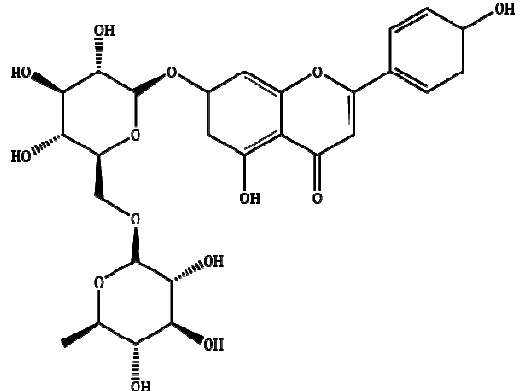
Związki fenolowe charakteryzują się obecnością pierścienia aromatycznego podstawionego przynajmniej jedną grupą hydroksylową. Należą do metabolitów wtórnych roślin, w których to pełnią funkcje ochronne i wspomagające wzrost [Lockyer i in. 2012]. Wśród związków fenolowych spotykanych w organach roślinnych *O. europaea*, wyróżniamy: proste fenole, kumaryny, flawonoidy, glukozydy, irydoidy, sekoirydoidy, lignany, metoksyfenole, estry fenolowe kwasów tłuszczowych, hydroksy-izochromany, kwasy hydroksybenzoesowe, hydroksycynamonowe i hydroksyfenolooctowe [Bonvino i in. 2018]. Fenole najczęściej izolowane z ekstraktu *Oleae folium* to: oleuropeina, aglikon oleuropeiny, hydroksytyrozol, 7-glukozyd luteoliny, 7-glukozyd apigeniny i werbaskozyd [Silva i in. 2006, Pereira i in. 2007, Guinda i in. 2015].

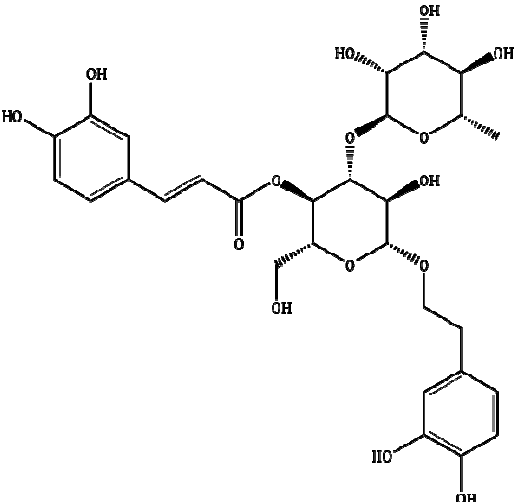
Flawonoidy takie jak glukozyd luteoliny i apigeniny spotykane są w liściach oliwnych w stosunkowo dużych ilościach [Savournin i in. 2001, Abaza i in. 2015]. Największy udział ilościowo (73%) spośród wszystkich związków fenolowych obecnych w *Oleae folium* ma jednak należąca do sekoirydoidów oleuropeina [Pereira i in. 2007, Erbay i Icier 2010a, Guinda i in. 2015, Abaza i in. 2015]. Stanowi ona do 14% suchej masy liści *O. europaea* [Pereira i in. 2007, Guinda i in. 2015]. Badania przeprowadzone w ostatnich latach wykazały antyoksydacyjne, przeciwzapalne i antymikrobiologiczne właściwości oleuropeiny [Omar 2010, Lins i in. 2018, Bonvino i in. 2018]. Stwierdzono, że w wyniku hydrolizy oleuropeiny powstaje hydroksytyrozol, który zaliczany jest przez Bonvino i in. [2018] do prostych fenoli. Posiada on znaczną aktywność antyoksydacyjną i jest łatwo przyswajalny przez ludzi (99% biodostępności). Rozpuszcza się zarówno w wodzie jak i w tłuszczach. Dzięki prostej budowie wykazuje powinowactwo strukturalne do wielu związków chemicznych, np. dopaminy [Khymentets i in. 2016, Martinez i in. 2018]. Naturalnie występuje w tęczówce oka. Według Martinez i in. [2018] codzienne spożycie 5,6 mg hydroksytyrozolu może przynieść znaczące korzyści zdrowotne [Fernández-Bolaños i in. 2012, Martinez i in. 2018]. Po odłączeniu pierścienia glukozy od oleuropeiny, w procesie enzymatycznej hydrolizy, powstaje jej aglikon. W ostatnich latach zyskał on dużą popularność zarówno w środowiskach naukowych ze względu na właściwości prozdrowotne, mogące potencjalnie posłużyć w leczeniu schorzeń przewlekłych (np. choroby Alzheimera) [Lopez i in. 2014, Xu i in. 2018]. Werbaskozyd zwany też akteozydem to z kolei glikozyd fenyloetanoidowy.

Stosowany jest w medycynie ludowej jako środek przeciwzapalny i antymikrobiologiczny. W ostatnich latach stał się przedmiotem badań ukierunkowanych na potwierdzenie jego właściwości leczniczych [Funari i in. 2012, Georgiev i in. 2012, Alipieva i in. 2014, Peng i in. 2015]. W tabeli 1 porównano budowę strukturalną i właściwości prozdrowotne opisanych wyżej związków fenolowych, często spotykanych w ekstraktach z liści oliwki europejskiej.

Tabela 1. Wybrane fenole zawarte w ekstrakcie z liści *O. europaea*
Selected phenols present in O. europaea leaves extract

Polifenol <i>Polyphenol</i>	Struktura związku* <i>Compound structure*</i>	Działanie prozdrowotne <i>Health-promoting effect</i>	Źródła <i>Sources</i>
oleuropeina		<ul style="list-style-type: none"> • antyoksydacyjne • antymikrobiologiczne • przeciwwirusowe • przeciwnowotworowe • przeciwzapalne • kardioprotekcyjne • hipolipidemiczne • antyischemiczne 	<p>Grysczyńska i in. 2010 Ammendola i in. 2011 Czerwinska i in. 2012 Guinda i in. 2015</p>
aglikon oleuropeiny		<ul style="list-style-type: none"> • antyoksydacyjne • przeciwnowotworowe • przeciwzapalne • antyhiperglikemiczne • przeciwmiażdżycowe • przeciwdziałające amyloidowej agregacji białek 	<p>Impellizzeri i in. 2011 Leri i in. 2018 Xu i in. 2018</p>

<p>hydroksytyrozol</p>		<ul style="list-style-type: none"> • antyoksydacyjne • antymikrobiologiczne • przeciwnowotworowe • przeciwzapalne • kardioprotekcyjne • neuroprotekcjne • ochronne wobec oczu i skóry • zapobiegające osteoporozie 	<p>Hashim i in. 2008 Hagiwara i in. 2011 Echeverria i in. 2017 Martinez i in. 2018</p>
<p>7-glukozyd luteoliny</p>		<ul style="list-style-type: none"> • antyoksydacyjne • przeciwzapalne • antyastmatyczne • fotoprotekcyjne • chemoprotekcyjne 	<p>Jin i in. 2009 Verschooten i in. 2010 Baskar i in. 2011 Park i Song 2013</p>
<p>7-glukozyd apigeniny</p>		<ul style="list-style-type: none"> • przeciwnowotworowe • antyoksydacyjne • przeciwzapalne • fotoprotekcyjne • przeciwgrzybicze • stymulujące melanogenezę 	<p>Nasr i in. 2016 Smiljkovic i in. 2017</p>

<p>werbaskozyd</p>		<ul style="list-style-type: none"> • antyoksydacyjne • antymikrobiologiczne • przeciwzapalne • fotoprotekcyjne • neuroprotekcyjne 	<p>Alipieva i in. 2014 Peng i in. 2015 Li i in. 2018</p>
---------------------------	------------------------------------------------------------------------------------	--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	------------------------------------------------------------------

* „Struktura związku/*Compound structure*” według Bonvino i in. [2018]

Udowodniono, że ekstrakt z *Oleae folium* jest bogatszy w polifenole zarówno ilościowo jak i jakościowo, w porównaniu do oliwy z oliwek. Ponadto związki fenolowe zawarte w ekstrakcie z liścia oliwnego charakteryzuje zwiększona biodostępność i bioaktywność [Lokyer i in. 2012, Boss i in. 2016]. Symulacja przeprowadzona przez Martín-Vertedor i in. [2016] pokazała, że ekstrakt z liści oliwnych przechodzi przez proces trawienia z zachowaniem swoich prozdrowotnych właściwości. Udowodniono również, że oleuropeina i hydroksytyrozol zawarte w ekstrakcie z liścia oliwnego wchłaniają się z ludzkiego przewodu pokarmowego [de Bock i in. 2013, Khymentets i in. 2016]. Niektóre ze związków fenolowych o prozdrowotnym działaniu na organizm człowieka powstają dopiero w jelitach, w wyniku rozkładu zawartych w spożytym ekstrakcie polifenoli. W taki sposób na skutek rozkładu oleuropeiny w organizmie człowieka może powstać jej aglikon [Xu i in. 2018]. Przystawalność fenoli zależy jednak od wielu czynników, między innymi płci, wieku czy gospodarki hormonalnej [de Bock i in. 2013, Robles-Almazan i in. 2018].

Ilość głównych polifenoli w liściach *O. europaea* ulega zmianie wraz z wiekiem rośliny. Zawartość werbaskozydu i 7-glukozydu luteoliny wzrasta, a zawartość oleuropeiny maleje wraz ze wzrostem wieku liści. Zawartość oleuropeiny w liściach suchych *O. europaea* jest dwa razy większa niż w liściach świeżych i wynosi 60-90 mg/g liści [Gryszczyńska i in. 2010]. Laguerre i in. [2009] donoszą, że w ekstraktach ze starszych liści *O. europaea* znajdują się większe ilości izomerów werbaskozydu i glikozylowanych form luteoliny niż w ekstraktach z liści młodych. Ekstrakty z tych ostatnich zawierają z kolei większe ilości oleuropeiny i aglikonów flawonoidów. Według Laguerre i in. [2009] ekstrakty z dojrzałych liści oliwki europejskiej wykazują wyższą aktywność antyoksydacyjną niż te z liści młodych. Ilościowa jak i jakościowa zawartość związków fenolowych w liściach *O. europaea* determinowana jest, poza wiekiem organów roślinnych, również czynnikami takimi jak miejsce upraw czy odmiana rośliny [Lins i in. 2018]. Istotna jest również data zbiorów (pozyskania) liści i panujący w miejscu upraw klimat [Abaza i in. 2015].

3. Uzyskiwanie ekstraktów z liści oliwki europejskiej

W celu uzyskania pożądanej zawartości związków fenolowych w ekstrakcie z *Oleae folium* należy odpowiednio dobrać procedury obróbki wyselekcjonowanego materiału roślinnego. Odpowiednie przygotowanie liści *O. europaea* jak i rodzaj zastosowanej metody ekstrakcji mają wpływ na zawartość związków fenolowych w końcowym produkcie [Abaza i in. 2015]. Przygotowanie próbki *Oleae folium* do procesu ekstrakcji obejmuje mycie

z użyciem wody destylowanej, a następnie jak najszybszą dehydratację liści. Usunięcie wody przed transportem bądź przechowywaniem materiału roślinnego pełni kluczową rolę w zapobieganiu degradacji liści, prowadzącej do obniżenia jakości produktu [Ahmad-Qasem i in. 2013a]. Obecność wody może również zaburzyć proces ekstrakcji, prowadząc do utraty połączonych w ekstrakcie związków chemicznych [Bahloul i in. 2009].

Proces suszenia liści prowadzony może być metodą tradycyjną (na słońcu lub w cieniu) lub lepiej kontrolowanymi, nowoczesnymi sposobami, z zastosowaniem suszarek: paletowych [Erbay i Icier 2009b], cienkowarstwowych [Erbay i Icier 2010b], taśmowych z pompą ciepła [Erbay i Icier 2009a], stosujących podczerwień [Boudhrioua i in. 2009], konwekcyjnych wykorzystujących ultradźwięki [Cárcel i in. 2010] lub energię słoneczną [Bahloul i in. 2009] czy laboratoryjnych z wymuszonym przepływem gorącego powietrza [Ahmad-Qasem i in. 2013b, Abaza i in. 2015]. Ponadto do procesu dehydratacji liści mogą wykorzystywane być mikrofałe [Aouidi i in. 2012] i liofilizacja [Ahmad-Qasem i in. 2013b]. W skali przemysłowej najczęściej prowadzone jest suszenie gorącym powietrzem (optymalna temperatura 120°C). Według źródeł literaturowych pozwala ono na uzyskanie wyższej zawartości polifenoli w końcowym produkcie, w porównaniu do liofilizacji [Ahmad-Qasem i in. 2013b, Abaza i in. 2015].

Proces ekstrakcji polega na oddzieleniu rozpuszczalnych metabolitów rośliny od nierozpuszczalnej matrycy komórkowej, przy użyciu selektywnych rozpuszczalników i wystandaryzowanych procedur [Azwanida 2015]. Przebieg ekstrakcji ma wpływ na zawartość bioaktywnych składników w ekstrakcie [Lins i in. 2018]. Metody stosowane w uzyskiwaniu ekstraktu z liści oliwki europejskiej to:

- 1) Ekstrakcja do fazy stałej z zastosowaniem w roli rozpuszczalnika etanolu, metanolu, acetonu oraz ich form uwodnionych [Altiok i in. 2008, Cifá i in. 2018].
- 2) MAE (ang. *microwave-assisted extraction*) – ekstrakcja wspomagana mikrofalami [Taamalli i in. 2012];
- 3) USAE (ang. *ultrasound-assisted extraction*) – ekstrakcja wspomagana ultradźwiękami [Şahin i Samlı 2013].
- 4) PLE (ang. *pressurized liquid extraction*) – ekstrakcja pod ciśnieniem [Quirantes-Piné i in. 2013];
- 5) SFE (ang. *supercritical fluid extraction*) – ekstrakcja z użyciem rozpuszczalników w stanie nadkrytycznym [Taamalli i in. 2012].
- 6) SHLE (ang. *superheated liquid extraction*) – ekstrakcja przegrzanym rozpuszczalnikiem [Japón-Luján i in. 2006].

Jak donosi literatura, 70% etanol stanowi najlepszy rozpuszczalnik do otrzymywania ekstraktów o dużej zawartości związków fenolowych z liści *O. europaea* [Lafka i in. 2013, Cifá i in. 2018]. W ekstraktach wodnych zawartość oleuropeiny jest mniejsza w porównaniu do ekstraktów etanolowych, z kolei zawartość glukozydu hydroksytyrozolu i kwasów fenolowych utrzymuje się na podobnym poziomie [Cifá i in. 2018].

Określenie ilości i rodzaju obecnych w produkcie ekstrakcji związków fenolowych ma kluczowe znaczenie przy próbach komercjalizacji ekstraktu z liści *O. europaea* [Abaza i in. 2015]. Dostępne na rynku ekstrakty z *Oleae folium* charakteryzują się wystandaryzowaną zawartością oleuropeiny i polifenoli [www.aptekaemini.pl/lisc-oliwy-extra-60-kapsulek.html, <https://swansonpolska.pl/pasozyty-bakterie-wirusy/3742-kenay-ag-ekstrakt-z-lisci-drzewa-oliwnego-300-kaps-0000005228.html>]. W celu określenia zawartości związków fenolowych w otrzymanym ekstrakcie z liści *O. europaea* można wykorzystać następujące metody:

- HPLC-UV (ang. *high-performance liquid chromatography with ultraviolet detection*) – wysokosprawna chromatografia cieczowa z detekcją spektrofotometryczną (w nadfiolecie) [Fagan i in. 2018];
- HPLC-DAD (ang. *HPLC with Diode-Array Detection*) – HPLC z detekcją spektrofotometryczną (z matrycą diodową) [Kontogianni i in. 2013];
- Połączenie metod HPLC-DAD, MS (ang. *mass spectrometry*) – spektrometrii mas; i NMR (ang. *nuclear magnetic resonance*) – spektroskopii magnetycznego rezonansu jądrowego [Karioti i in. 2006];
- HPLC-ESI-QTOF-MS (ang. *HPLC coupled to electrospray ionization and quadrupole time-of-flight mass spectrometry*) – HPLC z jonizacją elektrosprejem i kwadropolową spektrometrią mas połączoną z analizą czasu przelotu [Quirantes-Piné i in. 2013];
- HPLC-DAD-ESI-TOF-MS (ang. *HPLC-DAD-ESI time-of-flight mass spectrometry*) – HPLC-DAD-ESI w połączeniu ze spektrometrią mas i analizą czasu przelotu [Talhaoui i in. 2014];
- GC-MS (ang. *gas chromatography coupled with mass spectrometry*) – chromatografia gazowa w połączeniu z detekcją za pomocą spektrometrii mas [Guinda i in. 2015];
- Spektroskopia w średniej podczerwieni [Abaza i in. 2015];
- Spektroskopia w nadfiolecie z wykorzystaniem odczynnika Folin-Ciocalteu [Şahin i Samli 2013].

Ostatnia z wymienionych jest najczęściej używaną i najszybszą techniką analityczną stosowaną do określania całkowitej zawartości polarnych związków fenolowych w ekstrakcie z liści oliwki europejskiej [Abaza i in. 2015]. Ze względu na zwiększające się zainteresowanie kwestią monitoringu zawartości związków fenolowych w żywności i środowisku, istnieje dążenie do stworzenia nowych sposobów ich wykrywania. Jedną z takich metod jest detekcja za pomocą biosensorów [Matejczyk 2010, Rodríguez-Delgado i in. 2015]. Liczne badania pokazują, że dzięki zastosowaniu sensora wykorzystującego matrycę biologiczną (w postaci przeciwciał, enzymów lub całych mikroorganizmów) można uzyskać wyższą czułość, selektywność i szybkość detekcji związków fenolowych w badanym materiale niż w przypadku metod spektroskopowych i chromatograficznych. Możliwa jest również redukcja kosztów badań [Mohamadi i in. 2015, Rodríguez-Delgado i in. 2015, Matejczyk i in. 2017, Asal i in. 2018, Kurbanoglu i Ozkan 2018]. Ponadto użycie całokomórkowych biosensorów pozwala na zbadanie ilości analitu, przedostającej się przez błonę komórkową i wywołującej efekt biologiczny. Tym samym możliwe jest określenie biodostępności wybranego związku chemicznego [Xu i in. 2013].

PODSUMOWANIE

Liście oliwki europejskiej zasługują na uwagę jako surowiec roślinny o potencjale farmaceutycznym. Zawarte w *O. europaea* fenole wykazują szereg działań prozdrowotnych na organizm człowieka. Dane literaturowe wskazują, że związki te mogłyby zostać wykorzystane w prewencji i leczeniu chorób przewlekłych oraz nowotworów [Lopez i in. 2014, Boss i in. 2016, Xu i in. 2018]. Aktywność antyoksydacyjna ekstraktu z liści *O. europaea* może znaleźć również zastosowanie w konserwacji wyrobów farmaceutycznych, kosmetyków czy żywności [Lins i in. 2018]. Wiele produktów spożywczych może być wzbogacanych związkami z grupy fenoli w celu podniesienia stabilności tlenowej i mikrobiologicznej oraz zwiększenia potencjału prozdrowotnego [Martillanes i in. 2017]. Ekstrakcja liści *O. europaea* prowadzona może być różnymi sposobami. Za najlepszy rozpuszczalnik (pod względem ilości związków fenolowych otrzymywanych w gotowym produkcie) do ekstrakcji *Oleae folium* uważa się 70% etanol [Lafka i in. 2013, Abaza i in. 2015, Cifá i in. 2018]. Weryfikacja ilości związków fenolowych w gotowym ekstrakcie prowadzona może być z zastosowaniem metod spektroskopowych, chromatograficznych lub biosensorów [Abaza i in. 2015, Kurbanoglu i Ozkan 2018].

PIŚMIENNICTWO

1. Abaza L., Taamalli A., Nsir H., Zarrouk M. (2015), Olive Tree (*Olea europaeae* L.) Leaves: Importance and Advances in the Analysis of Phenolic Compounds, Antioxidants (Basel), 4(4):682-98
2. Ahmad-Qasem M.H., Barrajon-Catalan E., Micol V., Cárcel J.A., Garcia-Perez J.V. (2013a), Influence of air temperature on drying kinetics and antioxidant potential of olive pomace. J. Food Eng., 119:516–524
3. Ahmad-Qasem M.H., Barrajon-Catalan E., Micol V., Mulet A., Garcia-Perez J.V. (2013b), Influence of freezing and dehydration of olive leaves (var. Serrana) on extract composition and antioxidant potential. Food Res. Int., 50:189–196
4. Alipieva K., Korkina L., Orhan I.E., Milen I. Georgiev (2014), Verbascoside - A review of its occurrence, (bio)synthesis and pharmacological significance, Biotechnology Advances, 32: 1065-1076
5. Al-Rimawi F., Tarawa M.S., Elama C. (2017), Olive Leaf Extract as Natural Antioxidant Additive of Fresh Hamburger Stored at 4°C Running Title: Antioxidants from Olive Leaves in Hamburger, American Journal of Food and Technology, 5(4):162-166
6. Altıok E., Bayçın D., Bayraktar O., Ülkü S. (2008), Isolation of polyphenols from the extracts of olive leaves (*Olea europaea* L.) by adsorption on silk fibroin, Sep. Purif. Technol., 62:342–348
7. Ammendola S., Giusti A.M., Masci A., Mosca L., Saso L., Bovicelli P. (2011), Antioxidant properties of hydroxytyrosyl acetate compared with hydroxytyrosol and their protective capacity against oxidative stress in human neuroblastoma cells, J. Sci. Ind. Res., 70:929–937
8. Aouidi F., Dupuy N., Artaud J., Roussos S., Msallem M., Perraud-Gaime I., Hamdi M. (2012), Discrimination of five Tunisian cultivars by mid infraRed spectroscopy combined with chemometric analyses of olive *Olea europaea* leaves, Food Chem., 131:360–366
9. Asal M., Özen Ö., Şahinler M., Polatoğlu İ. (2018), Recent Developments in Enzyme, DNA and Immuno-Based Biosensors, Sensors (Basel), 18(6):1924
10. Azwanida N. N. (2015), A Review on the Extraction Methods Use in Medicinal Plants, Principle, Strength and Limitation, Medicinal & Aromatic Plants, 4:3
11. Bacelar E.A., Correia C.M., Moutinho-Pereira J., Gonçalves B., Lopes J.I., Torres-Pereira J.M.G. (2003), Sclerophylly and leaf anatomical traits of five field-grown olive cultivars growing under drought conditions, Tree Physiology, 24:233-239

12. Bahloul N., Boudhrioua N., Kouhila M., Kechaou N. (2009), Effect of convective solar drying on color, total phenols and radical scavenging activity of olive leaves (*Olea europaea* L.), Int. J. Food Sci. Technol., 44:2561–2567
13. Baskar A.A., Ignacimuthu S., Michael G.P., Al Numair K.S. (2011), Cancer chemopreventive potential of luteolin-7-O-glucoside isolated from *Ophiorrhiza mungos* Linn., Nutr Cancer, 63:130–138
14. Besnard G., de Casas R.R., Christin P-A., Vargas P. (2009), Phylogenetics of *Olea* (*Oleaceae*) based on plastid and nuclear ribosomal DNA sequences: Tertiary climatic shifts and lineage differentiation times, Annals of Botany, 104/1:143-160
15. Bianco A., Ramunno A. (2006), The chemistry of *Olea europaea*, Stud. Nat. Prod. Chem., 33:859–903
16. Bonvino N.P., Liang J., McCord E.D., Zafiris E., Benetti N., Ray N.B., Hung A., Boskou D., Karagiannis T.C. (2018), OliveNet™: a comprehensive library of compounds from *Olea europaea*, Database (Oxford), 1–9
17. Boss A., Bishop K.S., Marlow G., Barnett M.P.G., Ferguson L.R. (2016). Evidence to Support the Anti-Cancer Effect of Olive Leaf Extract and Future Directions, Nutrients, 8/8
18. Bouaziz M., Fki I., Jemai H., Ayadi M., Sayadi S. (2008), Effect of storage on refined and husk olive oils composition: Stabilization by addition of natural antioxidants from Chemlali olive leaves, Food Chem, 108:253–262
19. Boudhrioua N., Bahloul N., Ben Slimen I., Kechaou N. (2009) Comparison on the total phenol contents and the color of fresh and infrared dried olive leaves, Ind. Crops Prod., 29:412–419
20. Bärtels A. (2009), Rośliny Śródziemnomorskie – Flora Świata, MULTICO Oficyna Wydawnicza, Warszawa, str. 42
21. Cárcel J.A., Nogueira R.I., García-Pérez J.V., Sanjuán N., Riera E. (2010), Ultrasound Effects on the Mass Transfer Processes during Drying Kinetic of Olive Leaves (*Olea Europea*, var. Serrana), Defect Diffus. Forum., 297–301:1083–1090
22. Chiappetta A., Muzzalupo I. (2012), rozdział: 2 Botanical Description, str. 24. Olive Germplasm – The Olive Cultivation, Table Olive and Olive Oil Industry in Italy, Editor: Muzzalupo I. InTech
23. Chibane L.B., Degraeve P., Ferhout H., Bouajila J., Oulahal N. (2018), Plant antimicrobial polyphenols as potential natural food preservatives, J Sci Food Agric, doi:10.1002/jsfa.9357

24. Cifá D., Skrt M., Pittia P., Di Mattia C., Ulrih N.P. (2018), Enhanced yield of oleuropein from olive leaves using ultrasound-assisted extraction, *Food Sci Nutr.*, 6(4):1128-1137
25. Czerwinska M., Kiss A. K., Naruszewicz M. (2012), A comparison of antioxidant activities of oleuropein and its dialdehydic derivative from olive oil, oleacein, *Food Chem*, 131:940–947
26. de Bock M., Thorstensen E.B., Derraik J.G.B., Henderson H.V., Hofman P.L., Cutfield W.S. (2013), Human absorption and metabolism of oleuropein and hydroxytyrosol ingested as olive (*Olea europaea* L.) leaf extract, *Mol. Nutr. Food Res.*, 57(11)
27. Dekanski D., Mihailovic-Stanojevic N., Milanovic G., Jovovic D., Miloradovic Z. (2014), Effects of high dose olive leaf extract on haemodynamic and oxidative stress parameters in normotensive and spontaneously hypertensive rats, *J. Serb. Chem. Soc.*, 79:1085e1097
28. Delgado-Adámez J., Franco Baltasar M.N., Ayuso Yuste M.C., Martín-Vertedor D. (2014), Oxidative stability, phenolic compounds and antioxidant potential of a virgin olive oil enriched with natural bioactive compounds, *Journal of Oleo Science*, 63:55–65
29. Edgecombe S.C., Stretch G.L., Hayball P.J. (2000), Oleuropein, an Antioxidant Polyphenol from Olive Oil, Is Poorly Absorbed from Isolated Perfused Rat Intestine, *The Journal of Nutrition*, 130: 2996-3002
30. El S.N., Sibel K. (2009), Olive tree (*Olea europaea*) leaves: potential beneficial effects on human health, *Nutr Rev*, 67(11):632-638
31. Erbay Z., Icier F. (2009a), Optimization of Drying of Olive Leaves in a Pilot-Scale Heat Pump Dryer, *Dry. Technol.*, 27:416–427
32. Erbay Z., Icier F. (2009b), Optimization of hot air drying of olive leaves using response surface methodology, *J. Food Eng.*, 91:533–541
33. Erbay Z., Icier F. (2010a), The Importance and Potential Uses of Olive Leaves, *Food Rev. Int.*, 26:319–334
34. Erbay Z., Icier F. (2010b), Thin-Layer Drying Behaviors of Olive Leaves (*Olea europaea* L.), *J. Food Process Eng.*, 33:287–308
35. Fagan S., Fulco N., Gilbertson J., Van Dyke A.R., Phelan S.A. (2018), Anti-cancer effects of oleuropein olive leaf extract in K562 leukemia cells [abstract]. In: Proceedings of the American Association for Cancer Research Annual Meeting 2018; 2018 Apr 14-18; Chicago, IL. Philadelphia (PA): AACR; *Cancer Res* 2018;78(13 Suppl):Abstract nr 4388
36. Ferdousi F., Araki R., Hashimoto K., Isoda H. (2018), Olive leaf tea may have hematological health benefit over green tea, *Clin Nutr*, pii:S0261-5614(18)32542-1

37. Fernández-Bolaños J.G., López O., López-García M.A., Marset A. (2012), Olive Oil – Constituents, Quality, Health Properties and Bioconversions, InTech London, UK, Chapter 20, Biological properties of Hydroxytyrosol and its derivatives, 375–398
38. Georgiev M., Pastore S., Lulli D., Alipieva K., Kostyuk V., Potapovich A., Panetta M., Korkina L. (2012), Verbascum xanthophoeniceum-derived phenylethanoid glycosides are potent inhibitors of inflammatory chemokines in dormant and interferon-gamma-stimulated human keratinocytes, J Ethnopharmacol., 144(3):754-60
39. Gryszczńska A., Gryszczynska B., Opala B. (2010), Liście oliwki europejskiej (*Olea europaea* L.) – chemizm i zastosowanie w medycynie, Postępy Fitoterapii, 1/2010: 30-37
40. Guinda A., Castellano J.M., Santos-Lozano J.M., Delgado-Hervás T., Gutiérrez-Adán P., Rada M. (2015), Determination of major bioactive compounds from olive leaf, LWT e Food Sci. Technol. 64: 431e438
41. Hashim Y.Z., Rowland I.R., McGlynn H., Servili M., Selvaggini R., Taticchi A., Esposto S., Montedoro G., Kaisalo L., Wähälä K., Gill C.I. (2008), Inhibitory effects of olive oil phenolics on invasion in human colon adenocarcinoma cells in vitro, Int J Cancer, 1:122(3):495-500
42. Hashmi M.A., Khan A., Hanif M., Farooq U., Perveen S. (2015), Traditional Uses, Phytochemistry, and Pharmacology of *Olea europaea* (Olive), Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine, Vol. 2015
43. Impellizzeri D., Esposito E., Mazzon E., Paterniti I., Di Paola R., Bramanti P., Morittu V.M., Procopio A., Britti D., Cuzzocrea S. (2011), The effects of oleuropein aglycone, an olive oil compound, in a mouse model of carrageenan-induced pleurisy, Clin Nutr, 30(4):533-40
44. Japón-Luján R., Luque-Rodríguez J. M., de Castro M. D. (2006), Multivariate optimisation of the microwave-assisted extraction of oleuropein and related biophenols from olive leaves. Anal Bioanal Chem., 385:753–759
45. Jin M., Yang J.H., Lee E., Lu Y., Kwon S., Son K.H., Son J.K., Chang H.W. (2009), Antiasthmatic activity of luteolin-7-O-glucoside from *Ailanthus altissima* through the downregulation of T helper 2 cytokine expression and inhibition of prostaglandin E2 production in an ovalbumin-induced asthma model, Biol Pharm Bull, 32:1500–1503
46. Johnson O., More D. (2011), Drzewa Przewodnik Collinsa, MULTICO Oficyna Wydawnicza, Warszawa, 442-443

47. Karioti A., Chatzopoulou A., Bilia A.R., Liakopoulos G., Stavrianakou S., Skaltsa H. (2006), Novel secoiridoid glucosides in *Olea europaea* leaves suffering from boron deficiency, *Biosci Biotechnol Biochem.*, 70(8): 1898-903
48. Khymenets O., Crespo M.C., Dangles O., Rakotomanomana N., Andres-Lacueva C., Visioli F. (2016), Human hydroxytyrosol's absorption and excretion from a nutraceutical, *J. Funct. Foods*, 23:278–282
49. Kontogianni V.G., Charisiadis P., Margianni E., Lamari F.N., Gerothanassis I.P., Tzakos A.G. (2013), Olive Leaf Extracts Are a Natural Source of Advanced Glycation End Product Inhibitors, *J Med Food*, 16(9): 817-822
50. Kurbanoglu S., Ozkan S.A. (2018), A Novel Enzymatic Biosensor for the Detection of Catechol Using Multi-walled Carbon Nanotubes and Gold Nanowires, *Electrocatalysis*, 9:252–257
51. Lafka T.I., Lazou A.E., Sinanoglou V.J., Lazos E.S. (2013), Phenolic Extracts from Wild Olive Leaves and Their Potential as Edible Oils Antioxidants, *Foods.*, 2(1):18-31
52. Laguerre M., López-Giraldo L., Piombo G., Figueroa-Espinoza M., Pina M., Benaissa, M., Combe A., Rossignol-Castera A., Lecomte J., Villeneuve P. (2009), Characterization of Olive-Leaf Phenolics by ESI-MS and Evaluation of their Antioxidant Capacities by the CAT Assay, *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 86(12):1215-1225
53. Leri M., Ortopesa-Nuñez R., Canale C., Raimondi S., Giogetti S., Bruzzone E., Bellotti V., Stefani M., Bucciantini M. (2018), Oleuropein aglycone: A polyphenol with different targets against amyloid toxicity, *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - General Subjects*, 1862(6):1432-1442
54. Li Y., Yu H., Jin Y., Li M., Qu C. (2018), Verbascoside Alleviates Atopic Dermatitis-Like Symptoms in Mice via Its Potent Anti-Inflammatory Effect, *Int Arch Allergy Immunol.*, 175(4):220-230
55. Lins P.G., Pugine S.M.P., Scatolini A.M., de Melo M.P. (2018), *In vitro* antioxidant activity of olive leaf extract (*Olea europaea* L.) and its protective effect on oxidative damage in human erythrocytes, *Heliyon.*, 4(9): e00805
56. Lockyer S., Yaqoob P., Spencer J., Rowland I. (2012), Olive leaf phenolics and cardiovascular risk reduction: Physiological effects and mechanisms of action, *Nutr. Aging*, 1:125-140
57. Lopez S., Bermudez B., Montserrat-de la Paz S., Jaramillo S., Varela L.M., Ortega-Gomez A., Abia R., Muriana F.J. (2014), Membrane composition and dynamics: a target of bioactive virgin olive oil constituents, *Biochim Biophys Acta*, 1838(6):1638-56

58. Manzanares P., Negro M.J., Oliva J.M., Sáez F., Ballesteros I., Ballesteros M., Cara C., Castro E., Ruiz E. (2011), Different process configurations for bioethanol production from pretreated olive pruning biomass, *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*, 86(6):881-887
59. Martillanes S., Rocha-Pimienta J., Cabrera-Bañegil M., Martín-Vertedor D., Delgado-Adámez J. (2017), Application of Phenolic Compounds for Food Preservation: Food Additive and Active Packaging, *Phenolic Compounds*, Soto-Hernandez M., Palma-Tenango M., del Rosario Garcia-Mateos M., IntechOpen, doi: 10.5772/66885
60. Martínez L., Ros G., Nieto G. (2018), Hydroxytyrosol: Health Benefits and Use as Functional Ingredient in Meat, *Medicines (Basel)*, 5(1):13
61. Martín-Vertedor D., Garrido M., Pariente J.A., Espino J., Delgado-Adámez J. (2016), Bioavailability of Bioactive Molecules from Olive Leaf Extracts and its Functional Value, *Phytother Res.*, 30(7):1172-9
62. Matejczyk M. (2010), Specific for DNA damages *gfp* microbial biosensor as a tool for genotoxic action assessment of environmental pollution, *Oficyna Wydawnicza Politechniki Białostockiej*, 1/4: 319-36
63. Matejczyk M., Świsłocka R., Kalinowska M., Świdorski G., Lewandowski W., Jabłońska-Trypuć A., Rosochacki S.J. (2017), *In vitro* evaluation of biological activity of cinnamic, caffeic, ferulic and chlorogenic acids with use of *Escherichia coli* K-12 *recA::gfp* biosensor strain, *Acta Poloniae Pharmaceutica – Drug Research*, 74(3):801-808
64. Mohamadi M., Mostafavi A., Torkzadeh-Mahani M. (2015), Electrochemical determination of biophenol oleuropein using a simple label-free DNA biosensor, *Bioelectrochemistry*, 101:52-7
65. Nasr B.N., Chaabane F., Sassi A., Chekir-Ghedira L., Gheira K. (2016), Effect of apigenin-7-glucoside, genkwanin and naringenin on tyrosinase activity and melanin synthesis in B16F10 melanoma cells, *Life Sci.*, 144:80-5
66. Omar S.H. (2010), Oleuropein in Olive and its Pharmacological Effects, *Sci Pharm*, 78(2):133-154
67. Park C.M., Song Y. (2013), Luteolin and luteolin-7-*O*-glucoside inhibit lipopolysaccharide-induced inflammatory responses through modulation of NF- κ B/AP-1/PI3K-Akt signaling cascades in RAW 264.7 cells, *Nutr Res Pract*, 7(6):423-429
68. Peng X.M., Gao L., Huo S.X., Liu X.M., Yan M. (2015), The Mechanism of Memory Enhancement of Acteoside (Verbascoside) in the Senescent Mouse Model Induced by a Combination of D-gal and AlCl₃, *Phytother Res*, 29(8):1137-44

69. Pereira A.P., Ferreira I.C., Marcelino F., Valentão P., Andrade P.B., Seabra R., Estevinho L., Bento A., Pereira J.A. (2007), Phenolic Compounds and Antimicrobial Activity of Olive (*Olea europaea* L. Cv. Cobrançosa) Leaves, *Molecules*, 12: 1153-1162
70. Quirantes-Piné R., Lozano-Sánchez J., Herrero M., Ibáñez E., Segura-Carretero A., Fernández-Gutiérrez A. (2013), HPLC-ESI-QTOF-MS as a powerful analytical tool for characterising phenolic compounds in olive-leaf extracts, *Phytochem Anal*, 24(3):213-23
71. Reinhold J.H., Steinbach G. (1998), *Wielka Encyklopedia Drzewa Krzewy*, MUZA SA, Warszawa, 323: 327
72. Robles-Almazan M., Pulido-Moran M., Moreno-Fernandez J., Ramirez-Tortosa C., Rodriguez-Garcia C., Quiles J.L., Ramirez-Tortosa M. (2018), Hydroxytyrosol: Bioavailability, toxicity, and clinical applications, *Food Res Int.*, 105:654-667
73. Rodríguez-Delgado M.M., Alemán-Nava G.S., Rodríguez-Delgado J.M., Dieck-Assad G., Martínez-Chapa S.O., Barceló D., Parra R. (2015), Laccase-based biosensors for detection of phenolic compounds, *TrAC*, 74:21-45
74. Russel T., Cutler C., Walters M. (2008), *Ilustrowana Encyklopedia Drzewa Świata*, Towarzystwo Autorów i Wydawców Prac Naukowych UNIVERSITAS, Kraków, str. 39, 44, 49, 52
75. Şahin S., Samli R. (2013), Optimization of olive leaf extract obtained by ultrasound-assisted extraction with response surface methodology, *Ultrason. Sonochem*, 20:595–602
76. Savournin C., Baghdikian B., Elias R., Dargouth-Kesraoui F., Boukef K., Balansard G. (2001), Rapid high-performance liquid chromatography analysis for the quantitative determination of oleuropein in *Olea europaea* leaves, *J. Agric. Food Chem.*, 49:618–621
77. Schrooyen P.M., van der Meer R., de Kruif C.G. Microencapsulation: Its application in nutrition. *Proc. Nutr. Soc.* 2001;60:475–479. doi: 10.1079/PNS2001112. 7.10.074
78. Smiljkovic M., Stanisavljevic D., Stojkovic D., Petrovic I., Vicentic J.M., Popovic J., Grdadolnik S.G., Markovic D., Snežana Sankovic-Babice S., Glamoclija J., Stevanovic M., Sokovic M. (2017), Apigenin-7-O-glucoside versus apigenin: Insight into the modes of anticandidal and cytotoxic actions, *EXCLI J.*, 16:795-807
79. Sutton D. (2003), *Drzewa Polski i Europy*, Larousse Polska, Wrocław, 172
80. Szweykowska A., Szweykowski J. (2003), *Słownik botaniczny*, Państwowe Wydawnictwo Wiedza Powszechna, Warszawa, 756, 767
81. Taamalli A., Arráez-Román D., Ibáñez E., Zarrouk M., Segura-Carretero A., Fernández-Gutiérrez A. (2012), Optimization of microwave-assisted extraction for the

- characterization of olive leaf phenolic compounds by using HPLC-ESI-TOF-MS/IT-MS, *J. Agric. Food Chem.*, 60(3):791–798
82. Verschooten L., Smaers K., Van Kelst S., Proby C., Maes D., Declercq L., Agostinis P., Garmyn M. (2010), The flavonoid luteolin increases the resistance of normal, but not malignant keratinocytes, against UVB-induced apoptosis, *J Invest Dermatol*, 130:2277–2285
83. Wallander E., Albert V.A. (2000), Phylogeny and classification of *Oleaceae* based on rps16 and trnL-F sequence data, *American Journal of Botany*, 87/12: 1827-1841
84. Xu F., Li Y., Zheng M., Xi X., Zhang X., Han C. (2018), Structure Properties, Acquisition Protocols, and Biological Activities of Oleuropein Aglycone, *Front Chem*, 6:239
85. Xu T., Close M.D., Saylor G.S. Ripp S. (2013), Genetically modified whole-cell bioreporters for environmental assessment, *Ecological Indicators*, 28: 125-141

Adresy internetowe:

- <http://www.drzewkooliwne.pl/PLANTACJA.html>, 16.01.2019
- <https://www.aptekaemini.pl/lisc-oliwy-extra-60-kapsulek.html>, 16.01.2019
- <https://getthetea.com/shop/olive-leaf-extract>, 16.01.2019
- <https://swansonpolska.pl/pasozyty-bakterie-wirusy/3742-kenay-ag-ekstrakt-z-lisci-drzewa-oliwnego-300-kaps-0000005228.html>, 16.01.2019