

# ELEKTROCHEMICKÁ OXIDACE PŘÍRODNÍCH BARVIV POUŽÍVANÝCH NA UMĚLECKÝCH PAMÁTKÁCH

ŠÁRKA RAMEŠOVÁ\* a ROMANA SOKOLOVÁ

Ústav fyzikální chemie J. Heyrovského AV ČR, v.v.i.,  
Dolejškova 3, 182 23 Praha 8  
sarka.ramesova@jh-inst.cas.cz

Došlo 10.6.13, přijato 17.12.13.

Klíčová slova: flavonoidy, degradační produkty, oxidace, spektroelektrochemie

## Obsah

1. Úvod
2. Flavonoidy
3. Quercetin
4. Luteolin
5. Elektrochemická oxidace flavonoidů na pevných elektrodách
  - 5.1. Elektrochemická oxidace v nevodném prostředí
  - 5.2. Elektrochemická oxidace ve vodném prostředí
6. Chemická oxidace flavonoidů
7. Stabilita flavonoidů a jejich oxidační produkty
8. Závěr

## 1. Úvod

Příroda sama o sobě nabízí velkou škálu látek, které se používají jako barviva. Jejich identifikace je, vzhledem k významu barviv ve všech kulturách, zajímavé téma. Pro účely barvení se využívaly barevné látky rostlinného i živočišného původu. Charakteristika těchto látek v historických předmětech je náročný úkol, neboť barviva mohou pocházet ze široké škály zdrojů a pro analýzu je k dispozici pouze malé množství vzorku<sup>1</sup>. Předmětem tohoto literárního přehledu je studium oxidačních mechanismů flavonoidů, které se používaly již počátkem 16. století jako přírodní barviva pro barvení tapisérií a dalších uměleckých děl. Identifikace barviv na starých textilních je obtížná práce, a to nejen díky složitosti procesů degradace<sup>2</sup>, kterými organické molekuly, citlivé na světlo, prošly. Výzkum se týká objasnění degradačních pochodů vybraných pigmentů. Cílem je nalézt oxidační mechanismy, charakterizovat jejich produkty a ze zastoupení rozkladných produktů odvodit původní typ použitých barviv. Zjiš-

tění degradačních produktů a změn ve struktuře matrice by mohlo pomoci při výběru muzejních podmínek. Jednalo by se například o nastavení intenzity osvětlení, dopadu UV záření, vlhkosti prostředí. Ovlivněním těchto podmínek lze snížit riziko rozkladu historického materiálu<sup>3</sup>. Procesy stárnutí a změny uměleckých děl<sup>3,2</sup> jsou, zejména v poslední době, urychlovány působením polutantů. Především historické předměty obsahující vlnu a hedvábí podléhají změnám v proteinové frakci. Zvláště s UV zářením interagují zejména histidinové, tryptofanové, tyrosinové, methioninové, cystinové a cysteinové zbytky obsažené ve vlně a tryptofanové, tyrosinové a fenylalaninové zbytky obsažené v hedvábí<sup>4</sup>. Ozáření vlny vzniká singletový kyslík a hydroperoxydy<sup>5</sup>. Tyto produkty fotooxidace jsou hlavním původcem změny barvy, resp. žloutnutí historických předmětů<sup>6</sup>.

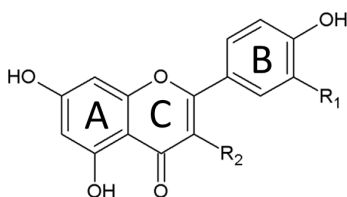
## 2. Flavonoidy

Flavonoidy jsou polyfenolické sloučeniny, v jejichž struktuře je základním skeletem 2-fenyl-1,4-benzopyron. Rozdíly mezi flavonoidy jsou dány množstvím a lokalizací hydroxylových skupin, rozsahem alkylace a glykosylace<sup>7</sup>. V současné době je známo více než 4000 flavonoidů<sup>12</sup> dělicích se do šesti skupin (flavonoly, flavony, isoflavony, flavanony, anthokyanidiny, flavanoly)<sup>8</sup>. Tyto látky jsou zpravidla syntetizovány rostlinami a jsou hlavními chromofory ve většině používaných žlutých barviv<sup>9</sup>. Nalézají se v zelenině, ovoci, koření, léčivých rostlinách, a to buď volně ve formě aglykonu, nebo ve formě vázané jako glykosid. Mnoho z nich také přispívá k chuti a barvě potravin<sup>10</sup>. Mají antioxidační, antimikrobiální a antivirovou aktivitu, jsou známy jejich protizánětlivé a dokonce i protinádorové účinky<sup>10–12,53,54</sup>. Flavonoidy mají v potravinách důležité nutriční, ale i farmaceutické funkce. Z důvodu jejich specifického výskytu v různých druzích rostlin mohou být vhodnými ukazateli kvality a bezpečnosti potravin<sup>10</sup>.

## 3. Quercetin

Quercetin (3,3',4',5,7-pentahydroxyflavon, obr. 1), patří mezi nejhojněji se vyskytující bioaktivní flavonoidní sloučeniny, konkrétně flavonoly. Je často přítomný v ovoci, zelenině, čajích a léčivých rostlinách. Je jedním z hlavních chromoforů barviv, které jsou získávány z bobulí některých druhů řešetláku a dubu sametového dovážených ze Severní Ameriky<sup>9</sup>. V rostlinách se nejčastěji vyskytuje v listech ve formě aglykonu a také jako glykosid. V přírodě bylo nalezeno téměř 180 druhů glykosidů quercetinu<sup>13</sup>,

\* Šárka Ramešová získala cenu firmy Metrohm za nejlepší publikaci mladého elektroanalytického chemika v roce 2012.



Obr. 1. Strukturní vzorce 1) quercetin,  $R_1=OH$ ,  $R_2=OH$ , 2) luteolin,  $R_1=OH$ ,  $R_2=H$ , 3) apigenin,  $R_1=H$ ,  $R_2=H$

a to např. v brokolici, libečku, kapary, salátu, špenátu, cibuli, jablku, hrušce, kapustě, fazolích a v mnohých dalších<sup>13–15</sup>. Quercetin je rozsáhle studován. Bylo zjištěno, že quercetin se účastní enzymatického i neenzymatického hnědnutí potravin<sup>16</sup>. Dále má také farmakologické a terapeutické účinky, jako jsou např. inhibice některých enzymů, antioxidační schopnosti a antihepatotoxický, protinádorový, protizánětlivý a antialergický účinek<sup>12,17</sup>. Quercetin je perspektivní pro prevenci srdečních chorob a rakoviny<sup>18</sup>.

#### 4. Luteolin

Mezi nejhojněji zastoupené flavony v rostlinách patří luteolin (3',4',5,7-tetrahydroxyflavon, obr. 1). Velké množství luteolinu je obsaženo v rostlinách rýtu barviřském (nať) a kručince barviřské (květy) nebo olši jorullenské a šalvěji<sup>19,20</sup>. Dále se nachází v zelenině, například v petrželi, artyčoku nebo bazalce<sup>13,14</sup>. Luteolin a jeho glykosidy jsou zodpovědné za žlutou barvu rostlin, které byly využívány jako přírodní žlutá barviva pro barvení textilií a vlny od starověku<sup>21</sup>. Z terapeutických účinků je nejvýznamnější jeho protizánětlivý účinek<sup>12</sup>. Navíc luteolin vykazuje důležitou biologickou aktivitu u rostlin, které mohou být využity v potravinářství, ve farmaceutickém a kosmetickém průmyslu<sup>22</sup>. Například rostliny druhu hluchavkovitých, jako je šalvěj, dobromysl, máta a perila křovitá, které obsahují luteolin, jsou obsaženy v bylinných čajích a mají léčebné účinky<sup>23</sup>. Luteolin byl také nalezen v heřmánku lékařském, který významně zpomaluje účinky UV záření a tím působí proti kožnímu spálení<sup>12</sup>.

#### 5. Elektrochemická oxidace flavonoidů na pevných elektrodách

Mnohé flavonoidy jsou snadno elektrochemicky oxidovatelné, a proto mohou být voltametriky stanovovány na vhodné pevné či pastové elektrodě. Oxidace flavonoidů byla hojně studována, především v posledních deseti letech, hlavně kvůli jejich významným farmaceutickým účinkům. Tyto studie byly prováděny v různých druzích rozpouštědel. Zjišťování mechanismu oxidace flavonoidů a identifikace oxidačních produktů je ztíženo vysokou nestabilitou těchto látek při práci za běžných laboratorních podmínek, tedy v přítomnosti vzduchu. V závislosti na chemické struktuře se uplatňuje několik různých oxidač-

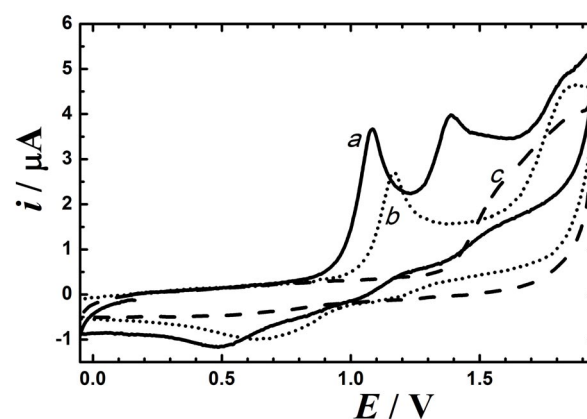
ních mechanismů, proto bylo v literatuře nalezeno velké množství oxidačních produktů. Ukázalo se, že existuje úzký vztah mezi chemickou strukturou flavonoidů a jejich oxidačními vlastnostmi. K určení elektrochemicky aktivní části molekuly se využívají látky, které mají podobnou chemickou strukturu a obsahují různý počet hydroxylových skupin vázaných na aromatická jádra<sup>9,24</sup>.

#### 5.1. Elektrochemická oxidace v nevodném prostředí

Elektrochemická oxidace flavonoidů v nevodném prostředí byla studována v acetonitrilu<sup>9,25</sup>. Porovnáním potenciálů oxidace látek 1, 2 a 3 je vidět, že počet hydroxylových skupin v molekule hraje významnou úlohu (obr. 1 a 2). Čím vyšší je počet hydroxylových skupin v molekule, tím nižší potenciál je potřeba na její oxidaci. Oxidace látky 3 je výrazně pomalejší a cyklický voltamogram vykazuje vysokou ireverzibilitu. Voltamogramy všech tří látek potvrzují, že hydroxylové skupiny v poloze C3'-OH a C4'-OH na kruhu B molekuly quercetinu 1 jsou oxidovány při potenciálu první oxidační vlny<sup>9,18,26,27</sup>. Druhá oxidační vlna quercetinu 1 se v cyklických voltamogramech látek 2 a 3 neobjevuje. Je patrné, že tato vlna souvisí s přítomností C3-OH hydroxylové skupiny na kruhu C v molekule 1. Apigenin 3 se oxiduje při potenciálu vyšším než 1,5 V. Lze usoudit, že třetí oxidační vlna látky 1 přísluší oxidaci hydroxylových skupin vázaných na kruhu A.

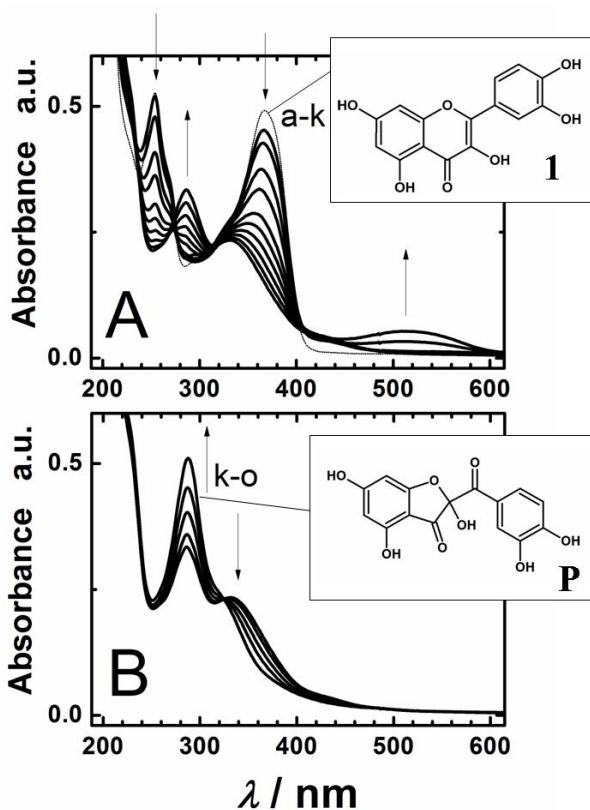
#### Oxidační produkty v nevodném prostředí

Oxidační produkty flavonoidů v nevodném prostředí byly hojně studovány. Jorgensen<sup>28</sup> izoloval jeden oxidační produkt quercetinu v acetonitrilu a identifikoval ho za pomoci <sup>1</sup>H NMR a <sup>13</sup>C NMR jako 2-(3',4'-dihydroxybenzoyl)-2,4,6-trihydroxy-3(2H)-benzofuranon (P). Tento oxidační produkt byl zjištěn jako jediný oxidační produkt quercetinu v nevodném prostředí v argonové atmosféře pomocí separačních technik HPLC-DAD a GC-MS (cit.<sup>9</sup>). Pomocí



Obr. 2. Cyklické voltamogramy roztoků (a)  $4,1 \cdot 10^{-4}$  M quercetinu 1, (b)  $2,7 \cdot 10^{-4}$  M luteolinu 2 a (c)  $2,7 \cdot 10^{-4}$  M apigeninu 3 na mikroelektrodě ze skelného uhlíku v  $0,1$  M TBAPF<sub>6</sub> v acetonitrilu. Rychlost polarizace  $0,25$  V s<sup>-1</sup>

rychlé spektroelektrochemie *in situ* na polotransparentní platinové elektrodě bylo zjištěno, že dochází ke vzniku nestabilního meziprojektu anion radikálu quercetinu<sup>9</sup>. Tento meziprodukt se projevil zvýšením absorpčního pásu při 515 nm a jeho následným vymizením (obr. 3A). Pozorování tohoto nestabilního meziprojektu potvrdilo, že dvouelektronová oxidační vlna zahrnuje dva po sobě jdoucí jednoelektronové přenosy. Ukázalo se, že další oxidační produkt, derivát chinonu, který vzniká po dvouelektronové oxidaci, není konečným oxidačním produktem quercetinu. S dále probíhající elektrolýzou se intenzita absorpčního pásu při 288 nm zvyšuje a dochází ke ztrátě isobestického bodu. Oxidační mechanismus zahrnuje řadu rychlých následných reakcí počínajících hydroxylací chinonového meziprojektu<sup>9</sup>, které vedou ke tvorbě produktu **P** (obr. 3B). Tomuto produktu odpovídá absorpční spektrum znázorněné křivkou o. Stabilita oxidačního produktu **P** je diskutována v kap. 7. V roztoku vystaveném působení



Obr. 3. *In situ* spektroelektrochemie  $1,3 \cdot 10^{-3}$  M roztoku quercetinu při potenciálu (A) na patě a růstu první oxidační vlny a (B) za první oxidační vlnou. Rychlost polarizace  $0,005 \text{ V s}^{-1}$ , spektra registrována při potenciálech (A): a) 0,60; b) 0,89; c) 0,91; d) 0,93; e) 0,95; f) 0,97; g) 0,99; h) 1,0; i) 1,01; j) 1,02; k) 1,03V, (B): k) 1,03; l) 1,05; m) 1,07; n) 1,10; o) 1,14 V proti quasireferentní Ag elektrodě. Absorpční spektrum quercetinu **1** před elektrolýzou znázorňuje tečkovaná křivka. Chemická struktura látky **1** je vložena do části 3A. Chemická struktura oxidačního produktu **P** je vložena do části 3B

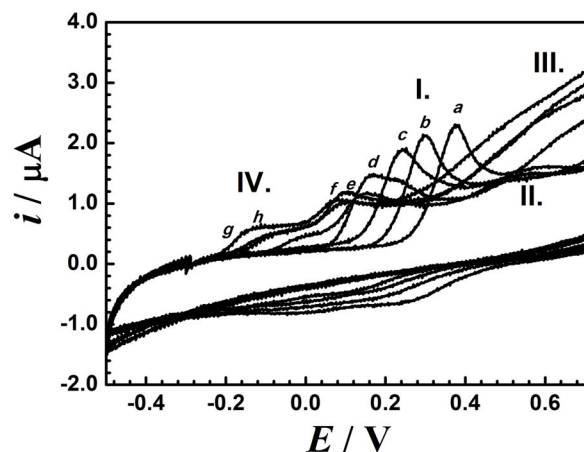
kyslíku našli autoři další oxidační produkty, a to 3,4-dihydroxybenzoovou kyselinu, floroglucinol, 2,4,6-trihydroxybenzoovou kyselinu, 2-(3,4-dihydroxyfenyl)-2-oxooctovou kyselinu a další dvě neznámé látky.

## 5.2. Elektrochemické oxidace ve vodném prostředí

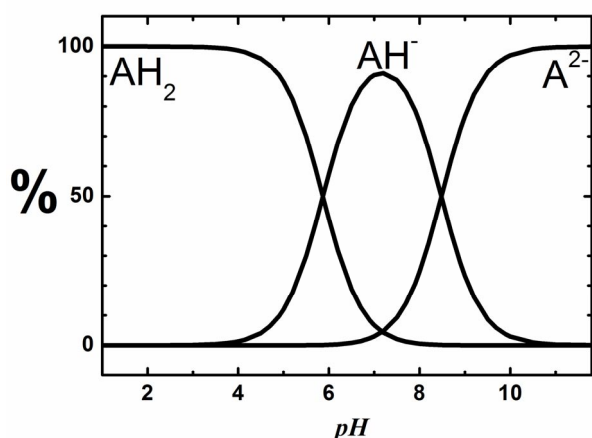
Oxidace flavonoidů byla studována také ve vodném prostředí. Již první práce, které navrhovaly *o*-chinon jako produkt oxidace, uváděly přítomnost další následné chemické reakce, např. hydroxylace<sup>18,26–30</sup>.

Cyklické voltamogramy quercetinu, luteolinu a apigeninu měřené na elektrodě ze skelného uhlíku ve směsi Brittonova-Robinsonova pufru o pH 6,9 a ethanolu (3:2, v/v)<sup>24</sup>, vedou k podobným závěrům jako studie v nevodném prostředí<sup>9</sup>. Porovnáním elektrochemických vlastností chemicky příbuzných látek bylo zjištěno, že první oxidační vlna quercetinu a luteolinu souvisí s oxidací hydroxylové skupiny na kruhu B. Druhá oxidační vlna quercetinu odpovídá oxidaci oxidačního produktu **P** a třetí oxidační vlna souvisí s oxidací hydroxylové skupiny na kruhu A. Oxidační mechanismus polyfenolů a stabilita jejich oxidačních produktů závisí na pH prostředí<sup>31–34</sup> (obr. 4).

Vliv pH na chování quercetinu byl sledován na cyklických voltamogramech na elektrodě ze skelného uhlíku v Brittonově-Robinsonově pufru v rozmezí pH 4,3–11,2. Quercetin v roztoku pufru o pH 5,3 vykazuje tři oxidační vlny při polarizaci elektrody do +1,2 V. První dvouelektronová vlna (I) při +0,3 V je quazireverzibilní. S rostoucí hodnotou pH dochází k posunu potenciálu oxidačních vln quercetinu směrem k nižším potenciálům. Současně se snižuje výška první a druhé oxidační vlny. Druhá oxidační vlna vymizí při pH 8,9. Při hodnotě pH 8,9 dochází zároveň k tvorbě nové quazireverzibilní oxidační vlny (IV) při potenciálu 0 V. Vlna je jednoelektronová a s rostoucí hod-



Obr. 4. Cyklická voltametrie  $4 \cdot 10^{-4}$  M quercetinu v roztoku Brittonova-Robinsonova pufru a ethanolu (3:2, v/v) při různých hodnotách pH: a) 4,3; b) 5,3; c) 6,1; d) 7,0; e) 9,0; f) 10,5; g) 10,9; h) 11,2. Rychlost polarizace  $0,25 \text{ V s}^{-1}$



Obr. 5. Distribuční diagram quercetinu vypočtený z disociačních konstant nalezených v lit.<sup>24</sup>

notou pH se zvyšuje a posouvá k negativnějším hodnotám potenciálu. Elektronový přenos předchází chemické reakci, deprotonaci, která určuje rychlost elektrodové reakce. Vznikající vlna přísluší oxidaci disociované formy, dianionu A<sup>2-</sup>, jak vyplývá z distribučního diagramu quercetinu (obr. 5).

Vztah elektronového přenosu a disociačních reakcí při oxidaci flavonoidů ukazuje schéma, které vysvětlilo oxidační mechanismus flavonoidního barviva hematoxylinu ve vodném prostředí<sup>31</sup>. Toto schéma poprvé publikoval Jacq<sup>35</sup> pro redukční mechanismy. Schéma ukazuje souvislost mezi více-elektronovou oxidací látky [AH<sub>2</sub>] a její disociací do prvního stupně na anion [AH<sup>-</sup>], charakterizovaný disociační konstantou pK<sub>1</sub>, nebo disociací do druhého stupně na dianion [A<sup>2-</sup>], charakterizovaný disociační konstantou pK<sub>2</sub>.

#### Produkty oxidace ve vodném prostředí

Jak již bylo zmíněno, oxidační produkty byly hojně studovány, a proto je nalezených produktů celá řada. Z množství rozličných oxidačních produktů popsaných v literatuře je patrné, že identifikace oxidačních produktů flavonoidů je ztížena jejich nestabilitou, a dále i nestabilitou jejich oxidačních produktů, v závislosti na prostředí. Celý separační proces provedený v inertní atmosféře argonu tuto domněnku potvrdil<sup>24</sup>. Timbola a spol.<sup>36</sup> studovali quercetin v roztoku ethanol/voda (1:1, v/v) a potvrdili tvorbu oxidačního produktu *o*-chinonu, oproti tomu Zhou a spol.<sup>37</sup> popsali 18 možných oxidačních produktů quercetinu, které analyzovali separačními metodami, GC-MS a LC-MS. Mezi oxidačními produkty byly také 3,4-dihydroxybenzoová kyselina a kyselina gallová. Lei a spol.<sup>38</sup> studovali účinek autooxidace quercetinu v alkalickém prostředí. Hydroxybenzoové kyseliny byly rovněž navrženy jako degradační produkty fotooxidace flavonoidů, které byly studovány na barevných textiliích<sup>1,3,39</sup>.

Analýza oxidačních produktů quercetinu **1** prováděná za přísně bezkyslíkatého prostředí poukázala na nutnost dodržení inertního prostředí<sup>40</sup>. Konečné produkty oxidace byly

identifikovány analýzou složek roztoku po částečné nebo úplné elektrolýze při konstantním potenciálu za oxidační vlnou I a IV. Náboj spotřebovaný při elektrolýze při potenciálu oxidační vlny IV odpovídá přenosu jednoho elektronu, náboj spotřebovaný při elektrolýze při potenciálu oxidační vlny I odpovídá přenosu tří elektronů, za podmínek, kdy je přítomna vlna IV. Toto je v souladu se zjištěním, že oxidační vlna IV je jedoelektronová a při oxidaci na vlně I dochází k přenosu dvou elektronů<sup>40</sup>. Pomocí spektroeletrochemie a HPLC-MS byly nalezeny následující produkty: dimer a 2-(3',4'-dihydroxybenzoyl)-2,4,6-trihydroxybenzofuran-3(2*H*)-on **P**. Ukázalo se, že oba produkty se rozkládají za běžných laboratorních podmínek. V případě luteolinu nebyla přítomnost dimeru potvrzena ani při jeho oxidaci generátorem peroxylového radikálu 2,2'-azobisisobutyronitrilem ani pomocí EPR spektroeletrochemie<sup>42</sup>.

## 6. Chemická oxidace flavonoidů

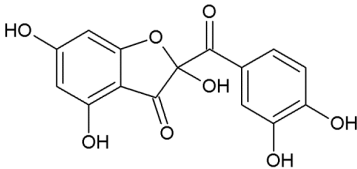
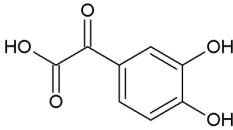
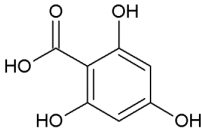
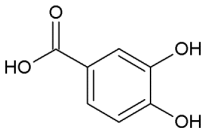
Chemickou oxidací flavonoidů se zabývalo mnoho autorů. Makris a spol.<sup>43</sup> oxidovali quercetin v 70% acetonitrilu pomocí volných hydroxylových radikálů vytvořených využitím CuSO<sub>4</sub>/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> systému (HFR-oxidace). Byly nalezeny dva hlavní produkty oxidace, které ale nebyly identifikovány. Autoři navrhli hypotetické oxidační dráhy vedoucí k tvorbě nestabilního Cu<sup>2+</sup>-chelátu a reakce končila tvorbou nízkomolekulárních sloučenin, jako jsou 3,4-dihydroxybenzoová kyselina a kyselina gallová. Tyto produkty byly také nalezeny při oxidaci flavonolů superoxidem draselným v aprotickém prostředí, který způsoboval štěpení heterocyklu C s následnou tvorbou karboxylových kyselin a hydroxyaldehydů<sup>44</sup>. Jungbluth<sup>45</sup> studoval oxidaci flavonolů a flavonů s Cu<sup>2+</sup>, Fe<sup>2+</sup> a Fe<sup>3+</sup> ve směsi acetonitrilu s kyselinou octovou (30:70 v/v). Nalezen byl jeden oxidační produkt, 2-(hydroxybenzoyl)-2-hydroxybenzofuran-3(2*H*)-on. Gülsen<sup>46</sup> studoval quercetin za pomoci CuSO<sub>4</sub> v roztoku acetonitrilu s vodou (80:20 v/v). Hlavní oxidační produkt byl izolován a následně určen metodami <sup>1</sup>H NMR a LC-MS jako 2-(3,4-dihydroxybenzoyl)-2,4,6-trihydroxybenzofuran-3-(2*H*)-on **P**.

## 7. Stabilita flavonoidů a jejich oxidační produkty

Hlavní oxidační produkt 2-(3',4'-dihydroxybenzoyl)-2,4,6-trihydroxybenzofuran-3(2*H*)-on **P** a také dimer quercetinu se v přítomnosti kyslíku rozkládají, jak již bylo uvedeno v kap. 5.2. Vliv přítomnosti vzdušného kyslíku na stabilitu studovaných látek byl sledován jak chromatograficky, tak pomocí UV-Vis spektrofotometrie<sup>24</sup>.

Je známa závislost absorpčního spektra quercetinu na době vystavení působení vzdušného kyslíku<sup>24</sup>. Absorpční spektrum quercetinu v argonové atmosféře je charakterizováno pásy s absorpčním maximem při 205 nm, 277 nm, 313 nm a 425 nm. Během oxidace vzdušným kyslíkem se objevuje nový pás s maximem při 352 nm a dochází ke zvyšování intenzity pásu při vlnové délce 320 nm. Intenzita absorpčních pásů při 277 nm a 425 nm se snižuje. Pokles absorpčního pásu při 277 nm je doprovázen mírným

Tabulka I  
Oxidační produkty quercetinu

Název	Vzorec	Molekulární hmotnost	<i>m/z</i>	Lit.
2-(3',4'-dihydroxybenzoyl)-2,4,6-trihydroxybenzofuran-3(2 <i>H</i> )-on		318	317[M-1]	9, 24, 28, 46, 47, 49
2-(3,4-dihydroxyfenyl)-2-oxooctová kyselina		182	181[M-1]	24, 49
2,4,6-trihydroxybenzoová kyselina		170	169[M-1]	24, 37, 38, 39, 44, 49
3,4-dihydroxybenzoová kyselina		154	153[M-1]	24, 37, 38, 39, 44, 49

bathochromním posunem. Výsledné absorpční spektrum odpovídá absorpčnímu spektru 2-(3',4'-dihydroxybenzoyl)-2,4,6-trihydroxybenzofuran-3(2*H*)-onu **P**, získanému při elektrooxidaci quercetinu. Podobnou změnu absorpčního spektra quercetinu našli Dangles a spol.<sup>47,48</sup> po reakci s jodistanem draselným nebo dusičnanem ceričito-amonným. Je patrné, že také v těchto případech chemická oxidace quercetinu vzniká produkt **P**. Reaktivita quercetinu se vzdušným kyslíkem zřejmě odpovídá jeho redoxním vlastnostem při elektrooxidacích. Bylo prokázáno, že vlivem přítomnosti kyslíku dochází nejen ke tvorbě oxidačního produktu **P**, ale také ke vzniku dalších nízkomolekulárních rozkladných produktů, které jsou shrnuty v tab. I.

Další detailní studie se věnuje ochraně elektrochemicky aktivních částí flavonoidních barviv proti oxidaci. K této ochraně byl využit  $\beta$ -cyklodextrin, který tvoří s flavonoidem inkluzní komplex a tím zabraňuje oxidaci<sup>49</sup>. Také v této práci se projevil vliv přítomnosti hydroxylových skupin v chemické struktuře flavonoidů. Autoři zjistili, že inkluze quercetinu **1** a luteolinu **2** do kavity  $\beta$ -cyklodextrinu má pro oba flavonoidy rozdílný účinek. Elektrochemicky aktivní skupina molekuly **2** není kavitou chráněna a dochází k oxidaci celého komplexu. V případě molekuly **1** dochází také k její oxidaci, ale hlavní produkt oxidace **P** je v kavitě  $\beta$ -cyklodextrinu stabilizován proti dalšímu rozkladu<sup>49</sup>.

## 8. Závěr

Uvedené výsledky zdůrazňují význam elektrochemických metod v objasnění oxidačních procesů bioaktivních

molekul. Srovnání oxidačních potenciálů tří příbuzných flavonoidů, quercetinu **1**, luteolinu **2** a apigeninu **3**, umožňuje identifikovat reakční místo quercetinu **1** a roli polohy hydroxylových skupin u flavonoidní struktury. Meziprodukty a konečné produkty jsou v literatuře zjišťovány spektroeletrochemickými a separačními metodami. Ukazuje se, že spektroeletrochemie je nezbytnou technikou pro určování degradačních mechanismů a významně doplňuje separační analytické metody. Degradační produkty flavonoidů, zjištěné pomocí výše uvedených metod, byly nalezeny při analýzách potravin<sup>50</sup>, při studiích působení enzymů na tyto látky<sup>51</sup>, ale také při analýzách historických materiálů<sup>1,3,39</sup>. Zvláště v posledně jmenovaných studiích je zdůrazňována nutnost nalezení ochranných prostředků pro záchranu kulturního dědictví národů.

*Tato práce vznikla za finanční podpory Akademie věd České republiky (projekt M200401201).*

## LITERATURA

1. Surowiec I., Szostek B., Trojanowicz M.: *J. Sep. Sci.* 30, 2070 (2007).
2. Cristea D., Vilarem G.: *Dyes Pigm.* 70, 238 (2006).
3. Colombini M. P., Andreotti A., Baraldi C., Degano I., Łucejko J. J.: *Microchem. J.* 85, 174 (2007).
4. Degano I., Biesaga M., Colombini M. P., Trojanowicz M.: *J. Chromatogr. A* 1218, 5837 (2011).
5. Davidson R. S.: *J. Photochem. Photobiol.*, B 33, 3 (1996).
6. Dyer J.M., Bringans S.D., Bryson W.G.: *Photochem. Photobiol. Sci.* 5, 698 (2006).

7. Rice-Evans C. A., Miller N. J., Paganga G.: Free Radicals Biol. Med. 20, 933 (1996).
8. Manach C., Scalbert A., Morand C., Rémésy C., Jiménez L.: Am. J. Clin. Nutr. 79, 727 (2004).
9. Sokolová R., Degano I., Ramešová Š., Bulíčková J., Hromadová M., Gál M., Fiedler J., Valášek M.: Electrochim. Acta 56, 7421 (2011).
10. Simó C., Barbas C., Cifuentes A.: Electrophoresis 24, 2431 (2003).
11. Timbola A. K., De Souza C. D., Giacomelli C., Spinelli A.: J. Braz. Chem. Soc. 17, 139 (2006).
12. Di Carlo G., Mascolo N., Izzo A. A., Capasso F.: Life Sci. 65, 337 (1999).
13. Biesaga M., Pyrzyńska K.: Crit. Rev. Anal. Chem. 39, 95 (2009).
14. Hollman P., Arts I.: J. Sci. Food Agric. 80, 1081 (2000).
15. Zielinska D., Pierozynski B.: J. Electroanal. Chem. 625, 149 (2009).
16. Makris D. P., Rossiter J. T.: Food Chem. 77, 177 (2002).
17. Dadáková E., Vrchotová N., Tříška J., Kyseláková M.: Chem. Listy 97, 558 (2003).
18. Zare H.R., Namazian M., Nasirizadeh N.: J. Electroanal. Chem. 584, 77 (2005).
19. Colombini M. P., Andreotti A., Baraldi C., Degano I., Lucejko J. J.: Microchem. J. 85, 174 (2007).
20. Wouters J., Rosario-Chirinos N.: J. Am. Inst. Conserv. 31, 237 (1992).
21. Moiteiro C., Gaspar H., Rodrigues A.I., Lopes J.F., Carmide V.: J. Sep. Sci. 31, 3683 (2008).
22. Xiao M., Shao Y., Yan W., Zhang Z.: J. Chem. Thermodyn. 43, 240 (2011).
23. Kosar M., Dorman H. J. D., Baser K. H. C., Hiltunen R.: J. Agric. Food Chem. 52, 5004 (2004).
24. Ramešová Š., Sokolová R., Degano I., Bulíčková J., Žabka J., Gál M.: Anal. Bioanal. Chem. 402, 975 (2012).
25. Mülazimoğlu A. D., Yılmaz E., Mülazimoğlu I. E.: Sensors 12, 3916 (2012).
26. Hendrickson H. P., Kaufman A. D., Lunte C. E.: J. Pharm. Biomed. Anal. 12, 325 (1994).
27. Nematollahi D., Malakzadeh M.: J. Electroanal. Chem. 547, 191 (2003).
28. Jorgensen I. V., Cornett C., Justesen U., Skibsted L. H., Dragsted I. O.: Free Radical Res. 29, 339 (1998).
29. Osman A., Makris D. P., Kefalas P.: Process Biochem. 43, 861 (2008).
30. Igarashi K., Komatsu Ch., Shimada T.: Agric. Biol. Chem. 55, 855 (1991).
31. Sokolová R., Degano I., Hromadová M., Bulíčková J., Gál M., Valášek M.: Collect. Czech. Chem. Commun. 75, 1097 (2010).
32. Papouchado L., Petrie G., Adams R. N.: J. Electroanal. Chem. 38, 389 (1972).
33. Nilsson A., Ronlan A., Parker V. D.: J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1 1973, 2337.
34. Ryan M. D., Yueh A., Chen W.-Y.: J. Electrochem. Soc. 127, 1489 (1980).
35. Jacq J.: J. Electroanal. Chem. 29, 149 (1971).
36. Timbola A. K., de Souza C. D., Giacomelli C., Spinelli A.: J. Braz. Chem. Soc. 17, 139 (2006).
37. Zhou A., Kikandi S., Sadik O. A.: Electrochem. Commun. 9, 2246 (2007).
38. Lei R., Xu X., Yu F., Li N., Liu H.-W., Li K.: Talanta 75, 1068 (2008).
39. Zhang X., Boytner R., Cabrera J. L., Laursen R.: Anal. Chem. 79, 1575 (2007).
40. Sokolová R., Ramešová Š., Degano I., Hromadová M., Gál M., Žabka J.: Chem. Commun. 48, 3433 (2012).
41. Krishnamachari V., Levine L. H., Paré P. W.: J. Agric. Food Chem. 50, 4357 (2002).
42. Ramešová Š., Sokolová R., Tarábek J., Degano I.: Electrochim. Acta 110, 646 (2013).
43. Makris D. P., Rossiter J. T.: J. Food Compos. Anal. 15, 103 (2002).
44. Tournaire C., Hocquaux M., Beck I., Oliveros E., Maurette M.-T.: Tetrahedron 50, 9303 (1994).
45. Jungbluth G., Ruhling I., Ternes W.: J. Chem. Soc., Perkin Trans. 2 2000, 1946.
46. Gülsen A., Turan B., Makris D. P., Kefalas P.: Eur. Food Res. Technol. 225, 435 (2007).
47. Dangles O., Dufour C., Bret S.: J. Chem. Soc., Perkin Trans. 2 1999, 737.
48. Dangles O., Fargeix G., Dufour C.: J. Chem. Soc., Perkin Trans. 2 1999, 1387.
49. Ramešová Š., Sokolová R., Degano I., Hromadová M., Gál M., Kolivoška V., Colombini M. P.: Collect. Czech. Chem. Commun. 76, 1651 (2011).
50. Ly T. N., Hazama C., Shimoyamada M., Ando H., Kato K., Yamauchi R.: J. Agric. Food Chem. 53, 8183 (2005).
51. Osman A., Makris D. P., Kefalas P.: Process Biochem. 43, 861 (2008).
52. Nesměrák K.: Chem. Listy 107, 194 (2013).
53. Karabín M., Hudcová T., Jelínek L. a Dostálek P.: Chem. Listy 106, 1095 (2012).
54. Kolečkář V., Řeháková Z., Brojerová E., Kuča K., Jun D., Macáková K., Opletal L., Drašar P., Jahodář L., Chlebek J., Cahlíková L.: Chem. Listy 106, 113 (2012).

Š. Ramešová and R. Sokolová (*J. Heyrovský Institute of Physical Chemistry, Academy of Sciences of the Czech Republic, v.v.i., Prague*): **Electrochemical Oxidation of Natural Dyes Used in Works of Art**

The review presents the results of oxidation studies of naturally occurring flavonoids in particular quercetin. These compounds (original dyes of works of art) undergo aging and degradation. It is focused on the description of the oxidation pathways and identification of degradation products. This is of importance in saving cultural heritage.