

УДК 543.422.3

Т. О. Денисенко, Ю. В. Мєх, А. Б. ВишнікінДніпровський національний університет імені Олеся Гончара,
пр. Гагаріна 72; м. Дніпро, 49010, Україна, denisenko_tatyana@i.ua**СПЕКТРОФОТОМЕТРИЧНЕ ВИЗНАЧЕННЯ АСКОРБІНОВОЇ
КИСЛОТИ З ВИКОРИСТАННЯМ 18-МОЛІБДОДИФОСФАТУ
У ІНТЕНСИВНО ЗАБАРВЛЕНИХ СОКАХ**

Запропонована проста, селективна, високочутлива методика з 18-молібдодифосфатом для спектрофотометричного визначення аскорбінової кислоти у соках, які мають власне інтенсивне забарвлення. Використання 18-молібдодифосфату, на відміну від реактиву Фоліна-Чокальтеу і CUPRAC методу, дозволяє набагато простіше позбутися заважаючого впливу інтенсивно забарвлених антоціанів, великих концентрацій сульфідів, поліфенолів, відновлюючих сахарів, протеїнів і амінокислот. Показано, що присутність оксикислот призводить до часткового розкладання гетерополікомплексу і збільшує час реакції відновлення 18-молібдодифосфату, проте не впливає на стійкість утворених гетерополісиней. Для зменшення негативного впливу оксикислот рекомендується проводити розведення аналізованих розчинів та збільшувати концентрації реагенту. Градувальний графік визначення аскорбінової кислоти у присутності оксикислот з 18-молібдодифосфатом, побудований при довжині хвилі 910 нм і часу реакції 30 хв, є лінійним в інтервалі концентрацій від 10 мкмоль/л до 0,1 ммоль/л. Методика була апробована для свіжовиготовлених соків кизилу, калини, червоної смородини, буряку та комерційних соків чорної смородини та гранату. Вміст аскорбінової кислоти у цих об'єктах аналізу, визначений з 18-молібдодифосфатом, добре узгоджується з літературними даними, а для комерційного соку гранату також з результатами вольтамперометричної методики.

Ключові слова: аналіз соків, аскорбінова кислота, 18-молібдодифосфат, спектрофотометрія.

Аскорбінова кислота (АК) або вітамін С – один з найбільш розповсюджених вітамінів природного походження. АК характеризується значним антиоксидантним ефектом, тому є незамінною для росту тканин тіла та їх оновлення. Вона відіграє важливу роль в біосинтезі колагену, сприяє абсорбції заліза, активації імунного захисту, бере участь в загоєнні ран, допомагає підтримувати здоровими капіляри, кістки і зуби. Мінімальна добова потреба в АК для дорослих складає 60 мг/добу. Надмірна кількість АК може призвести до виразки шлунку, а продукт метаболізму АК – оксалатна кислота може викликати проблеми з нирками.

АК широко використовується у харчовій промисловості, як цінна харчова добавка (Е-300). Додавання АК дозволяє збільшити харчову цінність та подовжити термін зберігання готової продукції. АК усуває потемніння при заморожуванні, консервуванні і розфасовці фруктів, овочів та продуктів їх переробки. Використання АК у процесі виготовлення м'ясних продуктів дозволяє зменшити вміст шкідливих нітритів і нітратів втрисі. У виноробстві АК застосовують для видалення неприємних запахів, пов'язаних з присутністю дисульфідів, а також для часткового заміщення сульфур(IV) оксиду [1–3].

Під дією ферментів, атмосферного кисню, іонів важких металів, надмірного тепла або світла АК легко окислюється, тому її вміст у продуктах харчування зміню-

ється. Здійснення контролю за вмістом АК у їжі, соках, винах та інших напоях під час виробництва і зберігання слугує критерієм їх якості.

Для визначення АК у продуктах харчування використовують метод капілярного електрофорезу [4], титриметричні [5–8], флюорометричні [5–6], електрохімічні [5–11], спектрофотометричні [5, 12–13], ферментативні [5], хроматографічні [6], хемілюмінесцентні [5–6], кінетичні [5–6] методи.

Для кількісного визначення аскорбінової кислоти широко застосовують метод візуального титрування з натрій 2,6-дихлорфенол-індофенолятом (реактивом Тільманса) [14], який використовується в фармакопеї і характеризується високою селективністю та експресністю, а отримані результати є добре відтворюваними. Селективність цієї методики значно погіршується при визначенні АК у рослинних зразках, які мають власне інтенсивне забарвлення. Такі об'єкти аналізу містять у значній кількості природні або синтетичні барвники, а також поліфеноли, які здатні окислюватися реактивом Тільманса. Крім того, забарвлення розчинів заважає візуальному сприйняттю точки еквівалентності.

Подолати вище зазначені недоліки можна з використанням вольтамперометричних методик, які не потребують додаткових реагентів і дозволяють швидко, просто і селективно визначати вміст АК без попередньої пробопідготовки навіть в складних багатокомпонентних системах [9–10]. Проте отримані результати не завжди мають задовільну точність, а методики є недостатньо чутливими, оскільки механізм та швидкість електроокиснення АК залежать від багатьох факторів: природи електроду і модифікаторів, попередньої обробки електродів, типу поверхні, рН, фонового електроліту, тощо. Покращити точність отриманих результатів можна з використанням медіаторів (електрокаталізаторів) та/або модифікованих електродів. Втім це призводить до значного ускладнення методики і збільшення її вартості.

Для визначення АК широкоживаними є спектрофотометричні (СФ) методики з детектуванням в УФ області спектра [15–16], з використанням реактиву Фоліна-Чокальтеу (ФЧ) [17–20] та комплексних сполук феруму(III) з фенатроліном (FRAP метод) [21–22] і купруму(II) з неокупроїном (CUPRAC метод) [23–24]. СФ методики з детектуванням в УФ області спектра відрізняються простотою аналізу, не потребують використання реагентів. Головним недоліком цього підходу є низька селективність відносно багатьох речовин.

Визначення АК з реактивом ФЧ та FRAP і CUPRAC методами, ґрунтується на високій відновлювальній здатності АК. Ці методики характеризуються високою експресністю, чутливістю та простотою виконання, але вони мають низьку селективність, адже визначенню заважають фенольні сполуки, амінокислоти, відновлюючі сахари, сульфат-іони та антоціани.

Саме тому СФ визначення АК у рослинних об'єктах, які мають власне інтенсивне забарвлення, стає можливим тільки за умови проведення складної та довготривалої пробопідготовки. Використання CUPRAC методу для визначення АК у винах передбачає знешкодження заважаючого впливу бісульфіту шляхом пропускання розчину, який аналізують, через аніоніт. Забарвлені антоціани екстрагують хлороформом. Далі суму поліфенолів і АК визначають за їх реакцією з біс-неокупроїном-міді(II) (Cu(II)-Nc) при рН 7,0. У результаті взаємодії утворюється інтенсивно забарвлений хелатний комплекс Cu(I)-Nc, який має максимум світлопоглинання при довжині хвилі 450 нм. Для врахування внеску АК в сумарний аналітичний сигнал через аналізований розчин при рН 8,0 на протязі 1,5 годин пропус-

кають кисень. Це призводить до повного розкладання АК. Далі до розчину додають Cu(II)-Nc і визначають вміст поліфенолів. Вміст АК визначають за різницею світлопоглинання двох дослідів [24].

Реактив ФЧ – молібдовольфрамівий гетерополікомплекс (ГПК) структури Доусона, який широко використовується для визначення інтегральних показників, таких як сума фенольних сполук, антиоксидантна активність та харчова корисність в їжі, соках, винах та інших напоях [25]. При рН 11,4 реактив ФЧ здатен вступати у реакцію з речовинами, які виявляють відновні властивості. У результаті реакції відновлення ГПК утворюються інтенсивно забарвлені сполуки – гетерополісіні (ГПС) з максимумом поглинання при 760 нм. У літературі наведені поодинокі публікації щодо використання цього реагенту для індивідуального визначення АК. Можливо, це пов'язано з недостатньо високою селективністю такого визначення. Відома процедура визначення АК у присутності поліфенолів, яка за алгоритмом є аналогічною до вищеописаного CUPRAC методу [18]. Інший спосіб передбачає попереднє зв'язування фенольних сполук у хелатний комплекс з La(III) , який екстрагують з аналізованого розчину етилацетатом, потім проводять визначення АК при рН 3,0 [20]. Головним недоліком цього способу є низька відтворюваність отриманих результатів.

Нещодавно для визначення вмісту АК, поліфенолів, амінокислот, катехоламінів, епінефрину, тіаміну та деяких інших відновників у рослинних об'єктах та лікарських препаратах запропонували інший ГПК структури Доусона – 18-молібдодифосфат (18-МФК) [26–30]. СФ методики з 18-МФК характеризуються простою виконання, є високоселективними та експресними.

Мета даної роботи полягала у розробці та апробації СФ методики з використанням 18-МФК у якості аналітичного реагенту для визначення АК в складних багатоконпонентних системах, наприклад соках та винах, що мають власне інтенсивне забарвлення і містять великі концентрації сульфідів, поліфенолів та оксикислот.

МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

Обладнання використане у даній роботі. Визначення рН проводили на рН-метрі марки рН-150 МИ зі скляним індикаторним електродом марки ЕС-10601 і хлоридсрібним електродом порівняння марки ЕСР-10101. Спектри поглинання реєстрували за допомогою спектрофотометра СФ-26 (ЛОМО, Росія). Для отримання циклічних вольтамперограм використали програматор Пр-8, сполучений з потенціостатом ПІ-50-1. Вольтамперограми реєстрували за допомогою USB-осциллографа на персональному комп'ютері.

Приготування розчину реагенту та стандартного розчину АК. Водний розчин 18-МФК з концентрацією $5 \cdot 10^{-3}$ моль/л готували розчиненням 390 мг солі $(\text{NH}_4)_6\text{P}_2\text{Mo}_{18}\text{O}_{62} \cdot 14\text{H}_2\text{O}$ в 25 мл дистильованої води. Вихідний розчин АК з концентрацією 10^{-2} моль/л отримували розчиненням 0,044 г твердої речовини в 25 мл 96% етилового спирту або в дистильованій перекип'яченій воді. Отриманий розчин АК використовували протягом однієї доби. Методика приготування ацетатного буферного розчину описана в [31].

Об'єкти аналізу використані у даній роботі. Пробопідготовка свіжовиготовлених соків. В якості об'єктів використали комерційний сік чорної смородини торгової марки «Sandoga» та гранату торгової марки «Своя лінія», заморожені ягоди кизилу, калини, червоної смородини та свіжі плоди буряку. З плодів буряку та

ягід, які попередньо розморожували, виготовляли сік, який фільтрували на воронці Бюхнера та центрифугували протягом 5 хв при 4000 обертів/хв на лабораторній центрифугі. Готові розчини зберігали не більше доби. Комерційні соки використовували без попередньої пробопідготовки.

Методика вольтамперометричного визначення АК. Вольтамперометричне визначення АК проводили на платиновому робочому електроді відносно хлоридсрібного електроду порівняння. У якості фоновому електроліту використали 0,1 моль/л розчину калій хлориду. Циклічні вольтамперограми реєстрували при зміні потенціалу від $-0,1$ В до $+1,0$ В для стандартних розчинів АК, приготованих на дистильованій воді, в інтервалі концентрацій 0,3–15 ммоль/л. Пік, який відповідає реакції електрохімічного окиснення АК, спостерігали при потенціалі $+0,4$ В. При цьому значенні потенціалу побудували градувальний графік залежності густини струму від концентрації АК. При визначенні АК в соку гранату у колбу на 25 мл вносили 0,1875 г сухого КСІ та доводили соком до позначки. Далі реєстрували циклічні вольтамперограми та визначали вміст АК за градувальним графіком.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Дослідження поведінки окисненої та відновленої форм 18-МФК у присутності антоціанів, сульфат-іонів, поліфенолів, відновлюючих сахарів, амінокислот і протеїнів

Відомо [32], що до складу багокомпонентних систем, наприклад червоних вин, входять аскорбінова кислота (50–100 мг/л), фенольні сполуки (200–4000 мг галлової кислоти/л) у тому числі антоціани (~500 мг/л), сульфур(IV) оксид (~200 мг/л), відновлюючі сахари (~2800 мг/л), амінокислоти (~400 мг/л), протеїни (~100 мг/л).

З'ясувалося, що при використанні 18-МФК у якості аналітичного реагенту можна дуже просто позбутися заважаючого впливу інтенсивно забарвлених антоціанів, великих концентрацій сульфатів, поліфенолів і відновлюючих сахарів на визначення АК.

АК взаємодіє з 18-МФК у широкому діапазоні рН від 2 до 12 (рис. 1, крива 1). При рН < 3 швидкість реакції відновлення 18-МФК АК зменшується. З іншого боку за таких умов ГПК більш схильні піддаватися кислотному гідролізу, в результаті якого 18-МФК необоротно розкладається з утворенням молібдатів, а тому для проведення визначення АК необхідно використовувати великий надлишок реагенту. За умови рН > 6 18-МФК здатен вступати в реакцію з більшістю фенольних сполук (рис. 1, крива 3), у тому числі і з антоціанами (рис. 1, крива 2), які у значних кількостях містяться в рослинних об'єктах, отже визначення АК стає неможливим.

Крім того, у слабкокислому середовищі швидкість реакції взаємодії 18-МФК з сульфат-іонами дуже низька, а тому навіть великі їх концентрації не заважають визначенню АК. Щодо заважаючого впливу відновлюючих сахарів, протеїнів і амінокислот, то за умови рН 3–5 вони не реагують з 18-МФК.

Ще однією перевагою використання ГПК у якості аналітичного реагенту для визначення АК у соках з власним інтенсивним забарвленням є те, що більша частина спектру поглинання ГПС знаходиться у видимій та інфрачервоній області (рис. 2, крива 1 та 2). Відомо [33], що при рН 3–5 максимум у спектрах поглинання антоціанів знаходиться біля 500 нм (рис. 2, крива 3). При використанні CUPRAC методу (рис. 2, крива 4) спектр поглинання розташовується від 350 до 550 нм, тому повністю перекривається зі спектром антоціанів. На відміну від методики з реак-

тивом ФЧ визначення АК з 18-МФК проводять при 910 нм, замість 760 нм, тому вірогідність перекриття спектрів поглинання антоціанів і ГПС є набагато меншою.

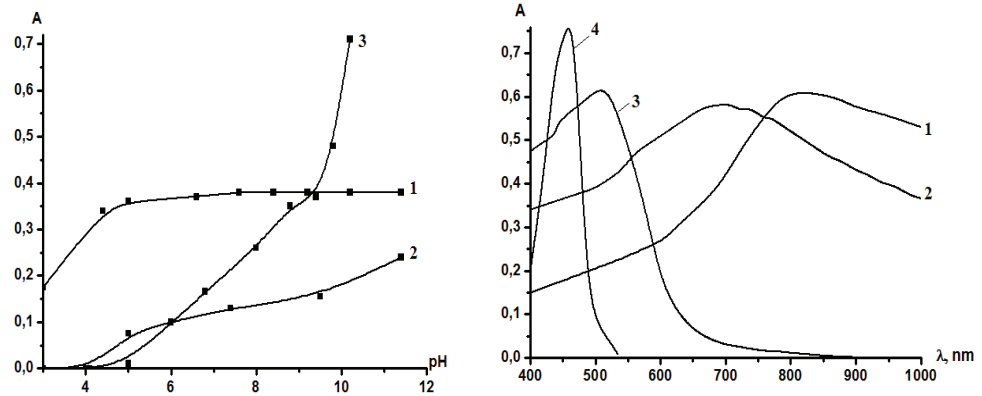


Рис. 1. Залежність оптичної густини ГПС, утвореної у результаті реакції 18-МФК з аскорбіною кислотою (1); цианідін-3-глікозидом (2); галотаніном (3) від рН розчину. $C_{18\text{-МФК}} = 0,2$ ммоль/л, $C_{\text{АК}} = 0,04$ ммоль/л, $C_{\text{галотаніна}} = 4$ мкмоль/л, $C_{\text{цианідіна}} = 0,16$ ммоль/л, $\lambda = 820$ нм, $l = 1$ см, час реакції 15 хв

Рис. 2. Спектри поглинання ГПС, утвореної у результаті реакції АК з 18-МФК (1) і реактивом ФЧ (2); рослинного зразку, який містить антоціани (3) та комплексної сполуки АК з Cu(II)-Nc (1). На рис. цифрами позначено: (1) – $C_{18\text{-МФК}} = 0,2$ ммоль/л, $C_{\text{АК}} = 0,06$ ммоль/л, рН = 4,2, час реакції 15 хв; (2) – $C_{\text{ФЧ}} \approx 0,2$ ммоль/л, $C_{\text{АК}} = 0,06$ ммоль/л, рН 11,4, час реакції 15 хв; (3) – сік червоної смородини, рН = 4,2 (ацетатний буферний розчин); (4) – $C_{\text{CuCl}_2} = 1$ ммоль/л, $C_{\text{Nc}} = 0,75$ ммоль/л, $C_{\text{АК}} = 0,046$ ммоль/л, рН 7,0, час реакції 30 хв

Дослідження поведінки окисненої та відновленої форм 18-МФК у присутності оксикислот

Найважче виявилось врахувати вплив оксикислот, оскільки вони здатні утворювати стійкі комплексні сполуки з іонами молібдену(VI), що може призвести до часткового або повного руйнування ГПК. Тому цей фактор був досліджений детальніше.

Відомо [32], що найбільше оксикислот міститься у винах, де їх вміст складає: 0,5–16 ммоль/л для оксалатної, 0,5–4 ммоль/л для цитратної, 10–34 ммоль/л для тартратної, 2–24 ммоль/л для бурштинової кислот. Тому у якості модельних розчинів обрали розчини бурштинової (24), цитратної (4); оксалатної (16), тартратної (34) кислот. У дужках наведені кінцеві концентрації цих оксикислот в ммоль/л.

На модельних розчинах дослідили, яким чином оксикислоти впливають на стійкість окисненої (жовтої) та відновленої (синьої) форм 18-МФК, а також на швидкість реакції відновлення 18-МФК. З'ясували, що присутність оксикислот не впливає на стійкість відновленої форми 18-МФК (рис. 3, крива 1 і 2). Присутність у розчині цитратної (рис. 3, крива 4) та бурштинової кислот з концентраціями 4 ммоль/л та 24 ммоль/л відповідно зменшує величину аналітичного сигналу окисненої форми 18-МФК, проте зміна оптичної густини у межах часу приблизно

40 хв є незначною. Швидкість реакції відновлення 18-МФК АК у присутності цих кислот не змінюється.

Додавання до розчину 18-МФК тартратної (рис. 3, крива 6) та оксалатної кислот з концентраціями 34 ммоль/л та 16 ммоль/л, відповідно, призводить до різкого зменшення оптичної густини і вже за 10 хв розкладається приблизно 30 % ГПК. Встановили, що навіть при їх концентрації 0,1 ммоль/л (рис. 3, крива 5) оптична густина для 18-МФК зменшується, отже повністю запобігти втрат ГПК дуже важко. Тому потрібно при визначенні АК у присутності оксикислот проводити попереднє розведення аналізованого розчину та використовувати невеликий надлишок 18-МФК.

З'ясували також, що значення оптичної густини ГПС, утвореної при відновленні 18-МФК АК без оксикислот (рис. 4, графік 1) та у присутності тартратної (рис. 4, графік 3) і оксалатної кислот, суттєво відрізняються в усьому інтервалі концентрацій АК. Градувальний графік без оксикислот перетинає вісь ординат при значеннях оптичної густини, які незначно відрізняються від нуля, в той час як у присутності тартратної та оксалатної кислот – в області негативних значень від $-0,03$ до $-0,05$. Одночасно коефіцієнт кореляції зменшується з 0,999 до 0,989. Це призводить до звуження інтервалу концентрацій, які визначаються.

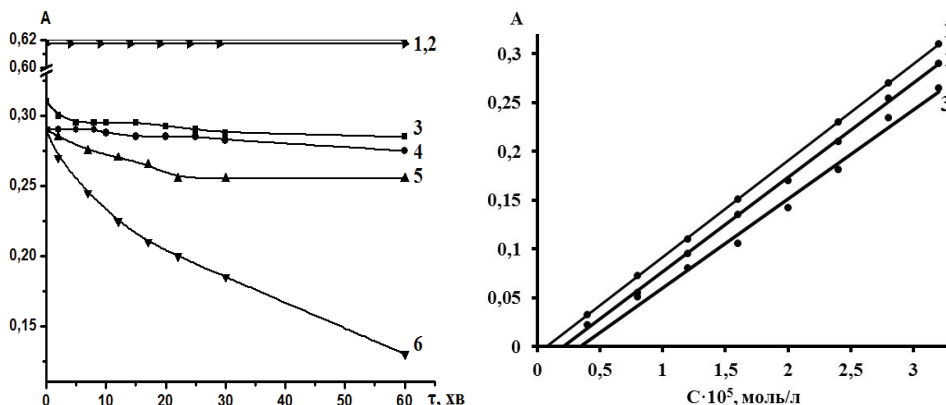


Рис.3. Залежність оптичної густини ГПС при $\lambda = 820$ нм (криві 1 і 2) та ГПК при $\lambda = 360$ нм (криві 3–6) від часу. $C_{18\text{-МФК}} = 20$ ммоль/л, $C_{\text{АК}} = 0,06$ ммоль/л, $C_{\text{тартратної к-ти}} = 34$ ммоль/л (криві 2 і 6) і 0,1 ммоль/л (крива 5), $C_{\text{цитратної к-ти}} = 4$ ммоль/л, рН 3,4, $l = 1$ см. На рис. цифрами позначено: 18-МФК без оксикислот (1) і з тартратною кислотою (2); 18-МФК без оксикислот (3) і з цитратною (4) та тартратною (5, 6) кислотами

Рис. 4. Залежність оптичної густини від концентрації АК без оксикислот (графік 1) та у їх присутності (графіки 2 і 3). $C_{18\text{-МФК}} = 20$ ммоль/л, $C_{\text{тартратної к-ти}} = 34$ ммоль/л, рН 3,4, час реакції 15 хв (графіки 1 і 3) та 30 хв (графік 2), $\lambda = 820$ нм, $l = 1$ см

Побудувати задовільні градувальні залежності та збільшити коефіцієнт кореляції можна за умови збільшення часу реакції з 15 хв до 30 хв (рис. 4, графік 2) та при застосуванні довжини хвилі 910 нм. Вибір довжини хвилі пов'язаний з тим,

що градувальні графіки для визначення деяких відновників, побудовані при довжині хвилі 820 нм, яка відповідає максимуму світлопоглинання, нелінійні і перетинають вісь ординат у області негативних значень [28]. Це пояснюється тим, що у більш ніж 50-тикратному надлишку реагенту утворюється одноелектронна синь з максимумом при 1000 нм. У розчині існує рівновага між одно- та двоелектронними ГПС. При довжині хвилі 910 нм, яка відповідає ізобестичній точці, градувальний графік є лінійним в широкому інтервалі концентрацій від 10 мкмоль/л до 0,1 ммоль/л і описується наступним рівнянням

$$A = -(0,004 \pm 0,002) + (9700 \pm 30) \cdot C_{\text{АК}} \quad (R^2 = 0,995).$$

Як видно з рис. 4, більш суттєвий вплив оксикислот спостерігається для менших значень концентрації АК. Для з'ясування відмінностей поведінки ГПС зареєстрували спектри поглинання (рис. 5). Встановили, що при співвідношенні 18-МФК : АК = 6 : 1 спектри поглинання ГПС мають чіткий максимум при 820 нм (рис. 5 а), що свідчить про утворення двоелектронної ГПС. Присутність оксикислот суттєво не впливає на вид спектра ГПС. Відхилення оптичної густини складає ~5 %.

При співвідношенні 18-МФК : АК = 50 : 1 (рис. 5 б) утворюється переважно одноелектронна ГПС з максимумом при 1000 нм, для якої присутність у розчині тарtratної та оксалатної кислот сильно зменшує інтенсивність поглинання. За таких умов визначення стає можливим за умови розведення аналізованого розчину.

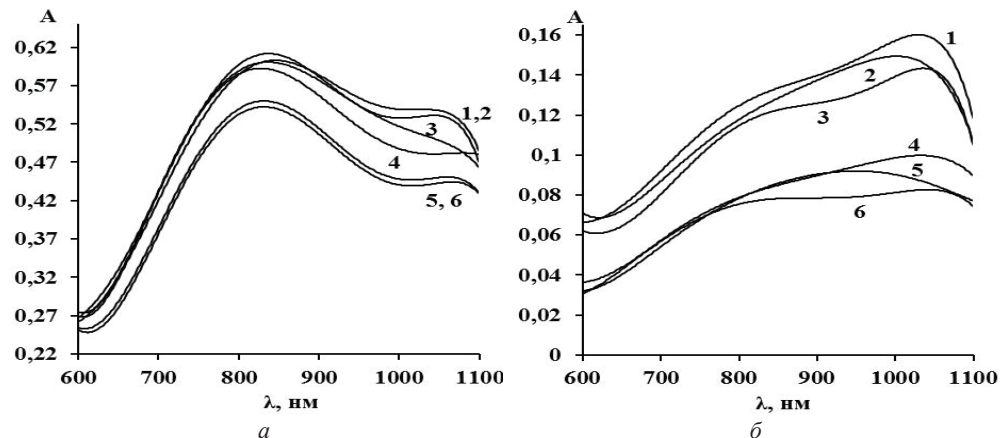


Рис. 5. Спектри поглинання ГПС, отримані при відновленні 18-МФК АК без оксикислот (крива 1) та у їх присутності (криві 2 – 6). $C_{18\text{-МФК}} = 2 \cdot 10^{-4}$ моль/л, $C_{\text{АК}} = 32$ (а) та 4 мкмоль/л (б), рН = 4,2, час реакції 30 хв, $l = 1$ см. На рис. цифрами позначено: (2) – 18-МФС і цитратна (4); (3) – 18-МФС і бурштинова (24); (4) – 18-МФС і тарtratна (34); (5) – 18-МФС і оксалатна (16) кислоти; (6) – 18-МФС і суміш цих кислот

На підставі проведеного експериментального дослідження зробили висновок про можливість використання 18-МФК у якості аналітичного реагенту для СФ визначення АК в соках з власним інтенсивним забарвленням. Для підтвердження цього висновку провели апробацію розробленої методики при визначенні АК в свіжовиготовлених соках плодів буряку, ягід калини, кизилу, червоної смородини

та у комерційних соках чорної смородини та гранату, скориставшись методом багаторазових добавок.

СФ визначення АК з 18-МФК у свіжовиготовлених соках плодів червоного буряку і ягід калини, кизилу, червоної смородини та у комерційних соках чорної смородини та гранату

Методика СФ визначення АК з 18-МФК у соках з власним інтенсивним забарвленням полягає у наступному: відбирають 1 мл підготовленого соку, переносять його у колбу на 25 мл і доводять до мітки дистильованою водою. З цього розчину відбирають 1 мл, що містить АК, та вводять добавку стандартного 10^{-3} моль/л розчину АК, 1 мл ацетатного буферного розчину (рН 3,4) та 1 мл $5 \cdot 10^{-3}$ моль/л розчину 18-МФК, доводять об'єм дистильованою водою до 25 мл. Витримують отримані розчини протягом 15 хв та визначають інтенсивність поглинання утвореної ГПС при довжині хвилі 910 нм.

Для перевірки правильності запропонованої методики, результати, що отримували з 18-МФК порівняли з літературними даними та з результатами вольтамперометричного визначення АК. Слід зазначити, що отримати збіжність в абсолютних значеннях неможливо, оскільки вміст АК у соку залежить від багатьох факторів: сорту, місця вирощування, часу збору врожаю, умов та терміна зберігання, методу за яким проводили визначення АК.

При аналізі соку буряку світлопоглинання ГПС, утвореної у результаті реакції 18-МФК з АК, припиняло збільшуватися вже за 15 хв і залишалося постійним на протязі 60 хв. Тому цей час реакції ми використали і для інших зразків. Результати визначення вмісту АК з 18-МФК у свіжовиготовлених соках буряку, червоної смородини, кизилу і калини, наведені у таблиці 1, добре узгоджуються з літературними даними. Для комерційного соку чорної смородини вміст АК нижче ніж у літературі, проте можливо це пов'язано з технологією виробництва соку. Оскільки виробник не вказав вміст АК, тому отримані дані важко інтерпретувати.

Таблиця 1

Визначення вмісту АК у соках з власним інтенсивним забарвленням (P = 0,95, n = 5)

| Об'єкт, який аналізували | Вміст АК | |
|--------------------------|-----------------------------------|---|
| | літературні посилання мг АК/кг | експериментальні дані (S _r), мг АК/л |
| Червоний буряк [34] | 233–481 | 475±69 (0,15) |
| Чорна смородина [13] | 1328±233 | 429±49 (0,11) |
| Червона смородина [13] | 209±4 | 136±15 (0,11) |
| Кизил [35] | 233±14 | 228±15 (0,06) |
| Калина [36] | 1951±195 | 1475±170 (0,12) |

Вміст АК у комерційному соку гранату, визначений запропонованою спектрофотометричною методикою з 18-МФК складає $15,2 \pm 2,2$ мг АК/л (S_r = 0,12). Це значення є дуже близьким до результатів, отриманих з використанням вольтамперометричної методики – 11 мг АК/л та літературними даними: $8,71 \pm 0,09$ мг АК/л СФ методикою в УФ області [37], $27,82 \pm 6,33$ мг АК/л титриметричною методикою з 2,6-дихлоріндофенолятом натрію [37].

ВИСНОВКИ

Результати проведеного систематичного дослідження дозволяють рекомендувати 18-МФК у якості аналітичного реагенту для визначення АК у складних багатоконпонентних системах з власним інтенсивним забарвленням, таких як фруктові та овочеві соки і вина. Використання 18-МФК для визначення АК дозволяє набагато простіше позбутися заважаючого впливу інтенсивно забарвлених антоціанів, великих концентрацій сульфідів, відновлюючих сахарів, поліфенолів та оксикислот. Запропонована СФ методика характеризується простотою виконання, високою селективністю та експресністю, результати отримані з 18-МФК є добре відтворювальними. Вміст АК визначений з 18-МФК у свіжовиготовлених соках плодів червоного буряку і ягід калини, кизилу, червоної смородини та у комерційному соку гранату добре узгоджується з літературними даними. Для комерційного соку гранату результати визначення АК, отримані з 18-МФК та вольтамперометричною методикою, є близькими навіть за абсолютним значенням.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. *Du J.J., Cullen G.R.* Ascorbic acid: chemistry, biology and the treatment of cancer // *Buettner Biochimica et Biophysica Acta.* – 2012. – Vol. 1826. – P. 443-457. <http://dx.doi.org/10.1016/j.bbcan.2012.06.003>
2. *Девис М., Остин Дж., Патрудж Д.* Витамин С. Химия и биохимия, – М.: Мир, 1999. – 176 с.
3. *Davey M.W., Montagu M.V., Inze D., Sanmartin M., Kanellis A., Smirnoff N., Benzie I.J., Strain J.J., Favell D., Fletcher J.* Review. Plant L-ascorbic acid: chemistry, function, metabolism, bioavailability and effects of processing // *J. Sci. Food Agric.* – 2000. – Vol. 80. – P. 825-860. [http://dx.doi.org/10.1002/\(SICI\)1097-0010\(20000515\)80:7](http://dx.doi.org/10.1002/(SICI)1097-0010(20000515)80:7)
4. *Wu T., Guan Y., Ye J.* Determination of flavonoids and ascorbic acid in grapefruit peel and juice by capillary electrophoresis with electrochemical detection // *Food Chem.* – 2007. – Vol. 100. – P. 1573-1579. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2005.12.042>
5. *Hossu A.-M., Magearu V.* Determination of vitamin C in pharmaceutical products with physico-chemical and bioanalytical technics // *Biotechnol. Lett.* – 2004. – Vol. 9, N 1. – P. 1497-1504.
6. *Arya S.P., Mahajan M., Jain P.* Non-spectrophotometric methods for the determination of vitamin C // *Anal. Chim. Acta.* – 2000. – Vol. 417. – P. 1-14. [http://dx.doi.org/10.1016/S0003-2670\(00\)00909-0](http://dx.doi.org/10.1016/S0003-2670(00)00909-0)
7. *Skrovankova S., Mlcek J., Sochor J., Baron M., Kynicky J., Jurikova T.* Determination of ascorbic acid by electrochemical techniques and other methods // *Int. J. Electrochem. Sci.* – 2015. – Vol. 10. – P. 2421-2431. <http://www.electrochemsci.org/papers/vol10/100302421.pdf>
8. *Okie W., Ogunlesi M., Azeez L., Obakachi V., Osunsanmi M., Nkenchor G.* The voltammetric and titrimetric determination of ascorbic acid levels in tropical fruit samples // *Int. J. Electrochem. Sci.* – 2009. – Vol. 4. – P. 276-287. <http://www.electrochemsci.org/papers/vol4/4020276.pdf>
9. *Pisoschi A.M., Pop A., Serban A.I., Fafaneata C.* Electrochemical methods for ascorbic acid determination // *Electrochim. Acta.* – 2014. – Vol. 121. – P. 443-460. <http://dx.doi.org/10.1016/j.electacta.2013.12.127>
10. *Pisoschi A.M., Danet A.F., Kalinowski S.* Ascorbic acid determination in commercial fruit juice samples by cyclic voltammetry // *J. of Automated Methods and Management in Chemistry.* – 2008. – Vol. 2008. – P. 1-8. <http://dx.doi.org/10.1155/2008/937651>
11. *Pisoschi A.M., Pop A., Negulescu G. P., Pisoschi A.* Determination of ascorbic acid content of some fruit juices and wine by voltammetry performed at Pt and carbon paste electrodes // *Molecules.* – 2011. – Vol.16. – P. 1349-1365. <http://dx.doi.org/10.3390/molecules16021349>
12. *Zaporozhets O.A., Krushinskaya E.A.* Determination of ascorbic acid by molecular spectroscopic techniques // *J. Anal. Chem.* – 2002. – Vol. 57, N 4. – P. 286-297. <http://dx.doi.org/10.1023/A:1014938011955>
13. *Kapur A., Hasković A., Čopra-Janićijević A., Klepo L., Topčagić A., Tahirović I., Sofić E.* Spectrophotometric analysis of total ascorbic acid content in various fruits and vegetables // *Bulletin of the Chemists and Technologists of Bosnia and Herzegovina.* – 2012. – Vol. 38. – P. 39-42.
14. *Левашова О.Л., Коваленко С.Н.* Особенности определения аскорбиновой кислоты в витаминно-минеральном комплексе Gesticare // *Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки та практики.* – 2011. – Т. XXIV, № 2. – С. 26-29.
15. *Husejin M.S., Jasić K.M.* Determination of L-ascorbic acid in pharmaceutical preparations using direct ultraviolet spectrophotometry // *Agric. Conspec. Sci.* – 2009. – Vol. 74, N 3. – P. 263-268.

16. *Salkić M., Keran H., Jašić M.* Direct spectrophotometric determination of L-ascorbic acid in the presence of potassium cyanide // *Agricul. Conspectus Sci.* – 2007. – Vol. 72, N 4. – P. 371-375.
17. *Jagota S.K., Dani H.M.* A new calorimetric technique for the estimation of vitamin C using Folin phenol reagent // *Anal. Biochemistry.* – 1982. – Vol. 127. – P. 178-182.
18. *Georgeä S., Brat P., Alter P., Amiot M.J.* Rapid determination of polyphenols and vitamin C in plant-derived products // *J. Agric. Food Chem.* – 2005. – Vol. 53. – P. 1370-1373. <http://dx.doi.org/10.1021/jf048396b>
19. *Mahdavi R., Nikniaz Z., Rafraf M., Jouyban A.* Determination and comparison of total polyphenol and vitamin C contents of natural fresh and commercial fruit juices // *Pakistan J. Nutrition.* – 2010. – Vol. 9, N 10. – P. 968-972. <http://dx.doi.org/10.3923/pjn.2010.968.972>
20. *Olgun F.A.O., Ozyurt D., Berker K.I., Demirata B., Apak R.* Folin-Ciocalteu spectrophotometric assay of ascorbic acid in pharmaceutical tablets and orange juice with pH adjustment and pre-extraction of lanthanum(III)-flavonoid complexes // *J. Sci. Food Agriculture.* – 2014. – Vol. 94, N 12. – P. 2401-2408. <http://dx.doi.org/10.1002/jsfa.6569>
21. *Benzie I.F.F., Strain J.J.* The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of ferric reducing ability FRAP assay // *Anal. Biochem.* – 1996. – Vol. 239, N 1. – P.70-76. <http://dx.doi.org/10.1006/abio.1996.0292>
22. *Arya S.P., Mahajan M.* A rapid and sensitive method for the determination of ascorbic acid using iron(III)-ferrous complex // *Anal. Sci.* – 1995. – Vol. 11, N 5. – P. 853-855. <http://dx.doi.org/10.2116/analsci.11.853>
23. *Apak R., Güçlü K., Demirata B., Özyürek M., Esin Çelik S., Bektaşoğlu B., Berker K.I., Özyurt D.* Comparative evaluation of various total antioxidant capacity assays applied to phenolic compounds with the CUPRAC assay // *Molecules.* – 2007. – Vol. 12. – P. 1496-1547. <http://dx.doi.org/10.3390/12071496>
24. *Guclu K., Sozgen K., Tutem E., Ozyurek M., Apak R.* Spectrophotometric determination of ascorbic acid using copper(II)-neocuproine reagent in beverages and pharmaceuticals // *Talanta.* – 2005. – Vol. 65, N 5. – P. 1226-1232. <http://dx.doi.org/10.1016/j.talanta.2004.08.048>
25. *Singleton V., Orthofer R., Lamuela-Raventos R.M.* Analysis of total phenols and other oxidations substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent // *Methods Enzymology.* – 1999. – Vol. 299. – P. 152-178. [http://dx.doi.org/10.1016/S0076-6879\(99\)99017-1](http://dx.doi.org/10.1016/S0076-6879(99)99017-1)
26. *Petrushina G.A., Tsiganok L.P., Vishnikin A.B.* Spectrophotometric determination of ascorbic acid by using $P_2Mo_{18}O_{62}^{6-}$ // *Ukr. Chem. J.* – 2010. – Vol. 76, N 4. – P. 116-122.
27. *Денисенко Т.А., Цыганок Л.П., Вишникін А.Б.* Спектрофотометричне визначення рутину і аскорбінової кислоти при спільному присутстві з використанням 18-молибдодифосфорного гетерополікомплекса // *Вісник ОНУ. Хімія.* – 2015. – Т. 20, № 1 (53). – С. 49-68.
28. *Денисенко Т.О.* Спектрофотометричне визначення поліфенолів з використанням гетерополікомплексів структури Доусона // Дисертація на здобуття наукового ступеня кандидата хімічних наук. – Одеса. – 2016. – 162 с.
29. *Al-Shwaiyat M.K.E.A., Miekh Yu.V., Denisenko T.A., Vishnikin A.B., Andruch V., Bazel Y.R.* Simultaneous determination of rutin and ascorbic acid in a sequential injection lab-at-valve system // *J. Pharm. Biomed. Analysis.* – 2018. – Vol. 149. – P. 179-184. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jpba.2017.11.006>
30. *Miekh Yu.V., Denisenko T.A., Vishnikin A.B.* Simultaneous kinetic determination of ascorbic acid and analgin in pharmaceutical preparations by H-point standard addition method // *Bulletin of Dnipro University. Series Chemistry.* – 2017. – Vol. 25, N 2. – P. 93-102. <http://dx.doi.org/10.15421/081713>
31. *Лурье Ю.Ю.* Справочник по аналитической химии. Москва: Химия, 1979. – 278 с.
32. *Горюшкіна Т.Б., Дзядевич С.В.* Виноградні вина. Хімічний склад та методи визначення // *Біотехнологія.* – 2008. – Т. 1, № 2. – С. 24-38.
33. *Iosub I., Kajzar F., Meghea A., Mircea M.-L., Geana I., Rau I.* Spectro-electrochemical properties of pelargonidin-3-o-glucoside // *Mol. Cryst. Liq.* – 2014. – Vol. 603. – P. 136-145. <http://dx.doi.org/10.1080/15421406.2014.968077>
34. *Straus S., Bavec F., Turinek M., Slatnar A., Rozman C., Bavec M.* Nutritional value and economic feasibility of red beetroot from different production systems // *African J. of Agricultural Research.* – 2012. – Vol. 7, N 42. – P. 5653-5660. <http://dx.doi.org/10.5897/ajar12.1519>
35. *Cetkovská J., Diviša P., Vespalcová M., Pořízka J., Řezníček V.* Basic nutritional properties of cornelian cherry cultivars grown in the Czech republic // *Acta Alimentaria.* – 2015. – Vol. 44, N 3. – P.357-364. <http://dx.doi.org/10.1556/aalim.2014.0013>
36. *Шелемтьева О.В., Сизова Н.В., Слепченко Г.Б.* Определение содержания витаминов и биологически активных веществ в растительных экстрактах различными методами // *Химия растительного сырья.* – 2009. – Т. 1. – С. 113-116.
37. *Majidi M.I.H.A., Y-Alqubury H.* Determination of vitamin C (ascorbic acid) contents in various fruit and vegetable by UV-spectrophotometry and titration methods // *J. Chem. Pharm. Sci.* – 2016. – Vol. 9. – P. 2972-2974.

Стаття надійшла до редакції 25.01.2018

Т. А. Денисенко, Ю. В. Мех, А. Б. Вишнікін

Дніпровський національний університет імені Олеся Гончара,
пр. Гагарина 72; г. Дніпро, 49010 Україна, denisenko_tatyana@i.ua

СПЕКТРОФОТОМЕТРИЧЕСКОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ АСКОРБИНОВОЙ КИСЛОТЫ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ 18-МОЛИБДОДИФОСФАТА В ИНТЕНСИВНО ОКРАШЕННЫХ СОКАХ

Предложена простая, селективная, высокочувствительная методика с 18-молибдодифосфатом, для спектрофотометрического определения аскорбиновой кислоты в соках с собственной интенсивной окраской. Использование 18-молибдодифосфата, в отличие от реактива Фолина-Чокальтеу и CUPRAC метода, позволяет гораздо проще избавиться от мешающего влияния интенсивно окрашенных антоцианов, больших концентраций сульфитов, полифенолов, восстанавливающих сахаров, белков и аминокислот. Показано, что присутствие оксикислот приводит к частичному разложению гетерополикомплекса и увеличивает время реакции восстановления 18-молибдодифосфата, однако не влияет на устойчивость гетерополисиней. Для уменьшения негативного влияния оксикислот рекомендуется проводить разведение анализируемых растворов и увеличивать концентрацию реагента. Градуировочный график, построенный при длине волны 910 нм и времени реакции 30 мин, линеен в интервале концентраций от 10 мкмоль/л до 0,1 ммоль/л. Методика была апробирована для свежесжатых соков кизила, калины, красной смородины, свеклы и коммерческих соков черной смородины и граната. Содержание аскорбиновой кислоты в этих объектах анализа, найденное с 18-молибдодифосфатом, хорошо согласуется с литературными данными, а для коммерческого сока граната также с результатами вольтамперометрической методики.

Ключевые слова: анализ соков, аскорбиновая кислота, 18-молибдодифосфат, спектрофотометрия.

T. A. Denisenko, Yu. V. Mikh, A. B. Vishnikin

Oles Honchar Dnipro National University, 72 Gagarin Ave., Dnipro, 49010, Ukraine

SPECTROPHOTOMETRIC DETERMINATION OF ASCORBIC ACID USING 18-MOLYBDODIPHOSPHATE IN INTENSELY COLORED JUICES

A simple, selective and highly sensitive method is proposed for spectrophotometric determination of ascorbic acid in juices, which have their own intense coloration with the use of a 18-molybdodiphosphate heteropoly complex (18-MPC). If the reaction is carried out at pH < 5, unlike the methods with the Folin-Chiocalteu and CUPRAC reagents, there is no interfering effect of intensely colored anthocyanins, large concentrations of sulfites, polyphenols, reducing sugars, proteins and amino acids. The absorbance is measured at a wavelength of 910 nm, which corresponds to isobestic point in the spectra of one- and two-electron heteropoly blues that co-exist in solutions by reduction of 18-MPC. At this analytical wavelength, overlapping with anthocyanine spectra ($\lambda_{\max} \sim 520$ nm), unlike the Folin-Chiocalteu ($\lambda_{\text{anal}} = 760$ nm) and CUPRAC ($\lambda_{\text{anal}} = 460$ nm) methods, is absent. It is shown that in the presence of oxyacids a partial destruction of the heteropoly complex occurs and the reaction time of the 18-MPC reduction increases but the stability of the formed heteropoly blue does not affected. To reduce the negative effects of oxyacids, it is recommended to dilute the analyzed solutions and increase the concentration of the reagent. The calibration graph for the determination of ascorbic acid in the presence of oxyacids, constructed at a wavelength of 910 nm and a reaction time of 30 minutes, is linear in the range of concentrations from

10 μmol / l to 0.1 mmol / l. The method was applied for the analysis of freshly prepared dogwood, grass, red currant, beet and commercially available juices of black currant and pomegranate juices. The content of ascorbic acid in these assay objects determined by means of 18-molybdodiphosphate is in good agreement with the contents found in the literature, as well as with the results obtained by the voltammetric method in the case of pomegranate juice.

Key words: analysis of juice, ascorbic acid, 18-molybdodiphosphate, spectrophotometry.

REFERENCES

1. Du J.J., Cullen G.R. *Ascorbic acid: chemistry, biology and the treatment of cancer*. Buettner Biochimica et Biophysica Acta, 2012, vol. 1826, pp. 443-457. <http://dx.doi.org/10.1016/j.bbcan.2012.06.003>
2. Devis M., Ostin Dzh., Patridzh D. *Vitamin C. Himiya i biohimiya*. M.: Mir, 1999, 176 p. (in Russian).
3. Davey M.W., Montagu M.V., Inze D., Sanmartin M., Kanellis A., Smirnoff N., Benzie I.J., Strain J.J., Favell D., Fletcher J. Review. *Plant L-ascorbic acid: chemistry, function, metabolism, bioavailability and effects of processing*. J. Sci. Food Agric, 2000, vol. 80, pp. 825-860. [http://dx.doi.org/10.1002/\(SICI\)1097-0010\(20000515\)80:7](http://dx.doi.org/10.1002/(SICI)1097-0010(20000515)80:7)
4. Wu T., Guan Y., Ye J. *Determination of flavonoids and ascorbic acid in grapefruit peel and juice by capillary electrophoresis with electrochemical detection*. Food Chem., 2007, vol. 100, pp. 1573-1579. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2005.12.042>
5. Hossu A.-M., Magearu V. *Determination of vitamin C in pharmaceutical products with physico-chemical and bioanalytical technics*. Biotechnol. Lett., 2004, vol. 9, no 1, pp. 1497-1504.
6. Arya S.P., Mahajan M., Jain P. *Non-spectrophotometric methods for the determination of vitamin C*. Anal. Chim Acta, 2000, vol. 417, pp. 1-14. [http://dx.doi.org/10.1016/S0003-2670\(00\)00909-0](http://dx.doi.org/10.1016/S0003-2670(00)00909-0)
7. Skrovankova S., Mlcek J., Sochor J., Baron M., Kynicky J., Jurikova T. *Determination of ascorbic acid by electrochemical techniques and other methods*. Int. J. Electrochem. Sci, 2015, vol. 10, pp. 2421-2431.
8. Okiei W., Ogunlesi M., Azeez L., Obakachi V., Osunsanmi M., Nkenchor G. *The voltammetric and titrimetric determination of ascorbic acid levels in tropical fruit samples*. Int. J. Electrochem. Sci, 2009, vol. 4, pp. 276-287.
9. Pisoschi A.M., Pop A., Serban A.I., Fafaneata C. *Electrochemical methods for ascorbic acid determination*. Electrochim. Acta, 2014, vol. 121, pp. 443-460. <http://dx.doi.org/10.1016/j.electacta.2013.12.127>
10. Pisoschi A.M., Danet A.F., Kalinowski S. *Ascorbic acid determination in commercial fruit juice samples by cyclic voltammetry*. J. of Automated Methods and Management in Chemistry, 2008, vol. 2008, pp. 1-8. <http://dx.doi.org/10.1155/2008/937651>
11. Pisoschi A.M., Pop A., Negulescu G. P., Pisoschi A. *Determination of ascorbic acid content of some fruit juices and wine by voltammetry performed at Pt and carbon paste electrodes*. Molecules, 2011, vol. 16, pp. 1349-1365. <http://dx.doi.org/10.3390/molecules16021349>
12. Zaporozhets O.A., Krushinskaya E.A. *Determination of ascorbic acid by molecular spectroscopic techniques*. J. of Anal. Chem., 2002, vol. 57, no 4, pp. 286-297. <http://dx.doi.org/10.1023/A:1014938011955>
13. Kapur A., Hasković A., Čopra-Janićijević A., Klepo L., Topčagić A., Tahirović I., Sofić E. *Spectrophotometric analysis of total ascorbic acid content in various fruits and vegetables*. Bulletin of the Chemists and Technologists of Bosnia and Herzegovina, 2012, vol. 38, pp. 39-42.
14. Levashova O.L., Kovalenko S.N. *Osobennosti opredeleniya askorbinovoy kisloty v vitaminno-mineralnom komplekse Gesticare*. Aktualni pitanja farmatsevtichnoyi i medicchnoy nauki ta praktiki, 2011, vol. XXIV, no 2, pp. 26-29 (in Russian).
15. Husejin M.S., Jašić K.M. *Determination of L-ascorbic acid in pharmaceutical preparations using direct ultraviolet spectrophotometry*. Agric. Conspec. Sci., 2009, vol. 74, no 3, pp. 263-268.
16. Salkić, M., Keran H., Jašić M. *Direct spectrophotometric determination of L-ascorbic acid in the presence of potassium cyanide*. Agricul. Conspetus Sci., 2007, vol. 72, no 4, pp. 371-375.
17. Jagota S.K., Dani H.M. *A new calorimetric technique for the estimation of vitamin C using Folin phenol reagent*. Anal. Biochemistry, 1982, vol. 127, pp. 178-182.
18. Georgeä S., Brat P., Alter P., Amiot M.J. *Rapid determination of polyphenols and vitamin C in plant-derived products*. J. Agric. Food Chem, 2005, vol. 53, pp. 1370-1373. <http://dx.doi.org/10.1021/jf048396b>
19. Mahdavi R., Nikniaz Z., Rafrat M., Jouyban A. *Determination and comparison of total polyphenol and vitamin c contents of natural fresh and commercial fruit juices*. Pakistan J. of Nutrition, 2010, vol. 9, no 10, pp. 968-972. <http://dx.doi.org/10.3923/pjn.2010.968.972>

20. Olgun F.A.O., Ozyurt D., Berker K.I., Demirata B., Apak R. *Folin-Ciocalteu spectrophotometric assay of ascorbic acid in pharmaceutical tablets and orange juice with pH adjustment and pre-extraction of lanthanum(III)-flavonoid complexes*. J. of the Sci. of Food and Agriculture, 2014, vol. 94, no 12, pp. 2401-2408. <http://dx.doi.org/10.1002/jsfa.6569>
21. Benzie I.F.F., Strain J.J. *The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of ferric reducing ability FRAP assay*. Anal. Biochem, 1996, vol. 239, no 1, pp. 70-76. <http://dx.doi.org/10.1006/abio.1996.0292>
22. Arya S.P., Mahajan M. *A rapid and sensitive method for the determination of ascorbic acid using iron(III)-ferronate complex*. Anal. Sci., 1995, vol. 11, no 5, pp. 853-855. <http://dx.doi.org/10.2116/analsci.11.853>
23. Apak R., Güçlü K., Demirata B., Özyürek M., Esin Çelik S., Bektaşoğlu B., Berker K.I., Özyurt D. *Comparative evaluation of various total antioxidant capacity assays applied to phenolic compounds with the CUPRAC assay*. Molecules, 2007, vol. 12, pp. 1496-1547. <http://dx.doi.org/10.3390/12071496>
24. Guclu K., Sozgen K., Tutem E., Ozyurek M., Apak R. *Spectrophotometric determination of ascorbic acid using copper(II)-neocuproine reagent in beverages and pharmaceuticals*. Talanta, 2005, vol. 65, no 5, pp. 1226-1232. <http://dx.doi.org/10.1016/j.talanta.2004.08.048>
25. Singleton V., Orthofer R., Lamuela-Raventos R.M. *Analysis of total phenols and other oxidations substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent*. Methods Enzymology, 1999, vol. 299, pp. 152-178. [http://dx.doi.org/10.1016/S0076-6879\(99\)99017-1](http://dx.doi.org/10.1016/S0076-6879(99)99017-1)
26. Petrushina G.A., Tsiganok L.P., Vishnikin A.B. *Spectrophotometric determination of ascorbic acid by using $P_2Mo_{18}O_{62}^{6-}$* . Ukr. Chem. J., 2010, vol. 76, no 4, pp. 116-122.
27. Denisenko T.A., Tsyiganok L.P., Vishnikin A.B. *Spektrofotometričeskoe opredelenie rutina i askorbinovoy kisloty pri sovmestnom prisutstvii s ispolzovaniem 18-molibdodifosfornogo geteropolikompleksa*. Visnik ONU. Himiya, 2015, vol. 20, no 1 (53), pp. 49-68 (in Russian).
28. Denisenko T.O. *Spektrofotometrične viznachennya polifenollv z vikoristannyam geteropolikompleksiv strukturi Dousona*. Disertatsiyi na zdobuttya naukovogo stupenya kandidata himichnih nauk, Odessa, 2016, 162 p. (in Ukrainian).
29. Al-Shwaiyat M.K.E.A., Miekh Yu.V., Denisenko T.A., Vishnikin A.B., Andruch V., Bazel Y.R. *Simultaneous determination of rutin and ascorbic acid in a sequential injection lab-at-valve system*. J. of Pharm. and Biomed. Analysis, 2018, vol. 149, pp. 179-184. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jpba.2017.11.006>
30. Miekh Yu.V., Denisenko T.A., Vishnikin A.B. *Simultaneous kinetic determination of ascorbic acid and analgine in pharmaceutical preparations by H-point standard addition method*. Bulletin of Dnipro University. Series Chemistry, 2017, vol. 25, no 2, pp. 93-102. <http://dx.doi.org/10.15421/081713>
31. Lure Yu.Yu. *Spravochnik po analiticheskoy himii*. Moskva: Himiya, 1979, 278 p. (in Russian).
32. Goryushkina T.B., Dzyadevich S.V. *Vinogradni vina. Himichniy sklad ta metodi viznachennya*. Biotehnologiya, 2008, vol. 1, no 2, pp. 24-38 (in Russian).
33. Iosub I., Kajzar F., Meghea A., Mircea M.-L., Geana I., Rau I. *Spectro-electrochemical properties of pelargonidin-3-o-glucoside*. Mol. Cryst. Liq., 2014, vol. 603, pp. 136-145. <http://dx.doi.org/10.1080/15421406.2014.968077>
34. Straus S., Bavec F., Turinek M., Slatnar A., Rozman C., Bavec M. *Nutritional value and economic feasibility of red beetroot from different production systems*. African J. of Agricultural Research, 2012, vol. 7, no 42, pp. 5653-5660. <http://dx.doi.org/10.5897/ajar12.1519>
35. Cetkovská J., Diviša P., Vespalcová M., Pořízka J., Řezníček V. *Basic nutritional properties of cornelian cherry cultivars grown in the Czech republic*. Acta Alimentaria, 2015, vol. 44, no 3, pp. 357-364. <http://dx.doi.org/10.1556/aalim.2014.0013>
36. Shelemeteva O.V., Sizova N.V., Slepchenko G.B. *Opredelenie sodержaniya vitaminov i biologicheski aktivnykh veschestv v rastitelnykh ekstr aktah razlichnyimi metodami*. Himiya rastitelno go syrya, 2009, vol. 1, pp. 113-116. (in Russian)
37. Majidi M.I.H.A., Y-Alqubury H. *Determination of vitamin C (ascorbic acid) contents in various fruit and vegetable by UV-spectrophotometry and titration methods*. J. of Chem. and Pharm. Sci., 2016, vol. 9, pp. 2972-2974.