



Вісник Дніпропетровського університету. Серія хімія
 Bulletin of Dnipropetrovsk University. Series Chemistry
 ISSN 2306-871X (Print),
 ISSN 2313-4984 (Online)

journal homepage: <http://chemistry.dnu.dp.ua>



UDC 543.422.3:54-328

SPECTROPHOTOMETRIC DETERMINATION OF ASCORBIC ACID USING BISMUTH-CONTAINING 18-MOLYBDODIPHOSPHATE

Galina A. Petrushina,^{1*} Juliya V. Mekh,² Ludmila P. Tsiganok,² Andriy B. Vishnikin,² Darya V. Podgornaya³

¹Dnipropetrovsk State Agrarian University, 25, Voroshylova Str., Dnipropetrovsk, 49600, Ukraine

²Oles Honchar Dnipropetrovsk National University, 72, Gagarina Ave., Dnipropetrovsk, 49010, Ukraine

³Chemical and Ecological Lyceum of Dnipropetrovsk City Council, 14B, Heroes of Stalingrad Str., Dnipropetrovsk, 49069, Ukraine

Received 01 November 2013; revised 07 November 2013; accepted 29 November 2013

Abstract

Reactions of formation and reduction of bismuth substituted 18-molybdophosphate (18-MBPC) with ascorbic acid (Asc) have been investigated. 18-MBPC is reduced by Asc in the presence of Bi(III) ions at the ratio of Asc:18-MBPC 1:1 and 2:1 with formation of, respectively, two- and four-electron reduced heteropoly blues (HPB). The spectra of HPBs are similar to the spectra of metalsubstituted HPBs with Keggin structure and have an absorption maximum at 690 nm. Selective, rapid and simple method was developed for the determination of Asc based on the studied reaction. Benefits of using the 18-MBPC as analytical reagent are high sensitivity and rate of reduction, including in acid medium. The limit of detection was of detection was of $2.6 \cdot 10^{-6}$ mol/l ($l = 1$ cm), and ϵ was of $1.15 \cdot 10^4$ mol⁻¹·l·cm⁻¹.

Keywords: Wells–Dawson heteropoly complex, 18-molybdodiphosphate, heteropoly blue, bismuth, ascorbic acid.

СПЕКТРОФОТОМЕТРИЧНЕ ВИЗНАЧЕННЯ АСКОРБІНОВОЇ КИСЛОТИ З ВИКОРИСТАННЯМ БІСМУТОВІСНОГО 18-МОЛІБДОДИФОСФАТУ

Галина О. Петрушина,¹ Юлія В. Мех,² Людмила П. Циганок,² Андрій Б. Вишнікін,^{2,*} Дар'я В. Підгорна³

¹Дніпропетровський державний аграрний університет, вул. Ворошилова, 25, Дніпропетровськ, 49600, Україна

²Дніпропетровський національний університет імені Олеса Гончара, просп. Гагаріна, 72, Дніпропетровськ, 49010, Україна

³Хіміко-екологічний ліцей Дніпропетровської міської ради, вул. Героїв Сталінграда, 14Б, Дніпропетровськ, 49069, Україна

Анотація

Досліджено реакції утворення та відновлення бісмутовмісного 18-молібдодифосфату (18-МДФК) аскорбіновою кислотою (АК). У співвідношеннях АК:18-МДФК = 1:1 і 2:1 за присутності йонів Бісмуту(III) утворюються відповідно дво- та чотириелектронні гетерополісині. Їх спектри поглинання подібні до спектрів металозаміщених гетерополісиней структури Кеггіна і мають максимум за 690 нм. Розроблено селективну, експресну та просту методику визначення АК. Перевагами використання 18-МДФК як аналітичного реагента є високі чутливість та швидкість реакції відновлення, у тому числі в кислому середовищі. Межа визначення становить $2.6 \cdot 10^{-6}$ моль/л ($l = 1$ см), а $\epsilon = 1.15 \cdot 10^4$ моль⁻¹·л·см⁻¹.

Ключові слова: гетерополікомплекс структури Уелса–Доусона, 18-молібдодифосфат, гетерополісинь, Бісмут, аскорбінова кислота.

СПЕКТРОФОТОМЕТРИЧЕСКОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ АСКОРБИНОВОЙ КИСЛОТЫ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ВИСМУТСОДЕРЖАЩЕГО 18-МОЛИБДОДИФОСФАТА

Галина А. Петрушина,¹ Юлиа В. Мех,² Людмила П. Цыганок,² Андрей Б. Вишникин,^{2,*} Дарья В. Подгорная³

¹Днепропетровский государственный аграрный университет, ул. Ворошилова, 25, Днепропетровск, 49600, Украина

²Днепропетровский национальный университет имени Олеса Гончара, просп. Гагарина, 72, Днепропетровск, 49010, Украина

³Химико-экологический лицей Днепропетровского городского совета, ул. Героев Сталинграда, 14Б, Днепропетровск, 49069, Украина

Аннотация

Исследованы реакции образования и восстановления висмутзамещенного 18-молибдодифосфата (18-МДФК) аскорбиновой кислотой (АК). 18-МДФК при реакции с АК в присутствии ионов висмута(III) образует при соотношениях АК:18-МДФК 1:1 и 2:1 соответственно двух- и четырехэлектронные гетерополисини. Их спектры поглощения подобны спектрам металзамещенных гетерополисиней структуры Кеггина и имеют максимум

*Corresponding author: Tel.: +380567765834; fax: +380563749841; e-mail address: galinka83@gmail.com

© 2014 Oles Honchar Dnipropetrovsk National University

doi: 10.15421/081405

при 690 нм. Розроблена селективна, експресна і проста в виконанні методика визначення АК. Переваги використання 18-МДФК в якості аналітичного реагента – це висока чутливість і швидкість реакції відновлення, в тому числі і в кислому середовищі. Межа визначення становить $2.6 \cdot 10^{-6}$ моль/л ($l = 1$ см), а $\epsilon = 1.15 \cdot 10^4$ моль $^{-1}$ ·л·см $^{-1}$.

Ключові слова: гетерополікомплекс структури Уелса–Доусона, 18-молібдодифосфат, гетерополісинь, висмут, аскорбінова кислота.

Вступ

Гетерополіаніони (ГПА) структури Уелса – Доусона $P_2M_{18}O_{62}^{6-}$ ($M=Mo(VI), W(VI), V(V)$) (18-ГПА) завдяки вдалому поєднанню окисно-відновних та кислотно-основних властивостей широко застосовують у ході кислотного та окисно-відновного каталізу під час синтезу багатьох представників ряду важливих класів органічних сполук [1]. Історично вони були одними з найбільш важливих реагентів для визначення багатьох органічних речовин, які мають відновні властивості [2]. На використанні реактиву Фоліна–Чокальтеу $Pm_nW_{18-n}O_{62}^{6-}$ ($n = 4-5$) ґрунтуються методи визначення суми фенолів, протейнів [3; 4]. У той же час в останні роки перевагу віддають гетерополікомплексам структури Кеггіна [1], що можна пояснити їх доступністю та недостатністю інформації щодо властивостей доусонівських аніонів.

ГПА структури Уелса–Доусона мають більш високі окисні властивості порівняно з аналогічними ГПА структури Кеггіна. Серед них найбільш сильним окисником є 18-молібдодифосфорний гетерополікомплекс (18-МДФК). Швидкість його реакції з відновниками залежить від різниці окисно-відновного потенціалу пари 18-МДФК/18-МДФС (18-МДФС – відновлена форма 18-МДФК, гетерополісинь) та пари, яка відповідає речовині, що визначається. Оскільки на значення обох цих потенціалів впливає кислотність розчину, то селективність і швидкість реакції залежать від рН розчину. Швидкість реакції ГПА Уелса–Доусона з відновниками органічної природи набагато більша, ніж у 12-молібдодифосфорного ГПА або молібдату, які часто пропонують як аналітичні реагенти для визначення цих речовин [5–7].

Реакції 18-МДФК з відновниками відбуваються в широкій області рН, у тому числі в кислому середовищі на відміну від реактиву Фоліна–Чокальтеу, який використовують тільки в сильнолужному середовищі. Відновлені форми 18-МДФК інтенсивно поглинають світло у видимій ділянці спектра. Забарвлення одержаної гетерополісині (ГПС) стійке щонайменше протягом доби. Молярний коефіцієнт поглинання відновленого 18-МДФК (з участю двох електронів – $1.17 \cdot 10^4$ моль $^{-1}$ ·л·см $^{-1}$) [8] вищий,

ніж для похідних 12-МДФК ($\epsilon_{710}(H_2PViMo_{11}O_{40}^{6-}) = 6.0 \cdot 10^3$ моль $^{-1}$ ·л·см $^{-1}$) [9]. ГПА структури Уелса–Доусона мають значну кінетичну стійкість, яка обумовлює їх існування в сильнолужному середовищі досить довгий час; вони є стійкими до дії окисикислот, які зазвичай дуже швидко руйнують ГПА. Концентрований розчин 18-МДФК залишається незмінним під час зберігання протягом тривалого часу та не потребує стандартизації. Поєднання всіх вищевказаних властивостей обумовлює перспективність використання цього комплексу як аналітичного реагенту для спектрофотометричного визначення широкого кола окисників та відновників неорганічної та органічної природи [2–4; 8; 10–17].

У роботі [9] запропоновано прискорення реакції відновлення 12-МДФК аскорбіновою кислотою у присутності йонів $Bi(III), Sb(III), As(III)$. Показано, що ці йони утворюють потрійні ГПА і заміщують один із атомів молібдену(VI). Оскільки вказані йони легко змінюють ступінь окиснення з 3+ до 5+, припущено, що прискорення відновлення 12-МДФК можливе за рахунок полегшення перенесення електронів за їх участю від відновника до атомів $Mo(VI)$. Йони $Bi(III)$ здатні утворювати комплексні сполуки з АК, що також спрощує перенесення електронів, оскільки в цьому випадку вже немає відштовхування ГПА і аніонів АК [9].

Відомо, що частина атомів аденда – молібдену або вольфраму в монолігандних ГПА може бути заміщена на йони металів [18]. Редокс-потенціал пари ГПА(ox)/ГПА(red) у результаті введення йона металу в структуру комплексу може змінюватися і залежить від природи йона-замісника, розчинника та рН розчину ГПА [19]. Під час дослідження металозаміщених вольфрамових 18-ГПА, а саме $K_xP_2W_{17}(M^{n+}H_2O) \cdot nH_2O$, де $M^{n+} = Fe^{3+}, Cu^{2+}, Co^{2+}, Ni^{2+}, Mn^{3+}, Mn^{2+}$, було показано, що перехідні метали відновлюються і реокиснюються у складі ГПА без деструкції аніона [20; 21].

Аскорбінова кислота (вітамін С) – один із найважливіших водорозчинних вітамінів, який не здатен синтезуватися в організмі людини. АК міститься у багатьох об'єктах аналізу, оскільки її додають до фармацевтичних препаратів, напоїв та продуктів харчування. Інші

речовини у вказаних об'єктах можуть заважати аналізу. У зв'язку з цим існує велика кількість методик для визначення цього аналізу [22]. Більшість із них складні у виконанні, недостатньо селективні і швидкі [2].

Метою даної роботи є дослідження взаємодії бісмутовмісного 18-молібдодифосфату (18-МБДФК) і аскорбінової кислоти та розробка на цій основі селективної, експресної та простої методики визначення АК.

Експериментальна частина

Матеріали та обладнання. Амоній 18-молібдодифосфат $(\text{NH}_4)_6\text{P}_2\text{Mo}_{18}\text{O}_{62}\cdot 14\text{H}_2\text{O}$ синтезували за методикою, наведеною в роботі [23], яку ми модифікували [14]. 0.01 М розчин 18-МДФК готували розчиненням 0.7855 г отриманої солі в колбі об'ємом 25 мл. 0.01 М розчин АК (х.ч.) готували розчиненням точної наважки речовини у свіжопрокип'яченій дистильованій воді безпосередньо перед використанням. Враховуючи швидке окиснення АК у результаті контакту з повітрям, свіжий розчин готували кожну годину. $1\cdot 10^{-3}$ М розчин $\text{Bi}(\text{NO}_3)_3$ у 2.5 М HNO_3 готували з препарату $\text{Bi}(\text{NO}_3)_3\cdot 5\text{H}_2\text{O}$ розчиненням точної наважки в концентрованої кислоті та доводили до необхідного об'єму дистильованою водою.

Спектри поглинання і оптичну густину досліджуваних розчинів вимірювали на спектрофотометрі СФ-26 (ЛОМО, Росія) у скляних кюветах з товщиною поглинаючого шару 1 см.

Приготування реагенту для визначення АК. Реагент готували із розчинів 18-МДФК, $\text{Bi}(\text{III})$ та H_2SO_4 . Для цього в мірну колбу об'ємом 50 мл вносили 5 мл 0.01 М 18-МДФК, 10 мл 0.01 М Бісмуту(III) та 10 мл 0.5 М H_2SO_4 , доводили дистильованою водою до позначки та перемішували. Концентрації речовин у даному реагенті становлять: 10^{-3} М 18-МДФК, $2\cdot 10^{-3}$ М Бісмуту(III), 0.1 М H_2SO_4 .

Побудова градувальної залежності. У мірні колби місткістю 25 мл вносять 1 мл розчину реагенту, доводять об'єм приблизно до 15–20 мл дистильованою водою, додають певний об'єм 10^{-3} М розчину АК, щоб отримати розчини з концентрацією АК від $1\cdot 10^{-6}$ до $8\cdot 10^{-5}$ моль/л, через 1 хв вносять 1 мл 0.5 М розчину H_2SO_4 . Розчини перемішують та вимірюють оптичну густину відносно води в скляній кюветі з товщиною поглинаючого шару 1 см за довжини хвилі 690 нм.

Визначення АК у соках. Натуральні соки, свіжовиготовлені або комерційно доступні, одержані з концентратів, двічі пропускали через

щільний паперовий фільтр. Визначення АК проводили за наведеною вище методикою.

Визначення АК у лікарських препаратах. Для визначення АК у лікарських препаратах зважували 10 таблеток і подрібнювали в ступці до порошкоподібного стану. Кількість зразка, що відповідає масі однієї таблетки, розчиняли у воді, пропускали через щільний паперовий фільтр для відокремлення нерозчинних речовин і доводили фільтрат водою до 250 мл. Відбирали певний об'єм розчину в мірну колбу об'ємом 25 мл з метою створення концентрації АК, що відповідає середині градувального графіка. Далі аналіз проводили згідно з вищезазначеною методикою.

Результати та їх обговорення

Дослідження відновлення 18-МДФК у присутності йонів $\text{Bi}(\text{III})$. З'ясовано, що йони $\text{Bi}(\text{III})$ суттєво впливають на вигляд спектра поглинання ГПС, який отримують у ході відновлення 18-МДФК аскорбіновою кислотою. У присутності йонів $\text{Bi}(\text{III})$ з'являється нова смуга з $\lambda_{\text{max}} = 690\text{--}720$ нм (рис. 1). Спектр ГПС з максимумом близько 700 нм характерний для металозаміщених ГПА, які отримують у результаті відновлення молібденових кеггінівських ГПА [24]. У спектрах наявна ізобестична точка за 730 нм, що дає змогу говорити про поступовий перехід однієї ГПС в іншу в разі збільшення співвідношення $\text{Bi}(\text{III})$:18-МДФК. До співвідношення $\text{Bi}(\text{III})$:18-МДФК = 1:1 маємо в розчині суміш двох ГПС – 18-МДФС-2 та 18-МБДФК-2 (рис. 1, криві 1–5), за надлишку йонів $\text{Bi}(\text{III})$ зміни в спектрах припиняються (рис. 1, криві 6 і 7) і в розчині наявна тільки бісмутовмісна ГПС.

Вказані факти дають підставу припустити утворення бісмутовмісного ГПА, у якому один атом молібдену заміщений на йон $\text{Bi}(\text{III})$. У цьому випадку негативний заряд аніона додатково збільшується і формула металозаміщеної ГПС може бути записана як $\text{P}_2\text{Bi}^{\text{III}}\text{Mo}_2^{\text{V}}\text{Mo}_{15}^{\text{VI}}\text{O}_{62}^{11-}$. Існування в розчині йонів ГПА, які мають заряд, більший ніж – 10, малоймовірне. Зниження заряду відбувається за рахунок протонізації або приєднання йонів металу. Так, кеггінівський аніон типу $\text{PV}_{12}\text{O}_{40}^{15-}$ не існує, оскільки він має надвисокий заряд. Замість нього утворюється аніон $\text{PV}_{14}\text{O}_{42}^{9-}$, у якому два додаткові йони ванадію координуються до поверхневих атомів кисню і утворюють так звану «кепкову» структуру [18]. Тому більш вірогідною є координація йона $\text{Bi}(\text{III})$ до поверхневих атомів кисню, як це відбу-

валосся під час гідротермального синтезу ГПС $[P\text{Mo}_7^V\text{Mo}_5^VI\text{O}_{40}\text{Sb}_2^{\text{III}}]^{4-}$ [25]. У такому разі формула отриманої ГПС може бути записана у вигляді $P_2\text{Bi}^{\text{III}}\text{Mo}_2^V\text{Mo}_{16}^VI\text{O}_{62}^{5-}$. Про утворення нової комплексної сполуки також свідчить зміна кольору розчину з жовтого на жовтогарячий за додавання нітрату бісмуту до розчину 18-МДФК (рН 2.0).

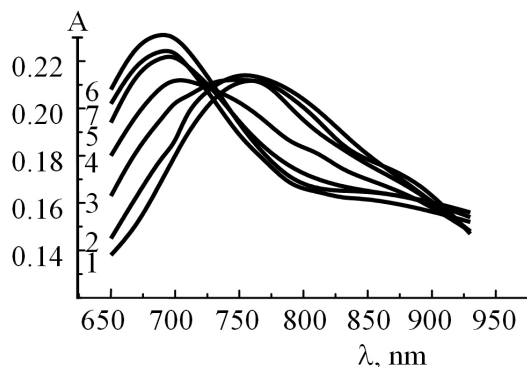


Fig. 1. Influence of Bi(III) ions on the absorption spectra of heteropoly blue obtained by the reduction of 18-MPC with Asc.

$C(18\text{-MPC}) = 4 \cdot 10^{-5}$ mol/L; $C(\text{Asc}) = 4 \cdot 10^{-5}$ mol/L; $C(\text{Bi(III)}) 10^5$ mol/L: 0 (1), 0.8 (2), 1.6 (3), 2.4 (4), 3.2 (5), 4 (6), 4.8 (7); $l = 0.5$ cm; pH 2

Рис. 1. Вплив іонів Bi(III) на спектри поглинання гетерополісині, отриманої в ході відновлення 18-МДФК аскорбіновою кислотою.

$C(18\text{-МДФК}) = 4 \cdot 10^{-5}$ моль/л; $C(\text{АК}) = 4 \cdot 10^{-5}$ моль/л; $C(\text{Bi(III)}) 10^5$ моль/л: 0 (1), 0.8 (2), 1.6 (3), 2.4 (4), 3.2 (5), 4 (6), 4.8 (7); $l = 0.5$ см; рН 2

Вигляд спектрів поглинання не залежить від рН розчину на відміну від реакції утворення двоелектронної гетерополісині 18-МДФС-2 під час відновлення 18-МДФК. Для звичайних монолігандних ГПА (12-МДФК, 18-МДФК) у спектрах відновлених продуктів спостерігається гіпсохромний зсув основної смуги поглинання за умови підкислення за рахунок протонізації аніона [8]. Відсутність залежності вигляду спектра поглинання від рН розчину ми пов'язуємо з тим, що під час відновлення у випадку металозаміщених ГПС утворюється дуже слабка кислота. Це можна пояснити більшою, ніж для монолігандних ГПА, нерівномірністю розподілу заряду по поверхні аніона. Відновлення 18-МДФК аскорбіновою кислотою в присутності йонів Bi(III) можна проводити тільки у достатньо кислому середовищі, враховуючи гідроліз Бісмут-іонів.

У процесі реакції АК з 18-МДФК за наявності йонів Bi(III) відновлення може проходити глибше, ніж на 2 електрони. Як видно з рис. 2, під час додавання 2 моль АК на моль 18-МДФК інтенсивність спектра ГПС збільшується майже вдвічі. Це свідчить про те, що вже 4 атоми молібдену(VI) у 18-МДФК відновлюються до молібдену(V), тобто утворюється чотириелек-

тронна ГПС. Вид спектрів дво- (2e) та чотириелектронних (4e) бісмутозаміщених ГПС мало залежить від глибини відновлення.

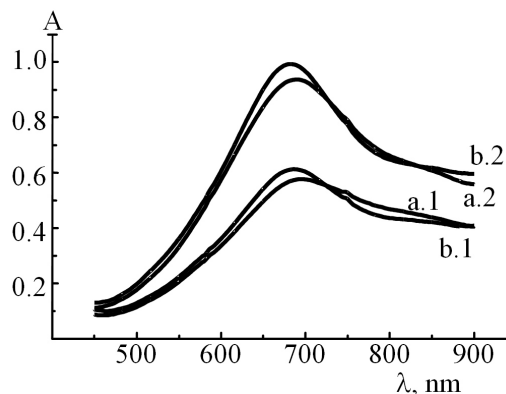


Fig. 2. Absorption spectra of HPB obtained by the reduction of 18-MPC with Asc in the presence of Bi(III).

$C(18\text{-MPC}) = 10^{-4}$ mol/L; $C(\text{Bi(III)}) = 10^{-4}$ mol/L (a), $2 \cdot 10^{-4}$ mol/L (b); $C(\text{Asc}) = 10^{-4}$ mol/L (1), $2 \cdot 10^{-4}$ mol/L (2); $l = 0.5$ cm; pH 4

Рис. 2. Спектри поглинання ГПС, отриманих у ході відновлення 18-МДФК аскорбіновою кислотою за присутності Bi(III).

$C(18\text{-МДФК}) = 10^{-4}$ моль/л; $C(\text{Bi(III)}) = 10^{-4}$ моль/л (а), $2 \cdot 10^{-4}$ моль/л (б); $C(\text{АК}) = 10^{-4}$ моль/л (1), $2 \cdot 10^{-4}$ моль/л (2); $l = 0.5$ см; рН 4

Надійним доказом утворення чотириелектронної ГПС є чіткий перетин на кривій насичення за співвідношення АК:18-МДФК = 2:1 (рис. 3). З рис. 2, 4 можна зробити висновок, що для кількісного утворення дво- й чотириелектронних металозаміщених ГПС достатньо ввести 1 моль Bi(III) на моль 18-МДФК. Рекомендовано брати невеликий (приблизно в 1.5 разу) надлишок іонів Bi(III). Відмітимо, що утворення 4e ГПС під час відновлення 12-МДФК АК у присутності йонів Sb(III) або Bi(III) потребує не менше ніж їх двократного надлишку [26]. Підвищення оптичної густини (рис. 4) можна пояснити збільшенням швидкості відновлення 18-МДФК і концентрації Bi(III), враховуючи, що за даного рН розчину АК повільно відновлює 18-МДФК. Зниження оптичної густини за концентрацій іонів Bi(III), більших ніж $2 \cdot 10^{-4}$ М, викликано їх гідролізом.

Важливо, що однаковий характер спектрів поглинання 2e і 4e бісмутовмісних ГПС (рис. 3) дозволяє застосовувати лише один градувальний графік для визначення відновників. Під час реакції відновлення 18-МДФК аскорбіновою кислотою кут нахилу градувального графіка сильно залежав від того, якій ГПС (2e чи 4e) він відповідав [8].

За умови, що $C(\text{H}_2\text{SO}_4) = 0.05$ М, реакція бісмутовмісного комплексу з АК закінчується практично миттєво. Без іонів Bi(III) реакція відновлення 18-МДФК АК займає близько го-

дини. Проте у розведених розчинах можлива поява каламуті за рахунок гідролізу за Bi(III) , особливо за низьких концентрацій відновника. Оскільки зі збільшенням кислотності зменшується швидкість реакції (рис. 5, крива 2), під час відновлення 18-МДФК АК у присутності йонів Бісмуту найбільш ефективним виявилось подвійне підкислення (рис. 5, крива 1).

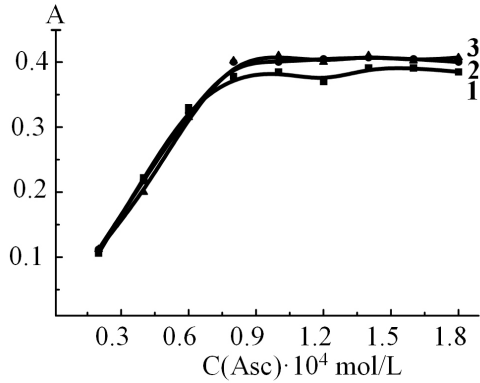


Fig. 3. Influence of the Asc concentration on the absorbance of HPB solutions obtained by the reduction of 18-MPC.

$C(18\text{-MPC}) = 4 \cdot 10^{-5} \text{ mol/L}$; $C(\text{H}_2\text{SO}_4) = 0.02 \text{ mol/L}$; $C(\text{Bi(III)}) 10^5 \text{ mol/L}$: 4 (1), 8 (2), 12 (3); $\lambda = 690 \text{ nm}$; $l = 0.5 \text{ cm}$

Рис. 3. Вплив концентрації АК на оптичну густину розчинів ГПС, отриманих у ході відновлення 18-МДФК.

$C(18\text{-МДФК}) = 4 \cdot 10^{-5} \text{ моль/л}$; $C(\text{H}_2\text{SO}_4) = 0.02 \text{ моль/л}$; $C(\text{Bi(III)}) 10^5 \text{ моль/л}$: 4 (1), 8 (2), 12 (3); $\lambda = 690 \text{ нм}$; $l = 0.5 \text{ см}$

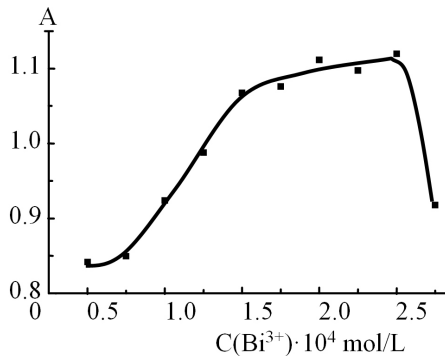


Fig. 4. Dependence of absorbance of HPB solutions obtained by the reduction of 18-MPC with Asc on the Bi(III) concentration.

$C(18\text{-MPC}) = 10^{-4} \text{ mol/L}$; $C(\text{Asc}) = 10^{-4} \text{ mol/L}$; $\lambda = 790 \text{ nm}$; $l = 1 \text{ cm}$; $\text{pH } 2.5$

Рис. 4. Залежність оптичної густини розчинів ГПС отриманих у ході відновлення 18-МДФК АК від концентрації Bi(III) .

$C(18\text{-МДФК}) = 10^{-4} \text{ моль/л}$; $C(\text{АК}) = 10^{-4} \text{ моль/л}$; $\lambda = 790 \text{ нм}$; $l = 1 \text{ см}$; $\text{pH } 2.5$

Таким чином, у присутності йонів Bi(III) спостерігається прискорення реакції відновлення 18-МДФК АК, розширення інтервалу лінійності визначуванних концентрацій за рахунок того, що спектри поглинання 2e та 4e продуктів його відновлення мають максимум за однієї довжини хвилі (690 нм).

Визначення АК з використанням бісмутівмісного комплексу 18-МДФК. Враховуючи

знайдені умови відновлення 18-МДФК аскорбіновою кислотою у присутності йонів Бісмуту(III), була розроблена спектрофотометрична методика визначення АК. Вона ґрунтується на реакції відновлення бісмутівмісного молібденового ГПА структури Уелса–Доусона жовтого-рячого кольору до дво- та чотириелектронних синей, яке супроводжується зміною забарвлення на інтенсивно синє.

Розчин реагенту готували попереднім змішуванням розчинів 18-МДФК, Бісмуту(III) та H_2SO_4 , як наведено вище. Усі речовини, які входять у даний розчин, можуть існувати сумісно. Реагент є надзвичайно чутливий до наявності відновників. Для очищення посуду від сорбованих на стінках залишків відновників рекомендовано використовувати розведений розчин 18-МДФК. Оскільки він практично не поглинає випромінювання за аналітичної довжини хвилі, оптичну густину розчинів гетерополісині вимірювали відносно води.

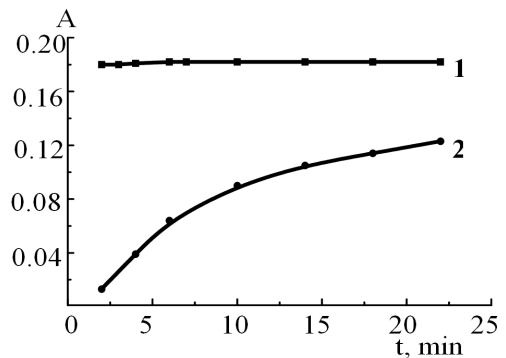


Fig. 5. Dependence of absorbance on the reaction time by the reduction of 18-MBPC using double (1) or single acidification.

$C(18\text{-MPC}) = 4 \cdot 10^{-5} \text{ mol/L}$; $C(\text{Bi(III)}) = 8 \cdot 10^{-5} \text{ mol/L}$; $C(\text{Asc}) = 2 \cdot 10^{-5} \text{ mol/L}$; $C(\text{H}_2\text{SO}_4) = 0.04 + 0.06$ (1), 0.01 mol/L (2); $\lambda = 690 \text{ nm}$; $l = 1 \text{ cm}$

Рис. 5. Залежність оптичної густини від часу в ході відновлення 18-МБДФК з використанням подвійного (1) та одноразового (2) підкислення.

$C(18\text{-МДФК}) = 4 \cdot 10^{-5} \text{ моль/л}$; $C(\text{Bi(III)}) = 8 \cdot 10^{-5} \text{ моль/л}$; $C(\text{АК}) = 2 \cdot 10^{-5} \text{ моль/л}$; $C(\text{H}_2\text{SO}_4) = 0.04 + 0.06$ (1), 0.01 моль/л (2); $\lambda = 690 \text{ нм}$; $l = 1 \text{ см}$

Градуювальний графік (рис. 6) описується рівнянням $A = (-0.004 \pm 0.003) + (1.16 \pm 0.01) \cdot 10^4 \cdot C(\text{АК})$, $R = 0.999$, його лінійність зберігається в широкому інтервалі концентрацій АК $(0.1 - 8.0) \cdot 10^{-5} \text{ моль/л}$ (до співвідношення $C(18\text{-BiM-ФК}):C(\text{АК}) = 1:2$). Межу виявлення розраховано за формулою $3s/tg\alpha$ [27], де s – стандартне відхилення аналітичного сигналу, $tg\alpha$ – тангенс кута нахилу градуувальної залежності; вона дорівнює $8 \cdot 10^{-7} \text{ моль/л}$. Нижню межу визначуваного вмісту (межа кількісного визначення) розраховано за формулою $10s/tg\alpha$ [27]; вона дорівнює $2.6 \cdot 10^{-6} \text{ моль/л}$.

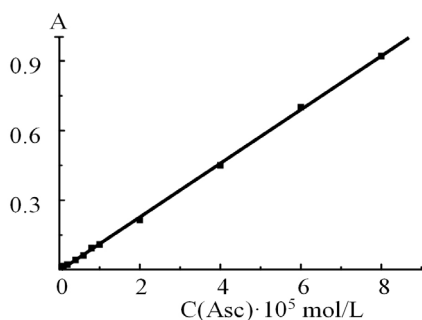


Fig. 6. Calibration graph for the determination of Asc.
 $C(18\text{-MPC}) = 4 \cdot 10^{-5} \text{ mol/L}$; $C(\text{Bi(III)}) = 8 \cdot 10^{-5} \text{ mol/L}$; $l = 1 \text{ cm}$; $\lambda = 690 \text{ nm}$

Рис. 6. Градувальний графік для визначення АК.
 $C(18\text{-МДФК}) = 4 \cdot 10^{-5} \text{ моль/л}$; $C(\text{Ві(III)}) = 8 \cdot 10^{-5} \text{ моль/л}$;
 $l = 1 \text{ см}$; $\lambda = 690 \text{ нм}$

ком на упаковці, та даним, отриманим під час аналізу за стандартною методикою, і підтвердили правильність та високу відтворюваність першої методики. Відносне стандартне відхилення не перевищувало 0.02, що узгоджується з вимогами до аналізу лікарських препаратів.

Визначення вмісту АК у соках. АК здатна швидко окиснюватися киснем, який знаходиться в розчині. Тому пробопідготовку та аналіз необхідно проводити якомога швидше після приготування зразків. Після додавання реагенту забарвлення розчину відбувається миттєво, він стабільний щонайменше протягом доби.

Table 1

The results of the determination of Asc in medical formulations by using 18-MBPC (mg/tablet±Δ, n = 5, P = 95%)

Таблиця 1

Результати визначення АК в лікарських препаратах з використанням 18-МБДФК (мг/таблетка±Δ, n = 5, P = 95%)

Medical formulations	Declared contents of Asc	Found by proposed method, $x_{mid} \pm \Delta$	$S_r, \%$	Found by the standard method [28], $x_{mid} \pm \Delta$	$S_r, \%$
Celaskon	250	252±4	1.6	250±5	1.5
Coldrex	60	61±2	1.9	59.8±0.3	0.4

Table 2

The results of the determination of Asc in juices by using 18-MBPC (mg/100 ml± Δ для n = 5 та P = 95%)

Таблиця 2

Результати аналізу соків на вміст АК з використанням 18-МБДФК (мг/100 мл± Δ для n = 5 та P = 95%)

Sample	Found by proposed method, $x_{mid} \pm \Delta$	$S_r, \%$	Found by the standard method [28], $x_{mid} \pm \Delta$	$S_r, \%$
Nectar banana-apple-strawberry	12.4±0.7	3.3	12.4±1.9	8
«Karapuz Junior» Multivitamin juice «Seniorik»	11.6±0.6	2.8	11.7±0.7	3.4
Apple juice «Gerber, Nestle»	46.7±2.4	2.7	47.2±0.7	0.9
Lemon nectar «Sandora»	8.7±0.2	1.1	8.5±0.6	4.1
Orange juice 100% «Sandora»	28.5±0.1	2.2	28.5±0.4	8
Lemon (juice)	56.1±2.4	2.4	53.3±1.6	1.6
Orange (juice)	52.4±1.7	2.9	52.2±1.6	1.7

Аналіз лікарських препаратів на вміст АК з використанням 18-МБДФК. Визначення аскорбінової кислоти проводили в таких лікарських препаратах: таблетках, які містять тільки АК (Celaskon виробництва «Zentiva», Чехія, 250 мг), порошку, який містить парацетамол (750 мг), гідрохлорид фенілефрину (10 мг) та в таблетках аскорбінової кислоти (60 мг) (Колдрекс виробництва «СмітКляйн Бічем С.А.», Іспанія). Правильність результатів було підтверджено порівнянням з результатами, отриманими за стандартною методикою [28], яка ґрунтується на титруванні водного розчину АК 2,6-дихлорфеноліндофенолом до появи блакитного (нейтральне та лужне середовище) або рожевого забарвлення (кисле середовище).

Результати аналізу лікарських препаратів за запропонованою методикою (табл. 1) відповідали вмісту АК, декларованому виробни-

Аналіз на вміст АК проводили у фруктових соках (табл. 2). Отримані результати було перевірено за методом йодометричного титрування [29]. Червоне забарвлення мультивітамінного соку не заважає визначенню АК, оскільки за 690 нм поглинання контрольного досліду (підкислених розчинів соку) незначне. Отримані результати аналізу соків за розробленою методикою відповідали даним, отриманим у ході аналізу за стандартною методикою, що підтвердило правильність та високу точність розробленої методики (відносне стандартне відхилення не перевищувало 5%). Як видно з результатів аналізу, складна матриця аналізованих соків не мала суттєвого впливу на визначення АК. Розроблена спектрофотометрична методика визначення АК за допомогою реакції відновлення 18-МБДФК відзначається простотою виконання, високою

селективністю, чутливістю та експресністю (табл. 2).

Висновки

Зміни, які відбуваються у спектрах поглинання гетерополісинеї, отриманих у процесі відновлення 18-МДФК АК у присутності йонів Бісмуту(III), інтерпретовані на користь утворення нового потрійного бісмутовмісного гетерополікомплексу. Зі збільшенням співвідношення АК:18-МДФК до 1:1 і 2:1 утворюються відповідно дво- та чотириелектронні відновлені форми ГПА. Спектри цих ГПС подібні до спектрів металозаміщених ГПС структури Кеггіна і мають максимум поглинання за 690 нм. Швидкість реакції відновлення висока навіть у кислому середовищі, що створює передумови для покращення селективності визначення. Перевагами використання комплексу 18-МДФК з Ві(III) як аналітичного реагенту є також висока чутливість. Межа визначення становить $2.6 \cdot 10^{-6}$ моль/л ($l = 1$ см), а $\epsilon = 1.15 \cdot 10^4$ моль $^{-1}$ ·л·см $^{-1}$. Подібність спектрів поглинання 2e та 4e ГПС дозволяє розширити інтервал концентрацій АК, які визначаються. Крім того, вид спектрів ГПС не залежить від рН, що здатне покращити відтворюваність результатів, спростити хід аналізу.

Бібліографічні посилання

- Briand L. E. The state of the art of Wells-Dawson heteropoly-compounds. A review of their properties and applications / L. E. Briand, G. T. Baronetti, H. J. Thomas // *Appl. Catal. A: General.* – 2003. – Vol. 256. – P. 37–50.
- Determination of ascorbic acid with Wells-Dawson type molybdophosphate in sequential injection system / A. B. Vishnikin, H. Sklenářová, P. Solich et al. // *Anal. Lett.* – 2011. – Vol. 44, № 1–3. – P. 514–527.
- Peterson G. L. Review of the folin phenol protein quantitation method of Lowry, Rosebrough, Farr, and Randall / G. L. Peterson // *Anal. Biochem.* – 1979. – Vol. 18. – P. 201–220.
- Singleton V. L. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent / V. L. Singleton, R. Orthofer, R. M. Lamuela-Raventos // *Meth. Enzymol.* – 1999. – Vol. 299. – P. 152–178.
- Моросанова Е. И. Индикаторные порошки на основе модифицированных ксерогелей для твердофазно-спектрофотометрического определения аскорбиновой кислоты и гидразинов / Е. И. Моросанова, Е. А. Резникова, А. А. Великородный // *Журн. аналит. химии.* – 2001. – Т. 56, № 2. – С. 195–200.
- Sorption-photometric determination of ascorbic acid using molybdosilicic heteropolyacid and polyurethane foam after microwave irradiation / S. G. Dmitrienko, L. V. Goncharova, A. V. Zhigulev et al. // *Anal. Chim. Acta.* – 1998. – Vol. 373, № 2–3. – P. 131–138.
- Elnenaey E. S. A sensitive colorimetric method for estimation of ascorbic acid / E. S. Elnenaey, R. Soliman // *Talanta.* – 1979. – Vol. 28, № 12. – P. 1164–1166.
- Петрушина Г. А. Спектрофотометрическое определение аскорбиновой кислоты с помощью $P_2Mo_{18}O_{62}^{6-}$ / Г. А. Петрушина, Л. П. Цыганок, А. Б. Вишникин // *Укр. хим. журн.* – 2010. – Т. 76, № 3–4. – С. 116–122.
- 11-Molybdobismuthophosphate – a new reagent for the determination of ascorbic acid in batch and sequential injection systems / A. B. Vishnikin, T. Ye. Svinarenko, H. Sklenářová et al. // *Talanta.* – 2010. – Vol. 80, № 5. – P. 1838–1845.
- Highly sensitive sequential injection determination of p-aminophenol in paracetamol formulations with 18-molybdodiphosphate heteropoly anion based on elimination of Schlieren effect / A. B. Vishnikin, M. K. E. A. Al-Shwaiyat, G. A. Petrushina et al. // *Talanta.* – 2012. – Vol. 96. – P. 230–235.
- Stepwise injection spectrophotometric determination of epinephrine / A. V. Bulatov, A. V. Petrova, A. B. Vishnikin et al. // *Talanta.* – 2012. – Vol. 96. – P. 62–67.
- Stepwise injection spectrophotometric determination of cysteine in biologically active supplements and fodders / A. V. Bulatov, A. V. Petrova, A. B. Vishnikin, L. N. Moskvina // *Microchem. J.* – 2013. – Vol. 108. – P. 213–217.
- Sequential injection spectrophotometric determination of analgin in pharmaceutical formulations using 18-molybdo-2-phosphate heteropoly anion as chromogenic reagent / M. K. E. A. Al-Shwaiyat, A. B. Vishnikin, L. P. Tsiganok et al. // *Вісник Дніпропетр. ун-ту. Сер.: Хімія.* – 2013. – Т. 21, вип 19. – С. 7–18.
- Петрушина Г. А. Спектрофотометрическое определение п-аминофенола в присутствии парацетамола с использованием 18-молибдодифосфата / Г. А. Петрушина, Л. П. Цыганок, А. Б. Вишникин // *Вісник Дніпропетр. ун-ту. Сер.: Хімія.* – 2011. – Т. 19, вип 17. – С. 160–164.
- Одновременное определение аскорбиновой кислоты и нитрит-ионов в мясных изделиях / Г. А. Петрушина, Л. П. Цыганок, А. Б. Вишникин, Я. Р. Базель // *Методы и объекты хим. анализа.* – 2012. – Т. 7, № 1. – С. 45–51.
- Simultaneous determination of paracetamol and ascorbic acid in pharmaceutical formulations / G. Petrushina, A. B. Vishnikin, L. P. Tsiganok, J. R. Bazel // *Перша міжнар. наук. конф. студ. асп. та молод. вчен. «Хімія та хімічні технології 2010 (ССТ-2010)».* – Л., 2010. – С. 26–27.
- New methods for simultaneous determination of several analytes by using flow analysis and Dawson heteropoly anions / M. K. E. A. Al-Shwaiyat,

- A. B. Vishnikin, T. Denisenko et al. / Abstracts of 18th Int. Conf. on Flow Injection Analysis. – Porto, Portugal, 2013. – P. 82.
18. Поп М. С. Гетерополи- и изополиоксометаллаты / М. С. Поп. – Новосибирск: Наука, 1990. – 232 с.
 19. Sadakane M. Electrochemical Properties of Polyoxometalates as Electrocatalysts / M. Sadakane, E. Steckhan // Chem. Rev. – 1998. – Vol. 98, № 1. – P. 219–238.
 20. McCormac T. A comparative electrochemical study of transition metal substituted Dawson type heteropolyanions / T. McCormac, B. Fabre, G. Bidan // J. Electroanal. Chem. – 1997. – Vol. 425, № 1-2. – P. 49–54.
 21. McCormac T. Role of pH and the transition metal for the electrocatalytic reduction of nitrite with transition metal substituted Dawson type heteropolyanions / T. McCormac, B. Fabre, G. Bidan // J. Electroanal. Chem. – 1997. – Vol. 427, № 1-2. – P. 155–159.
 22. Запорожец О. А. Определение аскорбиновой кислоты методами молекулярной спектроскопии / О. А. Запорожец, Е. А. Крушинская // Журн. аналит. химии. – 2002. – Т. 57, № 4. – С. 343–354.
 23. Ammam M. Selective determination of ascorbic acid with a novel hybrid material based 1-butyl-3-methylimidazolium tetrafluoroborate ionic liquid and the Dawson type ion $[P_2Mo_{18}O_{62}]^{6-}$ immobilized on glassy carbon / M. Ammam, E.B. Easton // Electrochim. Acta. – 2011. – Vol. 56, № 7. – P. 2847–2855.
 24. Вишник А. Б. Модифицированные формы гетерополианионов в спектроскопических методах анализа: дисс. ... д-ра хим. наук: 02.00.02. / А.Б. Вишник. – Одесса, 2012. – 450 с.
 25. Modified polyoxometalate: A novel bi-antimony capped, highly reduced a-Keggin polyoxoanion, $[PMo_7^V Mo_5^VI O_{40} Sb_2^{III}]^{4-}$ / Y.-K. Lu, J.-N. Xu, X.-B. Cui et al. // Inorg. Chem. Commun. – 2010. – Vol. 13. – P. 46–49.
 26. Вишник А. Б. Исследование условий образования и состава комплекса, образующегося при восстановлении 12-молибдофосфата аскорбиновой кислотой в присутствии ионов Sb(III) и Bi(III) / А. Б. Вишник, Е. В. Вишник, Ф. А. Чмиленко // Вопр. химии и хим. технологии. – 2007. – № 6. – С. 11–15.
 27. Кристиан Г. Аналитическая химия: в 2 т. / Г. Кристиан; пер. с англ. – М.: Бинум, 2009. – Т. 1. – С. 362.
 28. Cunniff P. Official methods of analysis of the AOAC, / P. Cunniff. – 16-th. Ed. Maryland: AOAC International, 1999.
 29. European Pharmacopeia. 6th Edition. European Directorate for the Quality of Medicines (EDQM). Council of Europe, Strasbourg Cedex, France, 2007. – 3308 p.
- ## References
1. Briand, L. E., Baronetti, G. T., Thomas, H. The state of the art of Wells-Dawson heteropoly-compounds. A review of their properties and applications. J. Appl. Catal. A: General, 2003, vol. 256, p. 37–50.
 2. Vishnikin, A. B., Sklenařova, H., Solich, P., Petrushina, G. A., Tsiganok, L. P. Determination of ascorbic acid with Wells-Dawson type molybdophosphate in sequential injection system. Anal. Lett., 2011, vol. 44, no 1–3, p. 514–527.
 3. Peterson, G. L. Review of the folin phenol protein quantitation method of Lowry, Rosebrough, Farr, and Randall. Anal. Biochem., 1979, vol. 18, p. 201–220.
 4. Singleton, V. L., Orthofer, R., Lamuela-Raventos, R. M. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent. Meth. Enzymol., 1999, vol. 299, p. 152–178.
 5. Morosanova, E. I., Reznikova, E. A., Velikorodnyj, A. A. Modified Xerogel-Based Indicator Powders for Determining Ascorbic Acid and Hydrazines by Solid-Phase Spectrophotometry and Visual. J. Anal. Chem., 2001, vol. 56, no 2, p. 173–177.
 6. Dmitrienko, S. G., Goncharova, L. V., Zhigulev, A. V., Nosov, R. E., Kuźmin, N. M., Zolotov, Y. A. Sorption-photometric determination of ascorbic acid using molybdosilicic heteropolyacid and polyurethane foam after microwave irradiation. Anal. Chim. Acta., 1998, vol. 373, no 2–3, p. 131–138.
 7. Elnenaey, E. S., Soliman, R. A sensitive colorimetric method for estimation of ascorbic acid. Talanta, 1979, vol. 28, no 12, p. 1164–1166.
 8. 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, p. 116–122.
 9. Vishnikin, A. B., Svinarenko, T. Ye., Sklenařová, H., Solich, P., Bazel, Ya. R., Andruch, V. 11-Molybdobismuthophosphate – a new reagent for the determination of ascorbic acid in batch and sequential injection systems. Talanta, 2010, vol. 80, no 5, p. 1838–1845.
 10. Vishnikin, A. B., Al-Shwaiyat, M. K. E. A., Petrushina, G. A., Tsiganok, L. P., Andruch, V., Bazel, Ya. R., Sklenařova, H., Solich, P. Highly sensitive sequential injection determination of p-aminophenol in paracetamol formulations with 18-molybdodiphosphate heteropoly anion based on elimination of Schlieren effect. Talanta, 2012, vol. 96, p. 230–235.
 11. Bulatov, A. V., Petrova, A. V., Vishnikin, A. B., Moskvina, A. L., Moskvina, L. N. Stepwise injection spectrophotometric determination of epinephrine. Talanta, 2012, vol. 96, p. 62–67.
 12. Bulatov, A. V., Petrova, A. V., Vishnikin, A. B., Moskvina, L. N. Stepwise injection spectrophotometric determination of cysteine in biologically active supplements and fodders. Microchem. J., 2013,

- vol. 108, p. 213–217.
13. Al-Shwaiyat, M. K. E. A., Vishnikin, A. B., Tsiganok, L. P., Kabashnaya, E. V., Khmelovskaya, S. A., Andruch, V., Bazel, Ya. R., Sklenářová, H., Solich, P. Sequential injection spectrophotometric determination of analgin in pharmaceutical formulations using 18-molybdo-2-phosphate heteropoly anion as chromogenic reagent. *Visn. Dnipropetr. Univ.: Khim.*, 2013, vol. 21, no. 19, p. 7–18.
 14. Petrushina, G. A., Tsiganok, L. P., Vishnikin, A. B. Spectrophotometric determination of p-aminophenol in the presence of paracetamol by using 18-molybdodiphosphate. *Visn. Dnipropetr. Univ.: Khim.*, 2011, vol. 19, no. 17, p. 160–164. [in Russian]
 15. Petrushina, G. A., Tsiganok, L. P., Vishnikin, A. B., Bazel, J. R. Simultaneous determination of ascorbic acid and nitrite in meat products. *Meth. Objects Chem. Anal.*, 2012, vol. 7, no. 1, p. 45–51.
 16. Petrushina, G. A., Vishnikin, A. B., Tsiganok, L. P., Bazel, J. R. Simultaneous determination of paracetamol and ascorbic acid in pharmaceutical formulations. *Abstracts of I Int. Sci. Conf. «Chem. And Chemical Technol. 2010 (CCT-2010)»*: Lviv, 2010. – P. 26–27.
 17. Al-Shwaiyat, M. K. E. A., Tsiganok, L. P., Denisenko, T., Tsiganok, L. P., Andruch, V., Bazel, Y. New methods for simultaneous determination of several analytes by using flow analysis and Dawson heteropoly anions. *18th Int. Conf. on Flow Injection Analysis: abstracts.* – Porto, Portugal, 2013. – P. 82.
 18. Pope, M. T. *Heteropoly- and isopolyoxometalates*, Novosibirsk: Nauka, 1990, 232 p. [in Russian]
 19. Sadakane, M., Steckhan, E. Electrochemical Properties of Polyoxometalates as Electrocatalysts. *Chem. Rev.*, 1998, vol. 98, no. 1, p. 219–238.
 20. McCormac, T., Fabre, B., Bidan, G. A comparative electrochemical study of transition metal substituted Dawson type heteropolyanions. *J. Electroanal. Chem.*, 1997, vol. 425, no. 1–2, p. 49–54.
 21. McCormac, T., Fabre, B., Bidan, G. Role of pH and the transition metal for the electrocatalytic reduction of nitrite with transition metal substituted Dawson type heteropolyanions. *J. Electroanal. Chem.*, 1997, vol. 427, no. 1–2, p. 155–159.
 22. Zaporozhets, O. A., Krushinskaya, E. A. Determination of Ascorbic Acid by Molecular Spectroscopic Techniques. *J. Anal. Chem.*, 2002, vol. 57, no. 4, p. 286–297.
 23. Ammam, M., Easton, E. B. Selective determination of ascorbic acid with a novel hybrid material based 1-butyl-3-methylimidazolium tetrafluoroborate ionic liquid and the Dawson type ion $[P_2Mo_{18}O_{62}]^{6-}$ immobilized on glassy carbon. *Electrochim. Acta.*, 2011, vol. 56, no. 7, p. 2847–2855.
 24. Vishnikin A. B. Modified forms of heteropoly anions in spectroscopic methods of analysis: Thesis of a doctor degree: 02.00.02., Odesa, 2012. [in Russian]
 25. Lu, Y.-K., Xu, J.-N., Cui, X.-B., Jin, J., Shi, S.-Y., Xu, J. Q. Modified polyoxometalate: A novel bi-antimony capped, highly reduced a-Keggin polyoxoanion, $[PMo_7^V Mo_5^{VI} O_{40} Sb_2^{III}]^{4-}$. *Inorg. Chem. Commun.*, 2010, vol. 13, p. 46–49.
 26. Vishnikin, A. B., Vishnikina, E. V., F. A. Chmilenko. Investigation of the conditions of formation and composition of complex formed in the reduction of 12-molybdophosphate of ascorbic acid in the presence of Sb (III) and Bi (III). *Vopr. Khim. Khim. Tekhnol.*, 2007, no. 6, p. 11–15. [in Russian]
 27. Kristian, G., *Analytical Chemistry: in 2 vol.* Moscow: Binom, 2009, vol. 1, p. 362. [in Russian]
 28. Cunniff P. *Official methods of analysis of the AOAC*, 16-th. ed., Maryland: AOAC International, 1999.
 29. *European Pharmacopeia. 6th Edition.* European Directorate for the Quality of Medicines (EDQM). Council of Europe, Strasbourg Cedex, France, 2007, 3308 p.
-