



UDC 543.422.3: 54-328

## DETERMINATION OF ASCORBIC ACID IN MIXTURES WITH CYSTEINE USING REDUCTION OF 18-MOLYBDODIPHOSPHATE HETEROPOLY COMPLEX IN PRESENCE OF Bi(III) IONS

Yuliia V. Miekh,<sup>1</sup> Andriy B. Vishnikin,<sup>1</sup> Nataliya A. Tovstonog,<sup>1</sup>Tatyana A. Denisenko,<sup>1</sup> Halyna O. Petrushyna<sup>2</sup><sup>1</sup>Oles Honchar Dnipro National University, Gagarina Av., 25, Dnipro, Ukraine<sup>2</sup>Dnipro State Agrarian and Economic University, Serhii Efremov Str., 25, Dnipro, Ukraine

Received 4 November 2019; accepted 12 December 2019; available online 21 December 2020

### Abstract

A spectrophotometric method was developed for the determination of ascorbic acid in mixtures with cysteine using the reduction of 18-molybdodiphosphate heteropoly complex. In order to decrease the influence of the 18-molybdodiphosphate reduction with cysteine, the pH of the reaction was shifted to the acidic region to 1.0 – 2.2. Under these conditions, in the presence of bismuth(III) ions, as a result of the formation of a metal-substituted heteropoly complex, the reaction rate of 18-molybdodiphosphate with ascorbic acid increases and, at pH from 1.8 to 2.2, the reduction reaction is completely shifted towards the formation of heteropoly blue and ends in less than 5 minutes. Cysteine in this pH region reacts with 18-molybdodiphosphate very slowly, but has an indirect effect on the reaction of ascorbic acid with 18-molybdodiphosphate, probably due to the binding of bismuth(III) ions. It was shown that the determination of ascorbic acid is possible with satisfactory accuracy if the excess of cysteine with respect to ascorbic acid does not exceed three times. The calibration graph for the determination of ascorbic acid at pH 1.8 and concentrations of 18-molybdodiphosphate and bismuth(III)  $5 \cdot 10^{-5}$  mol·L<sup>-1</sup> and  $1 \cdot 10^{-4}$  mol·L<sup>-1</sup>, respectively, is linear in the range from  $2.5 \cdot 10^{-6}$  to  $2.5 \cdot 10^{-5}$  with a detection limit of  $8 \cdot 10^{-7}$  mol·L<sup>-1</sup> ( $l = 5$  cm). The accuracy of the method was evaluated by the added-found method on model mixtures.

*Key words:* ascorbic acid; cysteine; spectrophotometry; 18-molybdodiphosphate; simultaneous determination.

## ВИЗНАЧЕННЯ АСКОРБІНОВОЇ КИСЛОТИ У СУМІШАХ З ЦИСТЕЇНОМ ІЗ ВИКОРИСТАННЯМ РЕАКЦІЇ ВІДНОВЛЕННЯ 18-МОЛІБДОДИФОСФОРНОГО ГЕТЕРОПОЛІКОМПЛЕКСУ У ПРИСУТНОСТІ ІОНІВ ВІ(ІІІ)

Юлія В. Мех,<sup>1</sup> Андрій Б. Вишнікін,<sup>1</sup> Наталія О. Товстоног,<sup>1</sup>Тетяна О. Денисенко<sup>1</sup>, Галина О. Петрушина<sup>2</sup><sup>1</sup>Дніпровський національний університет імені Олеся Гончара, пр. Гагаріна, 72, Дніпро, 49010, Україна<sup>2</sup>Дніпровський державний аграрно-економічний університет, вул. С. Єфремова, 25, Дніпро, 49600, Україна

### Анотація

Розроблена спектрофотометрична методика визначення аскорбінової кислоти у сумішах із цистеїном з використанням реакції відновлення 18-молібдодифосфорного гетерополікомплесу. Для нівелювання впливу реакції відновлення 18-молібдодифосфату цистеїном рН реакції зміщений в кислу область до 1.0 – 2.2. У цих умовах у присутності іонів бісмуту (III) внаслідок утворення металозаміщеного гетерополікомплесу швидкість реакції 18-молібдодифосфату з аскорбіновою кислотою підвищується і при рН від 1.8 до 2.2 реакція відновлення повністю зміщується у бік утворення гетерополісині і закінчується менш, ніж за 5 хв. Цистеїн у цій області рН реагує з 18-молібдодифосфатом дуже повільно, але спричиняє непрямий вплив на реакцію аскорбінової кислоти з 18-молібдодифосфатом, імовірно, за рахунок зв'язування іонів бісмуту (III). Показано, що визначення аскорбінової кислоти є можливим із задовільною точністю, якщо надлишок цистеїну не більш, ніж у три рази перевищує концентрацію аскорбінової кислоти. Градувальний графік для визначення аскорбінової кислоти при рН 1.8 та концентраціях 18-молібдодифосфату і бісмуту(III)  $5 \cdot 10^{-5}$  моль/л та  $1 \cdot 10^{-4}$  моль/л відповідно є лінійним в інтервалі від  $2.5 \cdot 10^{-6}$  до  $2.5 \cdot 10^{-5}$  з межею виявлення  $8 \cdot 10^{-7}$  моль/л ( $l = 5$  см). Правильність методики оцінено методом введено-знайдено на модельних сумішах.

*Ключові слова:* аскорбінова кислота; цистеїн; спектрофотометрія; 18-молібдодифосфат; одночасне визначення.

Corresponding author: e-mail address: [vishnikin@hotmail.com](mailto:vishnikin@hotmail.com)

© 2019 Oles Honchar Dnipro National University

doi:10.15421/081929

## ОПРЕДЕЛЕНИЕ АСКОРБИНОВОЙ КИСЛОТЫ В СМЕСЯХ С ЦИСТЕИНОМ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ РЕАКЦИИ ВОССТАНОВЛЕНИЯ 18-МОЛИБДОДИФОСФОРНОГО ГЕТЕРОПОЛИКОМПЛЕКСА В ПРИСУТСТВИИ ИОНОВ ВІ(III)

Юлия В. Мех,<sup>1</sup> Андрей Б. Вишникин,<sup>1</sup> Наталья А. Товстоног,<sup>1</sup>

Татьяна А. Денисенко,<sup>1</sup> Галина А. Петрушина<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Днепропетровский национальный университет имени Олеся Гончара, пр. Гагарина, 72, Днепр, 49010, Украина

<sup>2</sup>Днепропетровский государственный аграрно-экономический университет,  
ул. С. Ефремова, 25, Днепр, 49600, Украина

### Аннотация

Разработана спектрофотометрическая методика определения аскорбиновой кислоты в смесях с цистеином с использованием реакции восстановления 18-молибдодифосфорного гетерополикомплекса. Для нивелирования влияния реакции восстановления 18-молибдодифосфата цистеином рН реакции смещен в кислую область до 1.0 – 2.2. В этих условиях в присутствии ионов висмута (III) в результате образования металлозамещенного гетерополикомплекса скорость реакции 18-молибдодифосфата с аскорбиновой кислотой повышается и при рН от 1.8 до 2.2 реакция восстановления полностью смещается в сторону образования гетерополисини и заканчивается менее, чем за 5 мин. Цистеин в этой области рН реагирует с 18-молибдодифосфатом очень медленно, но оказывает косвенное влияние на реакцию аскорбиновой кислоты с 18-молибдодифосфатом, вероятно, за счет связывания ионов висмута (III). Показано, что определение аскорбиновой кислоты возможно с удовлетворительной точностью, если избыток цистеина по отношению к аскорбиновой кислоте не превышает трехкратного. Градуировочный график для определения аскорбиновой кислоты при рН 1.8 и концентрациях 18-молибдодифосфата и висмута(III)  $5 \cdot 10^{-5}$  моль/л и  $10^{-4}$  моль/л соответственно является линейным в интервале от  $2.5 \cdot 10^{-6}$  до  $2.5 \cdot 10^{-5}$  с пределом обнаружения  $8 \cdot 10^{-7}$  моль/л ( $l = 5$  см). Правильность методики оценена методом введено-найденно на модельных смесях.

**Ключевые слова:** аскорбиновая кислота; цистеин; спектрофотометрия; 18-молибдодифосфат; одновременное определение.

### Введення

Визначення аскорбінової кислоти (АК) у сумішах із тіолами є актуальним питанням, оскільки вони часто зустрічаються разом у рослинних та біомедицинських об'єктах. Зазвичай для визначення АК використовують методи, які ґрунтуються на окисно-відновних реакціях. При використанні таких методів тіоли заважають визначенню АК, бо окисно-відновні потенціали цих речовин є близькими. Для визначення АК та інших відновників при сумісній присутності запропоновані хроматографічні [1; 2], електрохімічні [3] та спектрофотометричні методи [4–6]. Застосування хроматографічних методів для визначення однієї або двох речовин не завжди є доцільним. Наразі потрібні більш прості і доступні підходи. Активно розвиваються методи з застосуванням електрохімічних сенсорів [7], але вони залишаються на рівні експериментальних зразків. Для кожного комбінування відновників необхідно створення нового електроду, властивості їх змінюються у часі, час життя обмежений, процес розробки електроду є тривалим та потребує праці кваліфікованого спеціаліста. Існуючі спектрофотометричні методики для аналізу сумішей АК з тіолами ґрунтуються на методах диференційного кінетичного аналізу багатократних стандартних добавок N-point [8] та усередненого центрування [9]. Це призводить до того, що визначення стає

довготривалим, ускладнюється, а також є неможливим визначення однієї речовини у присутності значного надлишку іншої.

Гетерополикомплекси (ГПК) структури Доусона є ефективними аналітичними реагентами для визначення речовин, які мають відновні властивості. Вони мають значну кінетичну стійкість, яка обумовлює їх існування в сильнолужному середовищі досить довгий час; вони є стійкими до дії окисиклот, які зазвичай дуже швидко руйнують інші типи гетерополіаніонів [10]. Як було показано раніше, 18-молибдодифосфат (18-МФК) є універсальним реагентом для визначення відновників [11–16]. 18-МФК має найбільший серед усіх вивчених ГПК окисно-відновний потенціал, що дозволяє оптимальним чином регулювати окисно-відновні властивості реагенту, селективність визначення та швидкість редокс-реакцій. Поєднання всіх вищевказаних властивостей обумовлює перспективність використання цього комплексу як аналітичного реагенту для спектрофотометричного визначення широкого кола окисників та відновників неорганічної та органічної природи.

Раніше нами була запропонована методика для одночасного визначення АК і рутину з використанням 18-МФК, яка ґрунтується на залежності окисно-відновної поведінки реагуючих речовин від рН розчину [15]. Нами також запропонований кінетичний метод

диференційного визначення АК та цистеїну (Цис) [9] у сумішах, певним недоліком якого є довготривалість та складність визначення. Досі немає простих спектрофотометричних методик визначення АК у присутності тіолів [17–22]. Тому є необхідність у розробці простої, селективної, чутливої спектрофотометричної методики для аналізу сумішей АК і тіолів. У даній роботі зроблена спроба розробити методику визначення АК у сумішах з Цис із використанням реакції відновлення 18-МФК у присутності іонів  $\text{Bi(III)}$ . Відомо, що солі  $\text{Bi(III)}$  здатні селективно прискорювати реакцію відновлення молібденових ГПК АК [23; 24]. За оптимальних умов вказана реакція 18-МФК з АК проходить набагато швидше, ніж з Цис.

### Експериментальна частина

*Реагенти та використане обладнання.* Усі використані реагенти відповідали класу чистоти не менш «х.ч.» або «ч.д.а.». 0.01 моль/л розчин 18-МФК готували розчиненням точної наважки 0.7855 г в 25 мл дистильованої води. 0.01 моль/л розчин  $\text{Bi(NO}_3)_3$  готували з  $\text{Bi(NO}_3)_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  розчиненням точної наважки 0.485 г в 7 мл концентрованої  $\text{HNO}_3$ , далі додавали 7 мл 0.1 моль/л  $\text{HNO}_3$  і доводили об'єм дистильованою водою до 100 мл. 0.5 моль/л розчин  $\text{H}_2\text{SO}_4$  готували з концентрованої кислоти.

Синтез змішаного реагенту 18-МФК, модифікованого іонами  $\text{Bi(III)}$ , проводили *in situ* наступним чином. У мірну колбу об'ємом 25 мл вносили 6.25 мл 0.01 моль/л 18-МФК, 12.5 мл 0.01 моль/л розчину  $\text{Bi(III)}$  у нітратній кислоті та 2.5 мл 0.5 моль/л  $\text{H}_2\text{SO}_4$ . Доводили об'єм дистильованою водою до позначки та перемішували. Концентрації речовин у даному реагенті становили:  $2.5 \cdot 10^{-3}$  моль/л 18-МФК,  $5 \cdot 10^{-3}$  моль/л  $\text{Bi(III)}$ , 0.05 моль/л  $\text{H}_2\text{SO}_4$ .

0.01 моль/л розчин АК готували шляхом розчинення точної наважки 44.0 мг сухого порошку в мірній колбі об'ємом 25 мл у 96 % етиловому спирті. За цих умов розчин є стійким одну добу при його зберіганні в холодильнику. Робочі розчини рекомендується готувати безпосередньо перед експериментом. 0.01 моль/л розчин Цис готували шляхом розчинення точної наважки 87.8 г у 5 мл 0.01 моль/л  $\text{HCl}$  з наступним доведенням об'єму до 50 мл.

pH розчинів контролювали на pH-метрї марки pH-150 MI зі скляним індикаторним електродом марки ЕС-10601 та хлоридсрібним електродом порівняння марки ЕСР-10101. Для зважування використовували терези аналітичні марки WA-21200g. Світлопоглинання досліджуваних розчинів вимірювали на спектрофотометрі СФ-46 (ЛОМО, Росія).

### Результати та їх обговорення

Раніше було показано, що в широкому інтервалі pH АК та Цис реагують з 18-МФК одночасно [9]. Тому визначення цих речовин у суміші за таких умов є неможливим. У роботі [23] показано, що при додаванні  $\text{Bi(III)}$  реакція 18-МФК з АК значно прискорюється. Є припущення, що це обумовлено утворенням металозаміщеного ГПК та можливою взаємодією  $\text{Bi(III)}$  у складі такого комплексу з АК [24]. Для всього інтервалу pH, де відбувається реакція цих відновників з 18-МФК спостерігається одночасне окиснення обох речовин (рис. 1а). У літературі немає відомостей щодо можливості  $\text{Bi(III)}$  прискорювати реакції 18-МФК з тіолами. При зменшенні pH швидкість та повнота реакції 18-МФК з відновниками суттєво зменшується. Це дало змогу припустити, що у сильнокислому середовищі реакція з Цис може повністю припинитися, в той час як швидкість з АК буде залишатися достатньо великою.

Дійсно, було знайдено, що у присутності  $\text{Bi(III)}$  швидкість реакції АК з 18-МФК, навіть у сильнокислому середовищі, є достатньо великою, в той час як вплив на реакцію з Цис є незначним. У інтервалі pH від 1.2 до 2.2 АК селективно реагує з 18-МФК у присутності  $\text{Bi(III)}$  (рис. 1б). Швидкість реакції з Цис у цих умовах є дуже низькою. При  $\text{pH} < 1.2$  окиснення АК сильно уповільнюється, а при  $\text{pH} > 2.2$  вимірюванням заважає гідроліз іонів  $\text{Bi(III)}$ . Для повного закінчення реакції при pH більше 1.5 достатньо лише 5 хв (рис. 2). При pH менше 1.8 рівновага не повністю зміщується у бік гетерополісіні (ГПС), що призводить до значного зменшення отриманого світлопоглинання. Кінетичні залежності отримували при кімнатній температурі, яка становила на момент вимірювань 22 °C.

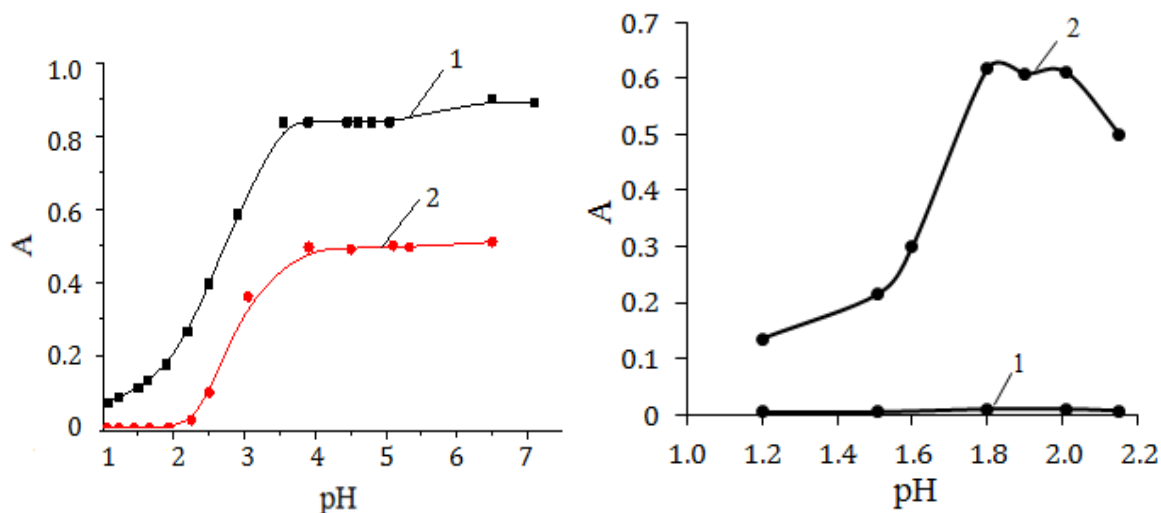


Fig. 1. The effect of acidity on the interaction of 18-molybdodiphosphate (18-MDC) with ascorbic acid (Asc) (1) and cysteine (Cys) (2) without (a) and in the presence of bismuth(III) ions (b). a)  $C(18\text{-MPC}) = 2 \cdot 10^{-4} \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ ,  $C(\text{Asc}) = 8 \cdot 10^{-5} \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ ,  $C(\text{Cys}) = 8 \cdot 10^{-5} \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ ,  $\lambda = 820 \text{ nm}$ ;  $l = 1 \text{ cm}$ ,  $t = 5 \text{ min}$ ; b)  $C(18\text{-MPC}) = 2 \cdot 10^{-4} \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ ,  $C(\text{Bi(III)}) = 2 \cdot 10^{-4} \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ ,  $C(\text{AK}) = 5 \cdot 10^{-5} \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ ,  $C(\text{Cys}) = 1 \cdot 10^{-4} \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ ,  $\lambda = 760 \text{ nm}$ ,  $l = 1 \text{ cm}$ ,  $t = 5 \text{ min}$

Рис. 1. Вплив кислотності на взаємодію 18-МФК з АК (1) та Цис (2) за відсутності (a) та у присутності іонів  $\text{Bi(III)}$  (б). а)  $C(18\text{-МФК}) = 2 \cdot 10^{-4} \text{ моль/л}$ ,  $C(\text{АК}) = 8 \cdot 10^{-5} \text{ моль/л}$ ,  $C(\text{Цис}) = 8 \cdot 10^{-5} \text{ моль/л}$ ,  $\lambda = 820 \text{ нм}$ ,  $l = 1 \text{ см}$ ,  $t = 5 \text{ хв}$ ; б)  $C(18\text{-МФК}) = 2 \cdot 10^{-4} \text{ моль/л}$ ,  $C(\text{Bi(III)}) = 2 \cdot 10^{-4} \text{ моль/л}$ ,  $C(\text{АК}) = 5 \cdot 10^{-5} \text{ моль/л}$ ,  $C(\text{Цис}) = 1 \cdot 10^{-4} \text{ моль/л}$ ,  $\lambda = 760 \text{ нм}$ ,  $l = 1 \text{ см}$ ,  $t = 5 \text{ хв}$

Дослідження адитивності показало, що в деяких випадках практично отримане світлопоглинання для сумішей було меншим, ніж розраховане, виходячи з суми світлопоглинань. Ця різниця була тим більшою, чим більшим були вміст Цис у суміші та співвідношення концентрацій Цис до АК (рис. 3). Відхилення від адитивності можна пояснити тим, що Цис може спричиняти непрямий вплив на взаємодію АК з 18-МФК. По-перше,  $\text{Bi(III)}$  здатний утворювати з Цис

стійкі комплекси. Таким чином він зменшує концентрацію  $\text{Bi(III)}$  у суміші, інгібує його каталітичну активність і його може вже не вистачати для реакції АК з 18-МФК. По-друге, Цис може відновлювати дегідроаскорбінову кислоту до АК, але така реакція здатна лише підвищити світлопоглинання суміші. У нашому випадку світлопоглинання суміші було меншим, ніж отримане для реакції тільки АК з 18-МФК. Тому перше пояснення є більш вірогідним.

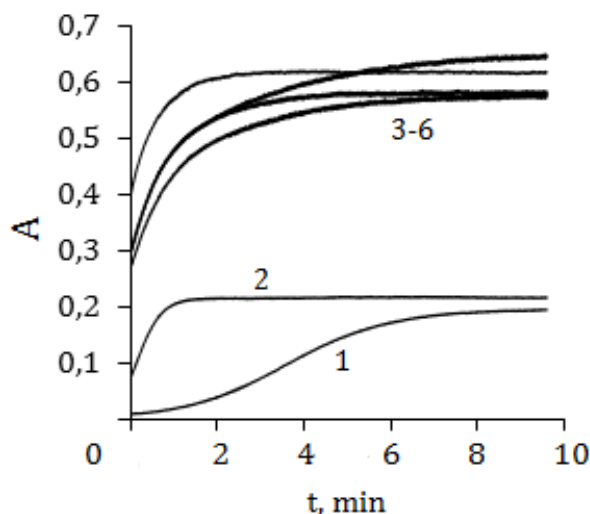


Fig. 2. Influence of reaction time on absorbance of heteropoly blue formed in the reaction between Asc and 18-MPC.  $C(18\text{-MPC}) = 2 \cdot 10^{-4} \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ ,  $C(\text{Bi(III)}) = 2 \cdot 10^{-4} \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ ,  $C(\text{Asc}) = 5 \cdot 10^{-5} \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ ,  $\lambda = 760 \text{ nm}$ ,  $l = 1 \text{ cm}$ , pH: 1.2 (1), 1.5 (2), 1.8 (3), 2 (4), 2.16 (5), 2.18 (6)

Рис. 2. Залежність світлопоглинання від часу для реакції між АК та 18-МФК.  $C(18\text{-МФК}) = 2 \cdot 10^{-4} \text{ моль/л}$ ,  $C(\text{Bi(III)}) = 2 \cdot 10^{-4} \text{ моль/л}$ ,  $C(\text{АК}) = 5 \cdot 10^{-5} \text{ моль/л}$ ,  $\lambda = 760 \text{ нм}$ ,  $l = 1 \text{ см}$ , pH: 1.2 (1), 1.5 (2), 1.8 (3), 2 (4), 2.16 (5), 2.18 (6)

Для нівелювання впливу Цис у подальших експериментах було збільшено вміст  $\text{Bi(III)}$  у змішаному реагенті. Також було підвищено концентрацію 18-МФК до  $2 \cdot 10^{-4}$  моль/л з метою збільшення інтервалу визначуваних концентрацій АК та Цис. З рис. 4а видно, що при нестачі іонів  $\text{Bi(III)}$  при збільшенні концентрації Цис в суміші по відношенню до АК спостерігається зменшення світлопоглинання, максимум світлопоглинання зсувається від 690 нм до 790 нм. У надлишку іонів  $\text{Bi(III)}$  (рис. 4б) відбувається стабілізація світлопоглинання та

максимуму поглинання ГПС. У спектрах присутня ізобестична точка при 720 нм. Максимум при 720 нм є характерним для металозаміщених ГПК, а наявність ізобестичної точки вказує на те, що одна форма металозаміщеної ГПС переходить в іншу, вірогідно 2e в 1e. Вимірювання світлопоглинання в ізобестичній точці ( $\lambda = 720$  нм) дозволяє досягти адитивності принаймні до співвідношення концентрацій Цис до АК, яке відповідає триразовому надлишку Цис.

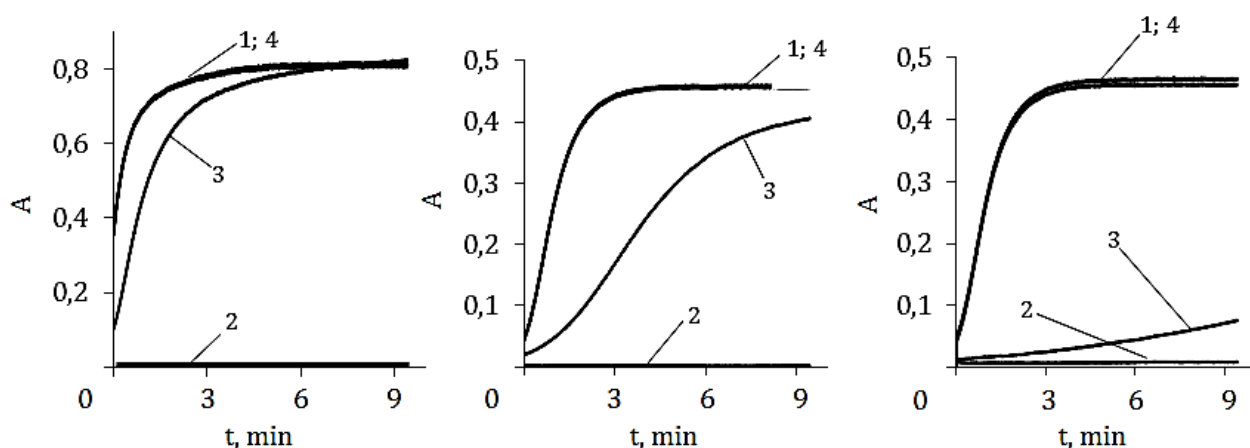


Fig. 3. Dependence of absorbance on time for Asc (1), Cys (2), mixture of reducing agents (3) and theoretically calculated absorbance for mixture (4).  $C(18\text{-MPC}) = 2 \cdot 10^{-4}$  mol·L<sup>-1</sup>,  $C(\text{Bi(III)}) = 2 \cdot 10^{-4}$  mol·L<sup>-1</sup>,  $\lambda = 690$  nm,  $l = 1$  cm, pH 1.8: a)  $C(\text{Asc}) = 1 \cdot 10^{-4}$  mol·L<sup>-1</sup>,  $C(\text{Cys}) = 5 \cdot 10^{-5}$  mol·L<sup>-1</sup>; b)  $C(\text{Asc}) = 5 \cdot 10^{-5}$  mol·L<sup>-1</sup>,  $C(\text{Cys}) = 8 \cdot 10^{-5}$  mol·L<sup>-1</sup>; c)  $C(\text{Asc}) = 5 \cdot 10^{-5}$  mol·L<sup>-1</sup>,  $C(\text{Cys}) = 3 \cdot 10^{-4}$  mol·L<sup>-1</sup>

Рис. 3. Залежність світлопоглинання від часу для АК (1), Цис (2), суміші відновників (3) та теоретично розрахованого світлопоглинання суміші (4).  $C(18\text{-МФК}) = 2 \cdot 10^{-4}$  моль/л,  $C(\text{Bi(III)}) = 2 \cdot 10^{-4}$  моль/л,  $\lambda = 690$  нм,  $l = 1$  см, pH 1.8. а)  $C(\text{АК}) = 1 \cdot 10^{-4}$  моль/л,  $C(\text{Цис}) = 5 \cdot 10^{-5}$  моль/л; б)  $C(\text{АК}) = 5 \cdot 10^{-5}$  моль/л,  $C(\text{Цис}) = 8 \cdot 10^{-5}$  моль/л; в)  $C(\text{АК}) = 5 \cdot 10^{-5}$  моль/л,  $C(\text{Цис}) = 3 \cdot 10^{-4}$  моль/л

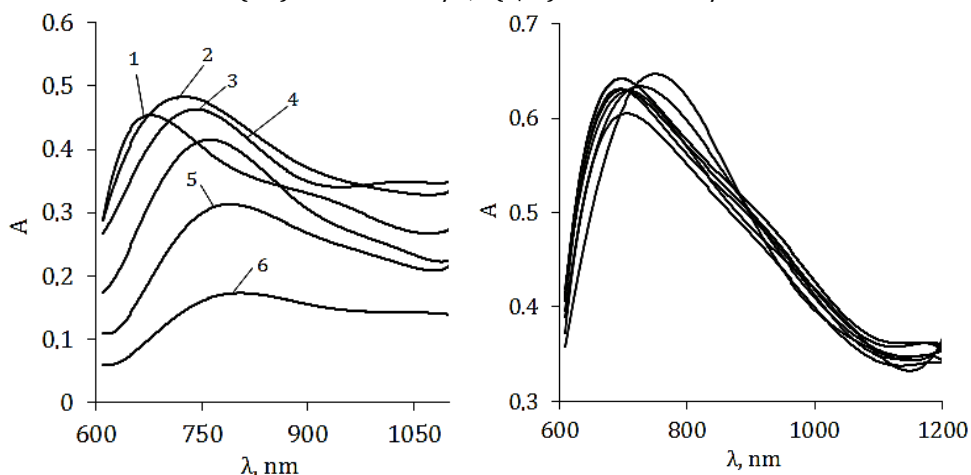


Fig. 4. Absorption spectra of the mixtures of Asc and Cys. a)  $C(\text{Asc}) = 2 \cdot 10^{-5}$  mol·L<sup>-1</sup>,  $C(\text{Cys}) = 0$  (1),  $8 \cdot 10^{-6}$  (2),  $2 \cdot 10^{-5}$  (3),  $4 \cdot 10^{-5}$  (4),  $6 \cdot 10^{-5}$  (5),  $8 \cdot 10^{-5}$  (6),  $1 \cdot 10^{-4}$  (7) mol·L<sup>-1</sup>;  $C(18\text{-MPC}) = C(\text{Bi(III)}) = 2 \cdot 10^{-4}$  mol·L<sup>-1</sup>; b)  $8 \cdot 10^{-5}$  (5),  $1 \cdot 10^{-4}$  (6) mol·L<sup>-1</sup>,  $C(18\text{-MPC}) = 2 \cdot 10^{-4}$  mol·L<sup>-1</sup>,  $C(\text{Bi(III)}) = 4 \cdot 10^{-4}$  mol·L<sup>-1</sup>. pH 1.8;  $t = 10$  min;  $l = 3$  cm

Рис. 4. Спектри світлопоглинання сумішей. а)  $C(18\text{-МФК}) = C(\text{Bi(III)}) = 2 \cdot 10^{-4}$  моль/л;  $C(\text{АК}) = 5 \cdot 10^{-5}$  моль/л,  $C(\text{Цис})$ , моль/л: 0 (1),  $1 \cdot 10^{-5}$  (2),  $5 \cdot 10^{-5}$  (3),  $1 \cdot 10^{-4}$  (4),  $2 \cdot 10^{-4}$  (5),  $3 \cdot 10^{-4}$  (6),  $5 \cdot 10^{-4}$  (7), pH 1.8,  $t = 10$  хв,  $l = 1$  см; б)  $C(18\text{-МФК}) = 2 \cdot 10^{-4}$  моль/л,  $C(\text{Bi(III)}) = 4 \cdot 10^{-4}$  моль/л,  $C(\text{АК}) = 2 \cdot 10^{-5}$  моль/л,  $C(\text{Цис})$ , моль/л: 0 (1),  $8 \cdot 10^{-6}$  (2),  $2 \cdot 10^{-5}$  (3),  $4 \cdot 10^{-5}$  (4),  $8 \cdot 10^{-5}$  (5),  $1 \cdot 10^{-4}$  (6), pH 1.8,  $t = 10$  хв,  $l = 3$  см

**Методика побудування градувального графіку для визначення АК.** У визначених оптимальних умовах було побудовано градувальну залежність для визначення АК. У мірну колбу на 25 мл відбирали 2 мл розчину змішаного реагенту, додавали приблизно 15 мл дистильованої води. Після чого створювали необхідну кислотність середовища (pH 1.8), підкислюючи розчин 0.5 мл 1 моль/л сульфатної кислоти. До отриманого розчину додавали аліквоти  $1 \cdot 10^{-3}$  моль/л розчину АК, перемішували та доводили об'єм дистильованою водою до 25 мл. Отримані розчини витримували протягом 5 хв та реєстрували світлопоглинання ГПС при довжині хвилі 720 нм.

Градувальний графік для визначення АК описується наступним рівнянням:  $A = 0,3597 \times C_{\text{АК}} - 0,0441$  ( $R^2 = 0,9975$ ) та є лінійним у діапазоні концентрацій  $2,5 \cdot 10^{-6}$  –  $2,5 \cdot 10^{-5}$  моль/л з межею виявлення  $8 \cdot 10^{-7}$  моль/л.

Було проаналізовано модельні суміші з різними концентраційними співвідношеннями АК та Цис. Результати наведені в таблиці. Відносне стандартне відхилення

змінювалося в діапазоні від 1.3 % до 3.2 %, збільшуючись до 6–7 % при несприятливих співвідношеннях Цис до АК. Похибка адитивності АК і Цис в суміші складала 1 % або і менше.

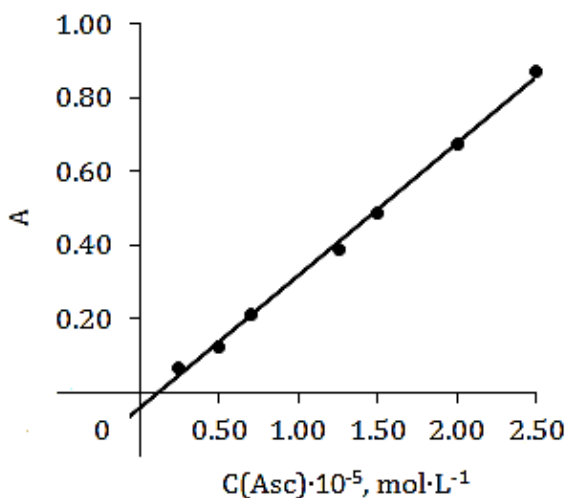


Fig. 5. Calibration graph for determination of Asc.  $C(18\text{-MPC}) = 2 \cdot 10^{-4} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ ,  $C(\text{Bi(III)}) = 4 \cdot 10^{-4} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ ,  $\lambda = 720 \text{ nm}$ ,  $l = 5 \text{ cm}$ ,  $\text{pH } 1.8$ ,  $t = 5 \text{ min}$

Рис. 5. Градувальний графік для визначення АК.  $C(18\text{-МФК}) = 2 \cdot 10^{-4} \text{ моль/л}$ ,  $C(\text{Ві(III)}) = 4 \cdot 10^{-4} \text{ моль/л}$ ,  $\lambda = 720 \text{ нм}$ ,  $l = 5 \text{ см}$ ,  $\text{pH } 1.8$ ,  $t = 5 \text{ хв}$

#### Spectrophotometric determination of Asc and Cys in model mixtures (n = 5, P = 0.95)

Table

#### Спектрофотометричне визначення АК та Цис в модельних сумішах (n = 5, P = 0.95)

Таблиця

C(Asc) · 10 <sup>2</sup> , mol · L <sup>-1</sup>			C(Cys) · 10 <sup>2</sup> , mol · L <sup>-1</sup>		
Added	Found	%	Added	Found	%
2.86	2.77	96.8	5.7	5.86	102.7
2.86	2.79	97.5	11.4	11.2	98.0
1.43	1.49	104.5	1.56	1.58	101.3

#### Висновки

Зміщення інтервалу pH у кислу область та введення іонів бісмуту (III) дозволяє знайти умови, в яких реакція АК з 18-МФК відбувається селективно по відношенню до Цис. Великі концентрації Цис призводять до негативної систематичної похибки при визначенні АК внаслідок взаємодії Цис з Ві(III). Оптимальним є інтервал pH від 1.8 до 2.2, в якому швидкість реакції АК з 18-МФК є достатньо великою, а Цис реагує дуже повільно. Розробленим методом можна визначати і Цис. У першу чергу визначають суму концентрацій АК та Цис при pH 5.0 з 18-МФК. Після цього вміст Цис розраховують за різницею. Аналогічний підхід є перспективним для визначення АК і катехоламінів (метилдопа, епінефрин) у

сумішах. Оскільки в цьому випадку взаємодія аналітів з бісмутом відсутня, можна передбачити, що визначення АК є можливим у присутності будь-яких надлишків цих речовин.

#### Бібліографічні посилання

- [1] Novakova L. HPLC methods for simultaneous determination of ascorbic and dehydroascorbic acids / L. Novakova, P. Solich, S. Solichova // Trends Anal. Chem. – 2008. – Vol. 27, N 10. – P. 942–958.
- [2] Spinola V. Determination of vitamin C in foods: Current state of method validation / V. Spinola, E. J. Llorent-Martinez, P. C. Castillo // J. Chromatogr. A. – 2014. – Vol. 1369. – P. 2–17.
- [3] Pisoschi A. M. Determination of ascorbic acid content of some fruit juices and wine by voltammetry performed at Pt and carbon paste electrodes / A. M. Pisoschi, A. Pop, G. P. Negulescu [et al.] // Molecules. – 2011. – Vol. 16. – P. 1349–1365.

- [4] Yebra-Biurrun M. C. Flow injection determination methods of ascorbic acid / M. C. Yebra-Biurrun // *Talanta*. – 2000. – Vol. 52. – P. 367–383.
- [5] 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.
- [6] Arya S. P. Photometric methods for the determination of vitamin C / S. P. Arya, M. Mahajan, P. Jain // *Anal. Sci.* – 1998. – Vol. 14. – P. 889–895.
- [7] 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. – P. 2847–2855.
- [8] Ghasemi J. Simultaneous kinetic spectrophotometric determination of ascorbic acid and L-cysteine by H-point standard addition method / J. Ghasemi, S. Seifi, M. Sharifi, [et al.] // *Microchim. Acta*. – 2004. – Vol. 148. – P. 259–265.
- [9] Vishnikin A. Use of sequential injection analysis with lab-at-valve and optical probe for simultaneous spectrophotometric determination of ascorbic acid and cysteine by mean centering of ratio kinetic profiles / A. Vishnikin, Y. Miekh, T. Denisenko [et al.] // *Talanta*. – 2018. – Vol. 188, N. 1. – P. 99–106.
- [10] Vishnikin A. B. 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, N. 1–3. – P. 514–527.
- [11] Vishnikin A. B. 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.
- [12] Bulatov A. V. Stepwise injection spectrophotometric determination of epinephrine / A. V. Bulatov, A. V. Petrova, A. B. Vishnikin, [et al.] // *Talanta*. – 2012. – Vol. 96. – P. 62–67.
- [13] Bulatov A. V. Stepwise injection spectrophotometric determination of cysteine in biologically active supplements and fodders / A. V. Bulatov, A. V. Petrova, A. B. Vishnikin, [et al.] // *Microchem. J.* – 2013. – N. 110. – P. 369–373.
- [14] Петрушина Г. А. Одновременное определение аскорбиновой кислоты и нитрит-ионов в мясных изделиях / Г. А. Петрушина, Л. П. Цыганок, А. Б. Вишникин, [та ін.] // *Методы и объекты химического анализа*. – 2012. – Т. 7, № 1. – С. 45–51.
- [15] Al-Shwaiyat M. K. E. A. Simultaneous determination of rutin and ascorbic acid in a sequential injection lab-at-valve system / M. K. E. A. Al-Shwaiyat, Y. V. Miekh, T. A. Denisenko, [et al.] // *J. Pharm. Biomed. Anal.* – 2018. – Vol. 149. – P. 179–184.
- [16] Al-Shwaiyat M. K. E. A. Spectrophotometric determination of polyphenols in green teas with 18-molybdodiphosphate / M. Al-Shwaiyat, T. Denisenko, Y. Miekh, [et al.] // *Chem. Chem. Technol.* – 2018. – Vol. 12, N 2. – P. 135–142.
- [17] Teshima N. Simultaneous flow injection determination of ascorbic acid and cysteine using double flow cell / N. Teshima, T. Nobuta, T. Sakai // *Anal. Chim. Acta*. – 2001. – Vol. 438. – P. 21–29.
- [18] Rezaei B. Flow-injection determination of ascorbic acid and cysteine simultaneously with spectrofluorimetric detection / B. Rezaei, A. A. Ensafi, S. Noroozi // *Anal. Sci.* – 2005. – Vol. 21. – P. 1067–1071.
- [19] Flow-injection simultaneous chemiluminescence determination of ascorbic acid and L-cysteine with partial least squares calibration / B. Li, D. Wang, C. Xu, Z. Zhang // *Microchim. Acta*. – 2005. – Vol. 149. – P. 205–212.
- [20] Yao X. Simultaneous determination of aminothiols, ascorbic acid and uric acid in biological samples by capillary electrophoresis with electrochemical detection / X. Yao, Y. Wang, G. Chen // *Biomed. Chromatogr.* – 2007. – Vol. 21. – P. 520–526.
- [21] Khan M. I. Simultaneous determination of ascorbic acid, aminothiols, and methionine in biological matrices using ion-pairing RP-HPLC coupled with electrochemical detector / M. I. Khan, Z. Iqbal // *J. Chromatogr. B* – 2011. – Vol. 879. – P. 2567–2575.
- [22] Ghasemi J. Differential kinetic spectrophotometric determinations of ascorbic acid and l-cysteine by partial least squares method / J. Ghasemi, H. R. Seraji, M. Noroozi [et al.] // *Anal. Lett.* – 2004. – Vol. 37. – P. 725–737.
- [23] Петрушина Г. О. Спектрофотометричне визначення аскорбінової кислоти з використанням бісмутовмісного 18-молібдодифосфату / Г. О. Петрушина, Ю. В. Мех, Л. П. Цыганок, [та ін.] // *Вісник ДНУ. Серія Хімія*. – 2014. – Вип. 22, № 1. – С. 36–44.
- [24] Vishnikin A. B. 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, N 5. – P. 1838–1845.

## References

- [1] Novakova, L., Solich, P., Solichova, S. (2008). HPLC methods for simultaneous determination of ascorbic and dehydroascorbic acids. *Trends Anal. Chem.* 27(10), 942–958. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2008.08.006>
- [2] Spinola, V., Llorent-Martinez, E. J., Castillo, P. C. (2014). Determination of vitamin C in foods: Current state of method validation. *J. Chromatogr. A.*, 1369, 2–17. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2014.09.087>
- [3] Pisoschi, A., Pop, M. A., Negulescu, G. P., Pisoschi, A. (2011). Determination of ascorbic acid content of some fruit juices and wine by voltammetry performed at Pt and carbon paste electrodes. *Molecules*, 16, 1349–1365. <https://doi.org/10.3390/molecules16021349>
- [4] Yebra-Biurrun, M. C. (2000). Flow injection determination methods of ascorbic acid. *Talanta*, 52, 367–383. [https://doi.org/10.1016/S0039-9140\(00\)00402-1](https://doi.org/10.1016/S0039-9140(00)00402-1)
- [5] Zaporozhets, O. A., Krushinskaya, E. A. (1998). Determination of ascorbic acid by molecular spectroscopic techniques. *J. Anal. Chem.*, 57(4), 286–297. <https://doi.org/10.1023/A:101493801195>
- [6] Arya, S. P., Mahajan, M., Jain, P. (1998). Photometric methods for the determination of vitamin C. *Anal. Sci.*, 14, 889–895. <https://doi.org/10.2116/analsci.14.889>
- [7] Ammam, M., Easton, E. B. (2011). 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*, 56, 2847–2855. <https://doi.org/10.1016/j.electacta.2010.12.072>
- [8] Ghasemi, J., Seifi, S., Sharifi, M., Ghorbani, R., Amini, A. (2004). Simultaneous kinetic spectrophotometric

- determination of ascorbic acid and L -cysteine by H-point standard addition method. *Microchim. Acta*, 148, 259–265. <https://doi.org/10.1007/s00604-004-0270-y>
- [9] Vishnikin, A., Miekh, Yu., Denisenko, T., Bazel, Ya., Andruch, V. (2018). Use of sequential injection analysis with lab-at-valve and optical probe for simultaneous spectrophotometric determination of ascorbic acid and cysteine by mean centering of ratio kinetic profiles. *Talanta*, 188(1), 99–106. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2018.05.056>
- [10] Vishnikin, A. B., Sklenářová, H., Solich, P., Petrushina, G. A., Tsiganok, L. P. (2011). Determination of ascorbic acid with Wells-Dawson type molybdophosphate in sequential injection system. *Anal. Lett.*, 44(1–3), 514–527. <https://doi.org/10.1080/00032719.2010.500789>
- [11] Vishnikin, A. B., Al-Shwaiyat, M. K. E. A., Petrushina, G. A., Tsiganok, L. P., Andruch, V., Bazel, Ya. R., Sklenarova, H., Solich, P. (2012). Highly sensitive sequential injection determination of p-aminophenol in paracetamol formulations with 18-molybdodiphosphate heteropoly anion based on elimination of Schlieren effect. *Talanta*, 96, 230–235. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2012.02.049>
- [12] Bulatov, A. V., Petrova, A. V., Vishnikin, A. B., Moskvina, A. L., Moskvina, L. N. (2012). Stepwise injection spectrophotometric determination of epinephrine. *Talanta*, 96, 62–67. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2012.03.059>
- [13] Bulatov, A. V., Petrova, A. V., Vishnikin, A. B., Moskvina, L. N. (2013). Stepwise injection spectrophotometric determination of cysteine in biologically active supplements and fodders. *Microchem. J.*, 110, 369–373. <https://doi.org/10.1016/j.microc.2013.04.020>
- [14] Petrushina, G. A., Tsiganok, L. P., Vishnikin, A. B., Bazel, Ya. R. (2012). [Simultaneous determination of ascorbic acid and nitrite in meat products]. *Methods Objects Chem. Anal.*, 7(1), 45–51 (in Russian).
- [15] Al-Shwaiyat, M. K. E. A., Miekh, Y. V., Denisenko, T. A., Vishnikin, A. B., Andruch, V., Bazel, Ya. R. (2018). Simultaneous determination of rutin and ascorbic acid in a sequential injection lab-at-valve system. *J. Pharm. Biomed. Anal.*, 149, 179–184. <https://doi.org/10.1016/j.jpba.2017.11.006>
- [16] Al-Shwaiyat, M. K. E. A., Denisenko, T., Miekh, Y., Vishnikin, A. (2018). Spectrophotometric determination of polyphenols in green teas with 18-molybdodiphosphate. *Chem. Chem. Technol.*, 12(2), 135–142. <https://doi.org/10.23939/chcht12.02.135>
- [17] Teshima, N., Nobuta, T., Sakai, T. (2001). Simultaneous flow injection determination of ascorbic acid and cysteine using double flow cell. *Anal. Chim. Acta*, 438, 21–29. [https://doi.org/10.1016/S0003-2670\(00\)01366-0](https://doi.org/10.1016/S0003-2670(00)01366-0)
- [18] Rezaei, B., Ensafi, A. A., Noroozi, S. (2005). Flow-injection determination of ascorbic acid and cysteine simultaneously with spectrofluorimetric detection. *Anal. Sci.*, 21, 1067–1071. <https://doi.org/10.2116/analsci.21.1067>
- [19] Li, B., Wang, D., Xu, C., Zhang, Z. (2005). Flow-injection simultaneous chemiluminescence determination of ascorbic acid and L-cysteine with partial least squares calibration. *Microchim. Acta*, 149, 205–212. <https://doi.org/10.1007/s00604-005-0325-8>
- [20] Yao, X., Wang, Y., Chen, G. (2007). Simultaneous determination of aminothiols, ascorbic acid and uric acid in biological samples by capillary electrophoresis with electrochemical detection. *Biomed. Chromatogr.* 21, 520–526. <https://doi.org/10.1002/bmc.787>
- [21] Khan, M. I., Iqbal, Z. (2011). Simultaneous determination of ascorbic acid, aminothiols, and methionine in biological matrices using ion-pairing RP-HPLC coupled with electrochemical detector. *J. Chromatogr. B*, 879, 2567–2575. <https://doi.org/10.1016/j.jchromb.2011.07.013>
- [22] Ghasemi, J., Seraji, H.R., Noroozi, M., Hashemi, M., Jabbari, A. (2004). Differential kinetic spectrophotometric determinations of ascorbic acid and l-cysteine by partial least squares method. *Anal. Lett.* 37, 725–737. <https://doi.org/10.1081/AL-120029748>
- [23] Petrushina, G. A. (2014). [Spectrophotometric determination of ascorbic acid by using bismuth containing 18-molybdodiphosphate]. *Bull. Dnipropetrovsk Univ. Ser. Chem.*, 22(1), 36–44 (in Ukrainian). <http://chemistry.dnu.dp.ua/article/view/081405>
- [24] Vishnikin, A. B., Svinarenko, T. Ye., Sklenářová, H., Solich, P., Bazel, Ya. R., Andruch, V. (2010). 11-Molybdobismuthophosphate - a new reagent for the determination of ascorbic acid in batch and sequential injection systems. *Talanta*, 80(5), 1838–1845. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2009.10.031>