

УДК 543.422.3

Т. А. Денисенко, А. Б. Вишникін, Л. П. ЦыганокДнепропетровский национальный университет имени Олеся Гончара, 49010
г. Днепропетровск, пр. Гагарина 72; danil_denisenko@mail.ru**СПЕКТРОФОТОМЕТРИЧЕСКОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ
РУТИНА И АСКОРБИНОВОЙ КИСЛОТЫ ПРИ
СОВМЕСТНОМ ПРИСУТСТВИИ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ
18-МОЛИБДОДИФОСФОРНОГО ГЕТЕРОПОЛИКОМПЛЕКСА**

Разработана методика одновременного спектрофотометрического определения рутина и аскорбиновой кислоты, которая основывается на зависимости скорости их реакции с 18-молибдодифосфорным гетерополикомплексом (18-МФК) от pH. При pH 4,5 18-МФК избирательно реагирует только с аскорбиновой кислотой (АК), в то время как при pH 7,4 оба вещества количественно окисляются 18-МФК. Обнаружено, что линейность градуировочной функции можно существенно улучшить, если измерять не в максимуме поглощения гетерополисини (ГПС), а при длине волны 900 нм, соответствующей изобестической точке в спектрах одно- и двухэлектронной ГПС. Интервал линейности при определении рутина составил $1 \times 10^{-6} - 4 \times 10^{-5}$ моль/л; предел обнаружения – 3×10^{-7} моль/л ($l = 1$ см), а для АК $2 \times 10^{-6} - 8 \times 10^{-5}$ моль/л и 6×10^{-7} моль/л ($l = 1$ см), соответственно. Определение рутина возможно в присутствии 20-кратного избытка АК. Методика была успешно апробирована для определения рутина и АК в искусственных смесях и таблетках «Аскорутин».

Ключевые слова: 18-молибдодифосфорный гетерополикомплекс, аскорбиновая кислота, рутин, спектрофотометрия.

Полифенолы представляют собой группу соединений, широко распространенных в природе. Они являются важнейшей составной частью овощей, фруктов и других растений. Среди природных полифенольных соединений в составе растений часто преобладают флавоноиды. Типичным представителем флавоноидов является рутин, который входит в состав мультивитаминов, биологически активных добавок и некоторых лекарственных препаратов [1]. Рутин принадлежит к группе биофлавоноидов и вместе с аскорбиновой кислотой (АК) принимает участие в окислительно-восстановительных процессах и проявляет антиоксидантные свойства.

Рутин количественно определяют с использованием различных аналитических методов, таких как титриметрия, вольтамперометрия, люминесценция, высокоэффективная жидкостная хроматография, капиллярный электрофорез, спектрофотометрия. Спектрофотометрические методики не требуют сложного и дорогостоящего оборудования, они просты в исполнении и при этом дают достаточно точные, хорошо воспроизводимые результаты. На практике используют методики, основанные на собственном поглощении рутина в ближней ультрафиолетовой области, образовании комплексов рутина с ионами металлов (Pb^{2+} , Al^{3+} , Fe^{3+} и др.), реакциях диазотирования с p-аминобензойной, сульфаниловой кислотой, p-нитро-2-нитроанилином и др.

Наиболее широко используемой является методика, основанная на реакции окисления полифенолов в щелочной среде (pH 11,4) гетерополикомплексом структуры Доусона – реактивом Фолина-Чокальтеу [2]. Одним из недостатков этого

реагента является его неизбирательное действие по отношению к большому числу восстановителей, обладающих более сильными, чем фенолы, восстановительными свойствами, такими как АК.

В настоящей работе для определения фенольных соединений предложен 18-молибдодифосфатный гетерополикомплекс структуры Доусона (18-МФК). Этот комплекс широко используют в катализе, например при синтезе органических веществ [3]. Окислительно-восстановительный потенциал 18-МФК является одним из наиболее высоких среди известных молибденовых ГПК. В работах [4 – 9] предложены простые, экспрессные, высокочувствительные методики с 18-МФК для определения аскорбиновой кислоты, *p*-аминофенола, эпинефрина, анальгина, цистеина и др.

Основная цель работы заключалась в изучении особенностей протекания реакции восстановления 18-МФК с аскорбиновой кислотой и рутином, и разработке простой и высокочувствительной спектрофотометрической методики определения АК и рутина при совместном присутствии с использованием одного реагента.

Материалы и методы исследований

Использовали следующие реактивы: NaOH «ч.д.а.», H₂SO₄ «ос.ч.», Na₂CO₃ «ч.д.а.», NaHCO₃ «ч.д.а.», ледяную уксусную кислоту «х.ч.», CH₃COONa «ч.д.а.», AlCl₃ «ч.д.а.», рутин «ч.д.а.», аскорбиновую кислоту «х.ч.», 96% этиловый спирт, 2,6-дихлорфенолиндофенолят натрия «х.ч.», метафосфорную кислоту. Использовали фосфатный буферный раствор с pH 7,4 и 1 моль/л ацетатный буферный раствор с pH 4,5.

Аммонийную соль 18-МФК (NH₄)₆P₂Mo₁₈O₆₂·14H₂O синтезировали по методике [4]. Водный раствор 5·10⁻³ моль/л 18-МФК готовили растворением 390 мг соли в 25 мл дистиллированной воды, подкисленной до pH 2-3. Исходные растворы рутина готовили растворением навески 70 мг в 10 мл 96% этилового спирта при нагревании на водяной бане (40–50 °С). АК готовили растворением навески в дистиллированной прокипяченной подкисленной воде (для замедления процесса окисления АК кислородом). Готовый раствор хранили не более суток.

В качестве объектов анализа использовали лекарственные препараты «Аскорутин» (Борщаговский ХФЗ) и «Ascorutin tablet» (Slovak republic).

Спектры поглощения в УФ и видимой областях измеряли при помощи спектрофотометра СФ–26. pH измеряли на иономере ЭВ-74 с использованием индикаторного стеклянного электрода и хлорид-серебряного электрода сравнения.

Определение рутина с использованием 18-МФК. В мерную колбу объемом 25 мл вносили аликвоту исследуемого раствора, которая содержит от 15 до 600 мкг рутина, 0,8 мл 5·10⁻³ моль/л 18-МФК, 5 мл фосфатного буферного раствора (pH 7,4), доводили объем дистиллированной водой до метки. Измеряли оптическую плотность через 10 мин при λ = 900 нм. Оптическая плотность при определении содержания АК и рутина в смеси, измеренная при pH 7,4, соответствует вкладу обоих веществ.

Определение АК с использованием 18-МФК проводили так же, при этом аликвота исследуемого раствора может содержать от 8 до 320 мкг АК, а для создания необходимой кислотности раствора использовали 1 мл ацетатного буферного раствора с pH 4,5.

Результаты исследований и их обсуждение

Реакция 18-МФК с рутином, как и с другими полифенолами, в области оптимальных значений pH сопровождается появлением интенсивно-синей окраски раствора, свойственной гетерополисиям (ГПС). В избытке реагента продуктом реакции является двухэлектронная ГПС формулы $P_2Mo_{16}^{VI}Mo_2^{VO}O_{62}^{8-}$ (18-МФС-2). При $pH > 5$ в растворе образуется депротонированная форма ГПС, в спектре поглощения которой преобладает полоса поглощения с максимумом при 820 нм [6].

Скорость окисления рутина 18-МФК зависит от кислотности раствора и концентрации реагента. При концентрации 18-МФК $1,6 \times 10^{-4}$ моль/л окраска раствора развивается в течение 10 минут, а затем остаётся постоянной длительное время. Воспроизводимость результатов определения в этих условиях – 2-3%, что вполне достаточно для обычных аналитических приложений.

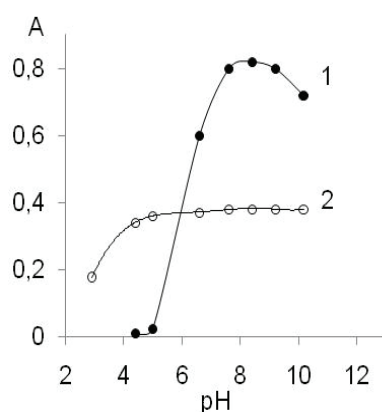


Рис. 1 Влияние pH раствора на оптическую плотность раствора при восстановлении 18-МФК ($C_{18-МФК} = 5 \cdot 10^{-5}$ моль/л) рутином (1) и АК (2), $\lambda = 820$ нм, $l = 2$ см, $\tau = 15$ мин.
(1) – $C_{рутин} = 1,5 \cdot 10^{-5}$ моль/л, (2) – $C_{АК} = 1,5 \cdot 10^{-5}$ моль/л.

Основным фактором, определяющим характер взаимодействия 18-МФК и рутина, является кислотность раствора. Образование окрашенных продуктов становится заметным при pH выше 5,5 (рис. 1). Оптимальный интервал pH количественного образования ГПС 7-9. В более щелочной среде синь и исходный желтый ГПА частично разрушаются. В качестве рабочего нами было выбрано pH 7,4, при котором гарантируется полнота окисления рутина и других флавоноидов, а также реакция является более селективной.

Точка перегиба на кривой молярных отношений при насыщении 18-МФК рутином соответствует соотношению рутин: 18-МФК = 1:2. Молярный коэффициент поглощения, рассчитанный из оптической плотности ГПС, в пересчете на рутин составил $2,4 \times 10^4$ моль $^{-1}$ ×л×см $^{-1}$. Отношение молярных коэффициентов поглощения рутина и 18-МФС-2 ($1,18 \times 10^4$ моль $^{-1}$ ×л×см $^{-1}$) свидетельствует об участии примерно 2 моль 18-МФК в окислении 1 моля рутина. Формально указанное соотношение соответствует окислению четырёх ОН групп в структуре рутина, на самом деле механизм окисления может быть намного более сложным.

В этой работе нами впервые замечено, что градуировочные зависимости, получаемые для рутина, АК (рис. 2) или других восстановителей при использовании в качестве аналитической длины волны, соответствующей максимуму поглощения ГПС, являются нелинейными с отрицательной кривизной. Это приводит к тому, что градуировочный график пересекает ось ординат в области отрицательных значений, а условный молярный коэффициент поглощения, рассчитанный для каждой точки, растет с увеличением концентрации аналита. Как пример, градуировочная кривая для определения АК при аппроксимации уравнением прямой линии описывается следующим уравнением $A = (-0,09 \pm 0,03) + (1,02 \pm 0,04) \times 10^4 \times C_{\text{АК}}$, коэффициент корреляции $R^2 = 0,9884$.

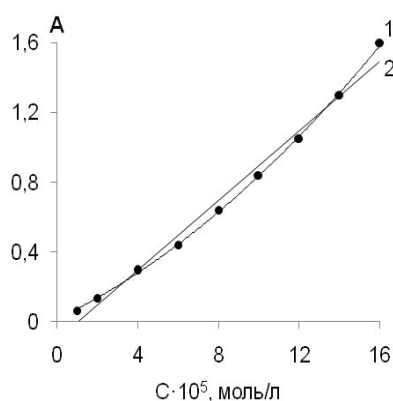
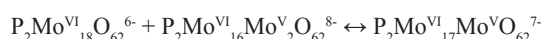


Рис. 2. Градуировочный график для определения АК с использованием 18-МФК (1) и его аппроксимация прямолинейной зависимостью (2). рН = 7,4; $\lambda = 820$ нм; $l = 1$ см; $C_{18\text{-МФК}} = 1,6 \times 10^{-4}$ моль/л

Тем самым в определяемую концентрацию вносится каждый раз систематическая погрешность. Особенно сильно это явление сказывается на точности результатов при анализе смеси двух восстановителей. При вычислении концентрации рутина в смеси с АК необходимо проводить вычитание двух близких оптических плотностей, что значительно увеличивает погрешность определения даже при соотношении АК : рутин = 2:1.

Для наглядности изменений в спектрах и обнаружения изобестической точки, спектры были приведены к одной концентрации ГПС ($2 \cdot 10^{-5}$ моль/л). Анализ спектров поглощения ГПС, полученных при разных соотношениях рутина (рис. 3а) или АК (рис. 3б) к 18-МФК, показал, что при высоких соотношениях 18-МФК к аналиту в спектре ГПС уменьшается интенсивность поглощения при 820 нм и появляется новая полоса в длинноволновой области, проявляющаяся в виде плеча, а при 900 нм наблюдается изобестическая точка.

Таким образом, можно предположить, что при увеличении соотношения окисленной формы 18-МФК и продукта взаимодействия 18-МФК с восстановителем — двухэлектронной ГПС — равновесие смещается в сторону одноэлектронной ГПС, согласно схеме



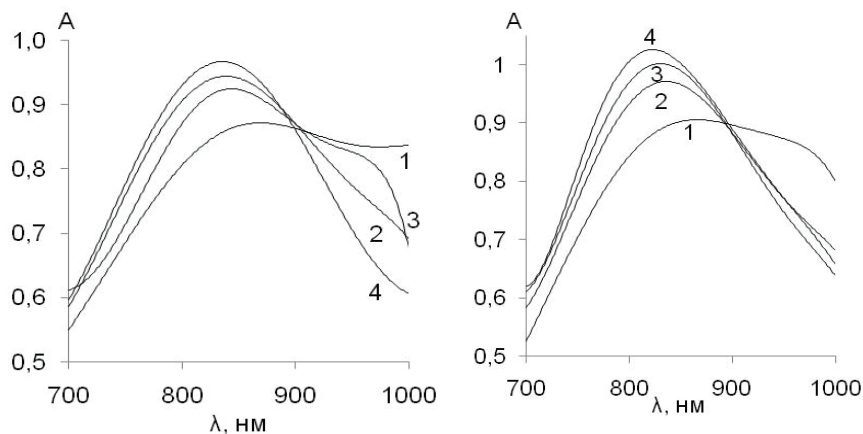


Рис. 3. Спектры поглощения гетерополисиней, полученных при восстановлении 18-МФК рутином (а) или АК (б), приведенные к одной концентрации ГПС ($C_{18\text{-МФК}} = 1,6 \cdot 10^{-4}$ моль/л; рН = 7,4; $l = 1$ см). (а) – $C_{\text{рутина}}$, мкмоль/л: 2 (1); 8 (2); 12 (3); 20 (4); (б) – $C_{\text{АК}}$, мкмоль/л: 8 (1); 24 (2); 40 (3); 80 (4).

В последующих экспериментах градуировочные графики для определения АК и рутина были построены для длины волны 900 нм, соответствующей изобестиической точке (рис. 4). Градуировочный график для определения рутина линейен в интервале концентраций $1 \times 10^{-6} - 4 \times 10^{-5}$ моль/л и описывается уравнением $A = (0,006 \pm 0,018) + (2,13 \pm 0,08) \times 10^4 \times C_{\text{рутина}}$ ($R^2 = 0,9984$), при этом предел обнаружения составляет 3×10^{-7} моль/л ($l = 1$ см). Для АК при рН 7,4 градуировочная функции линейна в интервале концентраций $2 \times 10^{-6} - 8 \times 10^{-5}$ моль/л, а её уравнение $A = (0,003 \pm 0,013) + (9,94 \pm 0,3) \times 10^3 \times C_{\text{АК}}$ ($R^2 = 0,9989$), предел обнаружения составляет 6×10^{-7} моль/л ($l = 1$ см). При рН 4,5 уравнение градуировочного графика имеет вид $A = (0,003 \pm 0,017) + (1,05 \pm 0,09) \times 10^4 \times C_{\text{АК}}$ ($R^2 = 0,9961$).

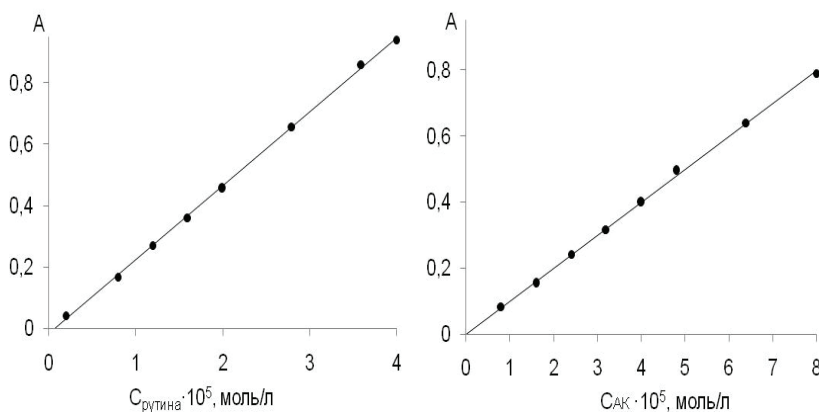


Рис. 4 Градуировочные графики для определения рутина (а) и АК (б) с использованием 18-МФК. $C_{18\text{-МФК}} = 1,6 \cdot 10^{-4}$ моль/л; $l = 1$ см; $\lambda = 900$ нм; рН = 7,4

Рутин в лекарственных препаратах часто находится вместе с АК, что обуславливает необходимость разработки методики их определения при совместном присутствии. Предлагаемая нами методика была апробирована при одновременном определении содержания рутина и АК в искусственных смесях и реальных объектах.

АК определяли в среде ацетатного буферного раствора с рН 4,5. В этих условиях АК взаимодействует с 18-МФК избирательно. Измеренная оптическая плотность при рН 7,4 отвечает сумме АК и рутина. Оба вещества реагируют при этом с 18-МФК количественно. Градуировочные графики, построенные для АК при рН 4,5 и 7,4, отличаются лишь немного, но для получения более точных результатов пересчитывали оптическую плотность АК, полученную при рН 4,5 на рН 7,4 и вычитали ее из суммарной оптической плотности. Таким образом, рутин определяли по разнице светопоглощения растворов двух опытов.

Поскольку содержание АК в таблетках аскорутина может быть существенно выше, чем рутин, было оценено влияние соотношения АК и рутина в искусственных смесях на точность определения рутина (табл. 1). Вплоть до 8-кратного избытка АК воспроизводимость результатов высока и относительное стандартное отклонение не превышает 3%. Далее величина случайной погрешности заметно растет и выше 20-кратного молярного избытка АК по отношению к рутину определение становится невозможным.

Таблица 1.
Результаты оценки правильности и воспроизводимости определения АК и рутина в искусственных смесях. $P = 0,95$, $n = 6$.

Введено рутин, мкмоль/л	Введено АК, мкмоль/л	Найдено рутин, мкмоль/л (S_r)	Найдено АК, мкмоль/л (S_a)
20	20	20,22±0,32 (0,015)	19,5±0,6 (0,027)
10	20	9,89±0,36 (0,035)	20,36±0,21 (0,010)
10	40	9,58±0,20 (0,020)	40,4±0,6 (0,014)
7,5	60	7,33±0,20 (0,026)	61,4±0,9 (0,014)
10	80	9,8±0,5 (0,048)	81,7±1,6 (0,019)
3,5	60	3,62±0,34 (0,09)	60,9±1,5 (0,024)

При анализе реальных образцов аскорутина предлагаемой методикой было показано отсутствие систематической погрешности в результатах определения. Во-первых, содержание рутина и АК значимо не отличалось от результатов анализа, полученных стандартными методиками, а, во-вторых, содержание рутина и АК, указанное производителями, во всех случаях попадало в доверительный интервал найденных содержаний. Все методики характеризуются высокой воспроизводимостью (1-3 %).

Таблица 2

Результаты определения АК и рутина в таблетках «Аскорутин» предложенной и стандартными методиками (мг/таблетка $\pm \Delta$, n = 5, P = 95%).

Определяемое вещество	Значение, указанное производителем, мг / табл.	Найдено предлагаемой методикой, мг / табл.	Найдено стандартной методикой, мг / табл.
Zentiva, Чехия, 0,23 г			
Аскорбиновая кислота	100	101,1 \pm 2,2	101,4 \pm 1,5 ^a
Рутин	20	21,4 \pm 1,2	20,7 \pm 0,4 ^b
Борщаговский ХФЗ, Украина, 0,33 г			
Аскорбиновая кислота	50	48,9 \pm 1,2	50,3 \pm 0,7 ^a
Рутин	50	49,5 \pm 1,5	49,4 \pm 1,2 ^b

^aОпределение с 2,6-дихлорфенолиндофенолом [10].

^bОпределение с AlCl₃[11].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Реакция 18-МФК с рутином и аскорбиновой кислотой может быть использована для их экспрессного, точного и высокочувствительного определения отдельно или в смесях. По сравнению с реактивом Фолина-Чокальтеу предложенная методика использует на 2 порядка меньшую концентрацию реактива, что делает ее отвечающей принципам «зеленой химии». Реакция проходит в мягких условиях, образование малорастворимых продуктов при использовании 18-МФК не отмечено. Использование 18-МФК позволяет дифференцировать группы веществ и отдельно определять при pH 4,5 более сильные восстановители, такие как аскорбиновая кислота или меркаптаны. Использование в качестве аналитической длины волны 900 нм, соответствующей изобестической точке в спектрах одно- и двухэлектронных ГПС, позволяет получать линейные градуировочные зависимости, расширить интервал определяемых концентраций и повысить воспроизводимость и правильность определения веществ, особенно при их совместном присутствии.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Комов В.П., Шведова В.Н.* Биохимия. М.: Дрофа, 2008. – 638 с.
2. *Blainski A., Lopes G.C., Palazzo de Mello J.C.P.* Application and Analysis of the Folin Ciocalteu Method for the Determination of the Total Phenolic Content from Limonium Brasiliense L // *Molecules*. – 2013. – Vol.18. – P. 6852-6865.
3. *Alman M., Easton E.B.* Selective determination of ascorbic acid with a novel hybrid material based 1-butyl-3-methylimidazolium tetrfluoroborate ionic liquid and the Dawson type ion [P₂Mo₁₈O₆₂]⁶⁻ immobilized on glassy carbon // *Electrochim. Acta*. – 2011. – Vol.56, №7. – P. 2847-2855].
4. *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.
5. *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 paminophenol in paracetamol formulations

- with 18-molybdodiphosphate heteropolyanion based one limitation of Schlieren effect. *Talanta*. – 2012. – Vol.96. – P. 230-235.
6. *Vishnikin A.B., Sklenařova H., Solich P., Petrushina G.A., Tsiganok L.P.* Determination of ascorbic acid with Wells-Dawson type molybdodiphosphate in sequential injection system // *Anal. Lett.* – 2011. – Vol. 44, №1–3. – P. 514-527.
 7. *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.
 8. *Al-Shwaiyat M.K.E.A., Vishnikin A.B., Tsiganok L.P., Kabashnaya E.V., Khmelovskaya S.A., Andrush V., Bazel Ya. R., Sklenařová H., Solich P.* Sequential injection spectrophotometric determination of analgine in pharmaceutical formulations using 18-molybdo-2-phosphate heteropolyanion as chromogenic reagent // *Visn. Dnipropetr. Univ.: Khim.* – 2013. – Vol.21, №19. – P. 7-19.
 9. *Al-Shwaiyat M.K.E.A., Denisenko T.A., Zaruba S.V., Vishnikin A.B., Tsiganok L.P., Andrush V., Bazel Ya.R.* Simultaneous determination of two active components of pharmaceutical preparations by sequential injection method using heteropoly complexes // *Visn. Dnipropetr. Univ.: Khim.* – 2014. – Vol.22, №1. – P. 23-29.
 10. *Леваишова 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.
 11. *Jurd L.* Aluminium complexes of phenolic flavones. Spectral and structural correlation // *Phytochemistry.* – 1969. – Vol.8. – P. 445-462.

Стаття надійшла до редакції 13.01.15

Т. О. Денисенко, А. Б. Вишнікін, Л. П. Цыганок

Дніпропетровський національний університет імені Олеся Гончара, 49010
м. Дніпропетровськ, пр. Гагаріна 72; danil_denisenko@mail.ru

СПЕКТРОФОТОМЕТРИЧНЕ ВИЗНАЧЕННЯ РУТИНУ ТА АСКОРБІНОВОЇ КИСЛОТИ ПРИ СПІЛЬНІЙ ПРИСУТНОСТІ З ВИКОРИСТАННЯМ 18-МОЛІБДОДИФОСФОРНОГО ГЕТЕРОПОЛІКОМПЛЕКСУ

Розроблена методика одночасного спектрофотометричного визначення рутину та аскорбінової кислоти, яка базується на залежності швидкості реакції з 18-молібдодифосфорним гетерополікомплексом (18-МФК) від рН. При рН 4,5 18-МФК вибірково реагує тільки з аскорбіновою кислотою (АК), у той же час при рН 7,4 ці дві речовини кількісно окислюють 18-МФК. Виявлено, що лінійність градувальної функції можливо суттєво покращити, якщо вимірювати не в максимумі поглинання гетерополісині (ГПС), а при довжині хвилі 900 нм, яка відповідає ізобестичній точці у спектрах одно- та двухелектронних ГПС. Інтервал лінійності при визначенні рутину склав $1 \times 10^{-6} - 4 \times 10^{-5}$ М; межа визначення – 6×10^{-7} М ($l = 1$ см), а для АК $1 \times 10^{-6} - 8 \times 10^{-5}$ М і 3×10^{-7} М ($l = 1$ см), відповідно. Визначення рутину можливо у присутності 20-кратного надлишку АК. Методика була успішно апробована для визначення рутину і АК у штучних сумішах і таблетках «Аскорутин».

Ключові слова: 18-молібдодифосфорний гетерополікомплекс, аскорбінова кислота, рутин, спектрофотометрія.

T. A. Denisenko, A. B. Vishnikin, L. P. Tsiganok

Chemical Faculty, Oles Gonchar Dnipropetrovsk National University, UKRAINE,
Dnipropetrovsk, Gagarina av. 72, E-mail: danil_denisenko@mail.ru

SPECTROPHOTOMETRIC DETERMINATION OF RUTIN AND ASCORBIC ACID CO-PRESENT WITH 18-MOLYBDODIPHOSPHATE HETEROPOLY COMPLEX

Method for the simultaneous spectrophotometric determination of rutin and ascorbic acid (Asc) was developed based on the dependence of their reaction rate with 18-molybdodiphosphate heteropoly complex (18-MPC) on solution pH. At pH 4.5, 18-MPC selectively reacts only with Asc while at pH 7.4 both substances are quantitatively reduced with 18-MPC. It was found that linearity of the calibration graph could be significantly improved on condition that measurements are conducted not at absorption maximum of heteropoly blue (HPB) but at the wavelength corresponding to the isobestic point in the spectra of one- and two-electron HPBs. Range of linearity at the rutin determination was from 1×10^{-6} to 4×10^{-5} M and detection limit was of 6×10^{-7} M ($l = 1$ cm) while these values were for Asc from 1×10^{-6} to 8×10^{-5} M and 3×10^{-7} M ($l = 1$ cm), respectively. Method was successively applied to the determination of rutin and Asc in standard solutions and tablets of «Ascorutin».

Keywords: 18-molybdodiphosphate heteropoly complex, rutin, ascorbic acid, spectrophotometric determination.

REFERENCES

1. Komov V.P., Shvedova V.N. Biochemistry. M: Bustard, 2008. – 638 c.
2. Blainski A., Lopes G.C., Palazzo de Mello J.C.P. Application and Analysis of the Folin Ciocalteu Method for the Determination of the Total Phenolic Content from Limonium Brasiliense L // *Molecules*. – 2013. – Vol.18. – P. 6852-6865.
3. Alman 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, №7. – P. 2847-2855].
4. 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.
5. 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 paminophenol in paracetamol formulations with 18-molybdodiphosphate heteropolyanion based one limination of Schlieren effect. *Talanta*. – 2012. – Vol.96. – P. 230-235.
6. 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, №1-3. – P. 514-527.
7. 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.
8. Al-Shwaiyat M. K. E. A., Vishnikin A. B., Tsiganok L.P., Kabashnaya E.V., Khmelovskaya S.A., Andruch V., Bazel Ya. R., Sklenařová H., Solich P. Sequential injection spectrophotometric determination of analgine in pharmaceutical formulations using 18-molybdo-2-phosphate heteropolyanion as chromogenic reagent // *Visn. Dnipropetr. Univ.: Khim.* – 2013. – Vol.21, №19. – P. 7-19.
9. Al-Shwaiyat M. K. E. A., Denisenko T.A., Zaruba S.V., Vishnikin A. B., Tsiganok L.P., Andruch V., Bazel Ya. R. Simultaneous determination of two active components of pharmaceutical preparations by sequential injection method using heteropoly complexes // *Visn. Dnipropetr. Univ.: Khim.* – 2014. – Vol.22, №1. – P. 23-29.
10. Levashova O.L., Kovalenko S.N. Especially the determination of ascorbic acid in vitamin-mineral complexes *Gesticare* // *Current issues of pharmaceutical and medical science and practice*. – 2011. – T. XXIV, № 2. – P. 26-29.
11. Jurd L. Aluminium complexes of phenolic flavones. Spectral and structural correlation // *Phytochemistry*. – 1969. – Vol.8. – P. 445-462.