

ОПРЕДЕЛЕНИЕ АСКОРБИНОВОЙ КИСЛОТЫ МЕТОДОМ СПЕКТРОФОТОМЕТРИЧЕСКОГО АНАЛИЗА

© Сулейманова Эльмира Исмаил гызы (а)

(а) Азербайджанский Государственный Университет Нефти и Промышленности, кандидат химических наук, старший преподаватель кафедры «Химия и технология неорганических веществ» suleymanova1944@mail.ru, Баку

Аннотация. Аскорбиновая кислота (витамин С) является водорастворимым витамином и необходим для роста и восстановления тканей во всех частях тела. Он помогает организму вырабатывать коллаген, важный белок, используемый для формирования кожи, хрящей, сухожилий, связок и кровеносных сосудов. Витамин С необходим для заживления ран, а также для восстановления и поддержания костей и зубов. Он также помогает организму усваивать железо из негемовых источников. Учитывая высокую биологическую ценность аскорбиновой кислоты, необходима разработка эффективных методов ее качественного и количественного определения, среди которых особо выделяется метод спектрофотометрического анализа.

Ключевые слова: аскорбиновая кислота, витамин С, спектрофотометрический анализ, аналитические реагенты, предел обнаружения.

DETERMINATION OF ASCORBIC ACID BY SPECTROPHOTOMETRIC METHOD

© Suleymanova Elmira Ismayil (a)

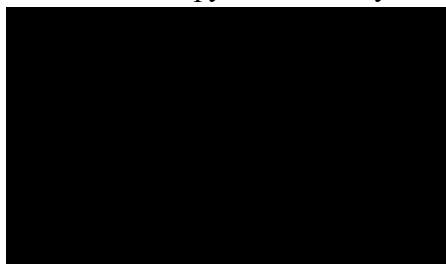
(a) Azerbaijan State University of Oil and Industry, candidate of chemical sciences, senior lecturer at the Department of «Chemistry and technology of inorganic compounds», suleymanova1944@mail.ru, Baku

Annotation. Ascorbic acid (vitamin C) is a water-soluble vitamin and is essential for the growth and repair of tissue in all parts of the body. It helps the body produce collagen, an important protein used to form skin, cartilage, tendons, ligaments and blood vessels. Vitamin C is essential for wound healing and for the repair and maintenance of bones and teeth. It also helps the body absorb iron from non-heme sources. Considering the high biological value of ascorbic acid, it is necessary to develop effective methods for its qualitative and quantitative determination, among which the method of spectrophotometric analysis stands out.

Key words: ascorbic acid, vitamin C, spectrophotometric analysis, analytical reagents, detection limit.

Аскорбиновая кислота (витамин С) представляет собой водорастворимый витамин, содержащийся в цитрусовых и других фруктах, ягодах и овощах. В качестве терапии его

используют для профилактики и лечения цинги — заболевания, вызванного дефицитом витамина С. Аскорбиновая кислота является важным питательным веществом, участвующим в восстановлении тканей, образовании коллагена и ферментативном производстве некоторых нейротрансмиттеров. Он необходим для функционирования нескольких ферментов и важен для функции иммунной системы. Он также действует как антиоксидант.



аскорбиновая кислота

Учитывая высокую фармакологическую ценность этой кислоты, необходима разработка новых эффективных методов ее качественного и количественного определения в биообъектах и других промышленных образцах.

Среди известных аналитических методов, используемых на практике для поредления аскорбиновой кислоты, наиболее целесообразным является метод спектрофотометрического анализа. В этой работе нами рассмотрены основные аналитические реагенты, используемые для определения витамина С в аналитической химии. Так, в работе [1] описан простой УФ-спектрофотометрический метод определения общего содержания витамина С (аскорбиновая кислота + дегидроаскорбиновая кислота) в различных фруктах и овощах в районе Койя в Курдистане. Спектрофотометрический метод заключается в окислении аскорбиновой кислоты до дегидроаскорбиновой кислоты бромной водой в присутствии уксусной кислоты. После сочетания с 2,4-динитрофенилгидразином при температуре 37°C в течение примерно трёх часов раствор обрабатывают 85%-ной H₂SO₄ с получением комплекса красного цвета. Затем оптическая плотность измерялась спектрофотометрически при длине волны 280 нм. Содержание витамина С составляло от 1,868 до 51,74 мг/10 г во фруктах и от 0,841 до 17,416 мг/10 г в овощах. Также обсуждаются стандартное отклонение и возможные мешающие факторы.

В работе [2] содержание аскорбиновой кислоты определяется в различных плодах с помощью УФ-спектроскопии. В этом методе добавляют бромную воду, которая окисляет аскорбиновую кислоту до дегидроаскорбиновой кислоты. 2,4-динитрофенилгидразин дает реакцию сочетания при 37°C в течение 3 часов. Через 3 часа раствор обрабатывают 85% H₂SO₄, что дает окрашенный комплекс, и измеряют поглощение при 491 нм. Максимальное содержание витамина С обнаружено в черной смородине, минимальное – в винограде.

Разработан новый, простой, чувствительный и селективный метод спектрофотометрического определения аскорбиновой кислоты (Asc) [3]. Разработанный метод основан на окислительно-восстановительной реакции между Asc и трийодид-ионами (I³⁻) и вихревой жидкостно-жидкостной микроэкстракции (VALLME) избытка I³⁻ в виде ионного ассоциата (IA) полиметиновым красителем Astra Phloxine FF (AP). с последующим определением IA спектрофотометрически при 560 нм. В присутствии Asc происходит изменение цвета экстракта IA. Изучено влияние различных факторов и найдены оптимальные условия спектрофотометрического определения Asc: 4,0·10⁻⁶ моль⁻¹ I³⁻, 4,0·10⁻⁴ моль⁻¹ KI, 4,0·10⁻⁵ моль⁻¹ AP, 500 мкл четыреххлористого углерода (соотношение объемов водной и органической фаз 10:1), встряхивание 15 с при 3000 об/мин и центрифугирование 2 мин

при 2000 об/мин. Определение Asc возможно в присутствии многих интерферантов: 20 000-кратных количеств винной, лимонной и яблочной кислот и 10 000-кратного количества щавелевой кислоты, более 2000-кратных количеств HCO_3^- , CH_3COO^- , HPO_4^{2-} , SO_4^{2-} , Cl^- , F^- , Na^+ , K^+ , Li^+ , Ca^{2+} , Sr^{2+} , Ni^{2+} , Co^{2+} и Zn^{2+} ; и 5-кратное количество Fe^{3+} и Cu^{2+} . Органические кислоты (щавелевая, винная, лимонная и яблочная) устраняют действие >100-кратных количеств Fe^{3+} и Cu^{2+} . Калибровочная кривая имела линейный характер в диапазоне 0,003–0,53 мг/л Asc ($R_2=0,997$); предел обнаружения ($n=10$, $P=0,95$) составил 0,89 мкг/л Asc, а предел определения ($n=10$, $P=0,95$) составил 2,94 мкг/л Asc. Предложенная методика успешно применена для определения Asc в образцах пищевых продуктов и модельных. Точность процедуры была подтверждена анализом эталонным методом.

Разработан простой, быстрый и надежный метод количественного определения аскорбиновой (АК) и дегидроаскорбиновой кислоты (ДНАА) кислот и валидирован в 20 мМ малатном буфере (рН 3,8) [4]. Он заключается в спектрофотометрическом измерении АК либо непосредственно в растворе с добавлением метафосфорной кислоты, либо после восстановления ДНАА в АК с помощью дитиотреитола. Этот метод был разработан с изменением реакций в реальном времени с учетом кинетики в объемных реакторах, и был проверен с точки зрения линейности, пределов обнаружения и количественной оценки, достоверности и точности. Линейность оказалась удовлетворительной в диапазоне 0–6,95 мМ при пределах обнаружения и количественного определения 0,236 мМ и 0,467 мМ соответственно. Метод был найден приемлемым с точки зрения верности и точности с коэффициентом вариации повторяемости и воспроизводимости ниже 6% для АК и ниже 15% для ДНАА, а диапазон восстановления 97-102% для АК и 88-112% для ДНАА.

Предложен новый спектрофотометрический метод определения аскорбиновой кислоты (АК.) в водных растворах. в зависимости от его способности восстанавливать цвета перманганата (530 нм) и дихромата при (350 нм) [5]. Оптимальные условия, такие как наилучшая концентрация реагента и порядок добавления, были выбраны, чтобы получить самую высокую чувствительность ($\epsilon=2355,70$ и $3094,75$) л/моль .см с широким диапазоном.

Измерено стандартное отклонение с помощью новой методики с использованием метода стандартных добавок с очень хорошим процентом извлечения (101,25 и 98,75) с небольшим значением погрешности $E_{\text{rel}}\%$ (-1,25 и 1,25).

В работе [6] была представлена новая реакционная система для количественного определения аскорбиновой кислоты. Разработанный метод основан на ингибирующем влиянии аскорбиновой кислоты на G-броматную систему апельсина. За изменением оптической плотности следили спектрофотометрически при 478 нм. Исследована зависимость чувствительности от переменных реакции, включая концентрацию реагентов, температуру и время. В оптимальных условиях эксперимента калибровочная кривая имела линейный характер в диапазоне 0,7 – 33,5 мкг/мл аскорбиновой кислоты, включая два линейных участка, а относительные стандартные отклонения ($n = 6$) для 5,0 и 20,0 мкг/мл аскорбиновой кислоты составляли 1,08 и 1,02% соответственно. Предел обнаружения составил 0,21 мкг/мл аскорбиновой кислоты. Также было исследовано влияние различных видов. Разработанный метод успешно применен для определения аскорбиновой кислоты в фармацевтических препаратах. Результаты хорошо согласовались с результатами референтного метода.

Сообщается [7], что *Моринга стенопетала* (Ms) — засухоустойчивое быстрорастущее местное дерево Эфиопии. Листовая часть растения привлекла внимание исследователей из-за многочисленных полезных свойств и преимуществ для здоровья. Польза для здоровья обычно объяснялась наличием соединений, обладающих антиоксидантными свойствами. Одним из таких соединений является аскорбиновая кислота. Целью работы была разработка спектрофотометрического метода определения уровня аскорбиновой кислоты в съедобных листовых частях растения. В этом методе за основу анализа взято снижение оптической плотности раствора Cr(VI) в результате его реакции с АК. В качестве катализатора использовали Mn(II). Описанный метод был проверен на ВЭЖХ как стандартный метод. Оптимизированы факторы, влияющие на восстановление Cr(VI) АК, включая время инкубации, pH раствора и соотношение фоновых концентраций. Теоретический предел обнаружения и предел количественного определения составили 0,00154 и 0,0171 мг/мл соответственно. Из трех различных участков исследованных образцов листьев Ms свежие листья Ms из Арба-Минча содержали самую высокую концентрацию ($237 \pm 0,001$ мг/100 г) АК, затем Консо ($233 \pm 0,48$ мг/100 г) и Дилла ($21 \pm 0,48$ мг/100 г) соответственно. Оно значительно уменьшалось после кипячения в течение 10 минут и уменьшалось с увеличением времени приготовления. Все образцы Ms, использованные в этом исследовании, содержали относительно приемлемый диапазон или умеренное количество общего количества АК (200–250 мг/100 г). Результаты, полученные с использованием настоящего метода, хорошо согласуются с результатами методов ВЭЖХ (237 (УФ-Вид) против 239 (ВЭЖХ) и 233 (УФ-Вид) против 237 (ВЭЖХ)). Разработанный метод прост, быстр и может успешно применяться для селективного определения АК в присутствии других мешающих веществ.

Установлены условия определения аскорбиновой кислоты с использованием в качестве реагента фосфованадольфрамовой кислоты [8]. Метод применен для определения аскорбиновой кислоты в чистом виде, фармацевтических препаратах и фруктовых соках. Метод является чувствительным (2–24 мкг/мл аскорбиновой кислоты), быстрым и допускает присутствие обычных ингредиентов, обычно встречающихся во фруктовых соках. Результаты, полученные предложенным методом, показали хорошее согласие с результатами, полученными стандартным методом.

Разработан простой и высокочувствительный прямой спектрофотометрический метод определения L-аскорбиновой кислоты [9]. Оксалат натрия ($0,0056$ моль/дм³) использовали для стабилизации L-аскорбиновой кислоты в водной среде. Молярная поглощающая способность предлагаемого метода, не требующего процедуры экстракции, составила $1,42 \times 10^4$ дм³/моль см при 266 нм. Закон Бера соблюдался в диапазоне концентраций 0,857 – 12,0 мкг аскорбиновой кислоты/см³. Относительное стандартное отклонение составило 0,81 % для определения 8,0 мкг аскорбиновой кислоты/см³ ($n = 7$). Вещества, обычно встречающиеся в продуктах с витамином С, не мешают определению аскорбиновой кислоты. Другие витамины, Са(II) и бензоат мешают. Предложенная методика успешно применена для определения аскорбиновой кислоты в чистом виде и препаратов витамина С.

Разработан новый, селективный и точный метод прямой ультрафиолетовой спектрофотометрии для определения L-аскорбиновой кислоты в фармацевтических препаратах [10]. В качестве средства коррекции фонового поглощения использовали окисление L-аскорбиновой кислоты иодатом в кислой среде. Молярная поглощательная способность

предлагаемого метода составила $8,71 \times 10^3$ дм³/моль см при 250 нм. Для L-аскорбиновой кислоты закон Бера выполнялся в диапазоне концентраций 0,46 – 16,00 мкг/см³. Относительное стандартное отклонение составило 0,67 % для концентрации аскорбиновой кислоты 8,00 мкг/см³ (n = 7). Ингредиенты, обычно содержащиеся в витамине С и поливитаминных продуктах, не мешают. Предложенная методика была успешно применена для анализа L-аскорбиновой кислоты в фармацевтических препаратах. Результаты, полученные предложенным методом, показали хорошее согласие с результатами, полученными титриметрическим методом с использованием йода.

Описан новый, простой и чувствительный метод спектрофотометрического непрямого определения аскорбиновой кислоты во фруктах, напитках и фармацевтических препаратах [11]. В этом методе аскорбиновая кислота восстанавливает Cu^{2+} до Cu^+ и реагирует с 2,9-диметил-1,10-фенантролином (нейкопроином) с образованием комплекса Cu (нейкопроина)⁺, который экстрагируется N-фенилбензимидазоилтиомочевинной (РВІТU) в хлороформе. Кажущееся значение молярной поглощательной способности комплекса в пересчете на аскорбиновую кислоту составляет $(3,52) \times 10^4$ л/моль см при λ_{max} , 460. Предел обнаружения аскорбиновой кислоты составляет 40 мкг/л, метод подчиняется закону Бера. в диапазоне концентраций 0,1–4,0 мкг/мл. Предложенный метод успешно применен для определения аскорбиновой кислоты в различных пробах. Валидность настоящего метода была проверена методом анализа инъекции потока (FIA).

Предложен спектрофотометрический метод определения содержания аскорбиновой кислоты в различных образцах, включающий ферментативную реакцию и специфический контрольный раствор [12]. В качестве фермента используется аскорбатоксидаза, которая катализирует окисление аскорбиновой кислоты до дегидроаскорбиновой кислоты. Затем дегидроаскорбиновую кислоту подвергают взаимодействию с фенилендиамином с образованием 2,2-ангидрохиноксалина, поглощение которого относительно специально приготовленного бланка наблюдается при 358 нм. Количество аскорбиновой кислоты, присутствующей и прореагировавшей с кислородом в присутствии аскорбатоксидазы, измеряли по увеличению поглощения хиноксалина. С помощью этой процедуры было проанализировано несколько коммерческих таблеток витамина С. Процедура дает удовлетворительные результаты с хорошей селективностью и чувствительностью для определения аскорбиновой кислоты, присутствующей в этих образцах.

Общее количество аскорбиновой кислоты (аскорбиновая кислота + дегидроаскорбиновая кислота) определялось в двадцатью различными образцами фруктов и овощей спектрофотометрическим методом [13]. Этот метод основан на окислении аскорбиновой кислоты до дегидроаскорбиновой кислоты бромной водой при наличии уксусной кислоты. После связывания с 2,4-динитрофенилгидразином (ДНФГ) появляется красный цвет за счет образования комплекса и оптическая плотность этого комплекса была измерена спектрофотометрически при 521 нм. Линейный диапазон концентраций стандартных растворов аскорбиновой кислоты составил до 10 мкг/мл, с коэффициентом корреляции 0,9929. Содержание аскорбиновой кислоты обнаружено от 9 до 49 мг/100 г свежих плодов, а также от 3 до 90 мг/100 г свежих овощей. Также было исследовано влияние глюкозы, фруктозы и сахарозы. Предел обнаружения аскорбиновой кислоты составил 0,01 мкг/мл (3 σ по 10 измерениям концентрации аскорбиновой кислоты 3 мкг/мл), а предел количественного

определения аскорбиновой кислоты составлял 0,017 мкг/мл. Относительное стандартное отклонение составило 2,4 % ($n = 10$, $s = 7$ мкг/мл).

Разработан новый спектрофотометрический метод определения аскорбиновой кислоты в цитрусовых [14]. Метод основан на взаимодействии диметоксидихинона и аскорбиновой кислоты с последующей экстракцией хлороформом. Полученный раствор хлороформа дает максимальное поглощение при 530 нм, предел определения 22,0 мкг/мл и линейный диапазон от 22,0 до 97,5 мкг/мл. Молярная поглощательная способность раствора хлороформа составляла $1,62 \times 10^3$. Реакция протекала количественно в диапазоне pH от 3,0 до 7,0. Этим методом удалось определить аскорбиновую кислоту в цитрусовых. Сравнение результатов с результатами, полученными методом АОАС, показало отличное согласие; среднее извлечение при анализе апельсинового, грейпфрутового и лимонного соков составило $100 \pm 0,3\%$.

Были разработаны два новых, точных, прецизионных и чувствительных спектрофотометрических метода определения L-аскорбиновой кислоты в фармацевтических препаратах [15]. Определение L-аскорбиновой кислоты было проведено на основе его окисления пероксимонсульфатом калия (метод А) и перекисью водорода в присутствии Cu(II) в качестве катализатора (метод Б). Молярная поглощательная способность составила $1,48 \times 10^4$. И $1,06 \times 10^4$ л/моль см для методов А и Б соответственно. Закон Бера соблюдался при концентрации в диапазоне 0,65–11,20 мкг/мл для метода А и 0,51–16,00 мкг/мл для метода Б. Другие соединения, обычно встречающиеся в витамине С и поливитаминных продуктах, не мешают определению L-аскорбиновой кислоты. Предложенные методы успешно применены для определения L-аскорбиновой кислоты в фармацевтических препаратах. Результаты, полученные с помощью предложенных методов, показали хорошее согласие с данными титриметрического метода с использованием йода.

Новый чувствительный колориметрический метод определения таблеток аскорбиновой кислоты в водных растворах предложен в работе [16]. Метод основан на образовании окрашенного азокрасителя путем диазотирования 2,4-дихлоранилина с последующей реакцией азосочетания полученного продукта с аскорбиновой кислотой. Оптимальные условия, обеспечивающие максимальное поглощение азокрасителя при длине волны 535 нм, с лучшими концентрациями реагента и порядок добавления изучались для получения максимальной чувствительности ($\epsilon = 2315$) л/моль.см с широким диапазоном калибровочных кривых (2-70) мкг/мл и хорошей повторяемостью (RSD% 0,68) и 1,49), выходом (99,56 - 100,30)%, Эрел % (-0,20 и 0,44). Приготовленные таблетки измеряли новым методом с использованием стандартного метода добавления с учетом очень хорошего процента восстановления (101,25 и 98,77) с небольшим E_{rel} % (-1,25 и 1,23).

Целью работы [17] была адаптация реакции берлинской лазури для определения аскорбиновой кислоты. Методика успешно применена для определения аскорбиновой кислоты в красном и белом винограде (*Vitis vinifera L.*), собранном непосредственно перед сбором. В настоящей работе использовался красный и белый виноград из виноградника Мурфатлар: Мамай, Каберне Совиньон, Мерло, Пино Нуар, Шардоне, Совиньон, Мускат Оттонель и Рислинг итальянский. Результаты находились в диапазоне 0,67–1,79 мг витамина С/100 г продукта для красного винограда и соответственно 0,50–1,49 мг витамина С/100 г для белого винограда.

Авторы работы [18] представляют метод измерения аскорбиновой кислоты в экстрактах метанола/трихлоруксусной кислоты, полученных из плазмы человека после ферментативного окисления аскорбиновой кислоты до дегидроаскорбиновой кислоты аскорбатоксидазой. Образцы анализировали путем спектрофотометрического мониторинга кинетики зависящих от концентрации изменений поглощения дегидроаскорбиновой кислоты с использованием фосфатно-цитратно-метанольных буферов. Аскорбиновую кислоту определяли как разницу между содержанием дегидроаскорбиновой кислоты и общим содержанием аскорбиновой кислоты. Предел обнаружения составил $< 0,5$ ммоль/л. Калибровочная кривая имела линейный характер ($r > 0,995$) в диапазоне 0–1000 ммоль/л. Аналитическое извлечение аскорбиновой кислоты, добавленной в плазму, составило 93-105%. Разница между днями составила $< 7\%$. Сравнение спектрофотометрического определения (y) с хроматографической процедурой (x) дало $y = 1,02x - 0,653$ ($Sylx = 3,61$) в диапазоне физиологически значимых концентраций. Общее время анализа составляет < 10 минут на образец и позволяет одновременно анализировать несколько образцов.

Описан простой УФ-спектрофотометрический метод определения общего витамина С (аскорбиновая кислота + дегидроаскорбиновая кислота) в различных фруктах и овощах Силхетского района [19]. Спектрофотометрический метод заключается в окислении аскорбиновой кислоты до дегидроаскорбиновой кислоты бромной водой в присутствии уксусной кислоты. После связывания с 2,4-динитрофенилгидразином при температуре 37°C в течение трех часов раствор обрабатывают 85% H_2SO_4 для получения комплекса красного цвета и спектрофотометрически измеряют поглощение при 521 нм. Содержание витамина С во фруктах составляло от 12 до 118 мг/100 г, в овощах – от 22 до 135 мг/100 г. Также обсуждаются процент извлечения, статистические расчеты и возможные мешающие факторы.

Общий витамин С (аскорбиновая кислота + дегидроаскорбиновая кислота) исследовали двумя методами: первый УФ-спектрофотометрический метод и второй метод титрования [20]. В обоих методах проведена смешанная выборка различных фруктов и овощей в регионе Хилл гомогенизируются с помощью 85% раствора серной кислоты и 10% раствора уксусной кислоты, бромную воду добавляли для окисления аскорбиновой кислоты до дегидроаскорбиновой кислоты с помощью уксусной кислоты. На этом этапе избыток процентного содержания брома удалялся при добавлении 3-4 капель 10% тиомочевины. После соединения с 2,4-динитрофенилгидразином при температуре 37°C в течение двух часов, после этого раствор охлаждают на ледяной бане, затем раствор необходимо обработать разбавленной серной кислотой до получения красного цвета. Весь приготовленный раствор фруктов и овощей измерялись при максимальном поглощении 280 нм. Результаты показали, что содержание аскорбиновой кислоты было очень высоким в апельсине и киви и очень низким в красном перце, капусте и помидорах.

L-аскорбиновая кислота является одним из важнейших питательных веществ и наиболее распространенной пищевой добавкой, обогатителем и консервантом [21]. Он коммерчески доступен в виде растворов, капель, таблеток, капсул, кристаллического порошка, смесей для напитков, поливитаминные составы и мультиантиоксидантные составы. Обычная суточная доза составляет от 25 мг до 1,5 г. Аскорбиновая кислота является ярко выраженным восстановителем с низким окислительно-восстановительным потенциалом (0,18 и 0,08 В при рН 4,5 и 6,4 соответственно). На основании свойств аскорбата раз-

работаны многочисленные методы его количественного определения от титриметрических, электрохимических и хроматографических методов до флуориметрических и кинетических. Фермент пероксидазы препятствует аскорбиновой кислоте, которая снижает скорость окисления ее ко-субстратов со временем. Поглощение изменяется на длине волны соответствующего реагента и коррелируется с концентрацией аскорбата. В ходе этого исследования бензидин и *o*-толидин

используются в качестве хромогенных реагентов. Условия реакции оптимизированы для различных буферных систем, калибровочные кривые построены и рассчитаны пределы обнаружения (0,04 мкмоль/л) и количественного определения (0,12 мкмоль/л). С использованием градуировочных карт можно было обнаружить аскорбиновую кислоту в пределах от 0,4 до 10 мкмоль/л. Оптимизированный метод применен для определения аскорбиновой кислоты в фармацевтических продуктах. Метод характеризуется исключительной чувствительностью и точностью, но только для препаратов, не содержащих веществ, влияющих на фермент пероксидазу.

Исследования в области спектрофотометрического определения аскорбиновой кислоты также стали объектом рассмотрения в работах [22-37].

Как видно из представленного обзора, актуальность исследований в области аналитического определения аскорбиновой кислоты несколько не ослабевает, напротив, эти исследования продолжают интенсивно развиваться, выходя на более высокий уровень с точки зрения фармацевтической химии.

ЛИТЕРАТУРА

- 1.Mohammad, Q.Y. Spectrophotometric Determination of Total Vitamin C in Some Fruits and Vegetables at Koya Area – Kurdistan Region, Iraq / Q.Y. Mohammad, W.M. Hamad, K.M. Emad // Journal of Kirkuk University. - 2014. - Vol. 4. - N 2. - Pp. 46-54
- 2.Desai, A.P. UV Spectroscopic Method for Determination of Vitamin C (Ascorbic Acid) / A.P. Desai, D. Shuchi D. // International Journal of Environmental Sciences and Natural Resources. 2019. Vol. 21. N 2. Pp. 41-44
- 3.Bazel, Y. Spectrophotometric determination of ascorbic acid in foods with the use of vortex-assisted liquid-liquid microextraction / Y. Bazel, T. Riabukhina, J.Tirpak // Microchemical Journal. - 2018. - Vol. 143. - N 12. - Pp. 160-165
- 4.Ruiz, B.G. Spectrophotometric method for fast quantification of ascorbic acid and dehydroascorbic acid in simple matrix for kinetics measurements / B.G. Ruiz, S. Roux, F. Courtois, C. Bonnazi // Food Chemistry. - 2016. - Vol. 211. - Pp. 583-589
- 5.Fadhel, Dh. Spectrophotometric Determination of Ascorbic Acid in Aqueous Solutions / Dh. Fadhel // Journal of Al-Nabrain University. - 2012. - Vol. 15. - N 3. - Pp. 88-94
- 6.Shishehbore, M.R. A Highly Sensitive Kinetic Spectrophotometric Method for the Determination of Ascorbic Acid in Pharmaceutical Samples / M.R. Shishehbore, Z. Aghamin // Iran J. Pharm. Res. - 2014. - Vol. 13. - N 2. - Pp. 373-382
- 7.Abera, H. Spectrophotometric method to the determination of ascorbic acid in *M. stenopetala* leaves through catalytic titration with hexavalent chromium and its validation / H. Abera, M. Abdisa, A.P. Washe // International Journal of Food Properties. - 2020. - Vol. 23. - N 1. - Pp. 999-1015

8. Muralikrishna, U. Spectrophotometric determination of ascorbic acid in pharmaceutical preparations and fruit juices / U. Muralikrishna, J.A. Mutry // *Analyst*. - 1989. - Vol. 114. - N 3. - Pp. 407-409
9. Selimovic, A. Direct spectrophotometric determination of L-ascorbic acid in pharmaceutical preparations using sodium oxalate as a stabilizer / A. Selimovic, M. Salkic // *International Journal of Basic and Applied Sciences*. - 2011. - Vol. 11. - N 2. - Pp. 106-109
10. Salkic, M. Determination of L-Ascorbic Acid in Pharmaceutical Preparations Using Direct Ultraviolet Spectrophotometry / M. Salkic, H. Keran, M. Jasic // *ACS*. - 2009. - Vol. 74. - N 3. - Pp. 263-268
11. Shrivias, K. A Spectrophotometric Determination of Ascorbic Acid // K. Shrivias, K. Agrawal, D.K. Patel // *Journal of the Chinese Chemical Society*. - 2005. - Vol. 52. - N 3. - Pp. 503-506
12. Esteban, M.R. Enzymatic Spectrophotometric Determination of Ascorbic Acid in Commercial Vitamin C Tablets / M.R. Esteban, H. Chu-Ngi // *Microchemical Journal*. - 1997. - Vol. 56. - N 1. - Pp. 122-129
13. Kapur, A. Spectrophotometric analysis of total ascorbic acid content in various fruits and vegetables / A. Kapur, A. Hascovix, A. Copra-Janicevic, L. Klepo // *Bulletin of the Chemists and Technologists of Bosnia and Herzegovina*. - 2012. - Vol. 38. - Pp. 39-42
14. Kamangar, T. Rapid Spectrophotometric Determination of Ascorbic Acid in Citrus Fruits / T. Kamangar, A. Fawzi, R.H. Maghssoudi // *Journal of Analytical Chemistry and Microbiology*. - 1977. - Vol. 60. - N 3. - Pp. 528-530
15. Salkic, M. Spectrophotometric Determination of L-Ascorbic Acid in Pharmaceuticals Based on Its Oxidation by Potassium Peroxymonosulfate and Hydrogen Peroxide / M. Salkic, A. Selimovic // *Croatia Chemica Acta*. - 2015. - Vol. 88. - N 1. - Pp. 73-79
16. Hussein, A.M. Spectrophotometric Determination of Ascorbic acid in Aqueous Solutions and in Pharmaceuticals formulations / A.M. Hussein // *Journal of Al-Nabrain University*. - 2013. - Vol. 16. - N 3. - Pp. 65-71
17. Matei, N. Spectrophotometric determination of ascorbic acid in grapes with the Prussian Blue reaction / N. Matei, S. Dodrinas, G.L. Radu // *Ovidius University Annals of Chemistry*. - 2012. - Vol. 23. - N 1. - Pp. 174-179
18. Moeslinqer, T. Spectrophotometric determination of ascorbic acid and dehydroascorbic acid / T. Moeslinqer, M. Brunner, L. Volf, P.G. Spieckermann // *Clinical Chemistry*. - 1995. - Vol. 41. - N 8. - Pp. 1177-1181
19. Khan, M.M. A Simple UV-spectrophotometric Method for the Determination of Vitamin C Content in Various Fruits and Vegetables at Sylhet Area in Bangladesh / M.M. Khan, M. Rahman, M. Islam, S.A. Begum // *Journal of Biological Sciences*. - 2006. - Vol. 6. - N 2. - Pp. 388-392
20. Al Majidi, M.H. Determination of Vitamin C(ascorbic acid) Contents in various fruit and vegetable by UV-spectrophotometry and titration methods / M.H. Al-Majidi, H.Y. Al-Qubury // *Journal of Chemical And Pharmaceutical Sciences*. - 2016. - Vol. 9. - N 4. - Pp. 2972-2974
21. Duric, V.R. Spectrophotometric determination of ascorbic acid by horseradish peroxidase / V.R. Duric, N.R. Deleric // *Bulletin of Natural Sciences Research*. - 2020. - Vol. 10. - N 2. - Pp. 17-22

22. Khadka, D. Spectrophotometric determination of total vitamin C content in different fruits and vegetables consumed in Tansen, Palpa / D. Khadka, K. Pathak // Tribhuvan Journal. - 2019. - Vol. 1. - N 1. - Pp. 1-10
23. Luque-Perez, E. Flow injection spectrophotometric determination of ascorbic acid in soft drinks and beer / E. Luque-Perez, A. Rios, M. Valcarcel // Fresenius Journal of Analytical Chemistry. - 2000. - Vol. 366. - N 2. - Pp. 857-862
24. Verma, K.K. Spectrophotometric determination of ascorbic acid in pharmaceuticals by background correction and flow injection / K.K. Verma, J. Archana, A. Chaurasia // Analyst. - 1991. - Vol. 116. - N 6. - Pp. 641-645
25. Pancham, Y. UV-Spectrophotometric method for quantification of ascorbic acid in bulk powder / Y. Pancham, B. Girish, Sh. Sanjay // Pharma Innovation Journal. - 2020. - Vol. 9. - N 5. - Pp. 5-8
26. Ferreira, S. Sensitive spectrophotometric determination of ascorbic acid in fruit juices and pharmaceutical formulations using 2-(5-bromo-2-pyridylazo)-5-diethylaminophenol (BR-PADAP) / S. Ferreira, M. Bandeira, V. Gemos, H. Santos // Fresenius Journal of Analytical Chemistry. - 1997. - Vol. 357. - N 2. - Pp. 1174-1178
27. Dogar, Z. Comparison of three different spectrophotometric methods for determination of vitamin C levels in human body fluids / Z. Dogar, M.S. Akhtar, Sh. Siddique, M.A. Shoaib // J. Appl. Pharma. - 2010. - Vol. 3. - N 2. - Pp. 66-71
28. Seckin, S. Kinetic Spectrophotometric Determination of Ascorbic Acid by Using Phenanthroline Agent in *Eruca sativa* / S. Seckin, S. Aslan // International Journal of Pharmaceutical Research. - 2022. - Vol. 34. - N 63. - Pp. 34-39
29. Eldawy, M.A. Rapid, sensitive spectrophotometric method for the determination of ascorbic acid / M.A. Eldawy, A.S. Tawfik, S.R. Elshiaboun // Anal. Chem. - 1975. - Vol. 47. - N 3. - Pp. 461-465
30. Adebayo E.M. The Titrimetric and Spectrophotometric Determination of Ascorbic acid levels in Selected Nigerian Fruits / E.M. Adebayo // Journal of Environmental Sciences, Toxicology and Food Technology. - 2015. - Vol. 9. - N 10. - Pp. 44-46
31. Bajaj, K.I. Spectrophotometric Determination of L-Ascorbic Acid in Vegetables and Fruits / K.I. Bajaj, G. Kaur // Analyst. - 1981. - Vol. 106. - Pp. 117-120
32. Riscahyani, N.M. Identification of Ascorbic Acid Content in *Carica papaya* L. Using Iodimetry and UV-Vis Spectrophotometry / N.M. Riscahyani, E.R. Ekawati, Kh. Ngibad // Indonesian Journal of Medical Laboratory Science and Technology. - 2019. - Vol. 1. - N 1. - Pp. 58-64
33. Yuluan, Ch. Spectrophotometric Determination of Ascorbic Acid in Pharmaceutical Preparations with Tungstomolybdophosphoric Acid / Ch. Yuluan, X. Jingaian, Zh. Zhuming // Analysis and Testing Technology and Instruments. - 1995. - N 3. - Pp. 17-21
34. Abdelmageed, O.H. Selective spectrophotometric determination of ascorbic acid in drugs and foods / O.H. Abdelmageed, P.Y. Khashaba, G.A. Saleh, I.H. Refaat // Talanta. - 1995. - Vol. 42. - N 4. - Pp. 573-579
35. Gadhave, M. Area Under Curve by UV Spectrophotometric Method for Determination of Ascorbic Acid in Bulk / M. Gadhave, V. Kedar, S. Dhobale, S. Jadhay // Bulletin of Environment, Pharmacology and Life Science. - 2020. - Vol. 9. - N 8. - Pp. 155-159

- 36.Thordum, B. Flow-injection spectrophotometric determination of ascorbic acid by reduction of vanadotungstophosphoric acid / B. Thordum, N. Chimpalee, D. Rattanariderom // *Analytica Chimica Acta*. - 1991. - N 3. - Pp. 171-179
- 37.Salkic, M. Spectrophotometric determination of L-ascorbic acid based on its oxidation by potassium peroxodisulfate in the presence of Cu(II) as catalyst / M. Salkic // *Journal of Analytical Chemistry*. - 2016. - Vol. 71. - N 2. - Pp. 153-159

REFERENCES

- 1.Mohammad, Q.Y. Spectrophotometric Determination of Total Vitamin C in Some Fruits and Vegetables at Koya Area – Kurdistan Region, Iraq / Q.Y. Mohammad, W.M. Hamad, K.M. Emad // *Journal of Kirkuk University*. - 2014. - Vol. 4. - N 2. - Pp. 46-54
- 2.Desai, A.P. UV Spectroscopic Method for Determination of Vitamin C (Ascorbic Acid) / A.P. Desai, D. Shuchi D. // *International Journal of Environmental Sciences and Natural Resources*. 2019. Vol. 21. N 2. Pp. 41-44
- 3.Bazel, Y. Spectrophotometric determination of ascorbic acid in foods with the use of vortex-assisted liquid-liquid microextraction / Y. Bazel, T. Riabukhina, J.Tirpak // *Microchemical Journal*. - 2018. - Vol. 143. - N 12. - Pp. 160-165
- 4.Ruiz, B.G. Spectrophotometric method for fast quantification of ascorbic acid and dehydroascorbic acid in simple matrix for kinetics measurements / B.G. Ruiz, S. Roux, F. Courtois, C. Bonnazi // *Food Chemistry*. - 2016. - Vol. 211. - Pp. 583-589
- 5.Fadhel, Dh. Spectrophotometric Determination of Ascorbic Acid in Aqueous Solutions / Dh. Fadhel // *Journal of Al-Nabrain University*. - 2012. - Vol. 15. - N 3. - Pp. 88-94
- 6.Shishehbore, M.R. A Highly Sensitive Kinetic Spectrophotometric Method for the Determination of Ascorbic Acid in Pharmaceutical Samples / M.R. Shishehbore, Z. Aghamin // *Iran J. Pharm. Res.* - 2014. - Vol. 13. - N 2. - Pp. 373-382
- 7.Abera, H. Spectrophotometric method to the determination of ascorbic acid in *M. stenopetala* leaves through catalytic titration with hexavalent chromium and its validation / H. Abera, M. Abdisa, A.P. Washe // *International Journal of Food Properties*. - 2020. - Vol. 23. - N 1. - Pp. 999-1015
- 8.Muralikrishna, U. Spectrophotometric determination of ascorbic acid in pharmaceutical preparations and fruit juices / U. Muralikrishna, J.A. Mutry // *Analyst*. - 1989. - Vol. 114. - N 3. - Pp. 407-409
- 9.Selimovic, A.. Direct spectrophotometric determination of L-ascorbic acid in pharmaceutical preparations using sodium oxalate as a stabilizer / A. Selimovic, M. Salkic // *International Journal of Basic and Applied Sciences*. - 2011. - Vol. 11. - N 2. - Pp. 106-109
- 10.Salkic, M. Determination of L-Ascorbic Acid in Pharmaceutical Preparations Using Direct Ultraviolet Spectrophotometry / M. Salkic, H. Keran, M. Jasic // *ACS*. - 2009. - Vol. 74. - N 3. - Pp. 263-268
- 11.Shrivastava, K. A Spectrophotometric Determination of Ascorbic Acid // K. Shrivastava, K. Agrawal, D.K. Patel // *Journal of the Chinese Chemical Society*. - 2005. - Vol. 52. - N 3. - Pp. 503-506

12. Esteban, M.R. Enzymatic Spectrophotometric Determination of Ascorbic Acid in Commercial Vitamin C Tablets / M.R. Esteban, H. Chu-Ngi // *Microchemical Journal*. - 1997. - Vol. 56. - N 1. - Pp. 122-129
13. Kapur, A. Spectrophotometric analysis of total ascorbic acid content in various fruits and vegetables / A. Kapur, A. Hascovic, A. Copra-Janicevic, L. Klepo // *Bulletin of the Chemists and Technologists of Bosnia and Herzegovina*. - 2012. - Vol. 38. - Pp. 39-42
14. Kamangar, T. Rapid Spectrophotometric Determination of Ascorbic Acid in Citrus Fruits / T. Kamangar, A. Fawzi, R.H. Maghssoudi // *Journal of Analytical Chemistry and Microbiology*. - 1977. - Vol. 60. - N 3. - Pp. 528-530
15. Salkic, M. Spectrophotometric Determination of L-Ascorbic Acid in Pharmaceuticals Based on Its Oxidation by Potassium Peroxymonosulfate and Hydrogen Peroxide / M. Salkic, A. Selimovic // *Croatia Chemica Acta*. - 2015. - Vol. 88. - N 1. - Pp. 73-79
16. Hussein, A.M. Spectrophotometric Determination of Ascorbic acid in Aqueous Solutions and in Pharmaceuticals formulations / A.M. Hussein // *Journal of Al-Nabrain University*. - 2013. - Vol. 16. - N 3. - Pp. 65-71
17. Matei, N. Spectrophotometric determination of ascorbic acid in grapes with the Prussian Blue reaction / N. Matei, S. Dodrinas, G.L. Radu // *Ovidius University Annals of Chemistry*. - 2012. - Vol. 23. - N 1. - Pp. 174-179
18. Moeslinger, T. Spectrophotometric determination of ascorbic acid and dehydroascorbic acid / T. Moeslinger, M. Brunner, L. Volf, P.G. Spieckermann // *Clinical Chemistry*. - 1995. - Vol. 41. - N 8. - Pp. 1177-1181
19. Khan, M.M. A Simple UV-spectrophotometric Method for the Determination of Vitamin C Content in Various Fruits and Vegetables at Sylhet Area in Bangladesh / M.M. Khan, M. Rahman, M. Islam, S.A. Begum // *Journal of Biological Sciences*. - 2006. - Vol. 6. - N 2. - Pp. 388-392
20. Al Majidi, M.H. Determination of Vitamin C(ascorbic acid) Contents in various fruit and vegetable by UV-spectrophotometry and titration methods / M.H. Al-Majidi, H.Y. Al-Qubury // *Journal of Chemical And Pharmaceutical Sciences*. - 2016. - Vol. 9. - N 4. - Pp. 2972-2974
21. Duric, V.R. Spectrophotometric determination of ascorbic acid by horseradish peroxidase / V.R. Duric, N.R. Deleric // *Bulletin of Natural Sciences Research*. - 2020. - Vol. 10. - N 2. - Pp. 17-22
22. Khadka, D. Spectrophotometric determination of total vitamin C content in different fruits and vegetables consumed in Tansen, Palpa / D. Khadka, K. Pathak // *Tribhuvan Journal*. - 2019. - Vol. 1. - N 1. - Pp. 1-10
23. Luque-Perez, E. Flow injection spectrophotometric determination of ascorbic acid in soft drinks and beer / E. Luque-Perez, A. Rios, M. Valcarcel // *Fresenius Journal of Analytical Chemistry*. - 2000. - Vol. 366. - N 2. - Pp. 857-862
24. Verma, K.K. Spectrophotometric determination of ascorbic acid in pharmaceuticals by background correction and flow injection / K.K. Verma, J. Archana, A. Chaurasia // *Analyst*. - 1991. - Vol. 116. - N 6. - Pp. 641-645
25. Pancham, Y. UV-Spectrophotometric method for quantification of ascorbic acid in bulk powder / Y. Pancham, B. Girish, Sh. Sanjay // *Pharma Innovation Journal*. - 2020. - Vol. 9. - N 5. - Pp. 5-8

- 26.Ferreira, S. Sensitive spectrophotometric determination of ascorbic acid in fruit juices and pharmaceutical formulations using 2-(5-bromo-2-pyridylazo)-5-diethylaminophenol (Br-PADAP) / S. Ferreira, M. Bandeira, V. Gemos, H. Santos // Fresenius Journal of Analytical Chemistry. - 1997. - Vol. 357. - N 2. - Pp. 1174-1178
- 27.Dogar, Z. Comparison of three different spectrophotometric methods for determination of vitamin C levels in human body fluids / Z. Dogar, M.S. Akhtar, Sh. Siddique, M.A. Shoaib // J. Appl. Pharma. - 2010. - Vol. 3. - N 2. - Pp. 66-71
- 28.Seckin, S. Kinetic Spectrophotometric Determination of Ascorbic Acid by Using Phenanthroline Agent in *Eruca sativa* / S. Seckin, S. Aslan // International Journal of Pharmaceutical Research. - 2022. - Vol. 34. - N 63. - Pp. 34-39
- 29.Eldawy, M.A. Rapid, sensitive spectrophotometric method for the determination of ascorbic acid / M.A. Eldawy, A.S. Tawfik, S.R. Elshiaboun // Anal. Chem. - 1975. - Vol. 47.- N 3. - Pp. 461-465
- 30.Adebayo E.M. The Titrimetric and Spectrophotometric Determination of Ascorbic acid levels in Selected Nigerian Fruits / E.M. Adebayo // Journal of Environmental Sciences, Toxicology and Food Technology. - 2015. - Vol. 9. - N 10. - Pp. 44-46
- 31.Bajaj, K.I. Spectrophotometric Determination of L-Ascorbic Acid in Vegetables and Fruits / K.I. Bajaj, G. Kaur // Analyst. - 1981. - Vol. 106. - Pp. 117-120
- 32.Riscahyani, N.M. Identification of Ascorbic Acid Content in Carica papaya L. Using Iodimetry and UV-Vis Spectrophotometry / N.M. Riscahyani, E.R. Ekawati, Kh. Ngibad // Indonesian Journal of Medical Laboratory Science and Technology. - 2019. - Vol. 1. - N 1. - Pp. 58-64
- 33.Yuluan, Ch. Spectrophotometric Determination of Ascorbic Acid in Pharmaceutical Preparations with Tungstomolybdophosphoric Acid / Ch. Yuluan, X. Jinggaian, Zh. Zhuming // Analysis and Testing Technology and Instruments. - 1995. - N 3. - Pp. 17-21
- 34.Abdelmageed, O.H. Selective spectrophotometric determination of ascorbic acid in drugs and foods / O.H. Abdelmageed, P.Y. Khashaba, G.A. Saleh, I.H. Refaat // Talanta. - 1995. - Vol 42. - N 4. - Pp. 573-579
- 35.Gadhawe, M. Area Under Curve by UV Spectrophotometric Method for Determination of Ascorbic Acid in Bulk / M. Gadhawe, V. Kedar, S. Dhobale, S. Jadhay // Bulletin of Environment, Pharmacology and Life Science. - 2020. - Vol. 9. - N 8. - Pp. 155-159
- 36.Thordum, B. Flow-injection spectrophotometric determination of ascorbic acid by reduction of vanadotungstophosphoric acid / B. Thordum, N. Chimpalee, D. Rattanaariderom // Analytica Chimica Acta. - 1991. - N 3. - Pp. 171-179
- 37.Salkic, M. Spectrophotometric determination of L-ascorbic acid based on its oxidation by potassium peroxodisulfate in the presence of Cu(II) as catalyst / M. Salkic // Journal of Analytical Chemistry. - 2016. - Vol. 71. - N 2. - Pp. 153-159.