

## KINETICKÉ STANOVENÍ KYSELINY L-ASKORBOVÉ S VYUŽITÍM OSCILUJÍCÍHO CHEMICKÉHO SYSTÉMU

LENKA ZÁDĚROVÁ a PŘEMYSL LUBAL

*Katedra analytické chemie, Přírodovědecká fakulta, Masarykova univerzita, Kotlářská 2, 611 37 Brno  
lupal@chemi.muni.cz*

Došlo 25.2.05, přepracováno 9.10.05, přijato 25.10.05.

**Klíčová slova:** kinetické stanovení, Bělousovova-Žabotinského (BŽ) oscilující reakce, spektrofotometrická detekce, vitamin C (L-askorbová kyselina), umělé neuronové sítě (ANN)

*Věnováno prof. RNDr. Josefu Havlovi, DrSc. k jeho 65. narozeninám.*

### Úvod

L-askorbová kyselina (AK, vitamin C) patří mezi vitamíny rozpustné ve vodě. Zdravý organismus obsahuje asi 1,5 g kyseliny L-askorbové. Denní dávka je odhadována na 30–100 mg (cit.<sup>1</sup>). Vitamin C se užívá nejen při zotavování organismu z nemoci, ale i při léčbě otravy jedy, které podporují tvorbu methemoglobinu. Zprávy z nedávné doby potvrzují i pozitivní vliv vitamínu C na léčbu AIDS (cit.<sup>1</sup>). L-askorbová kyselina chrání před některými jedy (nitrosaminy, dusitany)<sup>1</sup> a také reaguje s kyslíkatými radikály, které přemění na méně toxické či netoxické sloučeniny. Kyselina L-askorbová se používá také jako redukční činidlo (Co(III)/Co(II), Cr(VI)/Cr(III), atd.) a bylo ukázáno, že snižuje toxicitu selenu a vanadu<sup>1</sup>. Je známa i aplikace kyseliny L-askorbové jako titračního činidla (askorbimetrie), kdy přímou titrací lze stanovit např. ionty ve vyšším oxidačním stavu (Fe(III), Ag(I), Hg(II), Ti(III), Cu(II), Ce(IV), ClO<sub>3</sub><sup>-</sup>, BrO<sub>3</sub><sup>-</sup>, IO<sub>3</sub><sup>-</sup>, aj.<sup>1</sup>). Některé ionty však nelze stanovit přímou titrací vzhledem k pomalosti redukční reakce s kyselinou L-askorbovou, proto se provádí titrace zpětná (stanovení Fe(III), Hg(II), Cu(II), Cd(II), Cr(VI), chloraminu T, halogenů, jodidů, kyanidů, sulfidů, hydrazinu, formaldehydu, aj.<sup>1</sup>).

Metody stanovení kyseliny L-askorbové lze rozdělit do několika skupin<sup>2–5</sup>: titrační, spektrofotometrické (UV-VIS spektrofotometrie, fluorimetrie a chemiluminiscenční metody), elektrochemické, kinetické, separační (zejména chromatografické), které mají výhodu hlavně ve vysoké citlivosti stanovení<sup>2–5</sup>. Některé z nich (zejména spektrofotometrické, elektroanalytické, chemiluminiscenční a fluo-

rimetrické) se dají použít pro stanovení kyseliny L-askorbové v sériové on-line analýze jako je např. průtoková injekční analýza<sup>4</sup>.

Metody kinetické jsou založeny na sledování průběhu redukční reakce mezi AK a barevným reaktantem za vzniku produktu odlišných spektrálních vlastností. Příklady stanovení jsou uvedeny v literatuře<sup>2,3,5</sup>. V poslední době bylo také popsáno využití oscilujících reakcí pro analytické účely<sup>6</sup>. Oscilující reakce (nejznámější je např. Bělousovova-Žabotinského (BŽ) reakce, systém BrO<sub>3</sub><sup>-</sup>-H<sup>+</sup>-kyselina malonová-Ce(IV), event. ferroin) jsou chemické reakce, u kterých se periodicky mění koncentrace meziproductů v čase a tedy se mění periodicky reakční rychlost<sup>7</sup>. Charakteristickými parametry těchto periodických reakcí jsou indukční perioda, perioda oscilace a amplituda oscilace<sup>6–7</sup> a z nich odvozené parametry chaotického režimu (např. Ljapunovův exponent<sup>6</sup>). Experimentální data oscilujících systémů mohou být analyzována také pokročilými chemometrickými technikami (např. umělé neuronové sítě, ANN, cit.<sup>9,10</sup>). V přítomnosti analytu redoxních vlastností se od začátku reakce v roztoku mění chování oscilujícího systému v důsledku jeho zapojení do některé dílčí chemické reakce, což se projeví změnou charakteristických parametrů, které se pak dají využít jako odezvové funkce k analytickým účelům. Při tzv. analytově pulsní perturbační technice (APPT) se měří okamžitá změna amplitudy oscilace (většinou detegovaná jako potenciál platinové elektrody) po nástřiku analytu v průběhu oscilace<sup>6,8</sup>. Bylo navrženo stanovení významných analytů<sup>6,11</sup>, mj. i kyseliny L-askorbové<sup>12–14</sup>, s použitím obou technik.

V literatuře byly popsány tři oscilující systémy vhodné pro stanovení kyseliny L-askorbové: H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-NaSCN-CuSO<sub>4</sub> (cit.<sup>12</sup>), BrO<sub>3</sub><sup>-</sup>-H<sup>+</sup>-kyselina malonová-Ce(IV) (cit.<sup>13</sup>) a BrO<sub>3</sub><sup>-</sup>-H<sup>+</sup>-kyselina mléčná-aceton-Mn(II) (cit.<sup>14</sup>). První je funkční v alkalickém prostředí, kdežto ostatní fungují v prostředí silné kyseliny (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>). Všechny využívají kontinuálně průtokový míchaný tankový reaktor (CSTR) a detekci platinovou elektrodou. Stanovení kyseliny L-askorbové v reálných vzorcích (pomeračňový džus, farmaceutické preparáty) je popsáno pouze v systému H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-NaSCN-CuSO<sub>4</sub> (cit.<sup>12</sup>). Hlavním cílem předkládané práce bylo zjednodušit a optimalizovat experimentální podmínky pro stanovení kyseliny L-askorbové s použitím chemického systému založeného na BŽ reakci<sup>13</sup> se spektrofotometrickou detekcí, analyzovat reálné vzorky a stanovit v nich koncentraci kyseliny L-askorbové.

### Experimentální část

#### Chemikálie a přístroje

Pro přípravu všech roztoků byla použita voda redestilovaná v křemenné aparatuře (Heraeus, Německo), která byla zbavena kyslíku odsátím a pak sycena argonem. Bromičnan draselný, kyselina sirová, kyselina L-as-

korbová, síran ceričitý, jodičnan draselný, jodid sodný (všechny čistoty p.a.) byly dodány firmou Lachema, Brno, kyselina malonová byla zakoupena od firmy Sigma-Aldrich. Vzorok Celaskonu™ 100 a Celaskonu™ 250 (Léčiva-Zentiva, Praha) byly zakoupeny v lékárně. Měření byla prováděna v termostátované kyvetě ( $\pm 0,1$  °C) o tloušťce 1 cm na jednopaprskovém spektrofotometru HP 8453A (Hewlett-Packard, USA) s rozsahem vlnových délek 190–1100 nm.

#### Příprava vzorků

Zásobní roztoky bromičnanu draselného, kyseliny malonové a síranu ceričitého v 0,8 M-H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> byly smíchány v takových poměrech, aby jejich koncentrace v kyvetě byly:  $c(\text{BrO}_3^-) = 0,0625 \text{ mol l}^{-1}$ ;  $c(\text{malonová kyselina}) = 0,1675 \text{ mol l}^{-1}$ ;  $c(\text{Ce(IV)}) = 0,002 \text{ mol l}^{-1}$ ;  $c(\text{H}_2\text{SO}_4) = 0,8 \text{ mol l}^{-1}$ ; koncentrace kyseliny L-askorbové v roztoku se obvykle pohybovala v rozsahu  $1,66 \cdot 10^{-4}$  až  $8,33 \cdot 10^{-4} \text{ mol l}^{-1}$ . Absorbance roztoku oscilujícího systému byla sledována při vlnové délce 320 nm, teplotě 30 °C a v časovém rozpětí 10 min s intervalem měření 2 s. Jodometrické titrační stanovení L-kyseliny askorbové bylo převzato z literatury<sup>15</sup>. Vzorek Celaskonu™ pro kinetické stanovení byl po rozpuštění tablety filtrován přes 0,45  $\mu\text{m}$  filtr, kdežto při titračním stanovení byl vzorek rozpuštěn přímo v titrační baňce a pak analyzován volumetricky<sup>15</sup>. Stejný postup byl zvolen pro vzorky ovoce (citrón, pomeranč, kiwi), kdy byla ovocná šťáva taktéž filtrována přes 0,45  $\mu\text{m}$  filtr.

#### Vyhodnocení výsledků

Naměřená spektrální data byla exportována do programu Excel™ a po jejich zpracování byla vyhodnocena programem Trajan™ (StatSoft, UK) s použitím ANN. Výstupní vrstvou neuronové sítě byla vždy koncentrace kyseliny L-askorbové, kdežto pro vstupní vrstvu sítě byly použity hodnoty absorbancí v určitém čase nebo charakteristické parametry oscilujícího systému (zejména amplituda a perioda oscilace) buď jako průměrné hodnoty, nebo jednotlivé hodnoty z opakovaných měření. Většina měření byla opakována nejméně dvakrát z důvodu opakovatelnosti výsledků.

Optimální architektura ANN (počet neuronů v skryté vrstvě) byla hledána programem Trajan™ s využitím 6 roztoků (trénovací soubor) a 3 roztoků (ověřovací, verifikační soubor). Parametry pro optimalizaci architektury ANN byly: transferová funkce lineární (pokud není uvedeno jinak), počet učicích epoch 10 000, rychlost učení 0,6; „momentum“ 0,3. Optimální architektura ANN byla pak použita pro předpověď koncentrace kyseliny L-askorbové v neznámém vzorku z naměřených hodnot charakteristických parametrů oscilujícího systému.

## Výsledky a diskuse

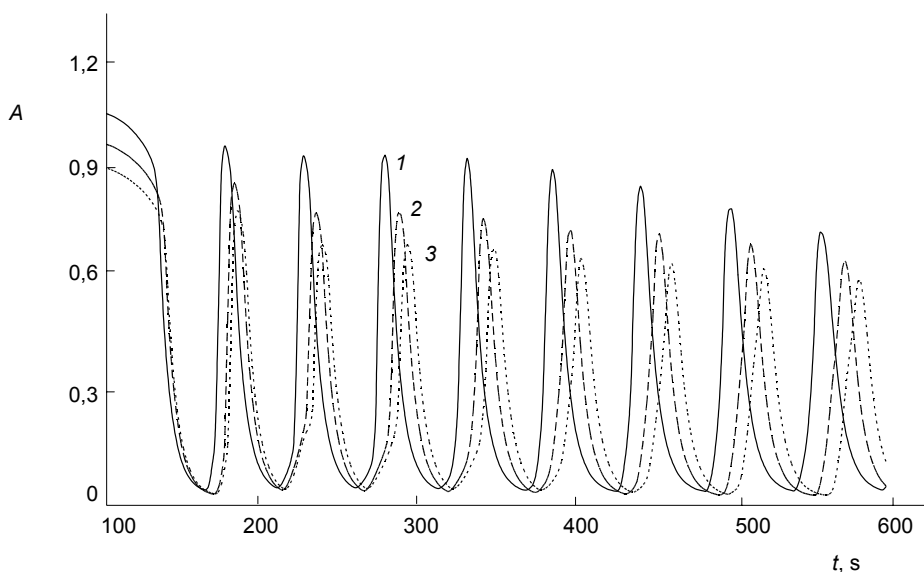
### Optimalizace experimentálních podmínek oscilujícího systému

Jako nejvhodnější byl pro stanovení kyseliny L-askorbové vybrán nejvíce prozkoumaný BŽ oscilující systém, kde absorbance měřená při vybrané vlnové délce byla použita jako analytický signál. Optimální podmínky,  $c(\text{BrO}_3^-) = 0,2 \text{ mol l}^{-1}$ ;  $c(\text{malonová kyselina}) = 0,5 \text{ mol l}^{-1}$ ;  $c(\text{Ce(IV)}) = 0,04 \text{ mol l}^{-1}$ ;  $c(\text{H}_2\text{SO}_4) = 0,8 \text{ mol l}^{-1}$  (cit.<sup>13</sup>), musely být modifikovány vzhledem k jinému způsobu detekce následovně:  $c(\text{BrO}_3^-) = 0,0625 \text{ mol l}^{-1}$ ;  $c(\text{malonová kyselina}) = 0,1675 \text{ mol l}^{-1}$ ;  $c(\text{Ce(IV)}) = 0,002 \text{ mol l}^{-1}$ ;  $c(\text{H}_2\text{SO}_4) = 0,8 \text{ mol l}^{-1}$ . Současně byla nalezena vhodná vlnová délka 320 nm. Tento úkol je velmi složitý, neboť i malá změna koncentrace jednoho z reaktantů může vést k potlačení oscilujícího charakteru chemické reakce<sup>7</sup>.

Teplota byla optimalizována v rozmezí 20–30 °C. Při koncentraci kyseliny L-askorbové  $6,67 \cdot 10^{-4} \text{ mol l}^{-1}$  se indukční perioda a perioda oscilace zkracují se zvyšující se teplotou. Jestliže vyhodnotíme reciproké hodnoty těchto charakteristických parametrů s použitím Arrheniovy rovnice<sup>16</sup>, obdržíme hodnoty aktivačních energií ( $57,3 \pm 4,4 \text{ kJ mol}^{-1}$  resp.  $49,3 \pm 4,9 \text{ kJ mol}^{-1}$ ) pro oba řídicí děje, které odpovídající iniciační (indukční perioda, vznik meziproductu zahajující periodickou reakci) a propagační reakci (oscilační perioda, cyklická regenerace meziproductů), což bylo popsáno různými kinetickými modely (např. Bruselátor, Oregonátor<sup>7,17</sup>). Hodnoty aktivačních energií pro oba kroky ukazují na podobný charakter obou chemických reakcí. Z praktických důvodů zkrácení analýzy bylo jako teplotní optimum zvoleno 30 °C.

Dalším kritickým faktorem je přítomnost rozpuštěného kyslíku ve vodě, což má za následek zkrácení celkové doby oscilací a snížení jejich amplitudy, proto všechny roztoky byly připraveny z redestilované vody zbavené kyslíku. Jako katalyzátor byl zvolen redoxní pár Ce(IV)/Ce(III), který je nejméně citlivý k přítomnosti kyslíku v roztoku ve srovnání s jinými páry (hlavně Fe(phen)<sub>3</sub><sup>2+</sup>/Fe(phen)<sub>3</sub><sup>3+</sup> nebo Ru(phen)<sub>3</sub><sup>2+</sup>/Ru(phen)<sub>3</sub><sup>3+</sup>, cit.<sup>7</sup>). Rozpuštěný kyslík může také reagovat s kyselinou L-askorbovou s následnou tvorbou radikálů<sup>1</sup> a tak inhibovat některou chemickou reakci významnou pro oscilující systém.

Testováním opakovatelnosti měření pro stejné látkové množství vzorku bylo prokázáno, že při nástřiku většího objemu roztoku o nižší koncentraci analytu se dosáhne opakovatelnějších výsledků než při nástřiku menšího objemu roztoku o vyšší koncentraci analytu při zachování konstantního celkového látkového množství v roztoku. Proto byl v další práci použit větší objem roztoku analytu o nižší koncentraci. Dále se ukázalo, že APPT není vhodná pro experimentální uspořádání použité v této práci.



Obr. 1. Záznam  $A = f(t)$  pro Bělousovův-Žabotinského periodicky oscilující systém ( $c(\text{BrO}_3^-) = 0,0625 \text{ mol l}^{-1}$ ;  $c(\text{malonová kyselina}) = 0,1675 \text{ mol l}^{-1}$ ;  $c(\text{Ce(IV)}) = 0,002 \text{ mol l}^{-1}$ ;  $c(\text{H}_2\text{SO}_4) = 0,8 \text{ mol l}^{-1}$ ;  $\lambda = 320 \text{ nm}$ ;  $t = 30 \text{ }^\circ\text{C}$ ) pro  $c(\text{kyselina L-askorbová})$  v roztoku: 1-  $0 \text{ mol l}^{-1}$ ; 2-  $4,17 \cdot 10^{-4} \text{ mol l}^{-1}$ ; 3-  $8,33 \cdot 10^{-4} \text{ mol l}^{-1}$

#### Analýza vzorků a použití ANN

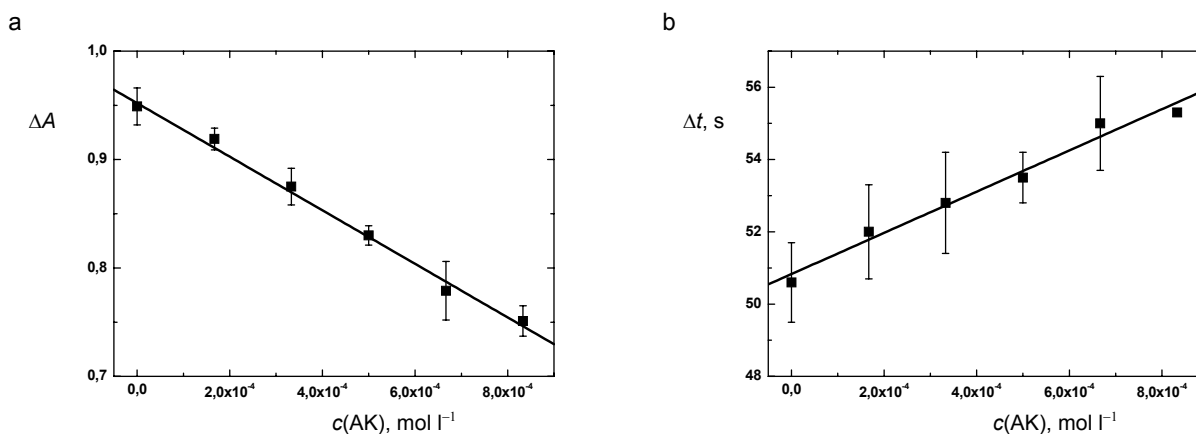
Za optimálních experimentálních podmínek byly zaznamenány průběhy oscilujících systémů pro různé koncentrace kyseliny L-askorbové (obr. 1). Amplituda oscilace se snižuje se zvyšující koncentrací kyseliny L-askorbové, ale oscilační perioda se prodlužuje (obr. 1 a 2). Jak je patrné z obr. 2, měření je opakovatelné a relativně přesné pro experimenty prováděné v průběhu jednoho měsíce. Experimentální body pro závislosti uvedené v obr. 2 byly prolo-

ženy nelineární neváženou regresí a jejich parametry jsou následující:

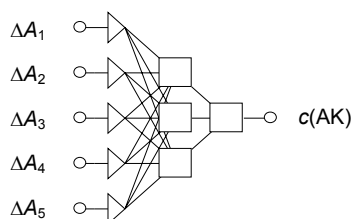
$$\Delta A = (-247 \pm 11) \times c(\text{AK}) + (0,952 \pm 0,005)$$

$$\Delta t = (5703 \pm 386) \times c(\text{AK}) + (50,83 \pm 0,19)$$

které pak byly použity pro stanovení kyseliny L-askorbové v modelových vzorcích. Pro vzorky o koncentraci kyseliny L-askorbové  $4,17 \cdot 10^{-4}$  a  $6,25 \cdot 10^{-4} \text{ mol l}^{-1}$  byly získány z kalibračních grafů (obr. 2) amplitudy oscilace hodnoty  $4,60 \cdot 10^{-4}$  resp.  $6,60 \cdot 10^{-4} \text{ mol l}^{-1}$  a periody oscilace hodnoty  $3,80 \cdot 10^{-4}$  resp.  $6,41 \cdot 10^{-4} \text{ mol l}^{-1}$ . Relativní chyba stano-



Obr. 2. Závislost charakteristických parametrů - (a) amplitudy oscilace,  $\Delta A$ ; (b) oscilační periody,  $\Delta t$ , Bělousova-Žabotinského oscilujícího systému na koncentraci kyseliny L-askorbové; každý bod reprezentuje průměrnou hodnotu ze 12 opakovaných měření získaných během 3 týdnů. Experimentální body byly proloženy lineární neváženou regresí a jejich parametry jsou uvedeny v textu



Obr. 3. Příklad optimální architektury (5:3:1) umělé neuronové sítě (ANN) použité v práci; pět opakovaných měření amplitudy oscilace pro jeden vzorek bylo použito jako hodnoty pro vstupní vrstvu neuronů

vení nepřesahuje 10 %. Tyto výsledky jsou běžně uváděny i v literatuře<sup>12–14</sup>.

Dále jsme zkoumali, zda budou charakteristické parametry oscilujícího systému korelovat se změnou koncentrace analytu a zda bude možné využít této korelace pro stanovení metodou ANN. Jako modelový vzorek byl použit roztok kyseliny L-askorbové o koncentraci  $7,50 \cdot 10^{-4} \text{ mol l}^{-1}$ . Nejdříve byla testována amplituda oscilace jako hodnoty pro vstupní vrstvu neuronů (obr. 2a) pro různé transferové funkce implementované v ANN (obr. 3). Hodnoty koncentrace kyseliny L-askorbové předpovězené metodou ANN s implementovanou transferovou funkcí jsou následující (v závorce jsou uvedeny relativní chyby stanovení): lineární  $7,19 \cdot 10^{-4} \text{ mol l}^{-1}$  (–4,1), logistická  $7,24 \cdot 10^{-4} \text{ mol l}^{-1}$  (–3,5), hyperbolická  $7,30 \cdot 10^{-4} \text{ mol l}^{-1}$  (–2,7). Jak je patrné, tak při použití složitějších transferových funkcí se

sníží relativní chyba stanovení koncentrace kyseliny L-askorbové nepatrně. Když použijeme průměrnou hodnotu amplitudy oscilace (průměrná hodnota získaná z 5 opakovaných měření jako hodnota pro vrstvu vstupních neuronů) pro ANN s lineární transferovou funkcí, pak byla vypočtena hodnota  $7,64 \cdot 10^{-4} \text{ mol l}^{-1}$  pro koncentraci kyseliny L-askorbové. Jestliže použijeme celý záznam  $A = f(t)$  (200 hodnot pro vrstvu vstupních neuronů), pak pro různé transferové funkce implementované v ANN se získají tyto výsledky: lineární  $8,12 \cdot 10^{-4} \text{ mol l}^{-1}$ , logistická  $7,13 \cdot 10^{-4} \text{ mol l}^{-1}$  a hyperbolická  $8,32 \cdot 10^{-4} \text{ mol l}^{-1}$ . V případě spojených dat (205 hodnot = 5 hodnot amplitud  $\Delta A$  a 200 hodnot absorbance v čase,  $A = f(t)$ ) použitých pro vrstvu vstupních neuronů získáme pro lineární transferovou funkci výsledek  $7,28 \cdot 10^{-4} \text{ mol l}^{-1}$ . Použití jiných charakteristických parametrů oscilujícího systému (perioda oscilace, indukční perioda) či jejich kombinací pro vrstvu vstupních neuronů nevedlo k lepším výsledkům.

Reálné vzorky (Celaskon<sup>TM</sup>, ovoce) byly analyzovány za navržených optimálních experimentálních podmínek a vypočtené výsledky jsou uvedeny v tabulce I. Bohužel metoda standardního přidavku nemohla být použita pro značné zakřivení kalibračních závislostí (zejména u vzorků ovoce). Také proto nebyla k vyhodnocení výsledků použita analýza metodou ANN. Pro porovnání výsledků získaných oběma metodami byla použita titrační jodometrická metoda. Výsledky analýz pro Celaskon jsou ve shodě pro obě stanovení (tabulka I), i když nejsprávnějších výsledků bylo dosaženo metodou ANN. Horších výsledků bylo dosaženo u vzorků ovoce kromě kiwi, kde je shoda v rámci chyby měření. Tento systematický rozdíl ve výsledcích je možné vysvětlit buď zakřivením kalibrační závislosti nebo tak, že ve vzorcích jsou přítomny ještě jiné látky (např.

Tabulka I

Stanovení kyseliny L-askorbové v reálných vzorcích. V závorkách jsou uvedeny relativní chyby stanovení

Vzorek	Kinetické stanovení		Titrační stanovení	Deklarovaný obsah
	kalibrační křivka	ANN		
Celaskon100 mg/tableta	110,3 (10,3)	99,5 (–0,5) <sup>a</sup> 99,9 (–0,1) <sup>b</sup> 99,8 (–0,2) <sup>c</sup>	99,1 (–0,9) <sup>d</sup>	100 ± 3
Celaskon250 mg/tableta	264,2 (5,7)	248,7 (–0,5) <sup>a</sup> 249,9 (0,0) <sup>b</sup> 249,8 (–0,1) <sup>c</sup>	240,5 (–3,8)	250 ± 3
Citron mg/100 g	37,6 ± 5,0 <sup>e</sup>	----	16,8	----
Pomeranč mg/100 g	22,4 ± 2,7 <sup>e</sup>	----	12,0	----
Kiwi mg/100 g	56 ± 12 <sup>e</sup>	----	57,5	----

<sup>a</sup> Vstupní hodnoty  $A_t$  (záznam oscilace), architektura ANN (200:2:1), <sup>b</sup> vstupní hodnoty  $\Delta A$  (amplituda oscilace), architektura ANN (5:3:1) – viz obr. 2a, <sup>c</sup> vstupní hodnoty  $\Delta t$  (perioda oscilace), architektura ANN (4:2:1) – viz obr. 2b, <sup>d</sup> průměrná hodnota zjištěná z výsledků osmi nezávislých analýz, <sup>e</sup> průměrná hodnota zjištěná z výsledků čtyř nezávislých analýz

polyfenoly) podléhající oxidaci BŽ oscilujícím systémem, který je silnějším oxidovadlem než redoxní systém jód/jodid.

## Závěr

V této práci je navrženo kinetické stanovení kyseliny L-askorbové s využitím BŽ oscilujícího systému. Jako nejcitlivější charakteristický parametr oscilujícího systému vhodný pro kvantitativní analýzu kyseliny L-askorbové se jeví amplituda oscilace. Dynamický pracovní rozsah  $1,67 \cdot 10^{-4}$  až  $8,33 \cdot 10^{-4}$  mol l<sup>-1</sup> pro stanovení kyseliny L-askorbové platí pro nalezené optimální experimentální podmínky:  $c(\text{BrO}_3^-) = 0,0625$  mol l<sup>-1</sup>;  $c(\text{malonová kyselina}) = 0,1675$  mol l<sup>-1</sup>;  $c(\text{Ce(IV)}) = 0,002$  mol l<sup>-1</sup>;  $c(\text{H}_2\text{SO}_4) = 0,8$  mol l<sup>-1</sup>,  $t = 30$  °C, absorbance měřená při 320 nm. Relativní chyba pro výsledky analýz získané metodou kalibrační křivky pro modelové vzorky nebyla vyšší než 10 %. Taktéž bylo testováno použití metody ANN pro vyhodnocení výsledků, kdy byly použity hodnoty amplitudy oscilací pro vstupní vrstvu neuronů a hodnoty koncentrace kyseliny L-askorbové jako výstupní vrstva neuronů. Dále bylo ukázáno, že implementace lineární transferové funkce (relativní chyba -4,1 %) v ANN je dostatečná, když použití jiných transferových funkcí v ANN vede pouze k mírnému zlepšení získaných výsledků. Analýzou reálných vzorků bylo ukázáno, že navržená metoda je vhodná zejména pro analýzu farmaceutických preparátů (Celaskon™), kde analýzu neruší přítomnost jiných oxidovatelných látek (např. polyfenolů). Tyto látky mohou způsobovat systematickou chybu, jak bylo demonstrováno analýzou vzorků ovoce (zejména citrusových plodů).

*Tato práce byla podporována grantem GA ČR (grant 203/02/1103).*

## LITERATURA

1. Kleszczewska E.: *Pharmazie* 55, 640 (2000).
2. Arya S. P., Mahajan M., Jain P.: *Anal. Sci.* 14, 889 (1998).
3. Arya S. P., Mahajan M., Jain P.: *Anal. Chim. Acta* 417, 1 (2000).
4. Yebra-Biurrun M. C.: *Talanta* 52, 367 (2000).
5. Zaporozhets O. A., Krushinskaya E. A.: *J. Anal. Chem.* 57, 286 (2002).

6. Jiménez-Prieto R., Silva M., Pérez-Bendito D.: *Analyst* 123, 1R (1998).
7. Tockstein A., Treindl L.: *Chemické oscilace*. Academia, Praha 1986.
8. Jiménez-Prieto R., Silva M., Pérez-Bendito D.: *Anal. Chem.* 67, 729 (1995).
9. Ventura S., Silva M., Peréz-Bendito D., Hervás C.: *J. Chem. Inf. Comput. Sci.* 37, 287 (1997).
10. Hervás C., Toledo R., Silva M.: *J. Chem. Inf. Comput. Sci.* 41, 1083 (2001).
11. Záděrová L.: *Diplomová práce*. Masarykova univerzita, Brno 2004.
12. Jiménez-Prieto R., Silva M., Pérez-Bendito D.: *Analyst* 122, 287 (1997).
13. Gao J., Yang H., Liu X., Ren J., Lu X., Hou J., Kang J.: *Talanta* 55, 99 (2001).
14. Shu-Tao Y., Zhi-Xin L., Ru-Xin C., Nan-Qin G.: *Chin. J. Chem.* 20, 1019 (2002).
15. Harris D. C., v knize: *Quantitative Chemical Analysis*, str. 747. W. H. Freeman, New York 1991.
16. Láňová B., Věšťál J.: *J. Phys. Chem., A* 106, 1228 (2002).
17. Hlaváčová J., Adamčíková L., Ševčík P.: *Chem. Listy* 86, 796 (1992).

### L. Záděrová and P. Lubal (Department of Analytical Chemistry, Faculty of Science, Masaryk University, Brno): Kinetic Determination of L-Ascorbic Acid Using an Oscillating Chemical System

A kinetic determination of L-ascorbic acid based on the Belousov-Zhabotinskii oscillating system was proposed. Optimal conditions are:  $[\text{BrO}_3^-] = 0.0625$  mol l<sup>-1</sup>,  $[\text{malonic acid}] = 0.1675$  mol l<sup>-1</sup>,  $[\text{Ce(IV)}] = 0.002$  mol l<sup>-1</sup>,  $[\text{H}_2\text{SO}_4] = 0.8$  mol l<sup>-1</sup>, temperature 30 °C. Absorbance was measured at 320 nm. For model samples, the calibration curve method gives the values with relative error lower than 10 %. The application of artificial neural networks (ANN) for the calculation of results was demonstrated. The best results were obtained for the optimal ANN architecture using the oscillation amplitude as the value for layer of input neurons and L-ascorbic acid concentration as the layer of output neuron (relative error < 5 %). The proposed method is suitable for the analysis of pharmaceutical preparations (Celaskon™) but not for analysis of citrus fruits due to the presence of other oxidizable compounds.