

# Związki chromu(VI) – frakcja wdychalna

Metoda oznaczania w powietrzu  
na stanowiskach pracy z zastosowaniem  
chromatografii jonowej<sup>1</sup>

Chromium(VI) compounds – inhalable fraction  
Determining in workplace air  
with ionic chromatography

---

*dr hab. MAŁGORZATA SZEWCZYŃSKA, prof. nadzw. CIOP-PIB*  
*e-mail: mapol@ciop.pl*  
*dr MAŁGORZATA POŚNIAK*  
*e-mail: mapos@ciop.pl*  
*Centralny Instytut Ochrony Pracy –*  
*Państwowy Instytut Badawczy*  
*00-701 Warszawa*  
*ul. Czerniakowska 16*

Numer CAS –

**Słowa kluczowe:** związki chromu(VI), metoda analityczna, chromatografia jonowa, frakcja wdychalna.

**Keywords:** chromium(VI) compounds, analytical method, ion chromatography, inhalable fraction.

## Streszczenie

Głównymi źródłami zanieczyszczenia środowiska związkami chromu(VI), (Cr(VI)) są: przemysł metalurgiczny, hutniczy i górniczy oraz garbarnie. Ponadto, związki chromu(VI) znalazły zastosowanie do produkcji: barwników, pigmentów i farb, a także środków konserwujących drewno. Jednym ze źródeł narażenia na związki chromu w warunkach zawodowych są procesy spawania. Długotrwałe zawodowe narażenie na związki chromu(IV) zwiększa ryzyko wystąpienia raka: płuc, zatok oraz jamy nosowej.

Celem pracy było opracowanie selektywnej metody oznaczania związków chromu(VI) w powietrzu na stanowiskach pracy z wykorzystaniem połączenia techniki chromatografii jonowej z derywatyzacją podkolumnową.

Metoda polega na wyodrębnieniu frakcji wdychalnej związków chromu(VI) na filtrze z zastosowaniem próbnika typu I.O.M. oraz ekstrakcji 10 ml roztworu 2% wodorotlenku sodu/3% węgla sodu. Oznaczenia prowadzono w układzie chromatografii jonowej

<sup>1</sup> Publikacja opracowana na podstawie wyników uzyskanych w ramach III etapu programu wieloletniego „Poprawa bezpieczeństwa i warunków pracy”, dofinansowanego w latach 2014-2016 w zakresie służb państwowych przez Ministerstwo Rodziny, Pracy i Polityki Społecznej.

Koordinator programu: Centralny Instytut Ochrony Pracy – Państwowy Instytut Badawczy.

z detekcją UV-VIS po przeprowadzeniu reakcji kompleksowania chromu(VI) z 1,5-difenylokarbazydem (DPC) i spektrofotometrycznym oznaczeniu powstałego kompleksu Cr(VI)-DPC.

Na podstawie wyników przeprowadzonych badań ustalono zakres pomiarowy metody  $0,072 \div 1,44 \mu\text{g/mL}$  dla związków chromu(VI). Zbadano precyzję, współczynnik odzysku chromu z filtrów, granicę wykrywalności i oznaczalności. Obliczono również niepewność całkowitą, która wynosi 12,2%. Niepewność rozszerzona dla chromu(VI) jest równa 24,3%. Opracowana metoda

pozwała na rozdzielenie i ilościowe oznaczenie związków chromu(VI) w obecności związków chromu(III) w próbkach powietrza, unikając niepożądanych reakcji przejścia jednej formy chromu do drugiej, na poziomie  $0,0009 \text{ mg/m}^3$  dla związków chromu(VI) w przeliczeniu na Cr przy pobieraniu 720 L powietrza.

Opracowana metoda oznaczania związków chromu(VI) w powietrzu na stanowiskach pracy została zapisana w postaci procedury analitycznej, którą zamieszczono w załączniku.

## Summary

The metallurgical, mining and tanning industries are, among others, very important sources of chromium compounds emission to the environment. Moreover, chromium is widely used in the production of dyes, pigments, paints and wood preservatives. Welding processes are one of the sources of exposure to chromium compounds under occupational conditions. Long-term occupational exposure to Cr(VI) chromium compounds increases the risk of developing lung or nasal cancer.

The aim of the study was to develop a method for selective determination of Cr(VI) compounds in the workplace air with a combination of ion chromatography technique and post-column derivatisation.

The method is based on separating the inhalable fraction of chromium(VI) compounds on a filter using an I.O.M. type probe, extraction with 10 mL of 2% sodium hydroxide/3% sodium carbonate solution and

further analysis with ionic chromatography with a post-column reaction of Cr(VI) with 1.5-diphenyl carbazide (DPC) and spectrophotometric determination of the formed Cr(VI)-DPC complex.

The measuring range for chromium (VI) compounds is  $0.072\text{--}1.44 \mu\text{g/mL}$ . Precision, chromium recovery from filters, limit of detection and quantification were calculated. The overall uncertainty was 12.2%. The expanded uncertainty for Cr(VI) was 24.3%. The developed method enables the separation and quantification of Cr(VI) compounds in the presence of Cr(III) compounds in air samples (avoiding adverse reactions of one form of chromium to another) at a level of  $0.0009 \text{ mg/m}^3$  for Cr(VI) compounds converted into Cr at 720-L intake of air. The procedure for determining chromium(VI) compounds is included in the annex.

## WPROWADZENIE

Chrom został odkryty w 1798 roku przez francuskiego chemika L.N. Vauquelina. Nazwa pierwiastka pochodzi od greckiego słowa chroma – barwa. Chrom jest srebrzystobiałym, twardym metalem, dobrze przewodzącym ciepło i elektryczność. Metal ten znajduje się w 6. grupie układu okresowego w bloku d. Metaliczny chrom jest średnio aktywny chemicznie. Roztwarza się w rozcieńczonym kwasie siarkowym i solnym. Natomiast pod wpływem stężonych kwasów utleniających (m.in.  $\text{HNO}_3$ ) metal łatwo ulega pasywacji, pokrywając się warstwą tlenków. Chrom w związkach występuje na różnych stopniach utlenienia – od 0 do VI. Jednak tylko dwa jony, Cr(III) oraz Cr(VI), wykazują wystarczającą trwałość i stabilność, aby mogły znajdować się w próbkach środowiskowych. Pośrednie takie stopnie utlenie-

nia, jak: Cr(II), Cr(IV) oraz Cr(V), są niestabilnymi produktami powstającymi w wyniku reakcji utlenienia lub redukcji trójwartościowego i sześciowartościowego chromu. Związki, które zawierają chrom na I, IV i V stopniu utlenienia są trwałe jedynie w stanie stałym. Natomiast chrom(IV) i chrom(V) w roztworach wodnych ulegają dysproporcjonowaniu na chrom(III) i chrom(VI), (Bieleński 2010).

Związki chromu(VI), (Cr(VI)) znalazły zastosowanie głównie w powlekanii metali (chromowaniu) i produkcji: barwników, inhibitorów korozji, materiałów ogniotrwałych, garbników oraz środków konserwujących drewno, a także w różnych syntezach chemicznych. W Polsce, w latach 2005-2012, na podstawie informacji przesłanych do Centralnego Rejestru Danych o Narażeniu na Substancje,

Preparaty, Czynniki lub Procesy Technologiczne o Działaniu Rakotwórczym lub Mutagennym prowadzonego przez Instytut Medycyny Pracy w Łodzi, najbardziej powszechnie był stosowany dichromian(VI) potasu. W ostatnich dwóch latach związek ten zgłaszało rocznie około 400 zakładów pracy, a liczba osób narażonych przekraczała 4 tysiące (Skowroń, Konieczko 2016). Powtarzający się kontakt pyłów chromu(VI) ze skórą może być przyczyną wypryskowego zapalenia skóry z obrzękiem. Kontakt skóry z roztworami wodnymi chromianów(VI) może powodować uszkodzenia, znane jako dziury chromowe lub owrzodzenia chromowe. Aerozole związków chromu(VI) mogą działać drażniąco na spojówki oczu, a także powodować owrzodzenie nosa i perforację przegrody nosowej oraz zapalenia dziąseł i przyzębia. Podczas narażenia drogą inhalacyjną związki chromu(VI) mogą być przyczyną uczulenia dróg oddechowych – astmy. Na podstawie wyników przeprowadzonych badań wykazano, że długotrwałe narażenie na małe dawki/stężenia związków chromu(VI) może być przyczyną odwracalnego uszkodzenia kanalików nerkowych oraz zaburzenia czynności wątroby. Niektóre z tych związków, np. dichromian(VI) potasu czy tritlenek chromu, działają żrąco lub drażniąco na błony śluzowe układu pokarmowego. Połknięcie dużej dawki chromianów(VI) może być przyczyną zapaści sercowo-naczyniowej i zgonu. Długotrwałe zawodowe narażenie na

związki chromu(VI) zwiększa ryzyko wystąpienia raka: płuc, jamy nosowej i zatok (Skowroń, Konieczko 2016).

Za podstawę ustalenia wartości najwyższego dopuszczalnego stężenia (NDS) przyjęto ocenę ryzyka wzrostu liczby przypadków raka płuca w grupie 1 000 pracowników zawodowo narażonych na związki chromu(VI) przez cały czas pracy zawodowej i obserwowanych do 85. roku życia. Międzyresortowa Komisja ds. NDS i NDN zaproponowała przyjęcie wartości NDS dla związków chromu(VI) – w przeliczeniu na Cr – na poziomie 0,01 mg/m<sup>3</sup>, przy której liczba dodatkowych przypadków raka płuca wyniesie 1 ÷ 6 na 1 000 osób zatrudnionych w tych warunkach przez cały okres aktywności zawodowej (Skowroń, Konieczko 2016).

Celem badań było opracowanie selektywnej metody oznaczania związków chromu(VI) w obecności związków chromu(III) w powietrzu na stanowiskach pracy na poziomie 1/10 wartości najwyższego dopuszczalnego stężenia zaproponowanego przez Międzyresortową Komisję i przekazanego we wniosku do Ministra Rodziny, Pracy i Polityki Społecznej.

## CZEŚĆ DOŚWIADCZALNA

### Aparatura, odczynniki i materiały

Do analizy stosowano: chromatograf Dionex ICS-500 wyposażony w automatyczny podajnik próbek Dionex AS-AP i detektor UV-VIS firmy Termo Scientific, mieszadło magnetyczne firmy Wigo i pH meter CP-551 firmy Elmktron.

Do pobierania próbek wykorzystano: próbnik I.O.M. Inhalable Sampler firmy SKC Inc., filtr z polichlorku winylu PVC, filtr kwarcowy i filtr z włókna szklanego GFA 25 mm firmy Whatman, aspirator AP-8 firmy TWO-MET oraz pompkę ssącą firmy Gilian.

W badaniach zastosowano następujące odczynniki i materiały: 1,5-difenylokarbazyd (DPC) firmy Sigma Aldrich, kwas siarkowy(VI), (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) 96% firmy Merck, metanol (CH<sub>3</sub>OH) firmy Merck, azotan(V)chromu(III) dziewięciowodny Cr(NO<sub>3</sub>)<sub>3</sub> · 9H<sub>2</sub>O firmy Sigma Aldrich, firmy Sigma Aldrich, siarczan amonu (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> firmy Merck, roztwór amoniaku (NH<sub>3</sub>) 25% firmy Merck, wodorotlenek sodu (NaOH) firmy Merck, węglan sodu (Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>) firmy Merck oraz wodę dejonizowaną o przewodności 18 MΩ/cm.

## WYNIKI BADAŃ I ICH OMÓWIENIE

### Ustalenie warunków pracy układu chromatografii jonowej z detekcją UV-VIS

Do oznaczania związków chromu(VI) zastosowano kolumnę analityczną IonPac CS5A o długości 250 mm i średnicy wewnętrznej 4 mm. Zastosowano również kolumnę ochronną (przedkolumnę) IonPac CG5A (4 × 50 mm). Użyta do badań kolumna analityczna była kolumną jonowymienną o wysokiej rozdzielczości, przeznaczoną do oznaczania metali przejściowych oraz metali z grupy lantanowców w próbkach o różnych matrycach. Wypełnienie kolumny analitycznej stanowiła dwufunkcyjna żywica, umożliwiająca jednoczesne oznaczanie typowych

jonów metali przejściowych. Żywica ta zawiera unieruchomione w strukturze polimeru kationowe (grupy sulfonowe) i anionowe (czwartorzędowe sole amoniowe) wymienne jonowe.

Kolumna CS5A w połączeniu z derywatyzacją podkolumnową i detekcją spektrofotometryczną w zakresie widzialnym umożliwia selektywne oznaczenie metali przejściowych.

Fazą ruchomą, użytą w analizie chromu(VI), była mieszanina 0,2 mol/L siarczanu amonu/0,1 mol/L wodorotlenku amonu. Odczynnikiem kompleksującym był alkoholowy roztwór 1,5-difenylokarbazydu (DPC) w środowisku kwaśnym. Warunki pracy chromatografu jonowego przedstawiono w tabeli 1.

Tabela 1.

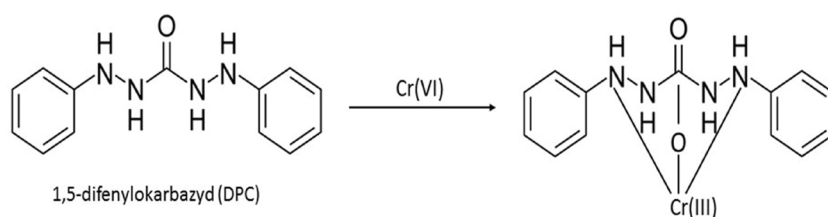
Warunki pracy chromatografu jonowego

Parametry badane	Ustalone warunki
Kolumna	IonPac CS5A, 4 × 250 mm
Faza ruchoma	roztwór 0,2 mol/L (NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> / 0,1 mol/L NH <sub>4</sub> OH
Przepływ objętości	1 mL/min
Objętość próbki	100 μL
Objętość pętli reakcyjnej	375 μL
Odczynnik pokolumnowy	2 mmol/L DPC/10% CH <sub>3</sub> OH/0,9N H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>
Przepływ objętości	0,5 mL/min
Detekcja	spektrofotometryczna
Długość fali	530 nm
Czas retencji	2,325 min

### Optymalizacja warunków kompleksowania związków chromu(VI)

Istnieje możliwość bezpośredniego oznaczania związków chromu(VI) techniką wysokosprawnej chromatografii cieczowej z detekcją spektrofotometryczną. Jednak większe możliwości daje technika derywatyzacji – przeprowadzenie chromu(VI) w barwny kompleks wykrywany przez detektor UV/VIS. Odczynnikiem użytym do reakcji podkolumnowej był alkoholowy roztwór 1,5-difenylo-

karbazydu w środowisku kwaśnym. W środowisku kwaśnym jony chromu(VI) utleniają 1,5-difenylokarbazyd (DPC) do 1,5-difenylokarbazonu (DPCO), natomiast same ulegają redukcji do chromu(III). Powstały kompleks Cr<sup>3+</sup> z difenylokarbazonem Cr(III) (DPCO) ma barwę fioletową i absorbuje promieniowanie elektromagnetyczne w zakresie widzialnym. Reakcję kompleksowania można przedstawić według schematu przedstawionego na rysunku 1.



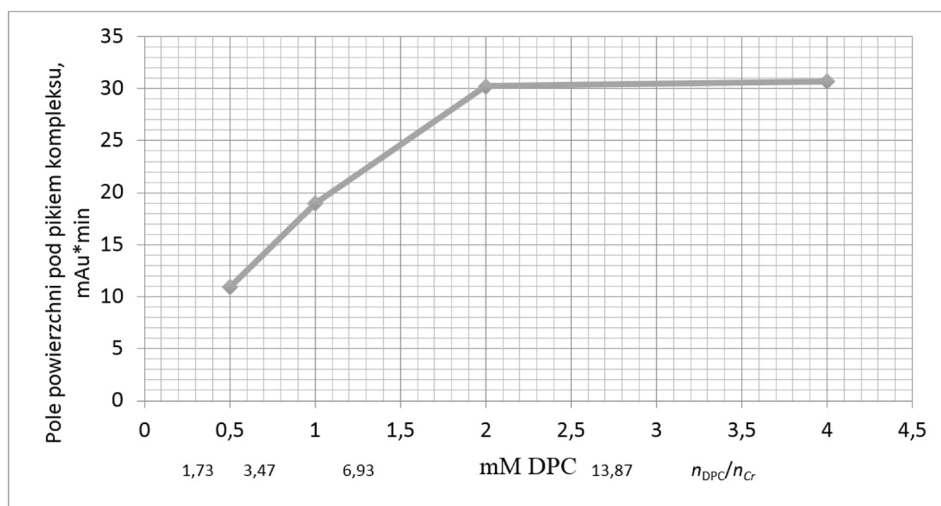
1,5-difenylokarbazonu Cr(III) kompleks (Cr(VI)-DPC

Rys. 1. Schemat reakcji kompleksowania

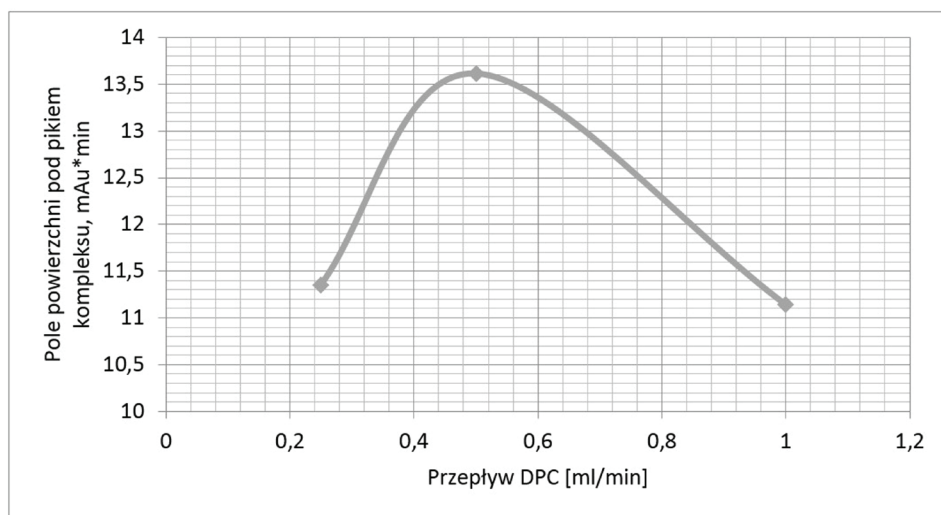
W celu ustalenia stężenia czynnika kompleksującego jony chromu(VI), zbadano wpływ stężenia DPC na pole powierzchni pod pikiem otrzymanego kompleksu chromu (rys. 2.).

Badano następujące stężenia DPC: 0,5; 1; 2 i 4 mmol/L. Stężenie powyżej 4 mmol/L powodowało wytrącenie się osadu. Oszacowano również stosunek molowy odczynnika kompleksującego DPC do jonów chromu(VI),  $(\frac{n_{DPC}}{n_{Cr(VI)}})$ . Uzyskane wyniki wskazują, że wzrost stężenia DPC powyżej 2 mmol/L nie powoduje wzrostu powierzchni piku

kompleksu. Maksimum absorbancji kompleksu (największa powierzchnia piku) otrzymano, gdy stosunek molowy odczynnika kompleksującego DPC do jonów chromu(VI) wynosił około 7. Na podstawie wyników przeprowadzonych badań ustalono stężenie odczynnika DPC na poziomie 2 mmol/L. Ustalając warunki kompleksowania jonów chromu(VI) zbadano również wpływ szybkości podawania odczynnika kompleksującego DPC na pole powierzchni pod pikiem kompleksu (rys. 3.).



Rys. 2. Wpływ stężenia odczynnika kompleksującego DPC na pole powierzchni piku kompleksu. Stężenie chromu(VI) – 1,5 µg/mL



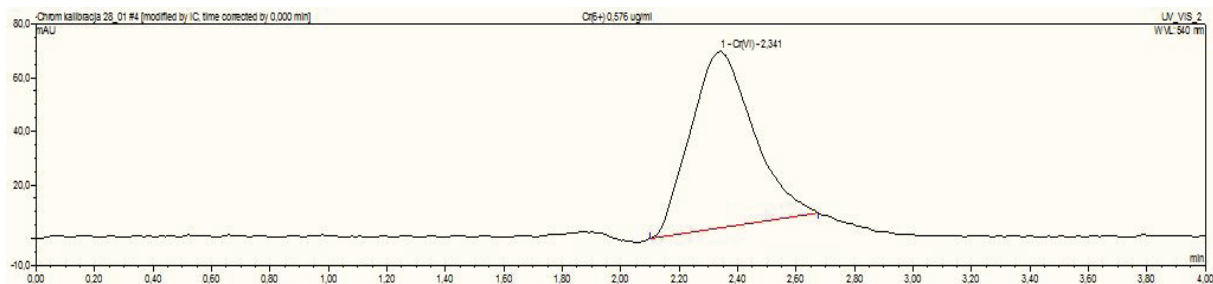
Rys. 3. Wpływ szybkości przepływu odczynnika kompleksującego DPC na pole powierzchni piku kompleksu. Stężenie chromu(VI) – 1,5 µg/mL

Badano następujące prędkości przepływu odczynnika DPC: 0,25; 0,5 i 1 mL/min. Optymalna prędkość podawania DPC wynosiła 0,5 mL/min.

Optymalne dla danych parametrów chromatograficznych warunki reakcji kompleksowania osiągnięto, gdy stężenie czynnika kompleksującego

DPC jest równe 2 mmol/L, natomiast szybkość przepływu tego odczynnika wynosi 0,5 mL/min. Na rysunku 4. przedstawiono przykładowy chromatogram otrzymanego kompleksu po ustaleniu optymalnych warunków reakcji kompleksowania. Sygnał był mierzony przy długości fali 540 nm.





Rys. 4. Chromatogram roztworu wzorcowego otrzymanego kompleksu. Stężenie chromu(VI) – 0,576 µg/mL

### Ustalenie warunków pobierania próbek powietrza

Do wyodrębnienia związków chromu(VI) z powietrza zastosowano próbniki typu „I.O.M. Personal Inhalable PM Sampler”. W celu ustalenia warunków pobierania próbek powietrza określono: rodzaj filtrów, objętość pobieranego powietrza oraz przepływ objętości powietrza.

Zestaw do pobierania próbek powietrza składał się z próbnika, który zawierał filtr do zbierania związków zawartych w powietrzu. W przypadku próbnika I.O.M. można było zastosować filtry: z polichlorku winylu, kwarcowe oraz z włókna szklanego. Filtry z mieszaniny celulozowo-estrowej (MCE) nie były badane, ponieważ mogą powodować znaczną redukcję sześciowartościowego chromu (dane literaturowe). Podobne skutki mogą wywoływać niektóre partie filtrów PVC, dlatego przed użyciem należy je sprawdzić pod kątem redukcji jonów chromu(VI).

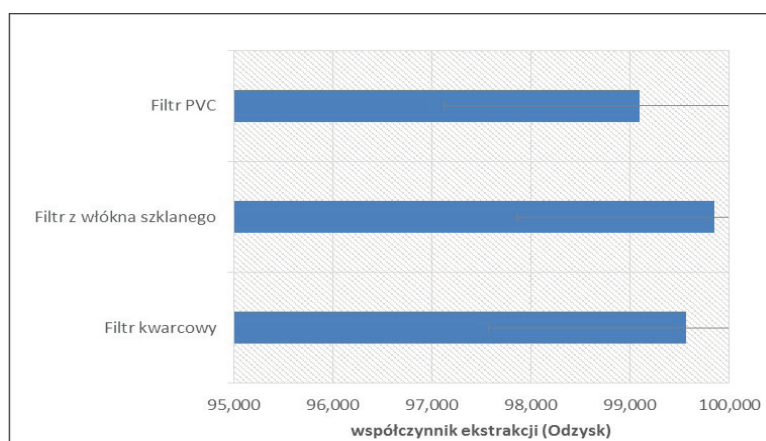
Szybkość pobierania powietrza dla frakcji wdychalnej wynosiła 2 L/min (dla próbnika „I.O.M. Personal Inhalable PM Sampler”). Czas pobierania próbek w dozymetrii indywidualnej powinien wynosić 6 ÷ 8 h (360 ÷ 480 min).

Do oznaczenia związków chromu(VI) w powietrzu na stanowiskach pracy pobrano 720 L powietrza w czasie 360 min.

### Ustalenie warunków ekstrakcji (odzysku) związków chromu z filtrów

W celu wymycia związków chromu(VI) z: filtrów z PVC, filtra kwarcowego i włókna szklanego, zastosowano roztwór 2% wodorotlenku sodu (m/v)/3% węglanu sodu (m/v). Na sześć filtrów: PVC, kwarcowych i z włókna szklanego, umieszczonych w zlewkach, nakroplono po: 100; 40 i 10 µL roztworu wzorca chromu(VI) o stężeniu 144 µg/mL. Filtry pozostawiono do wyschnięcia. Następnie dodano 10 ml roztworu 2% wodorotlenku sodu (m/v)/3% węglanu sodu (m/v), przez który wcześniej (przez 5 min) przepuszczano azot w celu usunięcia tlenu. Ekstrakcję prowadzono na płycie grzejnej w temperaturze 135 °C przez 60 ÷ 90 min, wstrząsając od czasu od czasu zawartością zlewki. Istotne jest, aby nie dopuścić do całkowitego odparowania roztworu ze zlewki. Następnie zawartość zlewek ochłodzono do temperatury pokojowej i przenoszono ilościowo do kolb pomiarowych o pojemności 10 mL, a następnie dopełniono wodą dejonizowaną. Roztwory z kolb przesączono przez filtr strzykawkowy 0,45 µm do naczynek (do autosamplera) i poddano analizie. Na rysunku 5. przedstawiono otrzymane wyniki.

Na podstawie przedstawionego rysunku 5. można stwierdzić, że wydajność ekstrakcji chromu(VI), niezależnie od rodzaju filtra, była powyższej 99%.



Rys. 5. Odzysk chromu(VI) w zależności od rodzaju użytego filtra

### Sprawdzenie wpływu związków chromu(III) na wyniki analizy chromu(VI)

Do kolby miarowej na 100 ml odważono 0,769 g dwięciowodnego azotanu chromu ( $\text{Cr}(\text{NO}_3)_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$ ) i dopełniono wodą dejonizowaną do kreski. W ten sposób uzyskano roztwór chromu(III) o stężeniu 1 000  $\mu\text{g}/\text{mL}$ .

W celu sprawdzenia wpływu związków chromu(III) na wyniki analizy chromu(VI) umieszczono w zlewkach o pojemności 25 ml trzy różne filtry o średnicy 25 mm. Na filtry nakropiono po 40  $\mu\text{l}$  roztworu chromu(VI) o stężeniu 144  $\mu\text{g}/\text{mL}$  i po 20  $\mu\text{l}$  roztworu chromu(III) o stężeniu 1000  $\mu\text{g}/\text{mL}$ . Następnie dodano 10 ml (odpowietrzonego azotem przez 5 min) roztworu do ekstrakcji tj. 2% (m/v)

$\text{NaOH}/3\%$  (m/v)  $\text{Na}_2\text{CO}_3$ , i postępowano jak przy wyznaczaniu wydajności ekstrakcji. Jednocześnie przygotowano roztwory kontrolne chromu(VI) o stężeniu 0,576  $\mu\text{g}/\text{mL}$  i chromu(III) o stężeniu 2  $\mu\text{g}/\text{mL}$  oraz 4  $\mu\text{g}/\text{mL}$ , a także próbki zerowe zawierające czysty ekstrakt filtrów. Dalej postępowano jak przy ustalaniu warunków ekstrakcji.

Całe oznaczenie powtórzono dla kolejnych trzech filtrów o średnicy 25 mm. Na filtry nakropiono po 40  $\mu\text{l}$  roztworu chromu(VI) o stężeniu 144  $\mu\text{g}/\text{mL}$  i po 40  $\mu\text{l}$  roztworu chromu(III) o stężeniu 1 000  $\mu\text{g}/\text{mL}$ . Otrzymane wyniki przedstawiono w tabeli 2.

Uzyskane wyniki wskazują, że przy opisanym sposobie wmywania związku chromu(III) nie wpływają na wynik oznaczania chromu(VI).

**Tabela 2.**  
**Wyniki badania wpływu chromu(III) na wartość chromu(VI)**

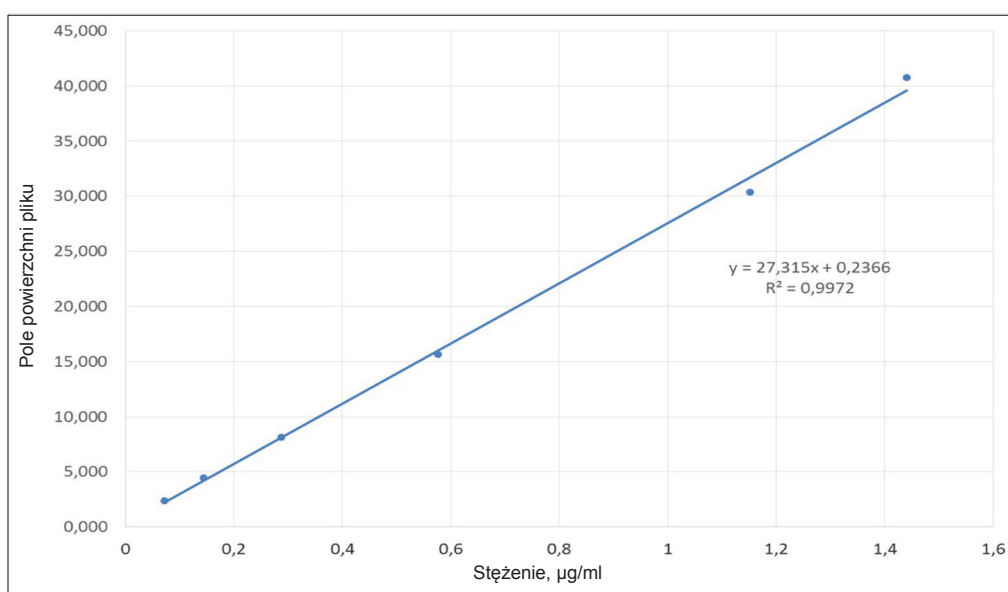
Badana próbka	Stężenie Cr(VI), $\mu\text{g}/\text{mL}$	Stężenie Cr(III), $\mu\text{g}/\text{mL}$	Powierzchnia piku Cr(VI) przy $\lambda = 540 \text{ nm}$ , mAU* min	Średnia powierzchnia piku Cr(VI)
Filtr kwarcowy z 40 $\mu\text{l}$ Cr(VI) i 20 $\mu\text{l}$ Cr(III)	0,576	2	17,0604 17,0811	17,0708
Filtr z włókna szklanego z 40 $\mu\text{l}$ Cr(VI) i 20 $\mu\text{l}$ Cr(III)	0,576	2	17,0487 17,1308	17,0898
Filtr z PVC z 40 $\mu\text{l}$ Cr(VI) i 20 $\mu\text{l}$ Cr(III)	0,576	2	17,0527 17,0452	17,0489
Roztwór kontrolny 40 $\mu\text{l}$ Cr(VI) i 20 $\mu\text{l}$ Cr(III)	0,576	2	17,6006 17,7198	17,6602
Filtr kwarcowy z 40 $\mu\text{l}$ Cr(VI) i 40 $\mu\text{l}$ Cr(III)	0,576	4	17,056 17,076	17,0660
Filtr z włókna szklanego z 40 $\mu\text{l}$ Cr(VI) i 40 $\mu\text{l}$ Cr(III)	0,576	4	17,087 17,114	17,1005
Filtr z PVC z 40 $\mu\text{l}$ Cr(VI) i 40 $\mu\text{l}$ Cr(III)	0,576	4	17,123 17,134	17,1285
Roztwór kontrolny 40 $\mu\text{l}$ Cr(VI) i 40 $\mu\text{l}$ Cr(III)	0,576	4	17,737 17,6861	17,7117
Próbka zerowa – filtr kwarcowy			0,0412	
Próbka zerowa – włókno szklane			0,0886	–
Próbka zerowa – PVC			0,0324	
Roztwór wzorcowy Cr(III)	–		0,0123	0,0322
Roztwór wzorcowy Cr(III)	–		0,0522	
Roztwór wzorcowy Cr(III)			0,0248	0,0203
Roztwór wzorcowy Cr(III)			0,0157	
Roztwór wzorcowy Cr(VI)			17,1382	17,4223
Roztwór wzorcowy Cr(VI)	0,576	–	17,7063	

## Ustalenie zakresu pomiarowego i badania kalibracyjne

W celu sporządzenia krzywej kalibracyjnej przygotowano trzy serie roztworów wzorcowych roboczych związków chromu(VI) w zakresie stężeń Cr –  $0,07 \div 1,44 \mu\text{g/mL}$ . Wykonano analizę chromatograficzną roztworów wzorcowych roboczych, wprowadzając do chromatografu za pomocą pętli dozującej 100  $\mu\text{L}$  próbki. Każdy roztwór wzorcowy analizowano dwukrotnie, odczytano pola powierzchni pod pikiem i obliczono średnią arytmetyczną. Następnie sporządzono krzywą kalibracyjną. Wyniki przeprowadzonych badań kalibracji przedstawiono w tabeli 3., a przykładowy wykres krzywej kalibracyjnej jonów chromu(VI) na rysunku 6.

**Tabela 3.**  
Wyniki badania wpływu chromu(III) na wartość chromu(VI)

Stężenie $x$ , $\mu\text{g/ml}$	Średnia powierzchnia pików, $y_{\text{sr}}$			Średnia powierzchnia z serii I-III ( $y_{\text{sr.I-III}}$ )	Odchylenie standardowe, $S$	Współczynnik zmienności, $V$ , % $V = (S/y_{\text{sr.I-III}}) 100\%$	Współczynnik kalibracji, $B$ ( $f(c) = y/x$ )
	I seria	II seria	III seria				
0,072	2,491	2,254	2,429	2,391	0,1229	5,14	33,21
0,144	4,458	4,294	4,561	4,437	0,1347	3,03	30,81
0,288	8,076	8,118	8,284	8,159	0,1099	1,35	28,33
0,576	15,284	15,971	15,692	15,649	0,3457	2,21	27,17
1,152	30,223	30,017	30,813	30,351	0,4133	1,36	26,35
1,44	39,033	41,126	42,042	40,734	1,5423	3,79	28,29
Krzywa kalibracji $Y = Bx + A$	$26,37x + 0,45$	$27,5x + 0,14$	$28,08x + 0,12$	$27,32x + 0,24$			
Współczynnik korelacji, $R$	0,9996	0,9978	0,9978	0,9986			
Średnia wartość współczynnika kalibracji						29,03	
Odchylenie standardowe współczynnika kalibracji, $S_b$						2,54	
Współczynnik zmienności współczynnika kalibracji, $n_{\text{kal}}$ , %						8,75	



**Rys. 6.** Krzywa kalibracji chromu(VI)



Na podstawie przeprowadzonych badań ustalono zakres metody, który wynosi  $0,07 \div 1,44 \mu\text{g/mL}$ , co odpowiada stężeniu chromu(VI) w powietrzu  $0,001 \div 0,02 \text{ mg/m}^3$  przy pobieraniu próbki powietrza o objętości 720 L. Dla chromu(VI) równanie prostej przyjmuje postać  $y = 27,315 - 0,2366x$ . Współczynnik nachylenia „b” krzywej kalibracji o równaniu  $y = bx + a$ , charakteryzujący czułość metody, wynosi 27,315. Średni współczynnik korelacji charakteryzujący liniowość krzywej kalibracji wynosi 0,9986.

### Badanie precyzji

W celu wyznaczenia precyzji oznaczeń kalibracyjnych przygotowano sześć serii roztworów wzorcowych chromu(VI) o stężeniach: 0,072; 0,576 i 1,44  $\mu\text{g/mL}$ . Następnie każdy z roztworów poddano dwukrotnie analizie. Wykonano analizę chromatograficzną w identycznych warunkach jak przy wykonaniu oznaczeń kalibracyjnych.

Miarą precyzji jest odchylenie standardowe (s). Mała wartość tego parametru wskazuje na dużą precyzję. Z danych uzyskanych z chromatogramów (powierzchnie pików) obliczono odchylenie standardowe (s) oraz współczynnik zmienności (vi).

Następnie wyznaczono średnią precyzję, jako średni współczynnik zmienności dla danego zakresu stężeń, korzystając ze wzoru:

$$v_{\text{zakresu}} = \sqrt{\frac{\sum (n_i - 1) \cdot v_i^2}{\sum (n_i - 1)}}$$

w którym:

- $n_i$  – liczba próbek,
- $v_{\text{zakresu}}$  – średni współczynnik zmienności dla danego zakresu stężeń,
- $v_i$  – współczynnik zmienności dla danego poziomu stężeń.

Wyniki badania precyzji oznaczania chromu(VI) przedstawiono w tabeli 4.

Na podstawie wyników badań przedstawionych w tabeli 5. wykazano, że całkowita precyzja badania związków chromu(VI) wynosi 3,39%. Z uzyskanych wyników można stwierdzić zgodność między wynikami uzyskanymi z serii pomiarów przeprowadzonych w danym laboratorium przez danego analityka, przy użyciu tego samego przyrządu pomiarowego.

**Tabela 4.**  
**Wyniki badania precyzji oznaczania jonów chromu(VI)**

Powierzchnia pików wg wskazań analitycznej stacji komputerowej	Średnia z powierzchni	Powierzchnia pików wg wskazań analitycznej stacji komputerowej	Średnia z powierzchni	Powierzchnia pików wg wskazań analitycznej stacji komputerowej	Średnia z powierzchni
I seria – roztwór o stężeniu 0,072 $\mu\text{g/mL}$		II seria – roztwór o stężeniu 0,576 $\mu\text{g/mL}$		III seria – roztwór o stężeniu 1,44 $\mu\text{g/mL}$	
2,2282	2,2561	14,5119	15,2060	38,0414	38,9517
2,2839		15,9003		39,8619	
2,1769	2,1973	15,4262	15,0450	38,4285	38,9760
2,2177		14,6646		39,5235	
2,0434	2,1118	15,3644	15,3400	38,5471	38,0497
2,1802		15,3161		37,5523	
2,0377	2,0641	15,5683	15,5240	39,7936	39,0129
2,0905		15,4800		38,2322	
2,1185	2,1400	16,1110	15,9800	36,8253	37,0400
2,1556		15,8567		37,2452	
2,0092	2,0400	16,4690	16,4200	38,6161	39,1400
2,0757		16,3666		39,6606	
2,1481	2,1900	16,1430	16,0400	37,3322	37,9100
2,2230		15,9464		38,497	
2,0802	2,1300	16,6527	16,2100	38,6724	38,7300
2,1732		15,7753			

cd. tab. 4.

Powierzchnia pików wg wskazań analitycznej stacji komputerowej	Średnia z powierzchni	Powierzchnia pików wg wskazań analitycznej stacji komputerowej	Średnia z powierzchni	Powierzchnia pików wg wskazań analitycznej stacji komputerowej	Średnia z powierzchni
I seria – roztwór o stężeniu 0,072 µg/mL		II seria – roztwór o stężeniu 0,576 µg/mL		III seria – roztwór o stężeniu 1,44 µg/mL	
Średnia powierzchnia pików	2,1348	średnia powierzchnia pików	15,5860	średnia powierzchnia pików	51,30
Odchylenie standardowe, <i>S</i>	0,08	odchylenie standardowe, <i>S</i>	0,59	odchylenie standardowe, <i>S</i>	0,93
Współczynnik zmienności, <i>n</i> <sub>1</sub> , %	3,69	współczynnik zmienności, <i>n</i> <sub>2</sub> , %	3,82	współczynnik zmienności, <i>n</i> <sub>3</sub> , %	1,81
Średnia precyzja – średni współczynnik zmienności dla zakresu, <i>n</i> <sub>zakresu</sub> , %			3,23		
Całkowita precyzja badania – średni współczynnik zmienności, <i>n</i> <sub>c</sub> , %			5,95		

## Badanie odzysku

Na sześć filtrów kwarcowych naniesiono po: 10; 40 i 100 µL roztworu jonów chromu(VI) o stężeniu 144 µg/mL. Filtry pozostawiono do następnego dnia. Następnie filtry umieszczono w zlewkach o pojemności 25 mL, dodano 10 mL odpowietrzonego roztworu 2% wodorotlenku sodu (m/v)/3% węglanu sodu (m/v), wykonano ekstrakcję na płycie grzejnej w temperaturze 135 °C w czasie 60 min. Roztwory po ochłodzeniu do temperatury pokojowej przeniesiono ilościowo do kolb o pojemności 10 mL i uzupełniono wodą destylowaną MQ do kreski. Przygotowano również próbkę kontrolną, która zawierała ekstrakt czystego filtra oraz po trzy serie roztworów porównawczych chromu(VI): 0,144; 0,576 i 1,44 µg/mL. W tym celu do zlewek o pojemności 250 mL odmierzone kolejno: 10; 40 i 100 µL roztworu chromu(VI) o stężeniu 144 µg/mL. Dodano 10 mL odpowietrzonego roztworu 2% wodorotlenku sodu (m/v)/3% węglanu sodu (m/v) i umieszczono je na płycie grzejnej w temperaturze 135 °C na 60 min. Roztwory po ochłodzeniu do temperatury pokojowej przeniesiono ilościowo do kolbo o pojemności 10 mL i uzupełniono wodą destylowaną MQ do kreski. Każdy roztwór poddano analizie chromatograficznej. Otrzymane wyniki przedstawiono w tabeli 5.

Współczynnik odzysku chromu z filtrów obliczono na podstawie wzoru:

$$d = \frac{P_i - P_o}{P_p},$$

w którym:

*P<sub>i</sub>* – średnia powierzchnia pików kompleksu z roztworów po desorpcji,

*P<sub>o</sub>* – średnia powierzchnia pików lub stężenie kompleksu odpowiadające stężeniu jonów o czasie retencji jonów Cr(VI) na chromatogramach roztworu kontrolnego,

*P<sub>p</sub>* – średnia powierzchnia pików kompleksu z roztworów porównawczych.

Na podstawie wyników badań przedstawionych w tabeli 5. ustalono, że wydajność ekstrakcji chromu(VI) z filtra wynosi powyżej 99%. Średnie współczynniki dla trzech analizowanych stężeń (0,144; 0,576 i 1,44 µg/ml) wynoszą odpowiednio: 1,0; 0,98 i 1,0. Współczynniki zmienności wynoszą odpowiednio dla kolejnych poziomów stężeń: 6,42; 3,17 i 7,28, a zatem wydajność ekstrakcji wykazuje dobrą powtarzalność.

Tabela 5. Wydajność wymywania chromu(VI) z filtrów kwarcowych

	0,144 µg/mL – Cr(VI)				0,576 µg/mL – Cr(VI)				1,44 µg/mL – Cr(VI)				Średni współczynnik desorpcji, $d_{sr}$				
	Powierzchnia pików z rozтворów analitycznej stacji komputerowej	Średnia powierzchnia pików z rozтворów po desorpcji, $P_1$	Średnia powierzchnia pików z rozтворów porównawczych, $P_0$	Współczynnik desorpcji, $d$	Średni współczynnik desorpcji, $d_{sr}$	Powierzchnia pików z rozтворów analitycznej stacji komputerowej	Średnia powierzchnia pików z rozтворów po desorpcji, $P_1$	Średnia powierzchnia pików z rozтворów porównawczych, $P_0$	Współczynnik desorpcji, $d$	Średni współczynnik desorpcji, $d_{sr}$	Powierzchnia pików z rozтворów analitycznej stacji komputerowej	Średnia powierzchnia pików z rozтворów po desorpcji, $P_1$		Średnia powierzchnia pików z rozтворów porównawczych, $P_0$	Współczynnik desorpcji, $d$	Średni współczynnik desorpcji, $d_{sr}$	
1	4,1537	4,2899		0,98		16,9304	16,0745		0,96		40,31	36,1684		0,95			
3	4,4261	4,4235		1,01		15,2186	16,4344		0,98		32,0268	38,1675		1,00			
3	4,1171	4,5547	4,395	1,04	1,00	16,332	16,4888	16,827	0,98	0,98	37,6645	39,3582	38,186	1,03	1,00		
4	4,7298	4,3090		0,98		16,5328	16,0949		0,96		38,6704	37,2536		0,98			
4	4,3593	4,6592		1,06		16,1806	16,6722		0,99		40,6787	39,6265		1,04			
5	4,75	4,0570		0,92		16,797	16,7936		1,00		38,0377	38,5367		1,01			
5	4,2385	4,2899	4,395	0,98		16,5328	16,0949		0,96		33,5366	37,2536		0,98			
6	4,3794	4,0570		0,92		15,6569	16,7936		0,99		40,9706	39,6265		1,04			
6	4,7601	4,0570		0,92		16,5072	16,7936		1,00		40,5936	38,5367		1,01			
6	4,582	4,0570		0,92		16,8371	16,7936		1,00		38,6594	38,5367		1,01			
6	3,8505	4,0570		0,92		16,6969	16,7936		1,00		38,9488	38,5367		1,01			
6	4,2635	4,0570		0,92		16,8902	16,7936		1,00		38,1245	38,5367		1,01			
Średnia powierzchnia pików															16,430	Średnia powierzchnia pików	38,190
Odchylenie standardowe, S															0,5221	Odchylenie standardowe, S	2,7825
Współczynnik zmienności, n, %															3,17	Współczynnik zmienności, n, %	7,28

## Granica wykrywalności i oznaczalności

Granice wykrywalności i oznaczalności obliczono na podstawie wartości odchylenia standardowego dla serii pomiarów ślepej próby. W tym celu przygotowano trzy serie pomiarowe roztworów zerowych

(ślepa próba), które przygotowano w identyczny sposób jak próbkę rzeczywistą, bez dodatku analitu. Każdy roztwór wstrzyknięto dziesięć razy. Odczytano powierzchnie pików przy czasach retencji odpowiadających jonom chromu(VI). Wyniki przedstawiono w tabeli 6.

**Tabela 6.**  
**Wydajność wymywania chromu(VI) z filtrów kwarcowych**

	Ślepe próby		
	odpowieź detektora wg wskazań analitycznej stacji komputerowej, powierzchnia pików chromatograficznego o czasie retencji Cr(VI)		
	1	2	3
Wyznaczone parametry	0,0412	0,0635	0,0655
	0,0886	0,0884	0,0914
	0,0621	0,0526	0,0546
	0,0618	0,0101	0,0121
	0,0541	0,0672	0,0692
	0,0832	0,0515	0,0535
	0,0826	0,0563	0,0583
	0,0896	0,0689	0,0709
	0,0966	0,0537	0,0557
	0,0896	0,0633	0,0653
Odchylenie standardowe dla jednej serii próbek	0,01863	0,01992	0,02009
Odchylenie standardowe wyników uzyskanych dla serii próbek ślepych, $S_0$		0,01950	
Równanie krzywej kalibracji: $y = Bx + A$		$y = 27,32x + 0,24$	
Współczynnik kierunkowy krzywej kalibracji, $B$		27,32	
Granica wykrywalności, LOD, ng/ml		2,355	
Granica oznaczalności, LOQ, ng/ml		7,065	

## Obliczanie niepewności

Wyniki wyznaczonych wartości niepewności opracowanej metody przedstawiono w tabeli 7.

**Tabela 7.**  
**Wydajność wymywania chromu(VI) z filtrów kwarcowych**

Oznaczany parametr	Wartość
Średnia wydajność współczynnika desorpcji/odzysku	0,991
Całkowita precyzja badania – średni współczynnik zmienności dla zakresu, $n_c$ , %	5,958
Względna niepewność całkowita, $U_T$ , %	12,907
Niepewność rozszerzona, $U$ , %	25,813

Uzyskane wartości (względna niepewność całkowita oraz niepewność rozszerzona) oszacowano zgodnie z wymaganiami zawartymi w normie

PN-EN 482:2016 Narażenie na stanowiskach pracy – Wymagania ogólne dotyczące charakterystyki procedur pomiarów czynników chemicznych.

Otrzymane wyniki są akceptowalne dla metod analitycznych. Niepewność rozszerzona dla pomiarów w środowisku pracy powinna być mniejsza lub równa 30%.

### Sprawdzenie metody na certyfikowanym materiale referencyjnym BCR-545

Metodę oznaczania związków chromu(VI) sprawdzono na certyfikowanym materiale referencyjnym BCR-545 – Pył spawalniczy na filtrze. Materiał referencyjny stanowiły filtry z włókna szklanego, zawierające pył spawalniczy o masie: 3,136; 3,14 i 3,46 mg, który zawierał  $40 \pm 0,6$  g/kg Cr(VI).

W celu wykonania oznaczenia zawartości chromu(VI) w materiale referencyjnym postępowano tak, jak przy badaniu wydajności ekstrakcji. Filtry z włókna szklanego z trzech próbników (z materiałem BCR-545) przeniesiono do zlewek o pojemności 25 ml, dodano 10 ml roztworu do ekstrakcji, tj. 2% (m/v) NaOH/3% (m/v)  $\text{Na}_2\text{CO}_3$ , przez który wcześniej przez 5 min przepuszczano azot. Zlewki przykryto szkiełkiem zegarkowym i grzano na płycie w temperaturze 135 °C przez 60 min, mieszając zawartość co pewien czas. Następnie roztwory ostudzono do temperatury pokojowej, przeniesiono ilościowo do kolb miarowych o pojemności 10 ml

i uzupełniono wodą dejonizowaną do kreski. Następnie roztwory przesączono przez filtry strzykawkowe o średnicy porów 0,45  $\mu\text{m}$  do naczynek i wykonano oznaczenie zgodnie z wcześniej opisanymi warunkami chromatograficznymi.

Uzyskane wyniki oznaczenia zawartości chromu(VI) w badanym materiale referencyjnym przedstawiono w tabeli 8. Wykorzystując test Z, uwzględniając niepewność wyznaczania wartości odniesienia oraz możliwość rozrzutu wyniku od wartości odniesienia w przedziale od -20% do +10% i korzystając z zależności (2002/657/EC: Commission Decision):

A)

$$|X_i - X_{\text{odn}}| < 2\sqrt{u(X_i)^2 + u(X_{\text{odn}})^2} \quad \text{– wynik}$$

zgodny z wartością odniesienia

B)

$$|X_i - X_{\text{odn}}| \geq 2\sqrt{u(X_i)^2 + u(X_{\text{odn}})^2} \quad \text{– wynik}$$

niezgodny z wartością odniesienia,

można stwierdzić, że wszystkie wyniki spełniają zależność A i są zgodne z wynikiem odniesienia podanym w certyfikacie materiału referencyjnego.

**Tabela 8.**

**Wydajność wymywania chromu(VI) z filtrów kwarcowych**

Materiał BCR 545	Masa pyłu, mg	Wynik odniesienia, $\mu\text{g}/\text{mg}$ ( $X_{\text{odn}}$ )	Niepewność wyniku odniesienia ( $X_{\text{odn}}$ )	Wynik oznaczenia ( $X_i$ )	Niepewność wyniku oznaczenia ( $X_i$ )	$ X_i - X_{\text{odn}} $	$2\sqrt{u(X_i)^2 + u(X_{\text{odn}})^2}$
1	3,136	40,2	0,6	37,68	5,82	2,5	11,6
2	3,067			38,31	5,92	1,9	11,8
3	3,049			38,82	5,99	1,4	12,0

## PIŚMIENNICTWO

Bielasński A. (2010). Podstawy chemii nieorganicznej. Warszawa, PWN, 908–911, 913.

Skowroń J., Konieczko K. (2016). Związki chromu(VI) – w przeliczeniu na Cr(VI). Dokumentacja proponowanych dopuszczalnych wielkości narażenia zawodowego. Podstawy i Metody Oceny Środowiska Pracy 2(88), 15–112. DOI: 10.5604/1231868X.120547.

ASTM D 6832-02. Standard Test method for the determination Hexavalent Chromium in Workplace Air by Ion Chromatography an Spectrophotometric Measurement Using 1,5-diphenylcarbazine.

NIOSH Method 7605. Chromium. Hexavalent by Ion Chromatography NIOSH Manual of Analytical Methods (NMAM), Fourth Edition.

OSHA Method ID-215. Hexavalent Chromium in Workplace Atmospheres.

2002/657/EC Commission Decision of 12 August 2002 implementing Council Directive 96/23/EC concerning the performance of analytical methods and the interpretation of results (Text with EEA relevance), (notified under document number C(2002) 3044).





## PROCEDURA ANALITYCZNA OZNACZANIA ZWIĄZKÓW CHROMU(VI) W POWIETRZU NA STANOWISKACH PRACY METODĄ CHROMATOGRAFII JONOWYMIENNEJ

### 1. Zakres metody

W niniejszej procedurze podano metodę oznaczania stężeń frakcji wdychalnej związków chromu(VI) w powietrzu na stanowiskach pracy z zastosowaniem chromatografii jonowymiennej z detektorem spektrofotometrycznym. Metodę stosuje się podczas kontroli warunków sanitarnohigienicznych.

Najmniejsze stężenie związków chromu, jakie można oznaczyć w warunkach pobierania próbek powietrza i wykonania oznaczania opisanych w procedurze, wynosi 0,0009 mg/m<sup>3</sup> (dla próbki powietrza o objętości 720 l).

### 2. Powołania normatywne

Do stosowania niniejszej procedury są niezbędne podane niżej dokumenty:

PN-Z-04008-7 Ochrona czystości powietrza – Pobieranie próbek – Zasady pobierania próbek powietrza w środowisku pracy i interpretacji wyników.

PN-EN 481 Atmosfera miejsca pracy. Określenie składu ziarnowego dla pomiaru cząstek zawieszonych w powietrzu.

### 3. Zasada metody

Metoda polega na: wyodrębnieniu frakcji wdychalnej związków chromu(VI) zawartych w powietrzu z zastosowaniem odpowiednich próbników, ekstrakcji substancji z filtrów roztworem 2% (m/v) wodorotlenku sodu NaOH/3% (m/v) węglanu sodu Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> i analizie chromatograficznej otrzymanego roztworu.

### 4. Postanowienia ogólne

Do analizy, o ile nie zaznaczono inaczej, należy stosować substancje o stopniu czystości co najmniej cz.d.a. oraz wodę destylowaną o czystości do HPLC, zwaną w dalszej części procedury wodą.

Substancje stosowane w analizie należy ważyć z dokładnością do 0,0002 g.

Szkló nowe przed użyciem należy umyć wodą, wygotować i wypłukać.

Szkló po użyciu należy myć kolejno roztworem detergentu, roztworem 50 mmol/L kwasu azotowego HNO<sub>3</sub>, a następnie płukać dokładnie wodą dejonizowaną.

Należy sprawdzić chromatograficznie czystość sprzętu wykonanego ze szkła.

Wymaga się, aby oznaczone w umyтым szkłe stężenia chromu(VI) były mniejsze od przyjętej granicy oznaczalności.

Umyte i sprawdzone naczynia napełnić do pełna wodą, zamknąć i tak przechowywać. Przed użyciem naczynia należy opróżnić i przepłukać wodą.

Naczyń używać tylko zgodnie z ich przeznaczeniem, tj. dla tych samych mediów stosować zawsze te same naczynia.

Do przygotowania roztworów wzorcowych dla poszczególnych krzywych wzorcowych używać zawsze tych samych zestawów szkła tak przygotowanych jak wcześniej opisano. Po wykonaniu krzywej wzorcowej szkło po roztworach wzorcowych umyć, napełnić wodą i tak przechowywać.

Zużyte roztwory i odczynniki należy gromadzić w przeznaczonych do tego celu pojemnikach i przekazywać do zakładów zajmujących się ich utylizacją.

Wszystkie czynności związane z przygotowywaniem roztworów i próbek do analizy należy wykonywać pod dygestorium. Pracownik powinien być wyposażony w środki ochrony indywidualnej.

### 5. Odczynniki, roztwory i materiały

Podczas analizy, o ile nie zaznaczono inaczej, należy stosować substancje o stopniu czystości co najmniej cz.d.a.

- 5.1. Chromian(VI) sodu
- 5.2. 1,5-difenylokarbazyd
- 5.3. Kwas azotowy 68%
- 5.4. Kwas siarkowy 98%
- 5.5. Metanol
- 5.6. Siarczan amonu
- 5.7. Węglan sodu
- 5.8. Wodny roztwór amoniaku 25%
- 5.9. Wodorotlenek sodu
- 5.10. Roztwór do wymywania

Stosować roztwór 2% wodorotlenku sodu (m/v)/3% węglanu sodu (m/v).

W zlewce o pojemności 500 mL rozpuścić 20 g wodorotlenku sodu wg punktu 5.9. i 30 g węglanu sodu wg punktu 5.7. w 250 ml wody, wymieszać dokładnie do rozpuszczenia i pozostawić do ochłodzenia. Zawartość zlewki przenieść ilościowo do kolby pomiarowej o pojemności 1 000 mL i uzupełnić wodą do kreski. Przed zastosowaniem roztwór należy odgazować przez 5 min za pomocą azotu.

#### 5.11. Odczynnik kompleksujący

Stosować odczynnik kompleksujący 2 mmol/L 1,5-difenylokarbazydu /10% metanolu /0,9 N kwasu siarkowego.

Rozpuścić 0,125 g 1,5-difenylokarbazydu (DPC) wg punktu 5.2. w 25 mL czystego metanolu i przenieść do szklanej kolby o pojemności 250 mL. Dodać około 100 mL dejonizowanej wody zawierającej 5,6 mL H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> o stężeniu 98% wg punktu 5.4. Kolbę uzupełnić wodą do kreski. Przygotowywać świeży roztwór każdego dnia przed analizą. Chronić przed światłem.

#### 5.12. Faza ruchoma – koncentrat (2 mol/L siarczan amonu/1 mol/L amoniak)

Koncentrat fazy ruchomej przygotować w następujący sposób: w kolbie miarowej o pojemności 1 000 ml rozpuść 264 g siarczanu amonu (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> wg punktu 5.6. w około 500 ml wody dejonizowanej. Dodać 65 ml 25% wodorotlenku amonu NH<sub>4</sub>OH wg punktu 5.8. Dobrze wymieszać i uzupełnić wodą dejonizowaną do 1 000 mL. Otrzymany roztwór odgazować w łaźni ultradźwiękowej przez 5 minut. Przenieść roztwór do pojemnika z eluentem.

#### 5.13. Faza ruchoma (0,2 mol/L siarczanu amonu/0,1 mol/L amoniak)

Do chromatografii jonowej stosować fazę ruchomą przygotowaną w następujący sposób: do kolby miarowej o pojemności 1 000 mL dodać 100 mL fazy ruchomej – koncentratu wg punktu 5.12. i dopełnić do kreski wodą dejonizowaną.

#### 5.14. Roztwór wzorcowy podstawowy chromu(VI)

Do kolby pomiarowej o pojemności 100 mL dodać 50 mL wody i 0,312 g chromianu(VI) sodu (wg punktu 5.1.) wygrzanego do stałej masy w temperaturze 105 °C. Kolbę uzupełnić do kreski wodą. Zawartość chromu w tak przygotowanym roztworze wynosi 1000 µg/mL.

#### 5.15. Roztwór wzorcowy pośredni chromu(VI)

Do kolby szklanej o pojemności 1 000 mL odmierzyc 1,4 mL roztworu podstawowego chromu(VI) wg punktu 5.14. i dopełnić wodą dejonizowaną.

W tak przygotowanym roztworze stężenie chromu(VI) wynosi 1,4 µg/mL.

#### 5.16. Roztwory wzorcowe robocze chromu (VI)

Do pięciu kolb pomiarowych o pojemności 10 mL odmierzyc kolejno: 0,5; 1,0; 2,0; 4; 8 i 10 mL roztworu pośredniego chromu(VI) wg punktu 5.15. Następnie uzupełnić wodą dejonizowaną do kreski. Ostatnim roztworem wzorcowym jest roztwór wzorcowy pośredni wg punktu 5.15.

Stężenie chromu(VI) w tak przygotowanych roztworach wynosi odpowiednio: 0,07; 0,14, 0,28; 0,57, 1,15 i 1,4 µg/mL.

#### 5.17. Roztwór chromu(VI) do wyznaczenia odzysku

Roztwór chromu(VI) o stężeniu 140 µg/mL Do kolby miarowej o objętości 10 mL dodać 1,4 ml roztworu podstawowego chromu(VI) wg punktu 5.14. i dopełnić wodą dejonizowaną.

## 6. Przyrządy pomiarowe i sprzęt pomocniczy

Stosować typowy sprzęt laboratoryjny.

#### 6.1. Chromatograf jonowy

Stosować chromatograf jonowy z układem do detekcji pokolumnowej (trójnik) i detektorem spektrofotometrycznym, elektronicznym integratorem lub oprogramowaniem komputerowym do sterowania aparatem i zbierania danych pomiarowych.

#### 6.2. Pompa dozująca odczynnik kompleksujący

Stosować pompę chromatograficzną jednokanałową.

#### 6.3. Kolumna chromatograficzna

Stosować kolumnę chromatograficzną umożliwiającą oznaczanie związków chromu(VI) w obecności innych nieorganicznych anionów i o zdolności rozdzielczej nie mniejszej niż  $R \geq 1,5$  (np. kolumna anionowa o długości 250 mm i średnicy wewnętrznej 4 mm).

#### 6.4. Kolby pomiarowe

Stosować kolby pomiarowe klasy A o pojemności: 10; 50; 100 i 1 000 mL.

#### 6.5. Kolby stożkowe

Stosować kolby stożkowe o pojemności 25 i 50 mL.

#### 6.6. Pojemniki z poli(tetraftalanu etylenu)

Stosować pojemniki z poli(tetraftalanu etylenu) do automatycznego podajnika próbek.

#### 6.7. Pipety

Stosować pipety jednomiarowe klasy A o pojemności: 2; 10; 5; 2; 1 i 0,2 mL.

#### 6.8. Mikrostrzykawki

Stosować mikrostrzykawki o pojemności: 20; 50 i 100 µL.

### 6.9. Zestaw do filtracji

Stosować zestaw do filtracji roztworów z filtrami membranowymi o średnicy porów 0,45 µm.

### 6.10. Próbnik do pobierania próbek powietrza

Stosować dostępne w handlu próbki do wyodrębniania frakcji wdychalnej z badanego powietrza. Próbki te muszą zapewniać wyodrębnienie frakcji wdychalnej aerozolu związków chromu(VI) z badanego powietrza, zgodnie z wymaganiami zawartymi w normie PN-EN 481.

### 6.11. Filtry

Stosować filtry kwarcowe. Dopuszcza się stosowanie filtrów z włókna szklanego lub filtrów PVC.

### 6.12. Pompa ssąca

Stosować pompę ssącą umożliwiającą pobieranie próbek powietrza ze stałym strumieniem objętości wg punktu 6.

## 7. Pobieranie próbek powietrza

Próbki powietrza należy pobierać zgodnie z wymaganiami zawartymi w normie

PN-Z-04008-7. W miejscu pobierania próbek przez próbnik wg punktu 6.8. z filtrem wg punktu 6.11., należy przepuścić do 720 l badanego powietrza ze stałym strumieniem objętości 2 l/min lub innym (zgodnie z instrukcją stosowanego próbniaka za pomocą pompy ssącej wg punktu 6.12.).

Pobrane próbki przechowywane w ekcykatorze z żelazem krzemionkowym zachowują trwałość przez trzy dni.

## 8. Warunki pracy chromatografu

Warunki pracy chromatografu należy tak dobrać, aby uzyskać rozdział chromu(VI) od innych jonów występujących jednocześnie w badanym powietrzu. W przypadku stosowania kolumny o parametrach podanych w punkcie 6.3., oznaczanie można wykonać w następujących warunkach:

- temperatura kolumny pokojowa
- faza ruchoma 0,2 mol/L siarczan amonu/0,1 mol/L wodorotlenek amonu wg punktu 5.13.
- natężenie przepływu fazy ruchomej 1,0 ml/min
- odczynnik pokolumnowy 2 mM 1,5-di fenylokarbazyd;

10% metanol;  
0,9N kwas siarkowy  
wg punktu 5.11.

- natężenie przepływu odczynnika kompleksującego 0,5 ml/min
- pętla reakcyjna 375 µl
- detektor spektrofotometryczny
- objętość wstrzykiwanej próbki 100 µl
- długość fali detektora 540 nm.

## 9. Sporządzanie krzywej wzorcowej

Do chromatografu wprowadzić po 100 µl roztworów wzorcowych roboczych chromu(VI) wg punktu 5.16. Z każdego roztworu wzorcowego należy wykonać dwukrotny pomiar. Odczytać powierzchnie pików według wskazań integratora i obliczyć średnią arytmetyczną. Różnica między wynikami a wartością średnią nie powinna być większa niż 5% wartości średniej. Następnie wykreślić krzywą wzorcową, odkładając na osi odciętych stężenie chromu(VI) w mikrogramach na mililitr, a na osi rzędnych – odpowiadające im średnie powierzchnie pików.

Dopuszcza się automatyczne integrowanie danych i sporządzanie krzywej wzorcowej.

## 10. Wyznaczanie współczynnika odzysku

Na sześć filtrów wg punktu 6.11. nanieść po 40 µl chromu(VI) o stężeniu 140 µg/mL wg punktu 5.17. Filtry pozostawić w temperaturze pokojowej w ekcykatorze na 24 h i postępować dalej wg punktu 10. Z otrzymanych roztworów wykonać dwukrotny pomiar. Jednocześnie wykonać oznaczenie chromu(VI) w identyczny sposób wg punktu 10., co najmniej w trzech roztworach porównawczych. Uzyskane roztwory należy badać chromatograficznie w warunkach określonych w punkcie 7. Współczynnik odzysku dla chromu(VI), ( $d$ ) obliczyć na podstawie wzoru:

$$d = \frac{P_d - P_o}{P_p},$$

w którym:

$P_d$  – średnia powierzchnia piku lub stężenie kompleksu odpowiadające stężeniu jonów chromu(VI) na chromatogramach roztworów znad filtra,  
 $P_o$  – średnia powierzchnia piku lub stężenie kompleksu odpowiadające stężeniu jonów o czasie retencji jonów chromu(VI) na chromatogramach roztworu kontrolnego,

$P_p$  – średnia powierzchnia pików lub stężenie kompleksu odpowiadające stężeniu jonów chromu(VI) na chromatogramach roztworów porównawczych.

Następnie obliczyć średnią wartość współczynnika odzysku chromu(VI) z filtra ( $\bar{d}$ ) jako średnią arytmetyczną otrzymanych wartości ( $d$ ), którą należy uwzględnić przy obliczaniu wyników.

Współczynnik odzysku należy oznaczać dla każdej nowej partii stosowanych filtrów.

## 11. Wykonanie oznaczania

Po pobraniu próbki powietrza filtr wg punktu 6.11. przenieść do zlewki o pojemności o 25 mL. Następnie dodać 10 mL odgazowanego przez 5 min za pomocą azotu roztworu do wymywania 2% wodorotlenku sodu (m/v) / 3% węgla sodu (m/v) wg punktu 5.10. Ekstrakcję prowadzić na płycie grzejnej, wg punktu 6.13., w temp. 135 °C w czasie 60 min. Roztwory po ochłodzeniu do temperatury pokojowej przenieść ilościowo do kolb miarowych o pojemności 10 mL i uzupełnić wodą dejonizowaną do kreski. Następnie próbki przesączyć przez filtr strzykawkowy wg punktu 6.9. do naczynek. Jednocześnie przeprowadzić w identyczny sposób ekstrakcję czystego filtra w celu sporządzenia roztworu próbek ślepych. Następnie roztwory otrzymane po ekstrakcji z filtrów badać chromatograficznie w warunkach określonych w punkcie 8. Wykonać dwukrotny pomiar. Odczytać z uzyskanych chromatogramów powierzchnie pików kompleksu według wskazań integratora i obliczyć średnią arytmetyczną. Różnica między wynikami a wartością średnią nie powinna być większa niż 5% wartości średniej. Zawartość chromu(VI) w próbce odczytać z wykresu krzywej wzorcowej. W taki sam sposób wykonać oznaczanie chromu(VI) w roztworze uzyskanym po ekstrakcji nieużywanego filtra. Roztwory do czasu analizy przechowywać w lodówce nie dłużej niż dwa dni.

## 12. Obliczanie wyniku oznaczania

Stężenie związku chromu ( $X$ ) w badanym powietrzu obliczyć w miligramach na metr sześcienny na podstawie wzoru:

$$X = 10 \cdot \frac{(c_1 - c_2)}{V \cdot \bar{d}},$$

w którym:

$c_1$  – stężenie jonów chromu(VI) w roztworze znad filtra odczytane z krzywej wzorcowej, w mikrogramach na mililitr,

$c_2$  – stężenie jonów chromu(VI) w roztworze znad filtra kontrolnego odczytane z krzywej wzorcowej, w mikrogramach na mililitr,

$V$  – objętość powietrza przepuszczonego przez filtr, w litrach,

$\bar{d}$  – średnia wartość współczynnika odzysku wyznaczona zgodnie z punktem 11.

## 13. Protokół z badań

W protokole z badań należy podać następujące informacje:

- powołanie się na niniejszą procedurę
- wszystkie dane konieczne do pełnej identyfikacji próbki
- wyniki wyrażone w sposób podany w punkcie 11.
- wszystkie szczegóły niepodane w niniejszej procedurze lub pozostawione do wyboru, a także wszelkie czynniki, które mogły wpłynąć na wyniki.