

UNIVERZITA KARLOVA V PRAZE

Přírodovědecká fakulta

**Katedra analytické chemie**

---

VLIV VYLUHOVACÍCH ČINIDEL NA  
SPEKTROFOTOMETRICKÉ STANOVENÍ Cr(VI) a Cr(III)  
V EXTRAKTECH MĚSTSKÉHO PRACHU

The effect of extraction agents on spectrophotometric determination of Cr(VI) and Cr(III) in urban  
dust particles

Bakalářská práce  
studijního programu Klinická a toxikologická analýza

Praha 2009

Přírodovědecká fakulta UK

KNIHOVNA CHEMIE



3233137827

Anna Zahradníčková

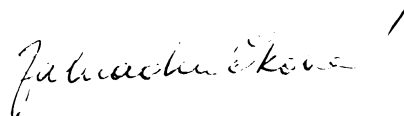
Tato bakalářská práce vznikla v souvislosti s řešením výzkumného záměru MSM0021620857.

## Prohlášení

Prohlašuji, že jsem tuto diplomovou práci vypracovala samostatně, pod vedením školitele Doc. RNDr. Petra Rychlovského, CSc. a že jsem všechny použité prameny řádně citovala.

Jsem si vědoma toho, že případné využití výsledků, získaných v této práci, mimo Univerzitu Karlovu v Praze je možné pouze po písemném souhlasu této univerzity.

V Praze dne 30. 8. 2009.

Handwritten signature in cursive script, appearing to read "J. Machová".

## Poděkování

V první řadě bych velice ráda poděkovala mému školiteli Doc. RNDr. Petru Rychlovskému, CSc. za odborné vedení, cenné rady, podnětné i kritické připomínky k mé práci a v neposlední řadě za ochotu a trpělivost.

## Seznam zkratek a symbolů

A	absorbance
CAS	chromazurol S
c	koncentrace
$c'$	rychlost světla ve vakuu [ mol.dm <sup>-3</sup> ]
cm	centimetr
DFK	difenylkarbazid
$E_0$	energie základního elektronového stavu [J]
$E_1$	energie excitovaného stavu [J]
$\Delta E$	absorbovaná energie [J]
$E_e$	základní elektronová energie [J]
$E_r$	rotační energie [J]
$E_v$	vibrační energie [J]
g	gram
h	výška
J	joule
l	tloušťka absorpční vrstvy [cm]
mm	milimetr
mol	mol
mol.dm <sup>-3</sup>	moly na decimetr krychlový
mg.m <sup>-3</sup>	miligramy na metr krychlový
min	minuta
ml	mililitr
Mr	relativní molekulová hmotnost
NPK-P	Nejvyšší přípustná koncentrace [mg.m <sup>-3</sup> ]
nm	nanometr
PEL	Přípustný expoziční limit [mg.m <sup>-3</sup> ]
ppm	parts per milion; 1 ppm = 1 $\mu\text{g.ml}^{-1}$
s	sekunda
t	čas [min]
T	teplota [°C]
$\mu\text{g.ml}^{-1}$	mikrogramy na mililitr
v	frekvence záření [Hz]
$\lambda$	vlnová délka [nm]
$\tau$	propustnost (transmittance)
°C	stupeň Celsia
$\sigma$	směrodatná odchylka
$\epsilon_\lambda$	molární absorpční koeficient při vlnové délce $\lambda$ [l.mol <sup>-1</sup> .cm <sup>-1</sup> ]
$\Phi$	zářivý tok vstupující
$\Phi_A$	absorbovaný zářivý tok
$\Phi_0$	vstupující tok záření

*Předmětová hesla:* Analytická chemie, Spektrofotometrie ve viditelné oblasti

*Klíčová slova:* chrom, kyselina octová, hydroxylamin hydrochlorid, octan amonný

<b>1</b>	<b>ÚVOD</b> .....	<b>7</b>
<b>2</b>	<b>TEORETICKÁ ČÁST</b> .....	<b>8</b>
2.1	CHROM.....	8
2.1.1	<i>Vlastnosti chromu</i> .....	8
2.1.2	<i>Vliv na zdraví člověka</i> .....	8
2.1.3	<i>Zdroje emisí</i> .....	9
2.1.4	<i>Dopady na životní prostředí</i> .....	9
2.1.5	<i>Způsoby stanovení chromu</i> .....	10
2.2	MOLEKULOVÁ ABSORPČNÍ SPEKTROMETRIE VE VIDITELNÉ OBLASTI.....	10
2.3	SPEKTROFOTOMETRICKÉ STANOVENÍ CR(III) A CR(VI).....	13
2.3.1	<i>Stanovení Cr(III) s chromazurolem S (CAS)</i> .....	14
2.3.2	<i>Stanovení Cr(VI) s difenylkarbazidem (DFK)</i> .....	14
2.4	HODNOCENÍ VÝSLEDKŮ SPEKTROFOTOMETRICKÉHO MĚŘENÍ.....	15
2.4.1	<i>Kalibrace a lineární regrese</i> .....	15
<b>3</b>	<b>EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST</b> .....	<b>17</b>
3.1	REAGENCIE.....	17
3.2	PŘÍSTROJOVÉ VYBAVENÍ.....	18
3.3	POSTUP MĚŘENÍ.....	18
<b>4</b>	<b>VÝSLEDKY MĚŘENÍ A DISKUZE</b> .....	<b>20</b>
4.1	VLIV VYLUHOVACÍCH ČINIDEL NA SPEKTROFOTOMETRICKÉ STANOVENÍ CR(III) V EXTRAKTECH MĚSTSKÉHO PRACHU.....	20
4.1.1	<i>Kalibrační závislost Cr(III) v prostředí deionizované vody</i> .....	20
4.1.2	<i>Kalibrační závislost Cr(III) v prostředí vyluhovacích činidel</i> .....	22
4.1.2.1	<i>Kyselina octová</i> .....	23
4.1.2.2	<i>Hydroxylamin hydrochlorid</i> .....	24
4.1.2.3	<i>Octan amonný</i> .....	26
4.2	VLIV VYLUHOVACÍCH ČINIDEL NA SPEKTROFOTOMETRICKÉ STANOVENÍ CR(VI) V EXTRAKTECH MĚSTSKÉHO PRACHU.....	28
4.2.1	<i>Kalibrační závislost Cr(VI) v prostředí deionizované vody</i> .....	28
4.2.2	<i>Kalibrační závislost Cr(VI) v prostředí vyluhovacích činidel</i> .....	30
4.2.2.1	<i>37 % kyselina octová</i> .....	30
4.2.2.2	<i>Hydroxylamin hydrochlorid</i> .....	31
4.2.2.3	<i>Octan amonný</i> .....	31
4.2.3	<i>Vlivy na kalibrační závislost při změně pořadí přidávání činidel</i> .....	32
4.2.4	<i>Proměření časové závislosti Cr(VI) v prostředí vyluhovacích činidel</i> .....	34
4.2.5	<i>Proměření celého spektra dichromanu draselného v oblasti 800-190nm</i> .....	35
4.2.6	<i>Kalibrační závislosti Cr(VI) v prostředí 99,8% a 99,99% kyseliny octové</i> .....	38
<b>5</b>	<b>ZÁVĚR</b> .....	<b>40</b>
<b>6</b>	<b>PŘEHLED POUŽITÉ LITERATURY</b> .....	<b>41</b>

# 1 ÚVOD

Tato bakalářská práce navazuje na bakalářskou práci kolegyně Marcely Rybínové. Cílem této práce bylo na základě zjištěných optimálních experimentálních podmínek zjistit, jaký vliv budou mít použítá vyluhovací činidla na stanovení Cr(VI) a Cr(III) ve vzorcích extraktů městského prachu.

## 2 TEORETICKÁ ČÁST

### 2.1 Chrom

#### 2.1.1 Vlastnosti chromu

Chrom je stříbrobílý kov s vysokou teplotou tání (1907°C). Vyskytuje se ve všech oxidačních stavech od (-II) do (VI), ale pouze stavy 0 (kovový chrom), (II), (III) a (VI) jsou běžné. Ve sloučeninách je nejstálejší v oxidačním stavu Cr(III), sloučeniny Cr(VI) (chromany) vykazují silné oxidační účinky. Čistý chrom je nestálý v kyslíkové atmosféře, kde se okamžitě tvoří tenká vrstvička oxidu, která je nepropustná pro kyslík a kov tak chrání v několika chemických podobách s oxidačními čísly pohybujícími se od nuly (volný chrom) do šesti (chromany a dichromany). Pouze tyto dvě formy jsou dostatečně stálé, aby bylo možné je nalézt ve složkách životního prostředí [1]. Toxicita obou forem se značně liší. Cr(VI) je až 1000krát toxičtější než Cr(III) [2]. Cr(III) v malých koncentracích patří mezi esenciální stopové prvky vyskytující se v metabolismu savců. Jako součást GTF (glukose tolerance factor) zvyšuje účinnost inzulínu a reguluje tak metabolismus glukózy, cholesterolu a tuků. Nedostatek chromu může vyvolat stres, únavu, úbytek váhy, snížení schopnosti těla odstraňovat glukózu z krve [3].

#### 2.1.2 Vliv na zdraví člověka

Pouze u velmi citlivých osob vyvolávají sloučeniny Cr(III) místní podráždění kůže. Kdežto rozpustné sloučeniny Cr(VI) jsou svým místním účinkem daleko nebezpečnější, podstatnou roli zde pravděpodobně hraje jejich oxidační účinek [4].

Inhalace prachů obsahujících Cr(VI) sloučeniny vyvolává astmatické potíže; po požití působí na počátku leptavě na gastrointestinální trakt, následovat může šok nebo dokonce smrt. Současně dochází k poškození ledvin (nefrotoxicita) a jater (hepatotoxicita). Dlouhodobé profesionální působení Cr(VI) se projevuje leptavým účinkem na kůži a na sliznici (proděravění nosní přepážky), tvorbou vředů a nádorů, např. dutiny nosní, plic a zažívacího traktu.



Významným antidotem je kyselina askorbová (známá jako vitamin C), která sloučeniny Cr(VI) převádí redukcí na netoxické sloučeniny Cr(II) a Cr(III) [5].

### 2.1.3 Zdroje emisí

Do ovzduší se chrom dostává ve velkém množství v prachových částicích při spalování fosilních paliv a to ve stavu Cr(III). Dalšími zdroji chromu jsou cementárny (cement obsahuje chrom), spalovny komunálních odpadů, výfukové plyny z automobilů s katalyzátorem, emise z klimatizačních chladicích věží používající sloučeniny chromu jako inhibitory koroze a polétavý azbest z opotřebovaných brzdových obložení automobilů. Atmosférickou depozicí se chrom dostává do ostatních složek životního prostředí.

Antropogenním zdrojem chromu ve vodách jsou odpadní vody z barevné metalurgie, povrchové úpravy kovů, kožedělného a textilního průmyslu, kde je součástí některých barvicích lázní. Dalším zdrojem jsou některé inhibitory koroze používané v chladicích okruzích, při rozvodu teplé vody nebo při čištění kotlů. Značné koncentrace lze nalézt ve vodách z hydraulické dopravy popílků.

Do půdy či podzemní vody může chrom unikat i ze špatně zabezpečených skládek. Může se také uvolňovat do prostředí při nakládání s odpady s obsahem chromu (komunální odpad, odpadní kaly, odpady z pokovování a zpracování chromu). Chrom mohou obsahovat i různé výrobky denní spotřeby: některé inkousty, barviva, papír, podlahové krytiny, výrobky z kůže, magnetické pásky, baterie, svíčky, nekorodující oceli a několik málo jiných slitin a některé tonery pro xeroxy.

### 2.1.4 Dopady na životní prostředí

Chrom je přítomen v nízké koncentraci ve všech typech půd, sopečném prachu a plynech. Všechny chrom přírodního původu je ve stavu Cr(III). Cr(III) se silně váže na záporně nabitě půdní částice, proto jen malá část proniká z půdy do podzemních vod. Ve vodě se většina Cr(III) váže na částice nečistot a spolu s nimi klesá na dno. Velká část nenasorbovaného Cr(III) tvoří nerozpustné koloidní hydroxidy. Proto je ve vodě přítomno

pouze malé množství rozpuštěného Cr(III). Cr(VI) je velmi toxický pro vodní organismy. Na rozdíl od Cr(III) se vyskytuje ve formě záporně nabitých komplexů, proto se nesorbuje na půdní částice a je mnohem mobilnější. Cr(VI) je však zároveň velmi silné oxidační činidlo, v přítomnosti jakékoliv organické hmoty se redukuje na Cr(III). Proto nebezpečí vysokých koncentrací Cr(VI) hrozí jen v blízkosti zdroje. Pokud nejsou organické látky přítomné, je Cr(VI) za aerobních podmínek stabilní po dlouhou dobu. V anaerobním prostředí se Cr(VI) redukuje velmi rychle. Chrom se tak nehromadí v potravních řetězcích.

V ovzduší je chrom navázán na prachové částice. Průměrná doba setrvání v atmosféře je deset dní, poté suchou nebo mokrou depozicí přechází do vody nebo půdy [1].

V České republice pro koncentrace sloučenin chromu platí následující limity v ovzduší pracovišť (dle nařízení vlády č. 178/2001 Sb.) :

pro sloučeniny Cr(VI): PEL – 0,05 mg.m<sup>-3</sup>, NPK – P – 0,1 mg.m<sup>-3</sup>;

pro ostatní sloučeniny Cr (včetně chromanu olovnatého a zinečnatého): PEL – 0,5 mg.m<sup>-3</sup>, NPK – P – 1,5 mg.m<sup>-3</sup> [6].

### 2.1.5 Způsoby stanovení chromu

Koncentrace chromu ve vodných roztocích se nejčastěji stanovuje pomocí atomové absorpční spektrometrie [7]. Další možností je spektrofotometrické stanovení [8], které je použito v této práci. Další metody mohou být např. elektrotermická atomová absorpční spektrometrie [9], spektrofluorimetrie [10], kapalinová chromatografie [11], sekvenční injekční analýza [1], průtoková injekční analýza [12] a jiné.

## 2.2 Molekulová absorpční spektrometrie ve viditelné oblasti

Spektrofotometrie v ultrafialové a viditelné oblasti spektra vývojově navazuje na klasickou kolorimetrii a je tudíž nejstarší fyzikálně chemickou metodou. Své pevné postavení v systému analytických instrumentálních metod si udržuje především díky své jednoduchosti jak v přípravě vzorků, tak v konečném měření absorpce [13].

Absorpční spektrofotometrie spočívá v interakci měřeného vzorku s elektromagnetickým zářením o vhodné vlnové délce. U spektrofotometrie ve viditelné oblasti se využívá záření v rozsahu vlnových délek 380 až 770 nm.

Za normálních podmínek se molekula látky nachází v základním elektronovém stavu  $E_0$  a její energie je rovna součtu základní elektronové  $E_e$ , vibrační  $E_v$  a rotační  $E_r$  energii:

$$E_0 = E_e + E_v + E_r \quad (1)$$

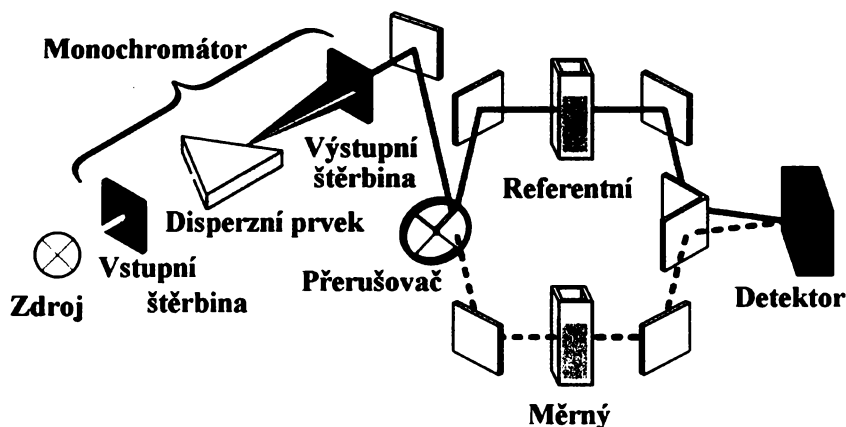
Pohlcení kvanta fotonů záření z viditelné oblasti elektromagnetického spektra přechází molekula do excitovaného stavu. Její setrvání v tomto energeticky bohatším stavu je krátké (řádově  $10^{-9}$  s) a přechází různými neexcitačními přechody (zářivými i nezářivými) za předání energie zpět do základního stavu. Tak je v absorbujícím systému udržována rovnováha odpovídající přebytku molekul v základním energetickém stavu.

Absorbovaná energie, která je rovna rozdílu energie excitovaného stavu  $E_1$  a energie základního stavu  $E_0$ ,  $\Delta E$ , musí být rovna přijatému kvantu záření v souladu s rovnicí:

$$\Delta E = E_1 - E_0 = h \frac{c'}{\lambda} = \Delta E_e + \Delta E_v + \Delta E_r \quad (2)$$

kde  $h$  je Planckova konstanta [ $6,62607 \cdot 10^{-34}$  J.s],  $\nu$  je frekvence záření [Hz],  $\lambda$  je vlnová délka [nm] a  $c'$  je rychlost světla ve vakuu [ $3 \cdot 10^{10}$  cm.s<sup>-1</sup>].

Absorpci záření lze měřit na přístrojích, které se nazývají absorpční spektrofotometry. Základní prvky spektrofotometrů mohou být uspořádány způsobem jednopaprskovým nebo dvoupaprskovým. U jednopaprskových spektrofotometrů prochází záření ze zdroje nejprve kyvetou obsahující srovnávací vzorek, která je po změření fotoelektrického proudu nahrazena kyvetou se vzorkem. U dvoupaprskových spektrofotometrů je paprsek po výstupu z monochromátoru směřován rotujícím půlkruhovým zrcadlem střídavě do měrné a referenční kyvety. Po výstupu z kyvet jsou oba paprsky pomocí zrcadel spojeny do společného paprsku, který dopadá na detektor s dostatečně rychlou odezvou. Vzniká střídavý proud, odpovídající poměru toků  $\Phi/\Phi_0$  [14]. Jelikož byl v této práci použit dvoupaprskový spektrofotometr, přikládám zde jeho schematické zobrazení (Obr.1.1).



Obr. 1.1 Schéma dvoupaprskového spektrofotometru

Při absorpčním měření je tedy ze vstupujícího toku záření  $\Phi_0$  část absorbována vzorkem (absorbovaný zářivý tok  $\Phi_A$ ) a v ideálním případě zbytek projde a je zaznamenán transmittancí  $\tau$ . Na většině spektrofotometrů lze odečíst hodnotu absorbance  $A$ , tj. záporný logaritmus transmittance:

$$A = -\log \tau = \log (\Phi_0/\Phi) \quad (3)$$

kde  $\tau$  je transmittance,  $\Phi_0$  je vstupující zářivý tok,  $\Phi$  je vystupující zářivý tok.

Těžiště aplikací absorpční spektrofotometrie ve viditelné oblasti světla je v kvalitativní analýze, která je založená na *Lambertově-Beerově zákoně* [15]:

$$A = \varepsilon_\lambda c l \quad (4)$$

kde  $\varepsilon_\lambda$  je molární absorpční koeficient při dané vlnové délce  $\lambda$  [ $\text{l}\cdot\text{mol}^{-1}\cdot\text{cm}^{-1}$ ],  $c$  je molární koncentrace [ $\text{mol}\cdot\text{dm}^{-3} = \text{mol}\cdot\text{l}^{-1}$ ] a  $l$  je tloušťka absorpční vrstvy [cm].

## 2.3 Spektrofotometrické stanovení Cr(III) a Cr(VI)

Molekulová absorpční spektrometrie ve viditelné oblasti spektra je využívána ke stanovení kovů, kationů či anionů. Absorpce většiny kationů je příliš slabá, proto jsou kationy převáděny komplexotvornými reakcemi na barevné komplexy, které jsou lépe spektrofotometricky stanovitelné. Velmi významné jsou chelátové komplexy, neboť mají vysoké konstanty stability a vysoké hodnoty molárních absorpčních koeficientů [16].

V komplexech kovů dochází k elektronovým přechodům v rámci centrálního iontu kovu (d-d, f-f přechody) a tudíž ke štěpení d a f podhladin centrálního atomu v komplexu vlivem elektrostatického pole ligandu a následné excitaci. Mohou také nastat přechody v rámci ligandu vázaného do komplexu, při nichž vznikají velmi intenzivní absorpční pásy v důsledku přechodů  $\pi-\pi^*$  a  $n-\pi^*$  v rámci ligandu. Jako poslední může být Charge-transfer přechod, kde dochází k excitaci elektronu z orbitalu atomu s velkou elektronovou hustotou do orbitalu jiného atomu o menší elektronové hustotě (L-M nebo M-L) [17].

U iontů Cr(III) je jako komplexotvorné činidlo nejčastěji používán chelaton 3, avšak dosud nejcitlivější je metoda s chromazurolem S (CAS) [18,19]. Podobné reakce chromitých iontů mohou probíhat i s xylenovou oranží, eriochromcyaninem R a thorinem [20]. Mezi další zjištěné metody patří např. reakce chromitých iontů s kyselinou pyridin-2,6-dikarbonovou, kyselinou pyridin-2,4,6-trikarbonovou, s azidem, kyselinou malonovou, s rhodanidy a kyanoželezitanem [18]; a reakce s 2-(5-bromo-2-pyridylazo)-5 dimethylamino-fenolem urychlená použitím dodecyl sulfátu sodného [21].

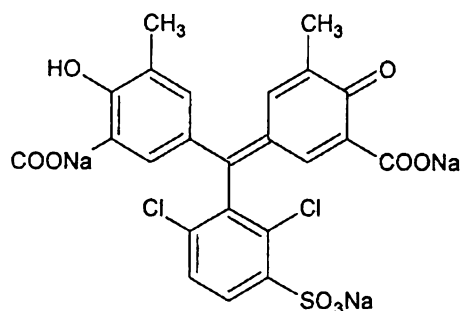
Pro stanovení Cr(VI) se nejvíce používá velmi citlivá metoda, reakce  $\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-}$  s difenylkarbazidem (DFK). K dalším postupům při stanovení Cr(VI) můžeme zařadit např. reakci s trifluoperazin hydrochloridem (TFPH) v přítomnosti kyseliny fosforečné [22], se sulfanilovou kyselinou v přítomnosti p-aminobenzoové kyseliny [23], s variamin modří [8] a mnohé další.

### 2.3.1 Stanovení Cr(III) s chromazurolom S (CAS)

Reakce Cr(III) s barevným činidlem CAS (Obr.2.1) probíhá při laboratorní teplotě 2 - 4 dny, kdežto použitím vodní lázně se červenofialové zbarvení tvoří během 30min. Příčinou je značná hydratace chromitých iontů ve vodném prostředí, proto k reakci s chelátovým činidlem dochází po uvolnění vázaných molekul vody. Toho lze dosáhnout dodáním energie ve formě tepla [20].

Činidlo je zbarveno červeně a je proto výhodné realizovat vlastní měření v maximu diferenční křivky při 570 – 590 nm. Stanovení se provádí v prostředí acetátového pufru při pH 3,6. Roztoky již vybarveného chelátu i samotného činidla jsou značně stálé, jejich extinkce se nemění po několik dnů. Metodou je možno stanovit 0,004 – 0,4 ppm ( $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$ ) Cr(III) [18].

Stanovení lze uskutečnit za přítomnosti některých prvků (např. K, Na, Li, Mg, Ca, Sr, Ba, Cd,  $\text{NO}_3^-$ ,  $\text{Cl}^-$ , As(III),  $\text{Br}^-$  a další), jiné prvky (Cu, Hg(II), Al, Sn(IV), Sb(III), Bi, Fe(III), As(V),  $\text{MoO}_4^{2-}$ ) stanovení naopak ruší [18].



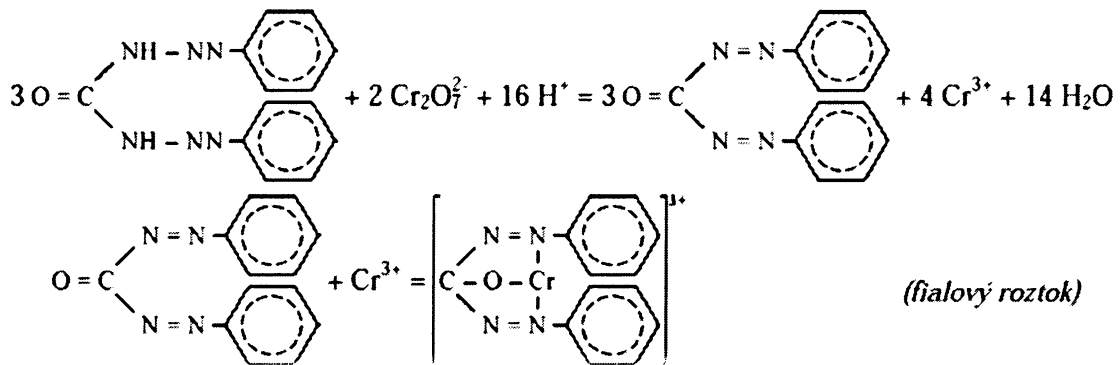
**Obr.2. 1** Vzorec chromazurolu S

(CAS= trojsodná sůl kyseliny 3''-sulfo-2'',6''-dichloro-3,3'-dimethyl-4-hydroxy-fuchson-5,5'-dikarboxylové)

### 2.3.2 Stanovení Cr(VI) s difenylkarbazidem (DFK)

Selektivní a citlivé stanovení Cr(VI) umožňuje metoda založená na reakci Cr(VI) s difenylkarbazidem (DFK) a následnou fotometrickou detekci. DFK tvoří s chromany v kyselém prostředí fialově zbarvený komplex. V průběhu reakce chroman nejprve

reaguje s DFK za vzniku Cr(III) a difenylkarbazonu. Následně oba reakční produkty poskytují barevný komplex (Obr. 2.2) [24]



**Obr. 2.2** Reakce iontů Cr(VI) s DFK za vzniku barevného komplexu

Reakce probíhá v prostředí minerální kyseliny s maximem absorpce 540 nm a pH roztoku nemá přesáhnout hodnotu 2,0. Maximální vybarvení reakce se dosahuje asi během jedné minuty, a to při značném až stonásobném nadbytku činidla; při laboratorní teplotě je pak zabarvení nejméně třicet minut stálé. Metodou je možno stanovit 0,5 – 1,5 ppm Cr.

Zabarvení rozrušují všechna oxidační činidla, k nimž se dále řadí  $\text{H}_2\text{O}_2$  i další peroxidy,  $\text{NO}_2^-$ ,  $\text{Br}_2$ ,  $\text{Fe(III)}$ ,  $\text{VO}_3^-$  apod. Stanovení je dále rušeno barevnými ionty typu Cu, Co a platinové kovy. V přítomnosti  $\text{H}_3\text{PO}_4$  pak i kovy tvořícími nerozpustné fosforečnany (Zr, Pb, Bi, Au). Vliv  $\text{Fe(III)}$  se odstraňuje přísadou  $\text{H}_3\text{PO}_4$  nebo redukcí kyselinou askorbovou. Řada kovů např. U, Th, Ni, Al, W, Mo, Ti, Ag, Hg stanovení neruší [18].

## 2.4 Hodnocení výsledků spektrofotometrického měření

### 2.4.1 Kalibrace a lineární regrese

Kalibrační závislost (kalibrační křivka) je nejvhodnější způsob určení koncentrace analytu. Kalibrace se provádí pomocí standardů se známým obsahem analytu nebo pomocí referenčních materiálů se známým celkovým složením. Výsledky měření signálů standardů

se zpracovávají buď graficky jako závislost  $y = f(c)$ , nebo lineární regresí s použitím metody nejmenších čtverců, která umožňuje určení parametrů rovnice

$$y = a.c + b \quad (5)$$

kde  $a$  je absorpční koeficient – konstanta charakteristická pro analyzovanou látku,  $b$  je konstanta představující signál slepého pokusu (blanku). Pro získání kalibrační křivky procházející počátkem, je měření nutno provádět proti slepému vzorku [18].



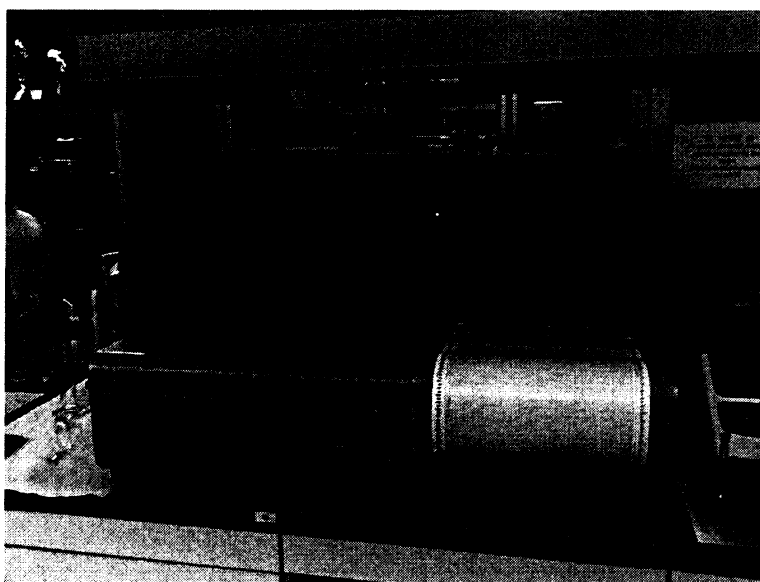
## 3 EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

### 3.1 Reagencie

Zásobní roztok dichromanu draselného ( $K_2Cr_2O_7$ ;  $M_r = 294,18$ ; Lachema, Brno) o koncentraci  $1000 \mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$  – přesná navážka  $0,285 \text{ g}$  rozpuštěna v deionizované vodě a doplněno po rysku na celkový objem  $100 \text{ ml}$ . Standardní roztok Cr(III) o koncentraci  $1000 \pm 0,002 \text{ g}$  (Solution for atomic spectrometry; Aldrich, USA). Zásobní roztok difenylkarbazidu ( $C_{13}H_{14}N_4O$ ;  $M_r = 242,29$ ; Lachema, Brno) o koncentraci  $1 \cdot 10^{-2} \text{ mol}\cdot\text{dm}^{-3}$  – přesná navážka  $0,6057 \text{ g}$  rozpuštěna v metanolu a doplněno po rysku na celkový objem  $250 \text{ ml}$ . Roztok byl skladován v chladu a chráněn před světlem. Zásobní roztok chromazurol S ( $C_{23}H_{13}Cl_2Na_3O_9S$   $M_r = 605, 29$ ; Standard Fluka, Švýcarsko) o koncentraci  $1 \cdot 10^{-2} \text{ mol}\cdot\text{dm}^{-3}$  – přesná navážka  $1,5132 \text{ g}$  rozpuštěna v deionizované vodě a doplněno po rysku na celkový objem  $250 \text{ ml}$ . Pufr o  $\text{pH} = 3,6$ , připravený smísením kyselé a zásadité složky. Kyselá složka zde byl Britton-Robinson pufr ( $4 \cdot 10^{-2} \text{ mol}\cdot\text{dm}^{-3} \text{ H}_3\text{PO}_4$ ,  $4 \cdot 10^{-2} \text{ mol}\cdot\text{dm}^{-3} \text{ CH}_3\text{COOH}$ ,  $4 \cdot 10^{-2} \text{ mol}\cdot\text{dm}^{-3} \text{ H}_3\text{BO}_3$ ) o  $\text{pH} = 1,81$ . Zásaditou složku tvořil  $2 \cdot 10^{-2} \text{ mol}\cdot\text{dm}^{-3} \text{ NaOH}$ . Zásobní roztok kyseliny chlorovodíkové o koncentraci  $5 \text{ mol}\cdot\text{dm}^{-3}$  ( $\text{HCl}$ ; 37%;  $M_r = 36,46$ ; Merck, Německo). Zásobní roztok kyseliny octové ( $\text{CH}_3\text{COOH}$ ;  $M_r = 17,49$ ; Merck, Německo) o koncentraci  $0,11 \text{ mol}\cdot\text{dm}^{-3}$  připravený z 37% roztoku této kyseliny o hustotě  $\rho = 1,0498 \text{ g}\cdot\text{cm}^{-3}$ . Zásobní roztok hydroxylaminu hydrochlorid ( $\text{NH}_2\text{OH}\cdot\text{HCl}$ ;  $M_r = 69,49$ , Merck, Německo) o koncentraci  $0,1 \text{ mol}\cdot\text{dm}^{-3}$  – přesná navážka činila  $3,475 \text{ g}$ , rozpuštěno v deionizované vodě a doplněno po rysku na celkový objem  $500 \text{ ml}$ . Zásobní roztok kyseliny octové ( $\text{CH}_3\text{COOH}$ ;  $M_r = 17,48$ ; Merck, Německo) o koncentraci  $0,11 \text{ mol}\cdot\text{dm}^{-3}$  připravený z 99,8% roztoku této kyseliny o hustotě  $\rho = 1,0498 \text{ g}\cdot\text{cm}^{-3}$ . Zásobní roztok kyseliny octové ( $\text{CH}_3\text{COOH}$ ;  $M_r = 17,49$ ; Merck, Německo) o koncentraci  $0,11 \text{ mol}\cdot\text{dm}^{-3}$  připravený z 99,99% roztoku této kyseliny o hustotě  $\rho = 1,0498 \text{ g}\cdot\text{cm}^{-3}$ . Zásobní roztok octanu amonného ( $\text{CH}_3\text{COONH}_4$ ;  $M_r = 77,08$ ; Lachema, Brno) o koncentraci  $1 \text{ mol}\cdot\text{dm}^{-3}$  – přesná navážka  $38,54 \text{ g}$  rozpuštěna v deionizované vodě a doplněno po rysku na celkový objem  $500 \text{ ml}$ . Methanol ( $\text{CH}_3\text{OH}$ ;  $M_r = 32,04$ ; Lachema, Brno). Deionizovaná voda.

## 3.2 Příkladové vybavení

Spektrofotometrické měření se provádělo v křemenných kyvetách s tloušťkou absorpční vrstvy 10 mm na spektrofotometru Pye-Unicam PU 8800 (Philips-Unicam, UK), viz. Obr. 2.1, jež je připojený k řídicímu počítači a ovládaný vytvořeným softwarem (Labview, National Instruments, USA). Dále byl použit laboratorní pH metr pHM 82 (Radiometr, Dánsko) s kombinovanou skleněnou elektrodou, nekalibrovaný standardními kalibračními roztoky o pH 4 a 7. Deionizátor vody Mili Q<sub>plus</sub> (Milipore, USA).



**Obr. 2. 2** Spektrofotometr Pye - Unicam PU 8800

## 3.3 Postup měření

Roztoky pro měření byly připravovány vždy do odměrných baněk o objemu 25 ml. Pro přípravu kalibračních řad u Cr(III) bylo ze zásobního roztoku odpipetováno vždy příslušné množství Cr(III), 3,125 ml činidla CAS, stálý objem 2,5 ml daného vyluhovacího činidla či deionizované voda a to vše doplněno po rysku pufrům o pH 3,6. Následně byly tyto roztoky pro stanovení zahřívány po dobu 90 minut při 100°C.

Pro přípravu kalibračních roztoků u Cr(VI) byl postup pipetování ze zásobních roztoků vždy následující: nejprve 0,5 ml HCl, následně 1,25 ml komplexotvorného činidla DFK, dále příslušné koncentrace Cr(VI) a to vše po smísení doplněno po rysku buď vyluhovacími činidly (CH<sub>3</sub>COOH, hydroxylamin, CH<sub>3</sub>COONH<sub>4</sub>), nebo deionizovanou vodou.

Měření na spektrofotometru se prováděla dle daných parametrů, viz. Tab. 2.1, v křemenných kyvetách s tloušťkou absorpční vrstvy 10 mm a vždy proti slepým vzorkům. Získaná data byla graficky zpracována programem Microsoft Excel či OriginPro 7.5 (OriginLab,U.S.A)

**Tab. 2. 1** Parametry spektrofotometru pro snímání spekter

<b>Nastavení spektrofotometru</b>	ANO
<b>Vlnová délka [nm]</b>	počáteční: 700
	konečná: 400
<b>Rychlost snímání spektra [nm/s]</b>	2
<b>Šířka spektrálního intervalu [nm]</b>	1
<b>Krok digitalizace spektr [nm]</b>	2
<b>Vynulování spekter</b>	ANO
<b>Měření spekter</b>	ANO

## 4 VÝSLEDKY MĚŘENÍ A DISKUZE

Vzorky výluhů městského prachu obsahují velké množství kovů a k jejich extrakci zde byly použita následující vyluhovací činidla : kyselina octová, hydroxylamin hydrochlorid a octan amonný.

Tato práce je zaměřena na výskyt trojmocného a šestimocného chromu v těchto extraktech a zjištění zda-li daná vyluhovací činidla budou mít vliv na samotné stanovení Cr(III) reakcí s chromazurolem S a stanovení Cr(VI) reakcí s DFK. Pro obě vybraná stanovení chromu již byly zjištěny optimální pracovní podmínky kolegyní Marcelou Rybínovou.

### 4.1 Vliv vyluhovacích činidel na spektrofotometrické stanovení Cr(III) v extraktech městského prachu

#### 4.1.1 Kalibrační závislost Cr(III) v prostředí deionizované vody

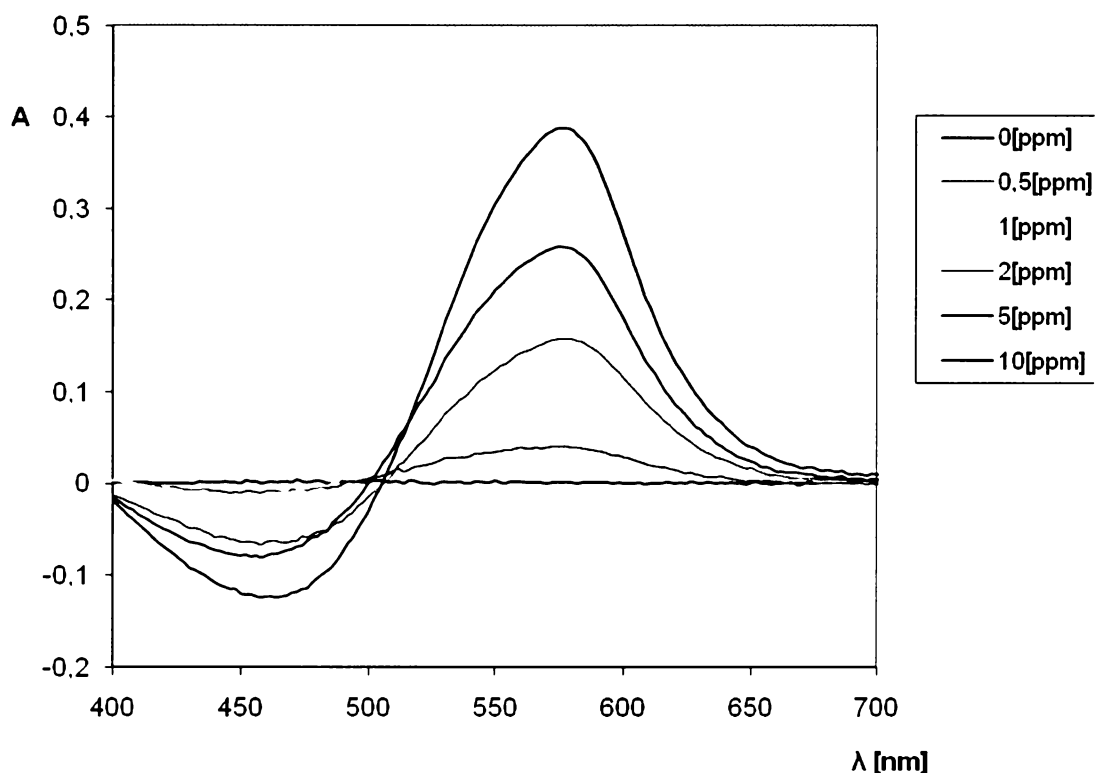
Abychom mohli zjistit množství trojmocného chromu ve vzorcích městského prachu, bylo nutné nejprve pomocí námi vytvořených kalibračních standardů určit kalibrační závislosti Cr(III) v prostředí vzorku. Vycházeli jsme ze zjištěných podmínek pro stanovení Cr(III) s chromazurolem S. Jako neoptimálnější koncentrace CAS byla stanovena  $1 \cdot 10^{-3}$  mol.dm<sup>-3</sup> a pH pufru, v kterém stanovení probíhá, je 3,6. Velký vliv na vznik komplexu Cr(III)-CAS má také čas a teplota, proto jsme vzorky nejdříve zahřívali ve vodní lázni po dobu 90 minut při 100°C. Došlo tak k úplnému vybarvení tmavě červeného komplexu a vzorky byly po vychladnutí připraveny k měření.

Prvotně byla provedena kalibrace v prostředí deionizované vody, s jejímiž výsledky jsme pak dále pracovali a porovnávali získané hodnoty. Provedeno bylo šest měření v koncentračním rozmezí 0 – 10 µg.ml<sup>-1</sup>. Pro zjištění absorpčního maxima byly sestrojeny diferenční křivky všech měřených roztoků, jak ukazuje Obr. 3.1. Legenda u grafu vysvětluje, která barva spektra znázorňuje určitou koncentraci Cr(III) (Jelikož je to u následujících grafů diferenční křivky vždy stejné, je zobrazena pouze u prvního obrázku,

z kterého vycházíme). Hodnota zjištěné maximální vlnové délky byla 574 nm.

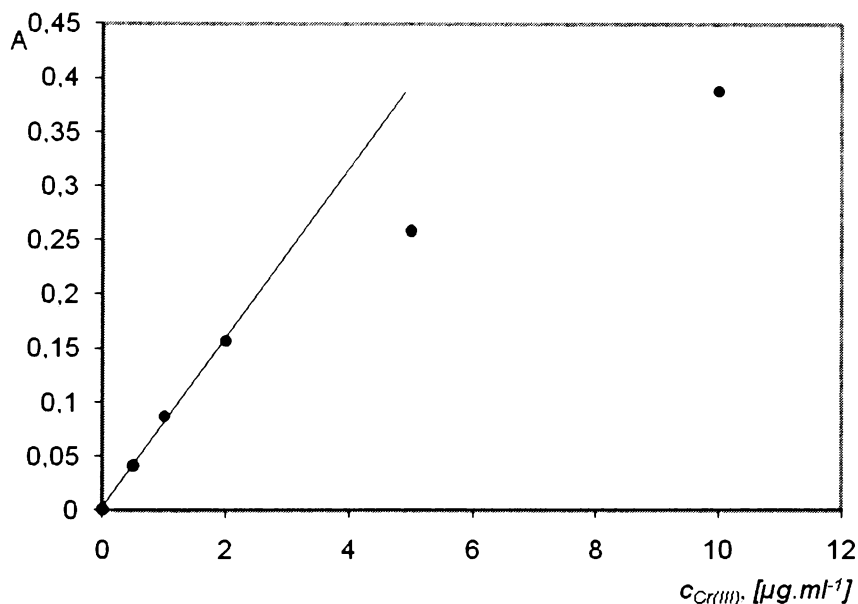
Při této vlnové délce, tj. 574 nm, byly odečteny hodnoty absorbance a sestrojena závislost absorbance na koncentraci Cr (III). Kalibrační závislost zobrazená na Obr. 3.2 je lineární v rozsahu 0 – 2  $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$  (při vyšších koncentracích již nastává znatelný ohyb v křivce).

Získanou závislost lze popsat vztahem (5), kde za y dosadíme A, za x koncentraci c. Vznikne nám tedy rovnice  $A = 0,0783 c + 0,003$  ( hodnota spolehlivosti  $R^2 = 0,9967$ ). Citlivost vyjádřená jako směrnice kalibrace činí  $0,0783 \text{ ml}\cdot\mu\text{g}^{-1}$ .



**Obr. 3. 1** Diferenční křivky komplexů Cr(III)-CAS

*Podmínky měření:  $c_{\text{Cr(III)}} = 0\text{-}10 \mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$ ;  $c_{\text{CAS}} = 1 \cdot 10^{-3} \text{ mol}\cdot\text{dm}^{-3}$ ; prostředí pufru o pH 3,6; zahříváno po dobu 90 minut při  $T = 100^\circ\text{C}$ ; měřeno proti slepému vzorku obsahujícímu stejné složky jako samotný vzorek, ale bez Cr(III) (roztok byl též zahříván);  $l = 10 \text{ mm}$*



**Obr. 3. 2** Kalibrační křivka komplexu Cr(III)-CAS

*Podmínky měření:  $c_{Cr(III)} = 0 - 10 \mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$ ;  $c_{CAS} = 1 \cdot 10^{-3} \text{ mol}\cdot\text{dm}^{-3}$ ; prostředí pufru o pH 3,6; zahříváno po dobu 90 minut při  $T = 100^\circ\text{C}$ ; měřeno proti slepému vzorku obsahujícímu stejnou složku jako samotný vzorek, ale bez Cr(III) (roztok byl též zahříván);  $l = 10 \text{ mm}$*

#### 4.1.2 Kalibrační závislost Cr(III) v prostředí vyluhovacích činidel

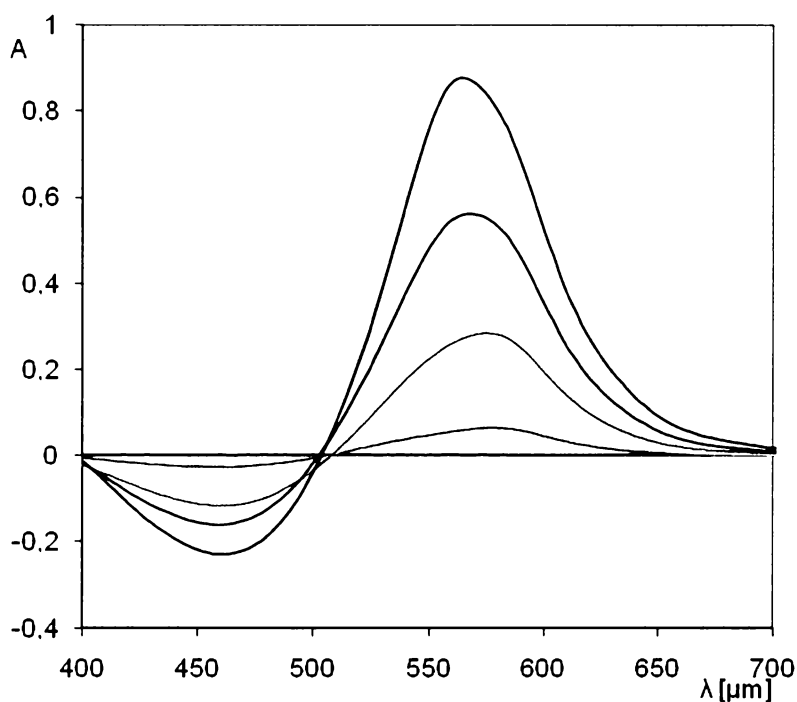
Následně byly provedeny kalibrační závislosti po přidání jednotlivých vyluhovacích činidel. Naším cílem bylo získat pro všechna činidla nejlépe stejnou hodnotu citlivosti (směrnice) reakce, jakou jsme zjistili v případě stanovení Cr(III) v prostředí deionizované vody.

Provedeno bylo opět šest měření v koncentračním rozmezí Cr(III)  $0 - 10 \mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$ . Postup pipetování byl stejný jak v předešlém případě, jen místo deionizované vody byla přidána jednotlivá činidla. Z důvodu dosažení výraznějších hodnot, jsme zde pro Cr(III) ionty však použili činidla 10x koncentrovanější, než bylo původně zadáno.

#### 4.1.2.1 Kyselina octová

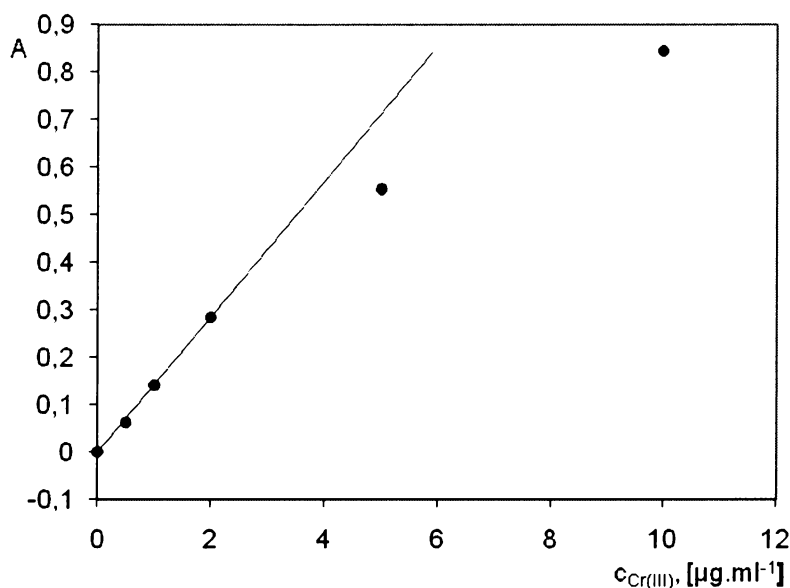
Pro zjištění absorpčního maxima byly sestrojeny diferenční křivky všech měřených roztoků, viz. Obr. 3.3 a ze spekter odečteno absorpční maximum. I zde byla dosažena maximální vlnová délka 574 nm, při níž jsme odečetli hodnoty absorbance a sestrojili závislost absorbance na koncentraci Cr (III). Kalibrační závislost zobrazená na Obr. 3.4 je opět lineární pouze v rozsahu 0 – 2  $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$ . Z grafu je již patrné, že hodnoty absorbance pro jednotlivé koncentrace jsou vyšší než v u prvního případu.

Získanou závislost popíšeme rovnicí  $A = 0,1431 c + 0,0032$  (hodnota spolehlivosti  $R^2 = 0,9987$ ). Citlivost (směrnice) kalibrace činí  $0,1431 \text{ ml}\cdot\mu\text{g}^{-1}$ , což je dvojnásobně vyšší než základní směrnice.



**Obr. 3. 3** Diferenční křivky v prostředí kyseliny octové

*Podmínky měření:  $c_{\text{Cr(III)}} = 0-10 \mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$ ;  $c_{\text{CAS}} = 1 \cdot 10^{-3} \text{ mol}\cdot\text{dm}^{-3}$ ;  $c_{\text{CH}_3\text{COOH}} = 1,1 \text{ mol}\cdot\text{dm}^{-3}$ ; prostředí pufru o pH 3,6; zahříváno po dobu 90 minut při  $T = 100^\circ\text{C}$ ; měřeno proti slepému vzorku obsahujícímu stejné složky jako samotný vzorek, ale bez Cr(III) (roztok byl též zahříván);  $l = 10 \text{ mm}$*



**Obr. 3. 4** Kalibrační přímka závislosti  $c$  Cr(III) v kyselině octové na absorbanci

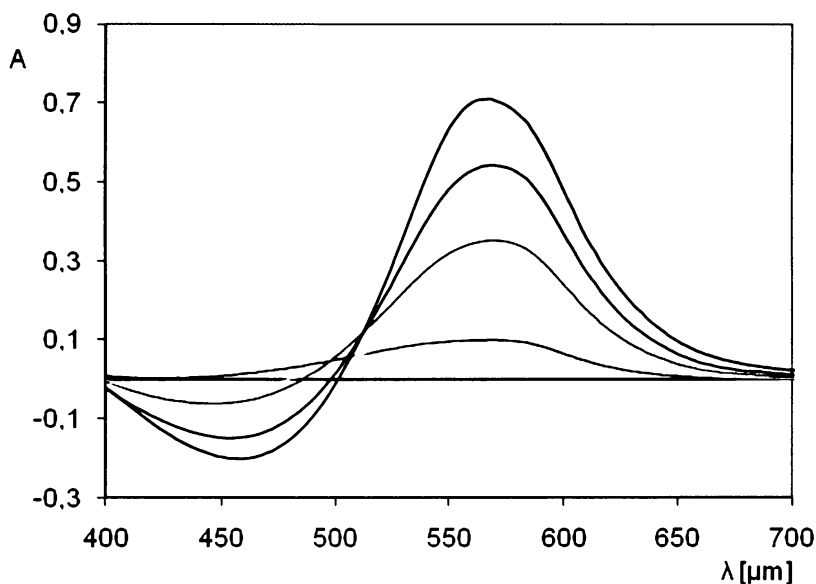
*Podmínky měření:  $c_{Cr(III)} = 0-10 \mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$ ;  $c_{CAS} = 1 \cdot 10^{-3} \text{mol}\cdot\text{dm}^{-3}$ ;  $c_{CH_3COOH} = 1,1 \text{mol}\cdot\text{dm}^{-3}$ ; prostředí pufru o pH 3,6; zahříváno po dobu 90 minut při  $T = 100^\circ\text{C}$ ; měřeno proti slepému vzorku obsahujícímu stejné složky jako samotný vzorek, ale bez Cr(III) (roztok byl též zahříván);  $l = 10 \text{mm}$*

#### 4.1.2.2 Hydroxylamin hydrochlorid

V případě druhého činidla bylo sestrojením diferenčních křivek měřených roztoků, vidno na Obr. 3.5, odečteno absorpční maximum v bodě 568 nm. Což je prvotní rozdíl oproti minulým případům. Kalibrační závislost zobrazená na Obr. 3.6 je i v tomto případě lineární pouze v rozsahu  $0 - 2 \mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$ . Hodnoty absorbancí jsou opět vyšší.

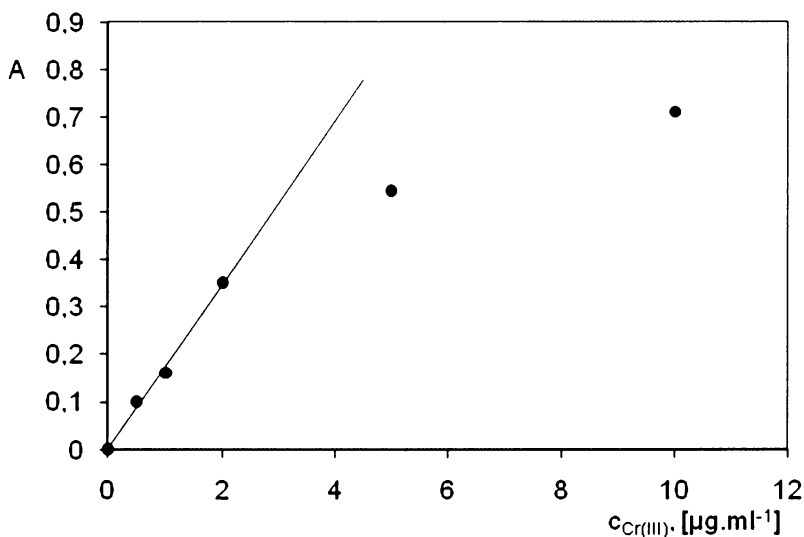
Získanou závislost lze popsat rovnicí  $A = 0,1726 c + 0,002$  (hodnota spolehlivosti  $R^2 = 0,9948$ ). Citlivost (směrnice) kalibrace činí  $0,1726 \text{ml}\cdot\mu\text{g}^{-1}$ . Ani v tomto případě nebylo dosaženo stejné směrnice.





**Obr. 3. 5** Diferenční křivky v prostředí hydroxylaminu

*Podmínky měření:  $c_{Cr(III)} = 0 - 10 \mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$ ;  $c_{CAS} = 1 \cdot 10^{-3} \text{mol}\cdot\text{dm}^{-3}$ ;  $c_{\text{NH}_2\text{OH}\cdot\text{HCl}} = 1 \text{mol}\cdot\text{dm}^{-3}$ ; prostředí pufru o pH 3,6; zahříváno po dobu 90 minut při  $T = 100^\circ\text{C}$ ; měřeno proti slepému vzorku obsahujícímu stejné složky jako samotný vzorek, ale bez Cr(III) (roztok byl též zahříván);  $l = 10 \text{mm}$*



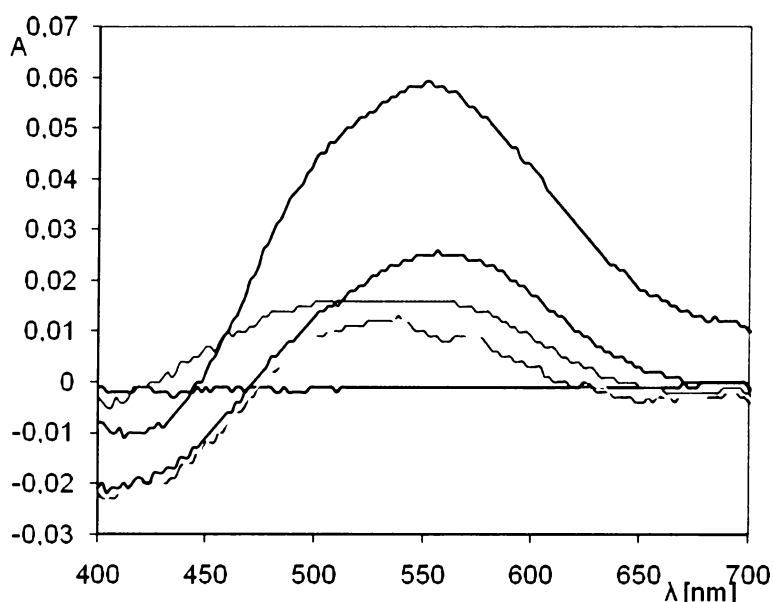
**Obr. 3. 6** Kalibrační přímka závislosti  $c_{Cr(III)}$  v hydroxylaminu na absorbanci

*Podmínky měření:  $c_{Cr(III)} = 0 - 10 \mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$ ;  $c_{CAS} = 1 \cdot 10^{-3} \text{mol}\cdot\text{dm}^{-3}$ ;  $c_{\text{NH}_2\text{OH}\cdot\text{HCl}} = 1 \text{mol}\cdot\text{dm}^{-3}$ ; prostředí pufru o pH 3,6; zahříváno po dobu 90 minut při  $T = 100^\circ\text{C}$ ; měřeno proti slepému vzorku obsahujícímu stejné složky jako samotný vzorek, ale bez Cr(III) (roztok byl též zahříván);  $l = 10 \text{mm}$*

#### 4.1.2.3 Octan amonný

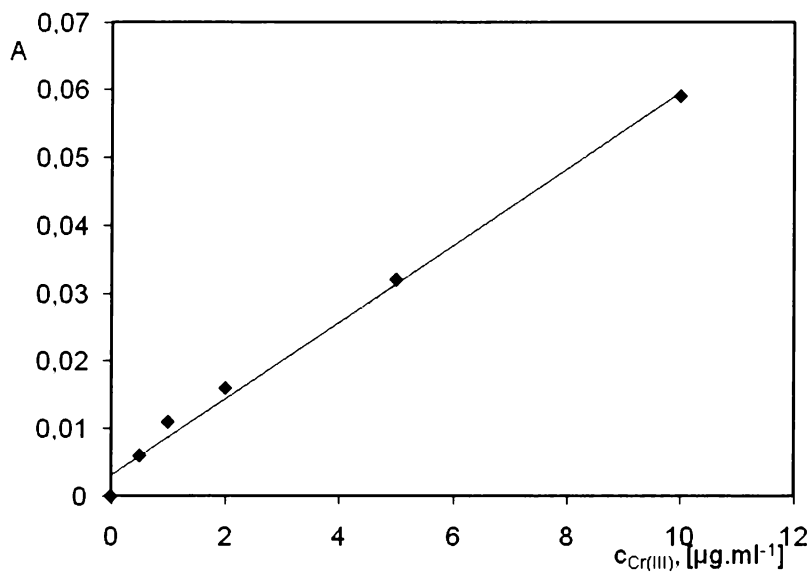
Třetí činidlo vykazovalo po sestrojení diferenčních křivek měřených roztoků maximální vlnovou délku pouze 550 nm a již od pohledu, Obr. 3.7, je jasné, že reakce s octanem má značný vliv na stanovení Cr(III). Kalibrační závislost zobrazená na Obr. 3.8 zdá se být lineární v celém rozsahu koncentrací Cr(III) a příslušné hodnoty absorbancí jsou až 9x nižší než je tomu u stanovení s vodou.

Kalibrační závislost popíšeme rovnicí  $A = 0,0057 c + 0,0032$  (hodnota spolehlivosti  $R^2 = 0,9924$ ). Citlivost (směrnice) kalibrace má hodnotu  $0,0057 \text{ ml} \cdot \mu\text{g}^{-1}$ . Ani jedna z kalibračních směrnici činidel se nepřiblížila svou hodnotou k požadované, jež byla zjištěna při stanovení Cr(III) v přítomnosti deionizované vody. Na základě získaných údajů, můžeme tedy potvrdit, že ani jedno z vyluhovacích činidel zde použitých, není vhodné. Tímto jsme zkoumání vlivů činidel na spektrofotometrické stanovení Cr(III) ve vzorcích vyluhů ukončili a věnovali se dále jen stanovení Cr(VI).



Obr. 3. 7 Diferenční křivky v prostředí octanu amonného

*Podmínky měření:  $c_{\text{Cr(III)}} = 0 - 10 \mu\text{g} \cdot \text{ml}^{-1}$ ;  $c_{\text{CH}_3\text{COONH}_4} = 1 \cdot 10^{-3} \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$ ;  $c_{\text{CH}_3\text{COONH}_4} = 10 \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$ ; prostředí pufru o pH 3,6; zahříváno po dobu 90 minut při  $T = 100^\circ\text{C}$ ; měřeno proti slepému vzorku obsahujícímu stejné složky jako samotný vzorek, ale bez Cr(III) (roztok byl též zahříván);  $l = 10 \text{ mm}$*



**Obr. 3. 8** Kalibrační přímka závislosti  $c$  Cr(III) v octanu amonném na absorbanci

*Podmínky měření:  $c_{Cr(III)} = 0 - 10 \mu\text{g.ml}^{-1}$ ;  $c_{CAS} = 1.10^{-3} \text{mol.dm}^{-3}$ ;  $c_{\text{CH}_3\text{COONH}_4} = 10 \text{mol.dm}^{-3}$ ; prostředí pufru o pH 3,6; zahříváno po dobu 90 minut při  $T = 100^\circ\text{C}$ ; měřeno proti slepému vzorku obsahujícímu stejné složky jako samotný vzorek, ale bez Cr(III) (roztok byl též zahříván);  $l = 10 \text{mm}$*

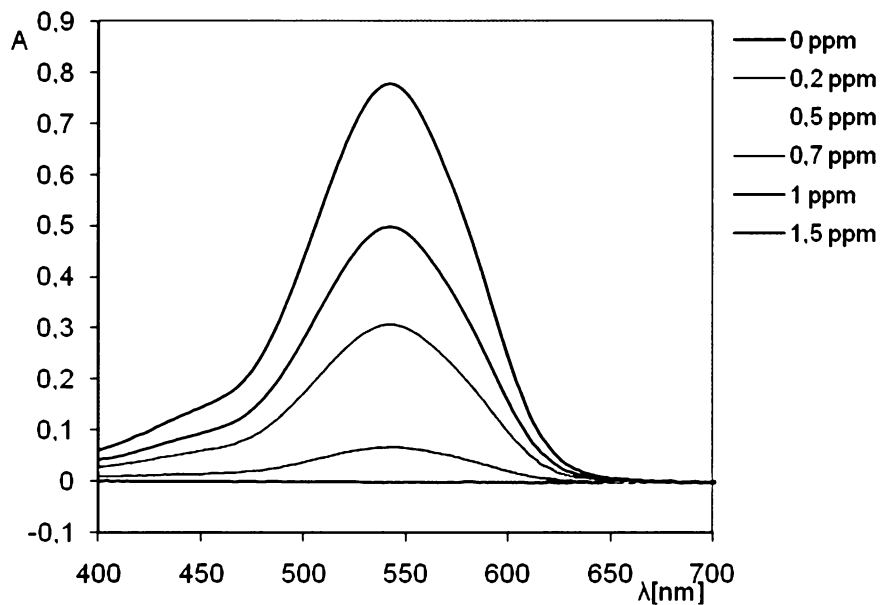
## 4.2 Vliv vyluhovacích činidel na spektrofotometrické stanovení Cr(VI) v extraktech městského prachu

### 4.2.1 Kalibrační závislost Cr(VI) v prostředí deionizované vody

Pro stanovení šestimocného chromu ve vzorcích městského prachu jsme i zde jako první zvolili metodu, kde pomocí kalibračních standardů následně určíme lineární závislosti Cr(VI) v prostředí vzorku. Pro stanovení Cr(VI) reakcí s DFK v kyselém prostředí byly optimální podmínky zjištěny následující: nejvhodnější kyselina pro stanovení je HCl o koncentraci  $0,1 \text{ mol.dm}^{-3}$ , koncentrace činidla DFK byla stanovena na  $5 \cdot 10^{-4} \text{ mol.dm}^{-3}$ . Maximální zabarvení komplexu se objevilo již v první minutě, roztoky nebylo nutné zahřívat, jako v případě stanovení Cr(III).

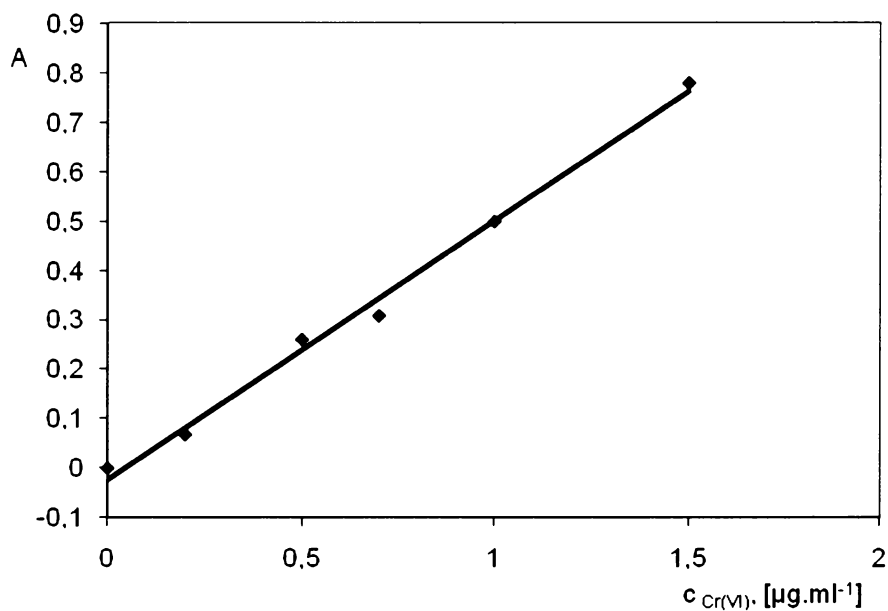
Prvotně byla provedena kalibrace v prostředí deionizované vody, s jejímiž výsledky jsme pak dále pracovali a porovnávali získané hodnoty. I v tomto případě bylo provedeno šest měření v koncentračním rozmezí  $0 - 1,5 \text{ } \mu\text{g.ml}^{-1}$ . Pro zjištění absorpčního maxima byly sestrojeny diferenční křivky všech měřených roztoků, jak ukazuje Obr. 3.9. I zde byla ponechána legenda u grafu pro lepší orientaci, která barva spektra znázorňuje určitou koncentraci Cr(VI). V tomto případě byla hodnota zjištěné maximální vlnové délky 542 nm.

Při této vlnové délce jsme odečetli hodnoty absorbance a sestrojili z nich následně závislost absorbance na koncentraci Cr (VI). Kalibrační závislost zobrazená na Obr. 3.10 je v celém svém rozsahu koncentrací lineární. Vznikne nám tedy rovnice  $A = 0,5235 c + 0,0223$  (hodnota spolehlivosti  $R^2 = 0,9935$ ). Citlivost vyjádřená jako směrnice kalibrace je rovna  $0,5235 \text{ ml.}\mu\text{g}^{-1}$ .



**Obr. 3. 9** Diferenční křivky pro komplex Cr(VI)- DFK v deionizované vodě

*Podmínky měření:  $c_{Cr(VI)} = 0 - 1,5 \mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$ ;  $c_{DFK} = 5 \cdot 10^{-4} \text{ mol}\cdot\text{dm}^{-3}$ ;  $c_{HCl} = 0,1 \text{ mol}\cdot\text{dm}^{-3}$ ; doplněno deionizovanou vodou; měřeno proti slepému vzorku obsahujícímu stejné složky jako samotný vzorek, ale bez Cr(VI);  $l = 10 \text{ mm}$*



**Obr. 3. 10** Kalibrační křivka v rozmezí koncentrací 0 – 1,5  $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$

*Podmínky měření:  $c_{Cr(VI)} = 0 - 1,5 \mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$ ;  $c_{DFK} = 5 \cdot 10^{-4} \text{ mol}\cdot\text{dm}^{-3}$ ;  $c_{HCl} = 0,1 \text{ mol}\cdot\text{dm}^{-3}$ ; měřeno proti slepému vzorku obsahujícímu stejné složky jako samotný vzorek, ale bez Cr(VI);  $l = 10 \text{ mm}$*

## 4.2.2 Kalibrační závislost Cr(VI) v prostředí vyluhovacích činidel

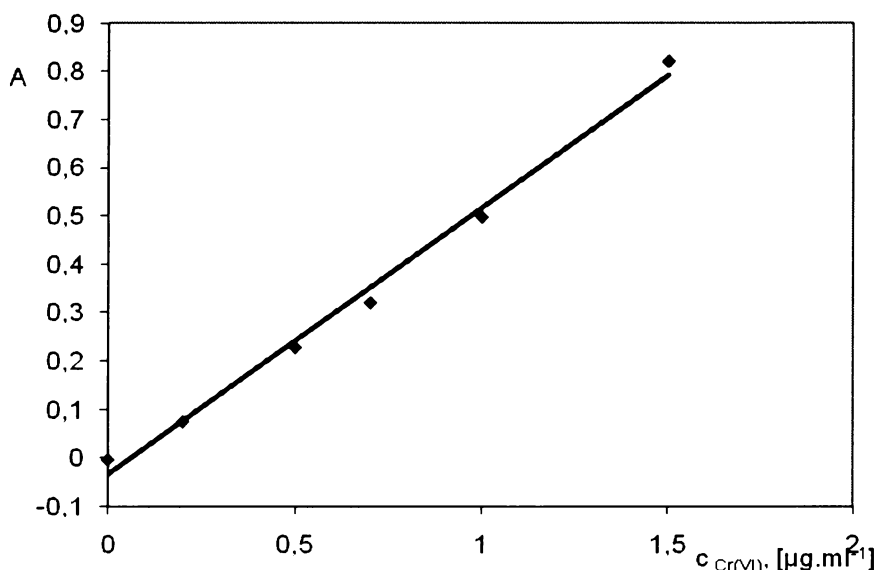
Následně byly provedeny kalibrační závislosti po přidání jednotlivých vyluhovacích činidel. I zde bylo cílem získat přibližnou hodnotu citlivosti (směrnice) kalibrace, k již určené pro stanovení Cr(VI) v prostředí deionizované vody.

Připraveno bylo šest kalibračních roztoků v koncentračním rozmezí Cr(VI) 0 – 1,5  $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$ . Postup pipetování je popsán v kapitole 3.3, jen v tomto případě doplňujeme baňky po rysku jednotlivými činidly o daných koncentracích.

### 4.2.2.1 37 % kyselina octová

Sestrojením diferenčních křivek všech šesti roztoků jsme získali maximální vlnovou délka 542 nm (stejně jako v případě reakce s deionizovanou vodou, viz Obr.3.9), při níž jsme odečetli hodnoty absorbance a sestrojili závislost absorbance na koncentraci Cr (VI). Kalibrační křivka pro koncentrační rozmezí 0 – 1,5  $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$  je znázorněna na Obr. 3.11.

Závislost je opět lineární v plném rozsahu koncentrací a z grafu tak odvodíme rovnici  $A = 0,55 c + 0,0341$  ( hodnota spolehlivosti  $R^2 = 0,9929$ ). Směrnice kalibrace je rovna  $0,55 \text{ ml}\cdot\mu\text{g}^{-1}$ , což má velmi blízkou hodnotu původní směrnice.



**Obr. 3. 11** Kalibrační přímka závislosti rozmezí koncentrací Cr(VI) v kyselině octové na absorbanci

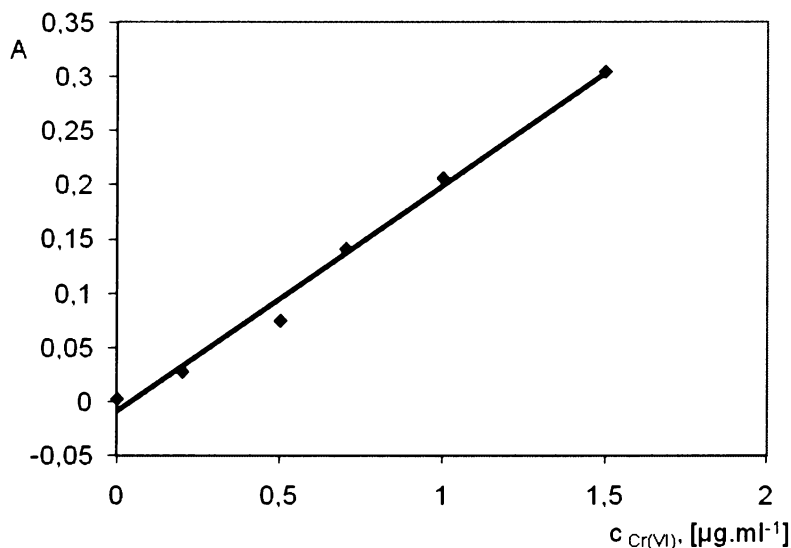
Podmínky měření:  $c_{Cr(VI)} = 0 - 1,5 \mu\text{g.ml}^{-1}$ ;  $c_{DFK} = 5 \cdot 10^{-4} \text{ mol.dm}^{-3}$ ;  $c_{HCl} = 0,1 \text{ mol.dm}^{-3}$ ;  $c_{CH_3COOH} = 0,11 \text{ mol.dm}^{-3}$  měřeno proti slepému vzorku obsahujícímu stejné složky jako samotný vzorek, ale bez Cr(VI);  $l = 10 \text{ mm}$

#### 4.2.2.2 Hydroxylamin hydrochlorid

I u tohoto činidla o koncentraci  $c_{NH_2OH.HCl} = 0,1 \text{ mol.dm}^{-3}$  jsme pomocí diferenční křivky jednotlivých spekter získali též absorpční maximum v 542 nm. Grafické vynesení (znázornění) jak diferenční křivky, tak kalibrační přímky je prakticky totožné s Obr. 3.9 a Obr. 3.10, není proto nutné je zde demonstrovat v dalších grafech. Kalibrační závislost koncentrace na absorbanci byla daná rovnicí  $A = 0,5022 c + 0,0413$  (hodnota spolehlivosti  $R^2 = 0,9773$ ). Citlivost kalibrace má hodnotu  $0,5022 \text{ ml.}\mu\text{g}^{-1}$ . Opět pozorujeme podobné hodnoty směrnic.

#### 4.2.2.3 Octan amonný

Proměřením kalibračních roztoků Cr (VI) v octanu amonném jsme také získali diferenční křivky. Maximální hodnoty absorbancí použité k sestavení kalibrační přímky byly ze spekter odečteny opět při vlnové délce 542 nm, avšak jejich hodnoty se již lišily oproti minulým činidlům. Kalibrační křivka pro koncentrační rozmezí  $0 - 1,5 \mu\text{g.ml}^{-1}$  je zobrazená na Obr. 3.12. Z kalibrační přímky dostaneme rovnici ve tvaru  $A = 0,2085 c + 0,0094$  (hodnota spolehlivosti  $R^2 = 0,9903$ ). Směrnice kalibrace má hodnotu  $0,2085 \text{ ml.}\mu\text{g}^{-1}$ . Z výsledku lze usoudit, že činidlo octan amonný má (stejně jako u stanovení Cr(III)) vliv na stanovení Cr(VI) reakcí s DFK.



**Obr. 3. 12** Kalibrační přímka závislosti  $c$  Cr(VI) v octanu amonném na absorbanci

*Podmínky měření:  $c_{Cr(VI)} = 0 - 1,5 \mu g \cdot ml^{-1}$ ;  $c_{DFK} = 5 \cdot 10^{-4} mol \cdot dm^{-3}$ ;  $c_{HCl} = 0,1 mol \cdot dm^{-3}$ ;  $c_{CH_3COONH_4} = 1 mol \cdot dm^{-3}$ ; měřeno proti slepému vzorku obsahujícímu stejné složky jako samotný vzorek, ale bez Cr(VI);  $l = 10 mm$*

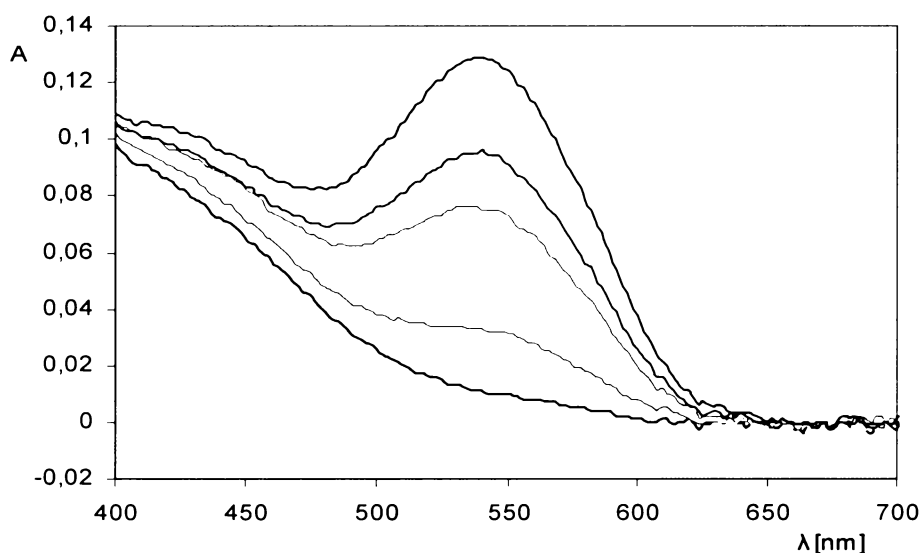
#### 4.2.3 Vlivy na kalibrační závislost při změně pořadí přidávání činidel

Byl proveden experimentální pokus, jaké by nastaly změny v kalibračních závislostech roztoků Cr(VI) v činidlech, kdyby se změnilo dosavadní pořadí přidávání jednotlivých složek vzorku. Kalibrační roztoky opět pipetujeme do odměrných baněk o objemu 25 ml. V rozmezí koncentrací Cr(VI) 0 – 1,5  $\mu g \cdot ml^{-1}$ . Dosavadní postup je uveden v kapitole 3.3, zde byly vyzkoušeny následující kroky pipetování:

- 1) Dané množství roztoku Cr(VI) v rozmezí koncentrací 0 – 1,5  $\mu g \cdot ml^{-1}$
- 2) Konstantní objem deion. vody či vyluhovacích činidel,  $V = 10 ml$
- 3) 0,5 ml HCl o  $c = 0,1 mol \cdot dm^{-3}$
- 4) 1,25 ml komplexotvorného činidla DFK o  $c = 5 \cdot 10^{-4} mol \cdot dm^{-3}$
- 5) Doplnění po rysku deion.vody či vyluhovacím činidlem

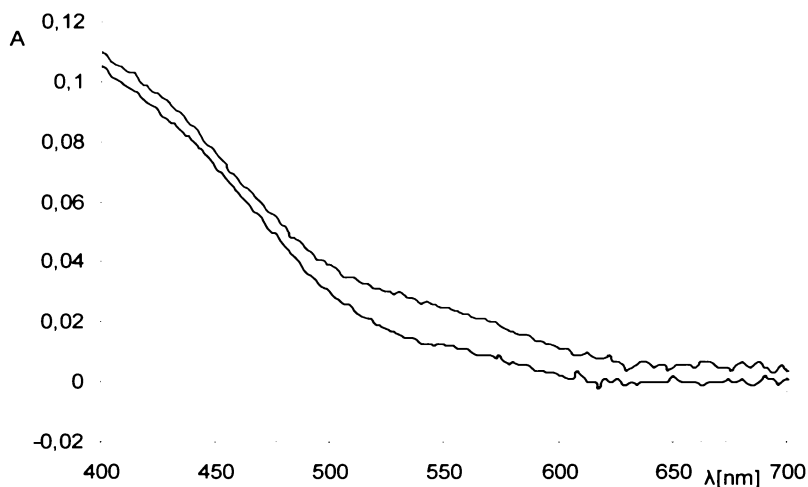


Výsledek byl následující: sestrojením diferenční křivky pro absorpční spektra Cr(VI), pro ilustraci jsou znázorněné na Obr. 3.13., v prostředí deionizované vody i kyseliny octové jsme objevili maximální hodnoty absorbancí opět při 542 nm, ale tyto hodnoty byly oproti prvotnímu způsobu stanovení výrazně menší. Diferenční křivky roztoků Cr(VI) v prostředí zbývajících dvou činidel hydroxylaminu a octanu amonného vykazovaly nepatrnou absorbanci, možno vidět na Obr. 3.14, kde jsou pro představu znázorněné diferenční křivky obou činidel, jimž odpovídá koncentrace kalibračního roztoku  $1,5 \mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$ . Tímto pokusem jsme tedy stanovili, že změna pořadí přidávání jednotlivých složek má veliký vliv na následné proměřování kalibračních závislostí a není tedy optimálním řešením.



**Obr. 3. 13** Diferenční křivky spekter Cr(VI)

*Podmínky měření:  $c_{\text{Cr(VI)}} = 0 - 1,5 \mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$ ;  $c_{\text{D.F.K.}} = 5 \cdot 10^{-4} \text{ mol}\cdot\text{dm}^{-3}$ ;  $c_{\text{HCl}} = 0,1 \text{ mol}\cdot\text{dm}^{-3}$ ; doplněno deionizovanou vodou /  $\text{CH}_3\text{COOH}$ ; měřeno proti slepému vzorku obsahujícímu stejné složky jako samotný vzorek, ale bez Cr(VI);  $l = 10 \text{ mm}$*



**Obr. 3. 14** Diferenční křivky spekter Cr(VI) v prostředí hydroxylaminu a octanu amonného

*Podmínky měření: modrá křivka :  $c_{Cr(VI)} = 1,5 \mu\text{g.ml}^{-1}$ ;  $c_{DFK} = 5 \cdot 10^{-4} \text{ mol.dm}^{-3}$ ;  $c_{HCl} = 0,1 \text{ mol.dm}^{-3}$ ;  $c_{NH_2OH.HCl} = 0,1 \text{ mol.dm}^{-3}$ ; měřeno proti slepému vzorku obsahujícímu stejné složky jako samotný vzorek, ale bez Cr(VI);  $l = 10 \text{ mm}$ ; červená křivka:  $c_{Cr(VI)} = 1,5 \mu\text{g.ml}^{-1}$ ;  $c_{DFK} = 5 \cdot 10^{-4} \text{ mol.dm}^{-3}$ ;  $c_{HCl} = 0,1 \text{ mol.dm}^{-3}$ ;  $c_{CH_3COONH_4} = 1 \text{ mol.dm}^{-3}$ ; měřeno proti slepému vzorku obsahujícímu stejné složky jako samotný vzorek, ale bez Cr(VI);  $l = 10 \text{ mm}$*

#### 4.2.4 Proměření časové závislosti Cr(VI) v prostředí vyluhovacích činidel

Pro ověření zdali i při delším stání vzorků, obsahují ionty Cr(VI) ve vyluhovacích činidlech absorpance Cr(VI) zůstává stále stejná, jsme změřili časovou závislost určité koncentrace Cr(VI) ve zkoumaných prostředích. Do čtyř odměrných baněk o objemu 25 ml jsme tedy pipetovali vždy ze zásobního roztoku ( $c = 100 \mu\text{g.ml}^{-1}$ ) Cr(VI) o koncentraci  $1 \mu\text{g.ml}^{-1}$  a doplnili po rysku vždy jedním vyluhovacím činidlem či ve čtvrtém případě deionizovanou vodou. Postupně byla měřena absorpance všech roztoků při známé maximální vlnové délce 542 nm (zjištěna v předešlém měření) v časovém rozmezí 0 – 120 minut. Výsledné hodnoty absorpance jsou zanesené v tabulkách Tab. 3.1, Tab.3.2, Tab.3.3, Tab.3.4. Z hodnot v tabulkách vyplývá, že absorpance Cr(VI) ve všech využívaných prostředích zůstává i po delší časový úsek skoro konstantní. Časová závislost nemá tedy vliv na stanovení Cr(VI) ve vzorcích výluhů.

**Tab. 3. 1**Cr(VI) v prostředí deion.vody

t [min]	A
0	-0,001
30	0,000
60	0,001
90	0,001
120	0,000

**Tab. 3.2** Cr(VI) v prostředí CH<sub>3</sub>COOH

t [min]	A
0	0,001
30	0,001
60	0,001
90	0,000
120	0,001

**Tab. 3. 3** Cr(VI) v prostředí hydroxylaminu

t [min]	A
0	-0,002
30	0,001
60	0,001
90	-0,001
120	-0.002

**Tab. 3. 4** Cr(VI) v prostředí CH<sub>3</sub>COONH<sub>4</sub>

t [min]	A
0	-0,002
30	-0,002
60	0,000
90	0,001
120	0,000

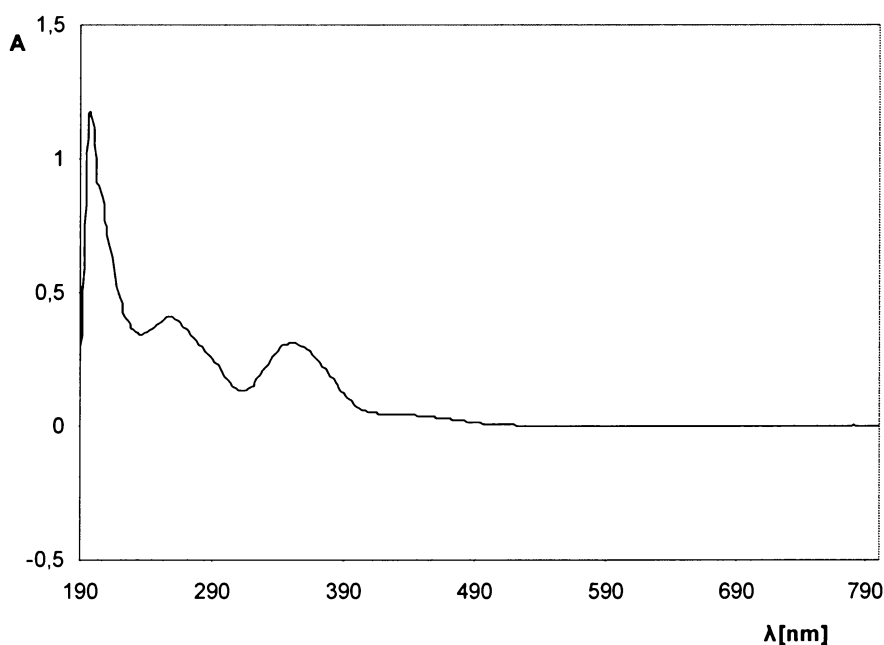
#### 4.2.5 Proměření celého spektra dichromanu draselného v oblasti 800-190nm

V dalším kroku určení, zda bude možné Cr(VI) spektrofotometricky detekovat v přítomnosti vyluhovacích činidel bylo proměření spektra dichromanu draselného v celém rozmezí, tedy 800 – 190 nm. Bylo změřeno absorpční spektrum samotného roztoku Cr(VI) o koncentraci 10 µg.ml<sup>-1</sup> . Postup byl následující :

- 1) Objeví-li se maximální absorbance v hodnotě 0,5 a výš, pak proměříme při stejné koncentraci Cr(VI) i absorpční spektra ve vyluhovacích činidlech.
- 2) Bude-li však absorbance menší než 0,5, pak proměříme znova absorpční spektrum Cr(VI),ale tentokráte o koncentraci 50 µg.ml<sup>-1</sup> .

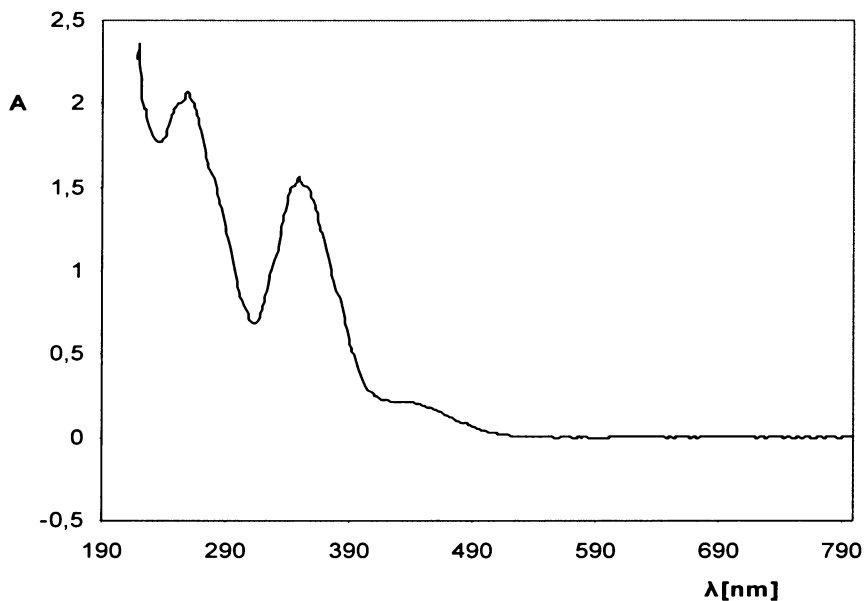
Dle Obr. 3.15 je patrné, že první záměr nevyšel. Obě nalezené maximální absorbance měly hodnotu pod 0,5. Postupovali jsme tedy, kde druhého zadání, kde koncentrace Cr(VI) byla 5x větší oproti původní, tj.  $50 \mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$ . Výsledek je uveden na Obr. 3.16, kde zřetelně vidíme dvě absorpční maxima, první při 257 nm a druhé při 348 nm, obě s hodnotou absorbance nad 0,5. Použili jsme tedy druhý postup i pro proměření absorpčních spekter Cr(VI) v prostředí vyluhovacích činidel. Pouze u kyseliny octové, Obr. 3.17, vidíme dva znatelné píky, jejichž hodnota absorbance je vyšší než 0,5 a jejich maximální vlnová délka je přibližně stejná jako u samotného Cr(VI) v deionizované vodě. Kdežto u hydroxylaminu a octanu amonného došlo k okamžitému zreagování Cr(VI) a jejich spektrum nevykazuje téměř žádnou absorbanci. Pro ilustraci jsou tyto změny graficky zobrazeny v Obr. 3.18.

Důkazem nám byl i zjištěný fakt, že došlo ke změně zabarvení roztoků, po přidání činidel. Zásobní roztok Cr (VI) je barvy žluté, vyluhovací činidla jsou bezbarvá. V případě reakce Cr(VI) s deionizovanou vodou a kyselinou octovou roztoky po smíšení mají stálou barvu – světložlutou. Ale po smíšení Cr(VI) a činidel hydroxylaminu a octanu amonného jsou roztoky po chvíli téměř bezbarvé.



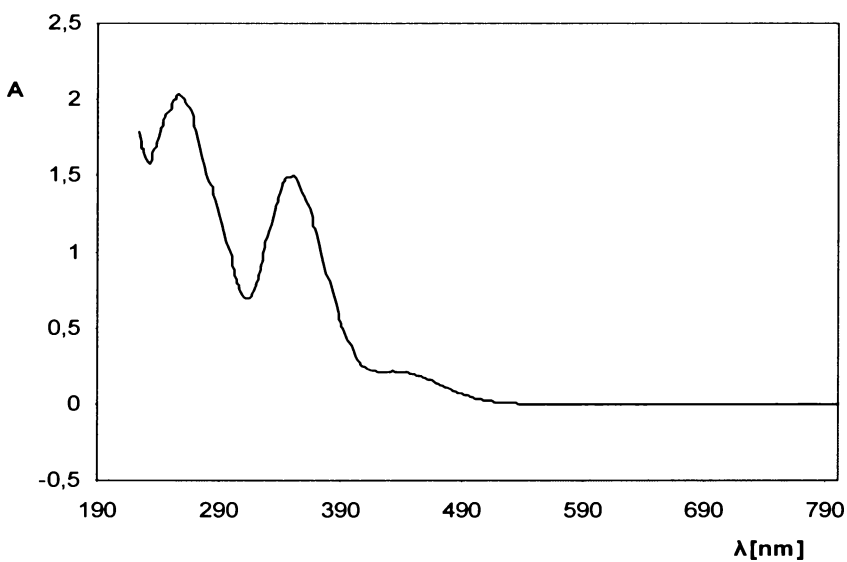
**Obr. 3. 15** Absorpční spektrum Cr(VI)

*Podmínky měření:  $c_{\text{Cr(VI)}} = 10 \mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$ ; měřeno proti deionizované vodě;  $l = 10 \text{ mm}$*



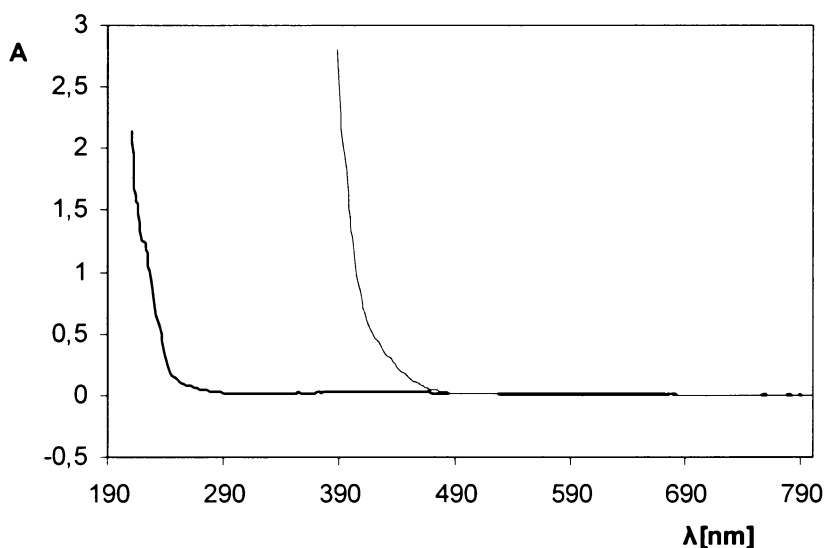
**Obr. 3. 16** Absorpční spektrum Cr(VI)

*Podmínky měření:  $c_{Cr(VI)} = 50 \mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$ ; měřeno proti deionizované vodě;  $l = 10 \text{ mm}$*



**Obr. 3. 17** Absorpční spektrum Cr(VI) v prostředí kyseliny octové

*Podmínky měření:  $c_{Cr(VI)} = 50 \mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$ ; měřeno proti kyselině octové o  $c = 0,11 \mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$ ;  $l = 10 \text{ mm}$*



**Obr. 3. 18** Absorpční spektra Cr(VI) v hydroxylaminu a octanu amonném

Podmínky měření: modrá křivka:  $c_{Cr(VI)} = 50 \mu g \cdot ml^{-1}$ ; měřeno proti hydroxylaminu o  $c = 0,1 \mu g \cdot ml^{-1}$ ;  $l = 10 \text{ mm}$ ; růžová křivka:  $c_{Cr(VI)} = 50 \mu g \cdot ml^{-1}$ ; měřeno proti octanu amonnému o  $c = 1 \mu g \cdot ml^{-1}$ ;  $l = 10 \text{ mm}$

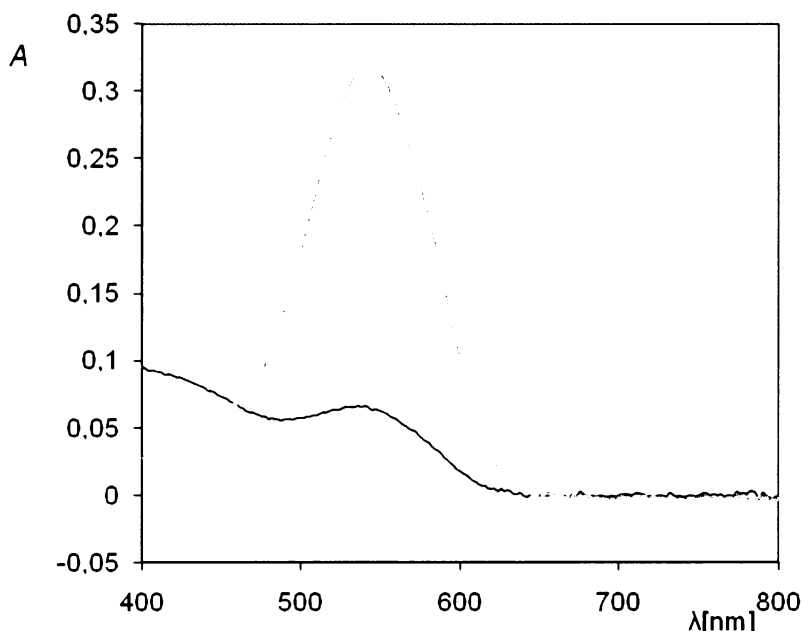
#### 4.2.6 Kalibrační závislosti Cr(VI) v prostředí 99,8% a 99,99% kyseliny octové

Kyselina octová dosud v těchto měřeních vystupovala zatím jako jediné vyluhovací činidlo, v kterém by bylo možné provést stanovení Cr(VI) s reakcí s DFK. Avšak ve skutečnosti by neměla sama o sobě reagovat. Dostatečná čistota kyseliny je tedy jedna z pravděpodobných možností nepřesnosti stanovení. Proto byl proveden pokus s co nejčistší formou kyseliny octové, v našem případě s 99,8 % a 99,99% roztoky.

Při měření se postupovalo stejným způsobem jako v případě článku 4.2.2.1, jediný rozdíl byl v použití zásobných roztoků výše zmiňovaných kyselin. Maximální absorbance kalibračních roztoků byly objeveny opět při max.vlnové délce 542 nm. Jelikož hodnoty obou silných kyselin byly takřka stejné, ve výsledcích je uvedena pouze jen jedna.

Na závěrečném Obr. 3.19 jsou znázorněny diferenční křivky náležící koncentraci Cr(VI)

0,7  $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$  jak pro 37%  $\text{CH}_3\text{COOH}$  (na grafu červená křivka), tak pro 99,99%  $\text{CH}_3\text{COOH}$  (v grafu modrá křivka). Z grafu lze velmi dobře rozeznat jak značný je rozdíl nalezených maximálních absorbancí. Bylo tedy potvrzeno, že čím je kyselina octová čistší, tím méně absorbuje s  $\text{Cr(VI)}$ , jak to má ve skutečnosti být. I čistota vyluhovacího činidla má velký vliv na spektrofotometrické stanovení  $\text{Cr(VI)}$  ve vzorcích.



**Obr. 3. 19** Diferenční křivky spekter  $\text{Cr(VI)}$  v prostředí kyseliny octové

*Podmínky měření: modrá křivka:  $c_{\text{Cr(VI)}} = 0,7 \mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$ ;  $c_{\text{DFK}} = 5 \cdot 10^{-4} \text{ mol}\cdot\text{dm}^{-3}$ ;  $c_{\text{HCl}} = 0,1 \text{ mol}\cdot\text{dm}^{-3}$ ;  $c_{\text{CH}_3\text{COOH}, 99,99\%} = 0,11 \text{ mol}\cdot\text{dm}^{-3}$  měřeno proti slepému vzorku obsahujícímu stejné složky jako samotný vzorek, ale bez  $\text{Cr(VI)}$ ;  $l = 10 \text{ mm}$ ; červená křivka:  $c_{\text{Cr(VI)}} = 0,7 \mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$ ;  $c_{\text{DFK}} = 5 \cdot 10^{-4} \text{ mol}\cdot\text{dm}^{-3}$ ;  $c_{\text{HCl}} = 0,1 \text{ mol}\cdot\text{dm}^{-3}$ ;  $c_{\text{CH}_3\text{COOH}, 37\%} = 0,11 \text{ mol}\cdot\text{dm}^{-3}$  měřeno proti slepému vzorku obsahujícímu stejné složky jako samotný vzorek, ale bez  $\text{Cr(VI)}$ ;  $l = 10 \text{ mm}$*

## 5 ZÁVĚR

První část bakalářské práce byla zaměřena na zkoumání vlivů vyluhovacích činidel na spektrofotometrické stanovení Cr(III) reakcí s chromazuolem S, pro kterou již byly určeny optimální podmínky pro průběh stanovení. Byly proměřeny diferenční křivky a stanoveny kalibrační závislosti v jednotlivých činidlech. Cílem bylo nalézt společné směrnice všech kalibrací, aby se mohlo pokračovat dále v stanovování Cr(III) ve vzorcích. Tento krok se však splnit nezdařil. Lze jen konstatovat, že zde použítá vyluhovací činidla výrazně ovlivňují spektrofotometrické vlastnosti Cr(III) a proto jej nelze v těchto vzorcích stanovit.

Druhá část práce byla věnována pozorování vlivů vyluhovacích činidel na spektrofotometrické stanovení Cr(VI). Pro stanovení Cr(VI) byla zvolena reakce s činidlem DFK. Stejně jako v případě Cr(III) byly nejdříve stanoveny kalibrační závislosti v jednotlivých vyluhovacích činidlech. Jediné činidlo, které nevykazovalo stejnou směrnici kalibrace byl octan amonný. Dále bylo zjištěno, že značné ovlivnění stanovení Cr(VI) nastane tehdy, změní-li se pořadí přidávaných činidel do vzorku. Naopak čas na stanovení Cr(VI) nemá žádný vliv, sledovaná absorbance analytu o dané koncentraci byla téměř vždy stabilní. K zásadnímu zjištění však přispělo proměření celého spektra dichromanu draselného v oblasti 190-700nm pouze v deionizované vodě a v prostředí všech vyluhovacích činidel. Bylo zjištěno, že v prostředí vyluhovacích činidel hydroxylaminu hydrochlorid a octanu amonného dojde k okamžité reakci s šestmocným chromem a jejich spektra nevykazují žádnou absorbanci. Tuto skutečnost potvrdila i barevná změna roztoků. Kyselina octová jako jediné vyluhovací činidlo vykazovala možnost stanovení Cr(VI) ve vzorcích. Ale posledním objevem byl i tento poznatek eliminován. Bylo zjištěno po provedení pokusu s nejčistší formou kyselin, tj. 99,99%, že i nedostatečná čistota kyseliny, v našem případě 37%, může rušit stanovení.

Cíl bakalářské práce byl splněn. Byly objeveny značné vlivy vyluhovacích činidel na spektrofotometrické stanovení obsahu Cr(VI) a Cr(III), na jejichž základě není možné v jejich prostředí dané analyty stanovit.



## 6 Přehled použité literatury

- [1] Ministerstvo životního prostředí: Integrovaný registr znečišťování. Dostupné na: [http://www.irz.cz/repository/latky/chrom\\_a\\_jeho\\_slouceniny.pdf](http://www.irz.cz/repository/latky/chrom_a_jeho_slouceniny.pdf) [cit.15.7.2009]
- [2] Bian, G.; Dong, L.; Xia, T.; Wang, L.; Hong, S.; Chen, H.: Selective fluorescence determination of chromium (VI) in water samples with terbium composite nanoparticles. *Spectrochimica Acta Part A* **65**, 123-126 (2006)
- [3] Čermák, V.; Piskač, P.: Ekotoxikologická databáze. Dostupné z : <http://www.piskac.cz/Etd/> [cit.15.7.2009]
- [4] Marhold, J.: Přehled průmyslové toxikologie – Anorganické látky. Praha, Avicenum 1980
- [5] Paleček, J.; Palatý, J.: Toxikologie, hygiena a bezpečnost práce v chemii. 2.vydání Praha, VŠCHT 1991
- [6] Sdružení ARNIKA: Budoucnost bez jedů. Dostupné na URL: [http://bezjedu.arnika.org/chemicka\\_latka.shtml?x=596561](http://bezjedu.arnika.org/chemicka_latka.shtml?x=596561) [cit.10.8.2009]
- [7] Rychlovský, P.; Krenzelok, M.; Volhejnova, R. : On- line simultaneous sorption preconcentration and determination of chromium(III) and chromium (VI) with AAS detection. *Collect. Czech. Commun.* **63**, 2015-2006 (1998)
- [8] Narayana, B.; Cherian, T. : Rapid spectrophotometric determination of trace amounts of chromium using variamine blue as a chromogenic reagent. *Journal of the Brazilian Chemical Society* **16**(2), 197-201 (2005)
- [9] Chakraborty, R.; Das, K. A.; Cervera, M. L.; Gardia, M.: Determination of chromium by electrothermal atomic absorption spectrometry after rapid microwave-assisted digestion of sediment and botanical samples. *J. Anal. At. Spectrom.*, **353**, (1995)
- [10] Xiang, Y.; Mei, L.; Li, N.; Tong, A.: Sensitive and selective spectrfluorimetric determination of chromium(VI) in water by fluorescence enhancement. *Analytica Chimica Acta* **581**, 132-136 (2007)
- [11] Powell, M. J.; Boomer, D. W.: Determination of chromium species in environmental samples using high-pressure liquid chromatography direct injection nebulization and inductively coupled plasma mass spectrometry. *Analytical chemistry* **67**, 2474-2478 (1995)
- [12] Procházková, T.; Foltin, M.: Stanovenie Cr(VI) a Cr(III) metódou prietokovej injekčnej analýzy (FIA) po oxidácii Cr(III) jodistanom draselným. *Chemické listy* **91**, 585-589 (1997)

- [13] Zýka, J.: Analytická příručka, díl II. 4.přepřac. vyd. Praha, SNTL/ALFA 1988.
- [14] Němcová, I; Čermáková, L.; Rychlovský, P.: Spektrofotometrické analytické metody I. Praha, Univerzita Karlova v Praze – Nakladatelství Karolinum 2004.
- [15] Ústav analytické chemie VŠCHT Praha: Laboratorní cvičení z analytické chemie I. Dostupné na URL: <[http://www.vscht.cz/anl/lach1/5\\_Foto.pdf](http://www.vscht.cz/anl/lach1/5_Foto.pdf)> [cit.15.8.2009]
- [16] Volka, K.: Analytická chemie II. Praha, VŠCHT 1997.
- [17] Šíma, J.: Spektrometrické analytické metody – část II. Převzato z : <[http://tomcat.bf.jcu.cz/sima/analyticka\\_chemie/spektrab.htm](http://tomcat.bf.jcu.cz/sima/analyticka_chemie/spektrab.htm)> [cit. 15.8.2009]
- [18] Malát, M.: Absorpční anorganická fotometrie. Praha, Academia 1983.
- [19] Nishida, H.; Nishida, T.: Spectrophotometric determinativ of chromium (III) with Chromazurol S. The Japan Society for Analytical Chemistry **33**, 333-336 (1984)
- [20] Valchová, D.: Spektrofotometrické stanovení trojmocného chromu chromazurolelem S za přítomnosti cetylpyridinbromidu [diplomová práce], Praha 1974.
- [21] Yi, Z.; Gang, H.: Rapid spectrophotometric determinativ of chromium (III). Talanta **41**, 1247-1250 (1994).
- [22] Kumar Kiran, T.N.; Revanasiddappa, H.D. : Rapid spectrophotometric determination of chromium with trifluoperazine hydrochloride. *Chemia Analytyczna* **47**, 311 (2002)
- [23] Stoyanova, A.M. : Determination of Chromium (VI) by a Catalytic Spectrophotometric Method in the Presence of p-Aminobenzoic Acid. *Turkish Journal of Biochemistry* **29**(2), 104-207 (2004)
- [24] Bartoš, M.; Švancara, I.; Šrámková, J.; Laboratorní cvičení z Analytické chemie I. Převzato z URL: <<http://www.upce.cz/priloha/kalch-analchem1lab>> [cit. 15.8.2009]