

BADANIA MOŻLIWOŚCI ZASTOSOWANIA
KWASU 2,6-PIRYDYNODIKARBOKSYLOWEGO (PDCA)
JAKO CZYNNIKA KOMPLEKSUJĄCEGO W ANALIZIE CHROMU

RAJMUND MICHALSKI

Instytut Podstaw Inżynierii Środowiska Polskiej Akademii Nauk, ul. M. Skłodowskiej-Curie 34, 41-819 Zabrze

Keywords: chromium, PDCA, ion chromatography.

INVESTIGATION OF UTILIZATION OF PDCA AS A COMPLEXING
AGENT IN CHROMIUM ANALYSIS

Chromium exists primarily in two oxidation states. The different toxicities and bioavailabilities of Cr(III) and Cr(VI) are public health concern and therefore require strict control.

Some AAS/ICP methods work according to the so-called difference method and they do not allow the simultaneous determination of chromium(III) and (VI). The need of more accurate and rapid analysis of environmental samples has led to investigation of ion chromatography as an alternative to wet chemical chromium analyses. Conventional HPLC, photometric methods and atomic absorption spectroscopy analyse are less interference free than ion chromatography which has been used in a wide variety of chemical species.

At present analytical chemists focus on alternative Cr(III)+Cr(VI) methods which will be faster, more sensitive and cheaper than spectroscopic methods and which will allow to exclude many matrix interferences.

This paper describes investigations of application of PDCA as a complexing agent of Cr(III) ions and its using in simultaneous determination of Cr(III) and Cr(VI) in water by means of ion chromatography with UV detector.

S t r e s z c z e n i e

Chrom występuje głównie na dwóch stopniach utlenienia. Zróżnicowana toksyczność i bioprzyswajalność związków Cr(III) i Cr(VI) są przedmiotem publicznego zainteresowania i wymagają dokładnych kontroli.

Metody ASA/ICP są tzw. metodami różnicowymi i nie pozwalają na jednoczesne oznaczanie chromu(III) i (VI). Konieczność bardziej dokładnych i szybszych metod analizy próbek środowiskowych doprowadziła do zainteresowania się techniką chromatografii jonowej jako alternatywy do mokrych metod analizy chromu. Konwencjonalna HPLC, metody fotometryczne czy atomowa spektrometria absorcyjna są bardziej podatne na interferencje niż chromatografia jonowa, która może być stosowana w szerokim zakresie analiz specjacyjnych.

Współcześnie chemicy analitycy poszukują alternatywnych metod oznaczania Cr(III) i Cr(VI), które byłyby szybsze, bardziej czule i tańsze w porównaniu do metod spektroskopowych i nie byłyby tak podatne na wpływy czynników przeszkadzających.

Niniejsza praca opisuje badania zastosowania PDCA jako czynnika kompleksującego jony Cr(III) i jego zastosowanie do jednoczesnego oznaczania Cr(III) i Cr(VI) w wodach za pomocą chromatografii jonowej z detekcją UV.

WPROWADZENIE

Właściwości chromu i jego związków oraz ich zróżnicowany wpływ na środowisko zostały szczegółowo opisane w literaturze [9, 25, 26, 36]. Związki Cr(III) uważa się za mające pozytywny wpływ na funkcjonowanie organizmów żywych [5, 28], są odpowiedzialne za prawidłowy metabolizm glukozy u ssaków i łatwo ulegają kompleksowaniu z różnymi substancjami obecnymi w próbkach środowiskowych.

Związki chromu(VI) są silnie toksyczne, ich inhalacja powoduje zapalenie płuc i astmę, a kontakt ze skórą alergię i dermatozy [3, 6]. Międzynarodowa Agencja Badań nad Rakiem (IARC) zaliczyła je do grupy B-2, czyli substancji kancerogennych i mutagennych dla ludzi [22].

Efekt toksyczny chromu(VI) wynika z jego silnych właściwości utleniających, jak również z tworzenia wolnych rodników podczas redukcji Cr(VI) do Cr(III) zachodzących w komórkach. Związki chromu(VI) są zazwyczaj łatwiej rozpuszczalne, mobilne i bioprzyswajalne, co potęguje ich działanie toksyczne.

Najpopularniejsze obecnie metody instrumentalne takie jak atomowa spektrometria absorpcyjna (ASA) i spektrometria masowa z plazmą sprzężoną indukcyjnie (ICP) służą do oznaczania chromu całkowitego. Są to wprawdzie metody bardzo czułe, nie pozwalają jednak na jednoczesne oznaczenie chromu na +3 i na +6 stopniu utlenienia.

W zależności od wstępnego przygotowania próbki można szacunkowo obliczyć zawartość każdej z form chromu, niemniej są to obliczenia niedokładne lub wręcz niemożliwe, szczególnie, gdy stosunek Cr(III) : Cr(VI) wynosi np. 1:100, tak jak często bywa w próbkach rzeczywistych [32, 35].

Dotychczas w Polsce do oznaczania chromu w wodach stosowało się normę z roku 1987 [44], a od niedawna zalecana jest polska wersja normy ISO 1233 [23, 43].

Brak możliwości rozróżniania związków chromu(III) i (VI) w badanych próbkach, a także świadomość ich silnie zróżnicowanych właściwości stał się głównym powodem wprowadzenia metod analizy specjacyjnej do oznaczania chromu w próbkach środowiskowych.

Termin specjacja oznacza zjawisko występowania tego samego pierwiastka w różnych postaciach i formach chemicznych lub fizycznych. Analiza specjacyjna to badanie jakościowych i ilościowych zależności pomiędzy nimi [21]. Z przeglądu danych literaturowych za lata 1980–2000 dotyczących wykorzystania metod specjacyjnych do oznaczania metali w wodach wynika, że chrom jest pierwiastkiem najczęściej poddawany tego typu analizom [12].

Wiarygodne metody wymagają natychmiastowej analizy po pobraniu próbek lub ich zamrożenia, gdy konieczne jest ich dłuższe przechowywanie [50, 57]. Powszechnie stosowanymi procedurami wstępnego przygotowania próbki są: filtracja, zakwaszenie, ekstrakcja w układzie ciecz-ciecz, a także nowoczesne metody takie jak: SPE, SPME, ekstrakcja mikrofalowa oraz ekstrakcja w stanie nadkrytycznym [17, 18].

Klasyczne metody oznaczania Cr(VI) opisano w [2, 54]. Przegląd metod stosowanych w analizach specjacyjnych (w tym chromu) opisano w pracach [33, 55].

Rozdział i wstępne zagęszczanie poszczególnych form chromu może być przeprowadzana w trybie „off-line” z wykorzystaniem metod chromatograficznych [29], elektrochemicznych [7], współwytrącania [52], wymiany jonowej [24] czy ekstrakcji rozpuszczalnikowej [46]. Wadą tych metod jest ich czaso- i pracochłonność oraz związane z tym możliwości utraty analitu lub jego zanieczyszczenie, a także niska wydajność.

Metody te są wypierane obecnie przez bardziej wyrafinowane techniki analityczne takie jak, analiza przepływowo-wstrzykowa [31, 40, 47] i wysokosprawna chromatografia cieczowa ze szczególnym uwzględnieniem chromatografii jonowej (IC) [48]. Do oznaczania jonów Cr(VI) po rozdzieleniu można wykorzystać czułą reakcję tworzenia barwnego kompleksu z 1,5-difenylkarbazolem. [14, 53].

W minionych latach głównym wypełnieniem kolumn stosowanych do rozdzielania jonów metali była modyfikowana krzemionka. Zaletą takich wypełnień jest małe prawdopodobieństwo wtórnych reakcji pomiędzy jonami, a materiałem wymienniczym. Istotną wadą jest to, że może ona być stosowana tylko w zakresie pH od około 2 do 8.

Ogromny postęp w zastosowaniu chromatografii jonowej do analiz jonów metali został osiągnięty poprzez zastosowanie nowych wypełnień w kolumnach (m.in. kolumny serii CS2 i CS5 firmy Dionex o złożu mieszanym anionowo-kationowym [15, 19]). Takie wypełnienie kolumny pozwala na jednoczesne oznaczanie Cr(III) jako kationu i Cr(VI) w formie anionowej.

Połączenie chromatografu jonowego z detektorem ICP-MS daje potężne narzędzie w śladowej analizie chemicznej. System taki ze względu na ekstremalnie niskie granice wykrywalności nie wymaga wstępnego zateżnienia próbek. Pansar-Kallio i wsp. [41] opisali metodę jednoczesnego oznaczania toksycznych form arsenu i chromu w wodach w układzie IC-ICP-MS. Oznaczalność Cr(VI) jak również As(III) i As(V) była na poziomie $0,5 \mu\text{g}/\text{dm}^3$.

W odniesieniu do chromu wartość ta jest 100 razy niższa niż dopuszczalne stężenie tego metalu w wodach do picia obowiązujących w krajach UE. Ze względu na szeroki zakres liniowości opisana metoda nadaje się również do oznaczania Cr(VI) zarówno w wodach do picia jak i ściekach przemysłowych.

Ci sami autorzy opracowali inną metodę pozwalającą na jednoczesne oznaczanie Cr(III) i Cr(VI) w układzie IC-ICP-MS. Zastosowali oni układ dwóch szeregowo połączonych kolumn (anionowej i kationowej) z eluentem HNO_3 [42].

Chociaż wykrywalność chromu przy zastosowaniu detektora ICP-MS jest bardzo dobra, ograniczenia jego stosowania dotyczą próbek o wysokiej zawartości soli i związków organicznych [4, 20].

W metodach oznaczania metali wielką wagę przywiązuje się do tworzenia chelałów. Jako czynnik kompleksujący wykorzystuje się min. 8-hydroxychinolinę [27], kwas 2,6-pirydynodikarboksyłowy (PDCA) [16, 56] czy EDTA [39, 45].

Wadą tych metod jest wolna kinetyka tworzenia się kompleksów i jej silna zależność od pH i temperatury [1]. Bittner i wsp. [8] opisali metodę wstępnego zagęszczania jonów Cr(III) i Cr(VI) techniką SPE i ich rozdział w układzie RP-HPLC z detekcją UV.

Alternatywą do metod chromatograficznych może być elektroforeza kapilarna (CE) połączona z różnymi detektorami [37, 38, 51]. Jedną z najnowszych technik stosowanych w analizie specyacyjnej jonów metali jest elektrochromatografia kapilarna [10]. Chromatografia gazowa nie ma tak istotnego znaczenia w analizie chromu [30]. Głównym tego powodem jest to, że kompleksy metaloorganiczne mają ograniczoną lotność, a próbki muszą być stabilne i nie mogą rozkładać się w wyższych temperaturach.

Techniki łączone stwarzają ogromne możliwości w analizie specyacyjnej śladów metali, jednakże biorąc pod uwagę koszty aparatury, metody te nie mogą być stosowane do analiz rutynowych.

Niewątpliwie tańszą i bardziej dostępną techniką analityczną jest klasyczna chromatografia jonowa z detekcją UV z ewentualnym zastosowaniem odpowiednich metod przed- lub pokolumnowej derywatywacji.

Biorąc pod uwagę fakt, że tylko związki Cr(VI) uważane są za niebezpieczne dla organizmów żywych, większość metod oznaczania chromu dotyczy tylko tej jego formy. Oznaczanie Cr(VI) na poziomie kilku $\mu\text{g}/\text{dm}^3$ w różnego rodzaju wodach jest możliwe także w prostym układzie: chromatograf jonowy z kolumną anionowymienną – detektor UV pracujący przy $\lambda = 365 \text{ nm}$ [34].

W porównaniu do technik łączonych są to metody relatywnie tanie i ogólnie dostępne w większości laboratoriów chemicznych.

Niniejsza praca opisuje badania związane z możliwością tworzenia anionowego kompleksu Cr(III) z PDCA w różnych warunkach temperaturowych i pH oraz jego zastosowanie jako substancji wzorcowej Cr(III) w jednoczesnym oznaczaniu Cr(III) i Cr(VI) w wodach techniką chromatografii jonowej z detekcją UV.

CZĘŚĆ EKSPERYMENTALNA

Aparatura

W pracy wykorzystano chromatograf jonowy firmy Dionex model DX-500 wyposażony w:

- kolumnę wstępną IonPac CG 5A (4 x 50 mm);
- kolumnę analityczną IonPac CS 5A (4 x 250 mm, o złożu mieszanym, zawierająca alkilowe czwartorzędowe sole amoniowe oraz grupy funkcyjne sulfonowe);
- detektor UV, model AD 20;
- program obsługujący Chromeleon wersja 6.40.

pH-metr firmy Multilab, model 540 WTW (Darmstadt, Niemcy).

Odczynniki

Roztwór podstawowy czynnika kompleksującego, t.j. kwasu 2,6-pirydynodikarboksyłowego (PDCA) zawierał: 20 mM PDCA, 20 mM Na_2HPO_4 , 10 mM NaI, 50 mM $\text{CH}_3\text{COONH}_4$ i 28 mM LiOH.

Roztwór eluentu przygotowano poprzez 10-krotne rozcieńczenie roztworu podstawowego PDCA wodą zdejonizowaną.

Jako roztwory wzorcowe chromu (III) stosowano $\text{Cr}(\text{NO}_3)_3$ w 0,5 M HNO_3 o zawartości chromu 1,0 g/dm^3 lub $\text{CrCl}_3 \cdot 6 \text{H}_2\text{O}$ o tym samym stężeniu.

Wszystkie odczynniki pochodziły z firm: Merck (Merck, Darmstadt, Niemcy) oraz Fluka (Fluka Chemie AG, Szwajcaria) i były o czystości odpowiadającej „cz.d.a.”.

Do przygotowania eluentu oraz pozostałych roztworów stosowano wodę zdejonizowaną o przewodności elektrycznej właściwej poniżej 18 $\text{M}\Omega/\text{m}$ uzyskiwaną z dejonizatora firmy Millipore.

Przygotowanie roztworu podstawowego Cr(III) – PDCA

Zgodnie z danymi literaturowymi chrom(III) tworzy z PDCA trwałe jednowartościowy anion [11, 49]. Ponieważ kinetyka oraz wydajność tej reakcji jak i stabilność

otrzymanego kompleksu zależy od sposobu otrzymywania, roztwory te przygotowano kilkoma różnymi metodami:

Metoda 1: Do 10 cm³ roztworu wzorcowego Cr(NO₃)₃ o stężeniu 1,0 g Cr/dm³ i pH = 0,84 dodano 20 cm³ roztworu podstawowego PDCA o pH = 6,88 otrzymując mieszaninę o pH = 1,35. Następnie roztwór ogrzewano powoli (około 5 minut) w płomieniu palnika gazowego do wrzenia i gotowano przez 1 minutę.

Metoda 2: Jak wyżej z tą różnicą, że pH mieszaniny przed ogrzewaniem ustalono do wartości 4,0 za pomocą 0,1 M NaOH.

Metoda 3: Jak w metodzie 2, z tą różnicą, że roztwór ogrzewano powoli przez 1 godzinę w suszarce do temperatury 90-95^oC.

Metoda 4: Jak w metodzie 3. Zamiast Cr(NO₃)₃ zastosowano CrCl₃ o takim samym stężeniu (1,0 g Cr/dm³).

Metoda 5: Jak w metodzie 4 z tą różnicą, że roztwór ogrzewano powoli (przez około 5 minut) w płomieniu palnika gazowego do wrzenia i gotowano przez 1 minutę.

Tak otrzymane roztwory chłodzono do temperatury pokojowej, pH ustalono do wartości 6,80 za pomocą 0,1 M NaOH i po rozcieńczeniu wodą do objętości 100 cm³ traktowano jako roztwory podstawowe Cr(III)PDCA. Roztwory wzorcowe otrzymywano poprzez odpowiednie rozcieńczenie roztworu podstawowego wodą.

Roztwór do reakcji po kolumnie

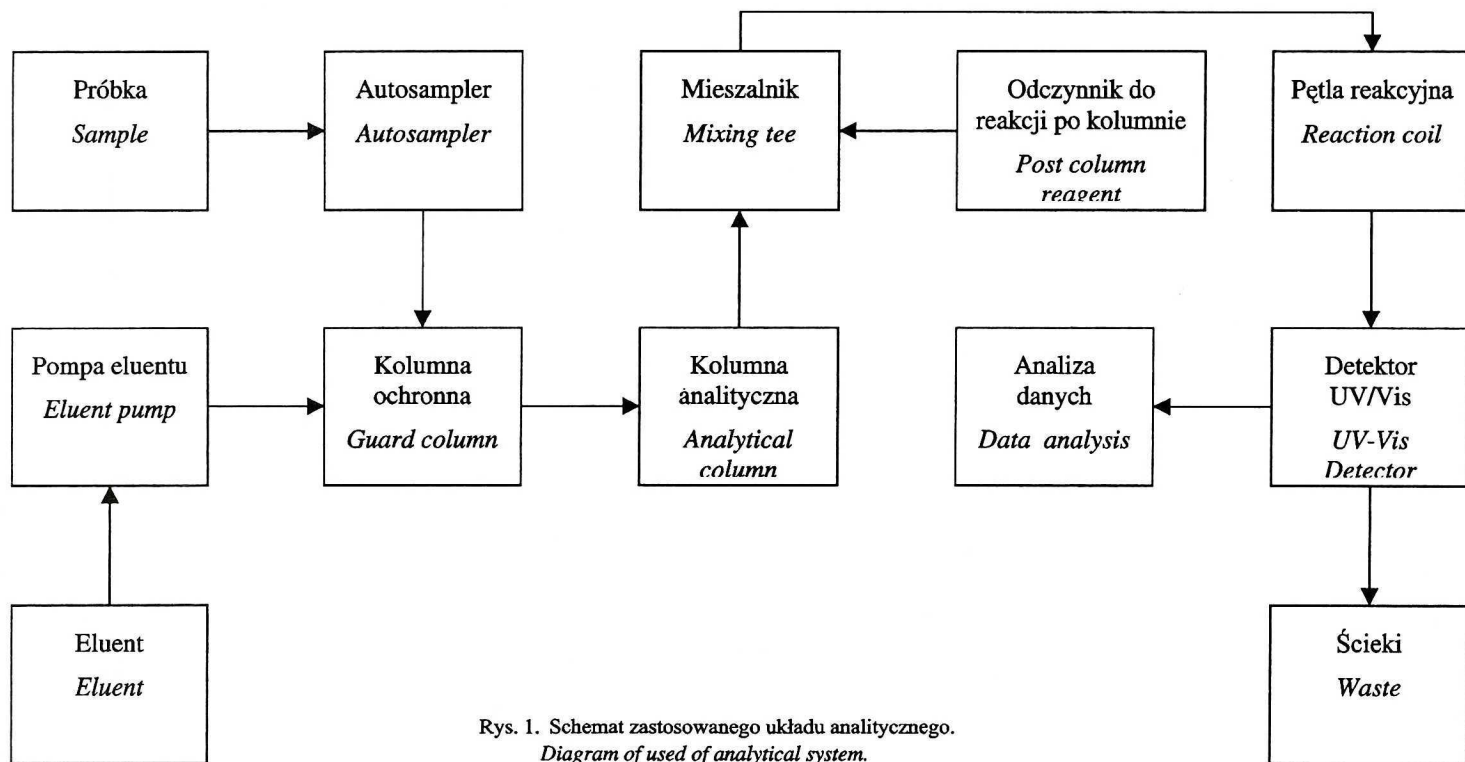
0,5 g 1,5-difenylokarbazydu (DPC) rozpuszczono w 100 cm³ metanolu. Roztwór przeniesiono do 1000 cm³ kolby zawierającej około 500 cm³ dejonizowanej wody z dodatkiem 25 cm³ 96% H₂SO₄; uzupełniono wodą do kreski.

Warunki rozdziału chromatograficznego:

Kolumna wstępna	–	IonPac CG 5A;
Kolumna rozdzielająca	–	IonPac CS 5A;
Eluent	–	2 mM PDCA + 2 mM Na ₂ HPO ₄ + 1 mM NaI + 5 mM CH ₃ COONH ₄ + 2,8 mM LiOH;
Przepływ eluentu	–	0,5 cm ³ /min;
Ciśnienie wsteczne	–	43 bar;
Detektor	–	UV/Vis;
Długość fali detektora	–	520 nm;
Celka detektora	–	10 mm;
Objętość nastrzyku	–	1 · 10 ⁻⁹ m ³ .

WYNIKI

Schemat zastosowanego układu analitycznego przedstawiono na rysunku 1. Próbką zawierająca anionowy kompleks Cr(III)-PDCA tworzący się w reakcji derywatywacji przedkolumnowej i jony Cr(VI) jest wprowadzana za pomocą autosamplera do kolumny wstępnej i analitycznej. Cr(VI) z PDCA nie tworzy kompleksu.

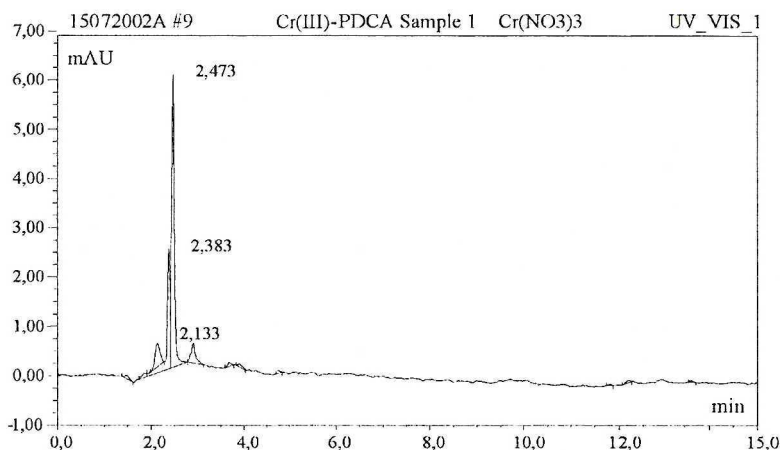


Rys. 1. Schemat zastosowanego układu analitycznego.
Diagram of used of analytical system.

Eluentem jest 10-krotnie rozcieńczony roztwór podstawowy PDCA. Cr(III)-PDCA i Cr(VI) po rozdzielaniu na kolumnie przechodzą przez mieszalnik, w którym tylko Cr(VI) tworzy barwny kompleks z 1,5-difenylokarbazydem. Następnie mieszanina przechodzi przez pętlę reakcyjną do detektora UV/Vis pracującego przy długości fali $\lambda = 520$ nm.

Przygotowano serię roztworów wzorcowych Cr(III)-PDCA (otrzymanych pięcioma różnymi metodami) z lub bez dodatku $100 \mu\text{g}/\text{dm}^3$ Cr(VI) i poddano je analizie chromatograficznej w podanych powyżej warunkach.

W trakcie przeprowadzonych badań stwierdzono, że tworzenie się kompleksu Cr(III)-PDCA jest trudne i niejednoznaczne. Ilość pików widocznych na chromatogramie, która może świadczyć o jednorodności otrzymanego związku zależy od metody otrzymania kompleksu. Rysunek 2 przedstawia chromatogram roztworu wzorcowego Cr(III)-PDCA otrzymanego z azotanu chromu(III), a rysunek 3 z chlorku chromu(III). W pierwszym przypadku widoczne są wyraźne dwa duże słabo rozdzielone piki i jeden mniejszy. W drugim wyraźny pik wzorca jest poprzedzony małym pikiem prawdopodobnie systemowym.



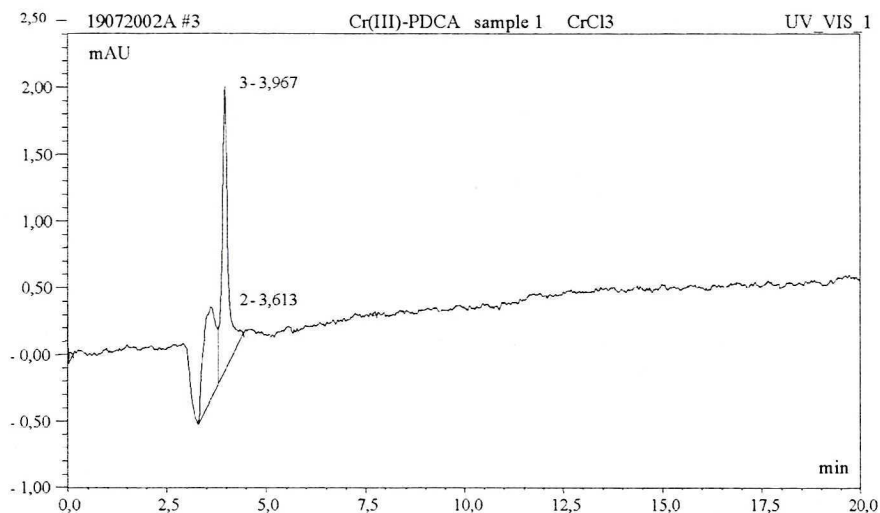
Rys. 2. Chromatogram próbki wzorcowej Cr(III)-PDCA otrzymanego z $\text{Cr}(\text{NO}_3)_3$
Chromatogram of Cr(III)-PDCA standard obtained from $\text{Cr}(\text{NO}_3)_3$

Dla tych samych stężeń roztworu Cr(III)-PDCA (tj. $1 \text{ mg}/\text{dm}^3$) wyraźnie intensywniejszy sygnał obserwuje się dla wzorca otrzymanego z $\text{Cr}(\text{NO}_3)_3$ (rysunek 2) niż z CrCl_3 (Rysunek 3).

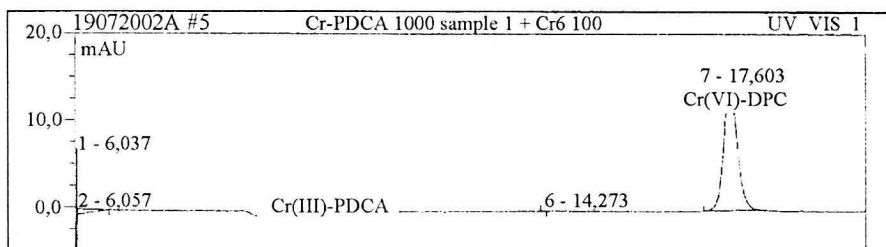
Sygnał uzyskany dla kompleksu Cr(VI) z 1,5-difenylokarbazydem o zawartości $100 \mu\text{g}/\text{dm}^3$ Cr(VI) był zdecydowanie większy niż dla Cr(III)-PDCA (Rysunek 4) o dziesięciokrotnie wyższej zawartości jonów Cr(III).

WNIOSKI

1. Celem niniejszej pracy było połączenie dwóch metod derywatyzyjnych do jednoczesnego oznaczania Cr(III) i Cr(VI) w wodach. Założono, że utworzenie stabilnego kompleksu anionowego Cr(III) z PDCA przed analizą chromatograficzną oraz utworzenie kompleksu Cr(VI) z 1,5-difenylokarbazydem w reakcji derywatyzyjnej



Rys. 3. Chromatogram Cr(III)-PDCA otrzymanego z CrCl_3
Chromatogram of Cr(III)-PDCA obtained from CrCl_3



Rys. 4. Chromatogram próbki zawierającej $1000 \mu\text{g}/\text{dm}^3$ Cr(III)-PDCA oraz $100 \mu\text{g}/\text{dm}^3$ Cr(VI) (jako kompleks z DPC)
 Chromatogram of sample contains $1000 \mu\text{g}/\text{dm}^3$ of Cr(III)-PDCA and $100 \mu\text{g}/\text{dm}^3$ of Cr(VI) (as complex with DPC)

pokolumnowej pozwoli na szybkie i pozbawione interferencji charakterystycznych dla metod spektroskopowych jednoczesne oznaczanie Cr(III) i Cr(VI) na poziomie $\mu\text{g}/\text{dm}^3$. Zastosowanie detektora UV znacząco obniża koszty takich analiz i czyni je ogólnodostępnymi. Niestety przebadana metoda okazała się czuła i efektywna wyłącznie dla jonów Cr(VI). Przeszkodą w oznaczaniu jonów Cr(III) na założonym poziomie stężeń okazały się trudności w otrzymaniu czystego i stabilnego kompleksu Cr(III) z PDCA, dającego wyraźny sygnał w opisanych warunkach analitycznych.

2. Uzyskane wyniki świadczą o tym, że ilościowe otrzymywanie kompleksu Cr(III) z PDCA jest trudne, co prawdopodobnie było przyczyną wycofania z użycia przez firmę Dionex opublikowanej w roku 1991 notatki technicznej [13] opisującej możliwość zastosowania PDCA do tworzenia stabilnych kompleksów ze związkami chromu(III).

3. Sposób przygotowania roztworu podstawowego Cr(III)-PDCA (zmiany pH, wolne ogrzewanie w suszarce lub szybkie ogrzewanie aż do zagotowania w płomieniu palnika) nie mają wpływu na wielkość otrzymanych pików.
4. Przebadano również wariant metody z pominięciem układu do reakcji po kolumnie, kiedy to jony Cr(III)-PDCA jak i Cr(VI) (jako chromiany) po rozdziale na kolumnie trafiały bezpośrednio do detektora UV pracującego przy długości fali $\lambda = 365$ nm. Metoda ta okazała się być czuła wyłącznie dla jonów Cr(VI).
5. Pełniejszy obraz zachodzących reakcji pomiędzy PDCA oraz DPC a związkami chromu mogłoby dać widmo otrzymanych związków. Niestety badanie takie nie były możliwe do przeprowadzenia w czasie wykonywania pracy.

Praca została wykonana w Hessische Landesanstalt für Umwelt und Geology w Wiesbaden (Niemcy) w ramach stypendium DAAD. Autor pracy składa serdeczne podziękowania za okazaną pomoc szefowi grupy roboczej ISO TC 147 WG 33 Panu F. Schmitzowi oraz pozostałym pracownikom laboratorium chromatografii jonowej.

LITERATURA

- [1] Adria-Cerezo D.M., M. Llobat-Estelles, A.R. Mauri-Aucejo: *Preconcentration and Speciation of Chromium in Waters using Solid-phase Extraction and Atomic Absorption Spectrometry*, *Talanta*, **51**, 531–536 (2000).
- [2] Annual Book of ASTM Standards: *Chromium-Total D 1686 – 87*. Vol. 11.02., American Society for Testing and Materials, Philadelphia, PA, USA 1990.
- [3] Barabasz W., M.J. Chmiel, A. Galus, I. Pasmionka: *Ekotoksykologia Chromu*, *Chemia i Inżynieria Ekologiczna*, **5/7-8**, 665–684 (1998).
- [4] Baranowski C., N. Jakubowski, D. Stuewer, J.A.C. Broekaert: *Speciation of Chromium by Direct Coupling of Ion Exchange Chromatography with Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry*, *J. Anal. Atom. Spect.*, **12**, 1155–1161 (1997).
- [5] Barlett R.J., J.M. Kimble: *Behavior of Chromium in Soils: I Trivalent Form*, *J. Environ. Qual.*, **5**, 379–382 (1976).
- [6] Barlett R.J., J.M. Kimble: *Behavior of Chromium in Soils: II Hexavalent Form*, *J. Environ. Qual.*, **5**, 386–392 (1976).
- [7] Batley G.E., J.P. Matousek: *Determination of Chromium Speciation in Natural Waters by Electrodeposition on Graphite Tubes for Electrothermal Atomization*, *Anal. Chem.*, **52**, 1570–1574 (1980).
- [8] Bittner M., J. A. C. Broekaert: *Speciation of Chromium by Solid-phase Extraction Coupled to Reversed-phase Liquid Chromatography with UV Detection*, *Anal. Chim. Acta*, **364/1-3**, 31–40 (1998).
- [9] Cotton F.A., G. Wilkinson: *Chromium [in]: Advanced Inorganic Chemistry, a Comprehensive Text*, 4th Edition, John Wiley, New York, 719–736 (1980).
- [10] Chen W-H., S-Y. Lin, Ch-Y. Liu: *Capillary Electrochromatographic Separation of Metal Ion Species with on-line Detection by Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry*, *Anal. Chim. Acta*, **410**, 25–35 (2000).
- [11] Chen Z., R. Naidu, A. Subramanian: *Separation of Chromium (III) and Chromium (VI) by Capillary Electrophoresis using 2,6-pyridinedicarboxylic Acid as a Pre-column Complexation Agent*, *J. Chromatogr.*, **927**, 219–227 (2001).
- [12] Das A.K., M. Guardia, M.L., Cervera: *Literature Survey of on-line Elemental Speciation in Aqueous Solutions (Review)*, *Talanta*, **55**, 1–28 (2001).
- [13] Dionex, Technical Note 24: *Determination of Chromium by Ion Chromatography*, Dionex, USA 1991.
- [14] Dionex Application Note 80: *Determination of Dissolved Hexavalent Chromium in Drinking Water, Groundwater and Industrial Wastewater Effluents by Ion Chromatography*, Dionex, USA 1992.
- [15] Dionex, CD-ROM, Manuals & Applications & Literature, Dionex, USA 2002.
- [16] Ellis L.A., D.J. Roberts: *Chromatographic and Hyphenated Methods for Elemental Speciation Analysis in Environmental Media*, *J. Chromatogr.*, **774**, 3–19 (1997).

- [17] Haddad P.R., P. Doble, M. Macka: *Developments in Sample Preparation and Separation Techniques for the Determination of Inorganic Ions by Ion Chromatography and Capillary Electrophoresis (Review)*, J. Chromatogr., **856/1-2**, 145–177 (1999).
- [18] Hawthorne S.B., Grabanski C.B., E. Martin, D. J. Miller: *Comparisons of Soxhlet Extraction, Pressurized Liquid Extraction, Supercritical Fluid Extraction and Subcritical Water Extraction for Environmental Solids: Recovery, Selectivity and Effects on Sample Matrix*, J. Chromatogr., **892/1-2**, 421–433 (2000).
- [19] Heberling S.S., D. Campbell, S. Carson: *Analysis of Chromium Plating Solutions and Wastewaters by Ion Chromatography, Plating and Surface Finishing*, **11**, 58–65 (1990).
- [20] Hirata S., K. Honda, O. Shikino, N. Maekawa, M. Aihara: *Determination of Chromium (III) and Total Chromium in Sewater by on-line Column Preconcentration Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry*, Spectrochim. Acta B, **55**, 1089–1099 (2000).
- [21] Hulanicki A.: *Specjacja w wodach i osadach dennych – tematyka zbieżna czy rozbieżna* [w]: Siepak J. *Analiza specjacyjna metali*, Publishing House of Poznań University, Poznań 1998, 7–19.
- [22] IARC, *Monographs on the Evaluation of the Carcinogenic Risk to Human*, 40, WHO, Geneva 1990.
- [23] ISO 1233: *Water quality – Determination of Chromium. Atomic Absorption Spectrometric Methods*, 1996.
- [24] Johnson C.A.: *Rapid Ion-exchange Techniques for the Separation and Preconcentration of Chromium (VI) and Chromium (III) in Fresh Water*, Anal. Chim. Acta, **238**, 273–278 (1990).
- [25] Kota J., Z. Stasiccka: *Chromium Occurrence in the Environment and Methods of its Speciation*, Environ. Poll., 107/3, 263–283 (2000).
- [26] Kryteria Zdrowotne Środowiska, „Chrom”, Tom 61, IMP, Łódź 1992.
- [27] Lajunen L.H.J., E. Ejiarvi, T. Kenakkala: *Determination of Cobalt, Chromium and Vanadium as 8-hydroxyquinoline Complexes by High-performance Liquid Chromatography*, Analyst, **109**, 699–701 (1984).
- [28] Langard S., T. Norseth: [in]: Friberg L., G.F. Nordberg, V.B. Vouk, (Editors), *Handbook on the Toxicology of Metals, Vol. II, Specific Metals*, Elsevier, Amsterdam, 1990, 185–210.
- [29] Lien G., O. Yang, J-F. Jen: *Simultaneous Preconcentration of Chromium (III) and Chromium (VI) Prior to Speciation Analysis*, Anal. Chim. Acta, **279**, 329–334 (1993).
- [30] Lovlett R.J., F. Lee: *Analysis of Chromium in Natural Waters by Gas Chromatography*, Environ. Sci. Technol., **10**, 67–71 (1976).
- [31] Lynch T.P., N.J. Kernohan, J.N. Wilson: *Speciation of Metals in Solution by Flow Injection Analysis, Part I: Sequential Spectrophotometric and Atomic Absorption Detectors*, Analyst, **109**, 839–843 (1983).
- [32] Maheswari V., N. Balasubramanian: *Chemical Amplification Method for the Determination of Chromium at Trace levels*, Analusius, **25**, 2–6 (1997).
- [33] Marques M.J., A. Salvador, A.E. Morales-Rubio, M. De la Guardia: *Analytical Methodologies for Chromium Speciation in Solid Matrices: A Survey of Literature*, Fresenius J. Anal. Chem., 362, 239–248 (1998).
- [34] Michalski R.: *Oznaczanie chromu(VI) w wodach na poziomie śladów techniką chromatografii jonowej*, Arch. Ochr. Środ., **29/1**, 127–133 (2003).
- [35] Nieboer E., A.A. Jusys: *Biologic Chemistry of Chromium* [in] Nriagu J.O., E. Nieboer: *Chromium in Natural and Human Environments*, Wiley Interscience, New York 1988, 21–81.
- [36] Nriagu J.O., E. Nieboer: *Chromium in Natural and Human Environments*, Wiley Interscience, New York 1988.
- [37] Olesik J.W., J.A. Kinzer, S.V. Olesik: *Capillary Electrophoresis-inductively Coupled Plasma Spectrometry for Rapid Elemental Speciation*, Anal. Chem., **67**, 1–12 (1995).
- [38] Pacakova V., K. Stulik: *Capillary Electrophoresis of Inorganic Anions and its Comparison with Ion Chromatography*, J. Chromatogr., **789/1-2**, 169–180 (1997).
- [39] Padarauskas A.V., A. Judzentiene, E. Naujalis, V. Paliulionyte: *On-line Preconcentration and Determination of Chromium (VI) in Waters by High-Performance Liquid Chromatography using Precolumn Complexation with 1,5-Diphenylcarbazide*, J. Chromatogr., **808**, 193–199 (1998).

- [40] Paleologos E.K., S.I. Lafis, S.M. Karayanni, M.I. Karayanni: *Speciation Analysis of Cr(III)-Cr(VI) Using Flow Injection Analysis with Fluorimetric Detection*, *Analyst*, **123**, 1005–1009 (1998).
- [41] Pantsar-Kallio M., P. K.G. Manninen: *Simultaneous Determination of Toxic Arsenic and Chromium Species in Water Samples by Ion Chromatography-inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry*, *J. Chromatogr.*, **779/1-2**, 139–146 (1997).
- [42] Pantsar-Kallio M., M. K. G. Manninen: *Speciation of Chromium in Waste Waters by Coupled Column Ion Chromatography-Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry*, *J. Chromatogr.*, **750/1-2**, 89–95 (1996).
- [43] PN 1233: *Jakość wody. Oznaczanie chromu. Metody absorpcyjnej spektrometrii atomowej 2001*.
- [44] PN-87/C-04570/09: *Woda i ścieki. Badania zawartości metali metodą absorpcyjnej spektrometrii atomowej. Oznaczanie chromu(VI) i (III) 1987*.
- [45] Poboży E., E. Wojasińska, M. Trojanowicz: *Ion Chromatographic Separation of Chromium with Diphenylcarbazide-based Spectrophotometric Detection*, *J. Chromatogr.*, **736**, 141–150 (1996).
- [46] Rao V.M., M.N. Sastri: *Solvent Extraction of Chromium; A Review*, *Talanta*, **27**, 771–777 (1980).
- [47] Ruz J., A. Rios, M.D. de Castro, M. Valcarcel: *Flow-injection Configurations for Chromium Speciation with a Single Spectrophotometric Detector*, *Anal. Chim. Acta*, **186**, 139–146 (1986).
- [48] Sarzanini C., M.C. Bruzzoniti: *Metal Species Determination by Ion Chromatography*, *Trends in Anal. Chem.*, **20/6-7**, 304–310 (2001).
- [49] Sikovec M., M. Novic, V. Hudnik, M. Franko: *On-line Thermal Lens Spectrometric Detection of Cr(III) and Cr(VI) after Separation by Ion Chromatography*, *J. Chromatogr.*, **706/1-2**, 121–126 (1995).
- [50] Sirinwain W., S. Westerlund: *Analysis and Storage of Sample for Chromium Determination in Seawater*, *Anal. Chim. Acta*, **356**, 35–40 (1997).
- [51] Timerbaev A.R., O.P. Semenova, W. Buchberger, G.K. Bonn: *Speciation Studies by Capillary Electrophoresis – Simultaneous Determination of Chromium (III) and Chromium (VI)*, *Fresenius J. Anal. Chem.*, **354**, 414–419 (1996).
- [52] Ueda J., H. Satoh, S. Kagaya: *Determination of Chromium (III) and Chromium (VI) by Graphite-furnace Atomic Absorption Spectroscopy after Coprecipitation with Hafnium Hydroxide*, *Anal. Sci.*, **13**, 613–617 (1997).
- [53] U.S. EPA Method 218.6: *Determination of Dissolved Hexavalent Chromium by Ion Chromatography with Postcolumn Reaction*, Methrom-Peak, Inc., Houston, Texas, October 29, 2001.
- [54] Williams W.J.: *Oznaczanie anionów*, Warszawa, PWN 1985.
- [55] Van Loon J.C., R.R. Barefoot: *Overview of Analytical Methods for Environmental Speciation*, *Analyst*, **117**, 577–581 (1992).
- [56] Vasconcelos M.T., C. A. R. Gomes: *Limitations of Ion Chromatography with Post-column Reaction for Determination of Heavy Metals in Waters Containing Strong Chelating Agents*, *J. Chromatogr.*, **696/2**, 227–234 (1995).
- [57] Vercootere K., R. Cornelis, S. Dyg, L. Mess, J.M. Christensen, K. Byrialsen, B. Aaen, P. Quevauviller: *Cr(III) and Cr(VI) Speciation Measurement in Environmental Reference Materials*, *Microchim. Acta*, **123**, 109 – 117 (1996).