

# Određivanje Cr (VI) u otopinama nakon ekstrakcije uzoraka kože

---

Đurinec, Martina

Master's thesis / Diplomski rad

2018

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, Faculty of Textile Technology / Sveučilište u Zagrebu, Tekstilno-tehnološki fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:201:704750>

Rights / Prava: [In copyright](#) / [Zaštićeno autorskim pravom.](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2024-11-25**



Repository / Repozitorij:

[Faculty of Textile Technology University of Zagreb - Digital Repository](#)



SVEUČILIŠTE U ZAGREBU  
TEKSTILNO-TEHNOLOŠKI FAKULTET

DIPLOMSKI RAD

**ODREĐIVANJE KROMA (VI) U OTOPINAMA  
NAKON EKSTRAKCIJE UZORAKA KOŽE**

Martina Đurinec

Zagreb, prosinac 2018.

SVEUČILIŠTE U ZAGREBU  
**TEKSTILNO-TEHNOLOŠKI FAKULTET**  
ZAVOD ZA PRIMIJENJENU KEMIJU

DIPLOMSKI RAD

**ODREĐIVANJE KROMA (VI) U OTOPINAMA  
NAKON EKSTRAKCIJE UZORAKA KOŽE**

Mentor:  
Prof. dr. sc. Branka Vojnović

Student:  
Martina Đurinec, 10753

Zagreb, prosinac 2018.

Ovaj diplomski rad izrađen je na Sveučilištu u Zagrebu Tekstilno-tehnološkom fakultetu, na Zavodu za primijenjenu kemiju i u suradnji sa Laboratorijem za ispitivanje tekstila, kože, obuće i zaštitne opreme tvrtke Euroinspekt Eurotextil d.o.o.

Veliku zahvalnost u prvom redu dugujem svojoj mentorici prof. dr. sc. Branki Vojnović, koja mi je sa svojim stručnim znanjem i strpljenjem pomogla u izradi ovog diplomskog rada, zahvaljujem za suradnju dipl. inž. Darku Mihelčiću iz tvrtke Euroinspekt Eurotextil d.o.o. te svim mojim prijateljima i obitelji koji su mi bili podrška tijekom studiranja.

# TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

Kandidat: Martina Đurinec

Naslov rada: Određivanje kroma (VI) u otopinama nakon ekstrakcije uzoraka kože

Naziv studija: Tekstilna tehnologija i inženjerstvo

Naziv smjera: Tekstilna kemija, materijali i ekologija

Naziv zavoda na kojem je rad izrađen: Zavod za primijenjenu kemiju

Mentor: Prof. dr. sc. Branka Vojnović

## Sadržaj rada:

Broj stranica: 80

Broj slika: 36

Broj tablica: 31

Broj literaturnih referenci: 25

## Članovi povjerenstva:

1. Izv. prof. dr.sc. Mario Cetina, predsjednik
2. Prof. dr. sc. Branka Vojnović, članica
3. Prof. dr. sc. Tanja Pušić, članica
4. Izv. prof. Ana Sutlović, zamjenica člana

Rad je pohranjen u knjižnici Tekstilno-tehnološkog fakulteta, prilaz baruna Filipovića 28a, Zagreb.

## **Sažetak**

Na obući i proizvodima od kože provode se ispitivanja koja nerijetko otkrivaju prisutnost opasnog kroma (VI). Vrijednost kroma (VI) za određeni proizvod mora biti ispod 3 mg/kg. Ukoliko dođe do prekoračenja granične vrijednosti šesterovalentnog kroma, proizvod se ne može staviti na tržište ili se mora ukloniti sa istog. U ovom diplomskom radu ispitano je sedam uzoraka kože sukladno normi EN ISO 17075:2017 kojom se Cr (VI) određuje spektrofotometrijski u uzorcima kože. U tu svrhu su upotrijebljene dvije ekstrakcijske otopine sa pH vrijednostima 8,00 (prema normi) i 9,00, a sadržaj kroma (VI) određen je spektrofotometrijski s 1,5 - difenilkarbazidom. Izrađen je baždarni dijagram, odnosno postavljena je prikladna kalibracijska krivulja. Prisutnost sadržaja kroma (VI) u otopini dobivenoj postupkom ekstrakcije potvrđena je u dva od ukupno sedam uzoraka kože. Izračunato je iskorištenje metode i određen utjecaj matice na sadržaj kroma (VI). Na osnovu dobivenih rezultata zaključeno je da ekstrakcija pri pH 8,00 daje pouzdanije rezultate, sa manjim utjecajem matice i većim iskorištenjima.

**Ključne riječi:** krom (VI), koža, ekstrakcija, utjecaj matice, spektrofotometrija

# Sadržaj

<b>1.</b>	<b>UVOD</b> .....	<b>1</b>
<b>2.</b>	<b>TEORIJSKI DIO</b> .....	<b>4</b>
2.1.	OPĆENITO O KROMU .....	4
2.1.1.	<i>Krom (III) i krom (VI)</i> .....	5
2.1.2.	<i>Primjena kroma u industriji</i> .....	9
2.2.	KOŽA I ŠTAVLJENJE .....	9
2.2.1.	<i>Koža</i> .....	9
2.2.2.	<i>Štavljenje</i> .....	9
2.3.	NEPOVOLJAN UČINAK KROMA NA LJUDE I OKOLIŠ .....	11
2.3.1.	<i>Određivanje kroma</i> .....	15
2.3.2.	<i>Izbor spektrofotometrijskog reagensa za analizu</i> .....	17
2.3.2.1.	1,5 – difenilkarbazid.....	17
2.4.	SPEKTROMetriJA .....	18
2.4.1.	<i>Apsorpcijska spektrometrija</i> .....	18
2.4.2.	<i>Baždarni dijagrami</i> .....	20
2.4.3.	<i>Učinak matice (matrix effect)</i> .....	21
2.5.	ANALITIČKI SUSTAV.....	22
2.5.1.	<i>Priprema uzoraka za analizu</i> .....	23
2.5.1.1.	Određivanje vode u uzorku.....	24
2.5.1.2.	Razlaganje čvrstih uzoraka .....	24
2.5.2.	<i>Separacija i izolacija analita</i> .....	27
2.5.2.1.	Kvantitativnost separacije.....	28
2.5.2.2.	Usporedba zatvorene i otvorene digestije uzoraka .....	29
2.5.2.3.	Ekstrakcija .....	32
<b>3.</b>	<b>EKSPERIMENTALNI DIO</b> .....	<b>35</b>
3.1.	PRIBOR I KEMIKALIJE .....	35
3.1.1.	<i>Pribor</i> .....	35
3.1.2.	<i>Uzorci kože</i> .....	36
3.1.3.	<i>Mjerni i ostali uređaji</i> .....	36
3.1.3.1.	UV/Vis spektrofotometar Lambda 20, PerkinElmer.....	36
3.1.3.2.	Analitička vaga Mettler Toledo AB204-S.....	37
3.1.3.3.	pH-metar.....	37
3.1.3.4.	Peć za mikrovalnu digestiju Multiwave 3000, Anton Paar.....	38
3.1.3.5.	Termostatirana miješalica Heidolph 1010 + Heidolph inkubator 1000 .....	38
3.1.3.6.	Uređaj za ekstrakciju čvrstom fazom.....	39
3.1.3.7.	Mlin za usitnjavanje kože.....	39
3.2.	PRIPREMA OTOPINA.....	40
3.2.1.	<i>Ekstrakcijska otopina 1, pH = 8,00</i> .....	40
3.2.2.	<i>Ekstrakcijska otopina 2, pH = 9,00</i> .....	40
3.2.3.	<i>Priprema otopine reagensa difenilkarbazida (DPC)</i> .....	40
3.2.4.	<i>Priprema otopine fosforne kiseline</i> .....	40
3.2.5.	<i>Priprema temeljne standardne otopine kroma – 1g/l</i> .....	40
3.2.6.	<i>Priprema radne standardne otopine kroma- 1 mg/L (ppm)</i> .....	41
3.2.7.	<i>Priprema radne standardne otopine kroma- 5 mg/l (ppm)</i> .....	41
3.2.8.	<i>Argon ili dušik, bez kisika – plinovi za otplinjavanje</i> .....	41
3.2.9.	<i>Destilirana ili deionizirana voda</i> .....	41
3.2.10.	<i>Kalijev dikromat (K<sub>2</sub>Cr<sub>2</sub>O<sub>7</sub>) i metanol</i> .....	41
3.3.	POSTUPAK.....	41
3.3.1.	<i>Priprema uzoraka kože</i> .....	41
3.3.2.	<i>Priprema analitičkog sustava za ekstrakciju uzoraka kože</i> .....	41
3.3.3.	<i>Utvrđivanje kroma (VI) u otopini dobivenoj postupkom ekstrakcije</i> .....	42

3.3.4.	<i>Otopina slijepa probe standarda.....</i>	43
3.3.5.	<i>Izračun sadržaja kroma VI.....</i>	43
3.3.5.1.	<i>Stupanj iskorištenja .....</i>	43
3.3.6.	<i>Kvalitativno ispitivanje kroma u pepelu u uzorcima koža .....</i>	44
3.3.7.	<i>Priprema uzoraka i postupak određivanja ukupnog sadržaja kroma mikrovalnom digestijom.....</i>	45
3.3.8.	<i>Priprema i postupak digestije .....</i>	45
3.3.8.1.	<i>Postupak nakon digestije.....</i>	46
3.4.	<b>IZRADA BAŽDARNOG DIJAGRAMA (KALIBRACIJA).....</b>	<b>47</b>
<b>4.</b>	<b>RASPRAVA I REZULTATI.....</b>	<b>50</b>
4.1.	<b>SPEKTROFOTOMETRIJSKO ODREĐIVANJE CR (VI) PRI PH = 8.....</b>	<b>56</b>
4.1.1.	<i>Uzorak 1, pH = 8,00 .....</i>	<i>56</i>
4.1.2.	<i>Uzorak 2, pH = 8,00 .....</i>	<i>57</i>
4.1.3.	<i>Uzorak 3, pH = 8,00 .....</i>	<i>58</i>
4.1.4.	<i>Uzorak 4, pH = 8,00 .....</i>	<i>59</i>
4.1.5.	<i>Uzorak 5, pH = 8,00 .....</i>	<i>60</i>
4.1.6.	<i>Uzorak GOVEĐI CJEPANIK, GC, pH = 8,00.....</i>	<i>61</i>
4.1.7.	<i>Uzorak GOVEĐI BLANK, GB, pH = 8,00.....</i>	<i>62</i>
4.2.	<b>SPEKTROFOTOMETRIJSKO ODREĐIVANJE CR (VI) PRI PH = 9.....</b>	<b>63</b>
4.2.1.	<i>Uzorak 2, pH = 9,00 .....</i>	<i>63</i>
4.2.2.	<i>Uzorak 2, pH = 9,00 .....</i>	<i>64</i>
4.2.3.	<i>Uzorak 3, pH = 9,00 .....</i>	<i>65</i>
4.2.4.	<i>Uzorak 4, pH = 9,00 .....</i>	<i>66</i>
4.2.5.	<i>Uzorak 5, pH = 9,00 .....</i>	<i>67</i>
4.2.6.	<i>Uzorak GOVEĐI CJEPANIK, GC, pH = 9,00.....</i>	<i>68</i>
4.2.7.	<i>GOVEĐI BLANK, GB, pH = 9,00.....</i>	<i>69</i>
4.2.8.	<i>Sadržaj kroma (VI) u uzorcima kože .....</i>	<i>70</i>
4.2.9.	<i>Utjecaj matice na određivanje kroma (VI).....</i>	<i>70</i>
<b>5.</b>	<b>ZAKLJUČAK.....</b>	<b>71</b>
<b>6.</b>	<b>LITERATURA.....</b>	<b>72</b>



## 1. UVOD

Spojevi kroma imaju široku upotrebu u raznim industrijskim granama i procesima: u proizvodnji anorganskih bojila, metalurgiji, u štavljenju kože i postupcima očuvanja kože. Krom se također krom koristi u procesima bojadisanja i tiska tekstila i to u obliku metalo-kompleksnih bojila. Zbog vrlo široke upotrebe, krom se može naći u elementarnom stanju ali i u slobodnom, ionskom obliku ili u obliku različitih kompleksa i kao takav ima sposobnost migracije u okolišu. Takvi oblici kroma mogu predstavljati probleme za okoliš a time i na zdravlje i život čovjeka. Najveće količine kroma će se naći u otpadnim vodama nakon procesa prerade i štavljenja kože i bojadisanja tekstila [1].

Procesi prerade kože ne pripadaju suvremenim tehnološkim otkrićima već datiraju u povijest od prije nekoliko tisuća godina. Kako je čovjek lovio životinje isključivo radi hrane, kožu je morao odvojiti oštrim predmetima. Ljudi su upravo takvu neobrađenu kožu koristili kao odjevni predmet, ali i kao obuću omatajući je oko stopala. Takva je koža morala biti obrađena raznim tvarima kako bi se sačuvala od propadanja ali i iskoristila njezina svojstva za zaštitu čovjeka. Najprije se za omekšavanje kože upotrebljavala mast koja je i ujedno štitila od močenja, dok bi pravi pomak bila biljna smjesa čiji se sadržaj sastojao od vode, lišća i kore drveća čiji je glavni sastojak tanin. Ovaj postupak se smatra prvom metodom štavljenja. U suvremene metode pripada anorgansko štavljenje kao i kombinirano štavljenje pri čemu se primjenjuju prednosti obje vrste štavljenja kako bi se postigao bolji učinak. Upotrebom raznih anorganskih tvari potrebna je dodatna pažnja zbog toga što neke od njih imaju štetan i negativan utjecaj na okoliš. Vrlo je važno redovito provoditi kontrolu procesa štavljenja anorganskim sredstvima kako bi se izbjegle eventualne pogreške koje nastaju tokom procesa, ali ponajprije kako bi se izbjeglo štetno djelovanje na ljude i okoliš [2].

Za štavljenje proizvoda od kože koji se koriste za proizvodnju gornjišta obuće, odjeće, zaštitne odjeće, torbica, remena, presvlaka, luksuznog namještaja i sl. uobičajeno se koriste sulfatne soli kroma. Te soli sadrže krom u svom trovalentnom stanju. Međutim, oksidacija kroma (III) do kroma (VI) može biti potaknuta određenim čimbenicima kao što su npr. povećanje pH vrijednosti, temperature, izloženost UV zračenju i oksidirajućim sredstvima tijekom obrade, skladištenja, tijekom uporabe kože i konačno, prilikom odlaganja upotrijebljenog predmeta. Od 1. lipnja 2007. na snazi je tzv. REACH Uredba EU kojoj je cilj poboljšanje i zaštita ljudskog zdravlja i okoliša s obzirom na opasnosti koje mogu predstavljati kemikalije, a uz istodobno povećanje konkurentnosti industrije unutar Europske unije. Time se ograničava i sadržaj kroma (VI) u svim predmetima od kože i predmetima koji sadrže dijelove kože a koji dolaze u dodir

s ljudskom kožom. Tvrtke koje žele svoje proizvode prodavati u Europi moraju osigurati da njihovi proizvodi imaju ograničene količine određenih kemikalija sukladno Uredbi Europske unije REACH (EC) br. 1907/2006. Ovo je vrlo važna Uredba za sve koji se bave štavljenjem kože, vlasnike robnih marki i trgovce - kako iz perspektive sigurnosti proizvoda tako i u pogledu zakonske usklađenosti. Sukladno tome, proizvodi od kože, ili proizvodi koji sadrže dijelove kože, koji dolaze u dodir s ljudskom kožom ne smiju se stavljati na tržište ukoliko je sadržaj kroma (VI) u koncentracijama jednakim ili većim od 3 mg/kg (0,0003% težine). Kako se koža obrađuje u serijama (pri čemu je svaka životinjska koža malo drugačija a i koža jedne životinje nema jednolične karakteristike na svim dijelovima) vrlo složenim kemijskom procesima pri čemu može nastati i krom (VI), ispitivanje sadržaja Cr (VI) jedini je siguran način dokazivanja sukladnosti sa ovom zakonskom regulativom [3].

Poseban naglasak se stavlja na graničnu vrijednost kroma (VI) u proizvodima izrađenim od kože kao i uvjetima u kojima je materijal ili pak gotovi proizvod ispitan zbog njegovog štetnog djelovanja na okoliš i čovjeka. Zahvaljujući brojnim zakonskim propisima i djelatnosti normizacije u području zaštite okoliša propisane su serije normi kako bi se izbjegao ili barem smanjio utjecaj štetnih tvari, pa tako i kroma (VI), na okoliš i ljudsko zdravlje.

Zbog negativnih efekata kroma na zdravlje ljudi i okoliš, i neke od shema za dobivanje eko oznaka proizvoda postavljaju visoke zahtjeve za krom a na temelju ekstrakcije metala pomoću raznih sustava za ekstrakciju. Neka od tih sredstava propisana su normama a neka od njih pak simuliraju npr. ljudski znoj, kiseli i alkalni, slinu, želučani sok i sl., nastojeći time opisati mogućnosti migracije štetnih tvari sa predmeta opće upotrebe ili pak zaštitne odjeće/obuće, pod utjecajem svakodnevnih ljudskih aktivnosti, u sintetički pripravljene otopine znoja, sline, želučanog soka i sl. (tzv. simulante).

U današnje vrijeme analiza teških metala poput kroma, temelji se na ekstrakciji metala iz tekstilnih materijala pomoću otopine umjetnog znoja, pripremljene prema specifičnim zahtjevima normi. Elucija kemijskih sastojaka s/iz tekstila, nakita, kozmetike, lijekova, industrijskih kemikalija i čestica u dugotrajnom i izravnom kontaktu s ljudskom kožom često se procjenjuje *in vitro*, korištenjem otopina umjetnog znoja kao zamjene za ljudski znoj; štoviše u literaturi je objavljeno čak 45 različitih formulacija umjetnog znoja [4].

U ovom diplomskom radu uzorci kože ispitani su sukladno normi EN ISO 17075-1:2017 kojom se Cr(VI) određuje spektrofotometrijski u uzorcima kože. U tu svrhu su

upotrijebljene dvije ekstrakcijske otopine sa pH vrijednostima 8,00 (prema normi) i 9,00 a sadržaj kroma (VI) određen je spektrofotometrijski na sedam različitih uzoraka koža.

## 2. TEORIJSKI DIO

### 2.1. Općenito o kromu

Krom se u prirodi nalazi u sedam oksidacijskih stanja ali su tehnički najvažniji i možda najzastupljeniji trovalentni Cr (III) i šesterovalentni oblik Cr (VI) kroma. Obje ionske vrste različitih su svojstava ali i toksičnosti. Dok je trovalentni oblik kroma važan nutrijent i sudjeluje u metabolizmu ugljikohidrata i proteina, šesterovalentni spojevi kroma ( $\text{CrO}_4^{2-}$ ,  $\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-}$ ) su znatno toksičniji od trovalentnog kroma zbog svoje visoke topljivosti u vodi, brze propusnosti kroz biološke membrane i naknadne interakcije sa unutar staničnim nukleinskim kiselinama i proteinima. U mnogim studijama je dokazano njegovo nepovoljno djelovanje na ljudski organizam, karcinogeno i genotoksično djelovanje. Nadalje, dokazani je alergeni (uzrokuje alergijski dermatitis) kao i oštećenja DNA, potiče oksidativni stres stanica te ima mutageno djelovanje. Poznato je i da uzrokuje rak pluća, a remeti i pravilno funkcioniranje reproduktivnog sustava. Osim negativnog utjecaja na ljudski organizam, zabilježeno je štetno djelovanje na biljni i životinjski svijet. Spojevi kroma (VI) visoko su toksični za biljke, usporavaju rast korijenja, fitomase i fotosintetskih pigmenata [1].

Krom je vrlo otporan kemijski element, sjajan, tvrdi materijal bijele boje. U ovisnosti o elektronskom naboju u prirodi se javlja u nekoliko oksidacijskih stanja u stupnjevima oksidacije od -2 do +6. Dušična kiselina ga ne nagriza, već ga čini pasivnim i kroz neko vrijeme otpornim prema drugim mineralnim kiselinama, a otapa se u razrijeđenoj sulfatnoj i klorovodičnoj kiselini. Neki od najvažnijih spojeva kroma imaju stupanj oksidacije +3 i +6. U tablici 1. navedena su oksidacijska stanja kroma sa pripadajućim spojevima.

Tab. 1 Primjeri nekih spojeva kroma sa oksidacijskim stanjima

Kemijska formula spoja	Stupanj oksidacije
$\text{Na}_2[\text{Cr}(\text{OH})_5]$	-2
$\text{Na}_2[\text{Cr}_2(\text{CO})_{10}]$	-1
$\text{Cr}(\text{C}_6\text{H}_6)_2$	0
$\text{K}_3[\text{Cr}(\text{CN})_5\text{NO}]$	+1
$\text{CrCl}_2$	+2
$\text{CrCl}_3$	+3
$\text{K}_2\text{CrF}_6$	+4
$\text{K}_3\text{CrO}_8$	+5
$\text{K}_2\text{CrO}_4$	+6

Poznata su karakteristična obojenja nekoliko iona kroma, prema kojima je i dobio ime:

- $\text{Cr}^{2+}$  modra boja
- $\text{Cr}^{3+}$  zelena boja
- $[\text{Cr}(\text{OH})_4]^-$  zelena boja
- $\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-}$  žuta boja
- $\text{CrO}_4^{2-}$  narančasta boja

U prirodi se krom javlja najčešće kao elementarni metalni krom, te zatim kao trovalentni i šesterovalentni krom. Metalni krom je stabilna modifikacija kroma, a vrlo često se koristi za zaštitu materijala podložnih koroziji u obliku premaza ili obloge jer je otporan na korozivno djelovanje i oksidaciju[5].

### 2.1.1. Krom (III) i krom (VI)

**Trovalentni krom** je važan nutrijent u ljudskom organizmu, uzrokuje povećanje efikasnosti inzulina koji je zaslužan za regulaciju važnih metaboličkih procesa, a također regulira iskorištenje i apsorpciju aminokiselina i masnih kiselina što ga čini nužnim elementom za normalno funkcioniranje organizma. Nema toksično djelovanje na ljudski organizam. Optimalna količina trovalentnog kroma koji se unosi u organizam odrasle osobe je 50-200  $\mu\text{g}$  dnevno[6].

Trovalentni krom susreće se u prirodi kao dio Zemljine kore kao sastavni dio kombinacije minerala s udjelom u prosjeku od 1,4·10<sup>-5</sup>%. Pojavljuje se i kao kompleksan spoj s kisikom i kloridom u obliku oksida i klorida. Tipičan predstavnik oksidacijskog stupnja 3+ je hidratizirani  $[\text{Cr}(\text{H}_2\text{O})]^{3+}$  plavo ljubičaste boje, od kojega se odvodi mnogo kromovih spojeva. Svi se ti spojevi odlikuju velikom stabilnošću. Poznato je i mnogo kompleksnih spojeva, koji s kromom(III) tvore stabilne komplekse. Hidroksid ion s kromom (III) taloži zelenkasto sivi talog  $\text{Cr}(\text{OH})_3$ , koji je topljiv u kiselinama i u lužinama (amfoternost).



Trovalentni krom pojavljuje se u spojevima koje odlikuje visoka stabilnost a to su:

- Anionski ili kationski hidroksi kompleksi:  $\text{Cr}(\text{OH})_2^+$ ,  $\text{Cr}(\text{OH})_2^{2+}$ ,  $\text{Cr}(\text{OH})_3$ ,  $\text{Cr}(\text{OH})_4^-$  i  $\text{Cr}(\text{OH})_5^{2-}$

Tab. 2 Konstante stabilnosti nekih kompleksa s  $\text{Cr}^{3+}$  [7]

KOMPLEKSI S $\text{Cr}^{3+}$	$\text{pK}_{\text{st}}$
$\text{Cr}^{3+} + \text{H}_2\text{O} \leftrightarrow \text{CrOH}^{2+} + \text{H}^+$	3,95
$\text{CrOH}^{2+} + \text{H}_2\text{O} \leftrightarrow \text{Cr}(\text{OH})_2^+ + \text{H}^+$	5,5
$\text{Cr}^{3+}/ \text{Cl}^-$	1,1 ; -0,7
$\text{Cr}^{3+}/ \text{F}^-$	4,4 ; 3,3 ; 2,5 ; 5,2
$\text{Cr}^{3+}/ \text{SO}_4^{2-}$	1,3
$\text{Cr}^{3+}/ \text{SCN}^-$	3,1 ; 1,7 ; 1,0 ; 0,3 ; -0,7 ; -1,6
$\text{Cr}^{3+}/ \text{EDTA}^{4-}$	24
$\text{Cr}^{3+}/ \text{sulfosalicilat}$	9,6

U vodenim otopinama ponašanje kroma ovisi o pH vrijednosti otopine. U tablici su prikazane konstante produkta topljivosti za neke od teško topljivih taloga.

Tab. 3 Teško topljivi spojevi  $\text{Cr}(\text{III})$  i njegove konstante produkta topljivosti [7]

TEŠKO TOPLJIVI SPOJEVI $\text{Cr}^{3+}$	$\text{pK}_{\text{pt}}$
$\text{Cr}^{3+}/3 \text{OH}^-$	30
$\text{CrO}_2^-/\text{H}^+$	14,4
$\text{Cr}^{3+}/ \text{AsO}_4^{3-}$	20,1
$\text{Cr}^{3+}/ \text{PO}_4^{3-}$	22,6 (zeleni); 17,0 (ljubičasti)

**Šesterovalentan krom** najčešće se nalazi u spojevima kroma nastalim sintetičkim modifikacijama, vrlo rijetko se može naći u prirodi.  $\text{Cr}(\text{VI})$  se lako reducira u oksidacijsko stanje +3 a vrlo često se veže u kompleksne kemijske spojeve isto kao i trovalentni krom. Kao i za krom oksidacijskog stanja 3+ u sljedećoj tablici navedeni su neki kompleksi šesterovalentnog kroma i njegovih konstanti stabilnosti.

Tab. 4 Konstante kiseline spojeva kroma s  $\text{Cr}^{6+}$ [7]

Konstante kiseline	$\text{pK}_A$
$\text{H}_2\text{CrO}_4 \leftrightarrow \text{HCrO}_4^- + \text{H}^+$	-1,0

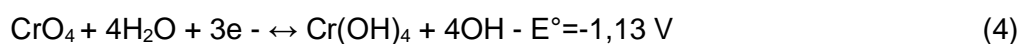
$\text{HCrO}_4^- \leftrightarrow \text{CrO}_4^{2-} + \text{H}^+$	6,5
$\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-} + \text{H}_2\text{O} \leftrightarrow 2 \text{HCrO}_4^-$	1,5

Tab. 5 Konstante stabilnosti spojeva kroma s  $\text{Cr}^{6+}$  [7]

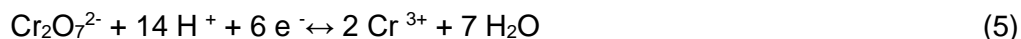
KOMPLEKSI SPOJEVI S $\text{Cr(VI)}$	$\text{pK}_{\text{st}}$
$\text{H}_2\text{CrPO}_7^- + \text{H}_2\text{O} \leftrightarrow \text{HCrO}_4^- + \text{H}_2\text{PO}_4$	0,95
$\text{H}_2\text{CrPO}_7^{2-} + \text{H}_2\text{O} \leftrightarrow \text{HCrO}_4^- + \text{H}_3\text{PO}_4$	0,5

Predstavnici kroma oksidacijskog stupnja 6+ su dikromatni  $\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-}$  i kromatni  $\text{CrO}_4^{2-}$  ion te  $\text{HCrO}_4^-$  koji je nešto manje zastupljen.

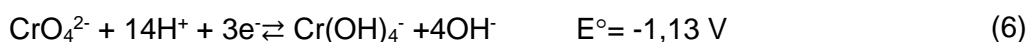
Kromatni ion ima tetraedarsku strukturu i žute je boje, dodatkom kiselina otopini kromatnog iona, iz žute boje otopina dobije narančasto obojenje jer dolazi do stvaranja dikromatnog iona. U lužnatom mediju je slabo oksidacijsko sredstvo:



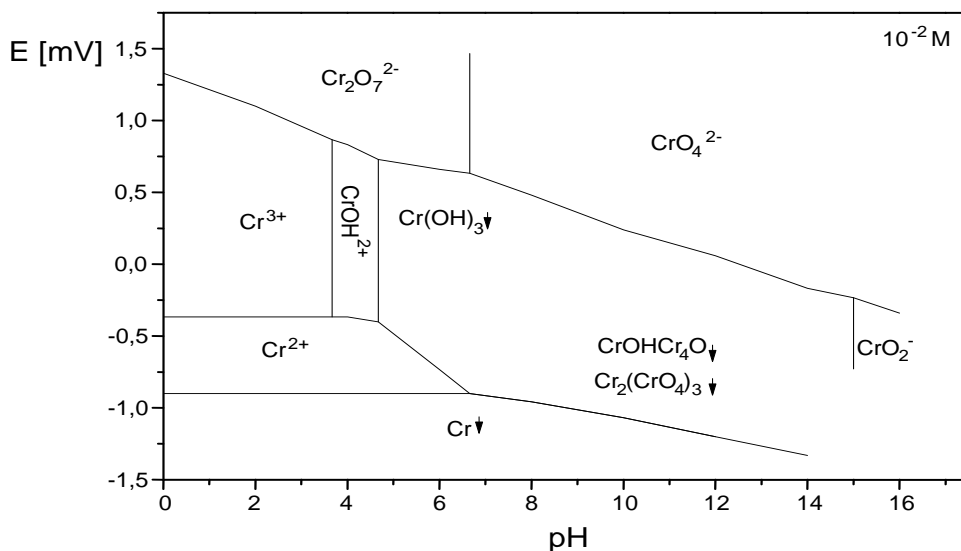
U kiselom mediju dikromatni ion je jako oksidacijsko sredstvo, što se vidi iz potencijala parcijalne redoks reakcije:



Kromat ion je u lužnatom slabo oksidacijsko sredstvo:



Na slici 5. prikazan je oksido-redukcijski sustav ionskih vrsta kroma u ovisnosti o pH vrijednosti otopine. Položaj ravnoteže ovisi o pH otopine.



Sl. 1 Oksido-redukcijski sustavi kroma u ovisnosti o pH otopine [7]

Hidratizirani krom (VI) postoji u pet vrsta:  $\text{H}_2\text{CrO}_4$ ,  $\text{HCrO}_4^-$ ,  $\text{CrO}_4^{2-}$ ,  $\text{HCr}_2\text{O}_7^-$ ,  $\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-}$ , a njihova raspodjela ovisi o pH vrijednosti otopine i ukupnoj koncentraciji kroma. Ako otopina nije dovoljno kisela ili alkalna, varijacije u vrijednosti pH mogu uzrokovati značajne promjene u ravnoteži  $\text{HCrO}_4^- \leftrightarrow \text{CrO}_4^{2-}$  [5].

U obliku dikromatnog  $\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-}$  i kromatnog iona  $\text{CrO}_4^{2-}$  krom(VI) tvori teško topljive taloge, a u tablici 6. su navedene njegove konstante produkta topljivosti.

Tab. 6 Teško topljivi spojevi Cr(VI) i njegove konstante produkta topljivosti [8]

TEŠKO TOPLJIVI SPOJEVI Cr (VI)	$\text{pK}_{\text{pt}}$
$\text{CrO}_4^{2-} / 2\text{Ag}^+$	11,9
$\text{CrO}_4^{2-} / 2\text{Ag}^+$	6,7
$\text{CrO}_4^{2-} / \text{Ba}^{2+}$	9,9
$\text{CrO}_4^{2-} / \text{Ca}^{2+}$	0,2
$\text{CrO}_4^{2-} / \text{Cu}^{2+}$	5,4
$\text{CrO}_4^{2-} / \text{Fe}^{2+}$	5,6
$\text{CrO}_4^{2-} / \text{Hg}_2^{2+}$	8,7
$\text{CrO}_4^{2-} / \text{Pb}^{2+}$	12,6
$\text{CrO}_4^{2-} / \text{Sr}^{2+}$	4,6
$\text{CrO}_4^{2-} / 2\text{TI}^+$	12,0



### **2.1.2. Primjena kroma u industriji**

Korozijska otpornost i dobra izolacijska svojstva prema električnoj struji čine krom i njegove spojeve dobrim sredstvom za anodizaciju. Sa  $\text{CrO}_3$  odnosno otopinama koje se dobivaju otapanjem kromovih oksida premazuju se materijali koje treba zaštititi od korozije. U proizvodnji uloga mu je zaštita metalnih obloga, zaštita od korozije ili dobivanje specifičnog izgleda metalnih obloga, te kao legirajući element. U elektroničkoj industriji koristi se kao sredstvo za jetkanje odnosno stvaranje vodiča na bakrenim pločama u proizvodnji integriranih poluvodičkih čipova-krugova. Dodatak kromovih oksida osigurava visoku rezoluciju fotografskih filmova, zatim kod poliranja površina nehrđajućih čelika, poliranje se izvodi nanosom tankog sloja kroma na površinu. Treba spomenuti da krom također ima važnu ulogu u kožarskoj i tekstilnoj industriji [8].

## **2.2. Koža i štavljenje**

### **2.2.1. Koža**

Sirova koža skinuta sa zaklane životinje, ako se ne učini nepokvarljivom i obradi kako bi bila pogodna za upotrebu, trune. Njena prerada uključuje mnoštvo mehaničkih, fizikalno-kemijskih i kemijskih obrada, a najvažniji je štavljenje. Najvažnije su svinjske, goveđe, kozje i ovčje kože, a njihova količina ovisi o broju stoke ili količini klanja.

Koža je visokovrijedni, plemeniti i visokocijenjeni prirodni materijal koji ima specifična svojstva i građu. Njeno osnovno svojstvo je tzv. "disanje" pri čemu koža propušta vodenu paru i zrak a istovremeno ne propušta vodu. Zbog specifične građe i spleta kolagenskih vlakana koža je nakon obrade podatna i čvrsta, a npr. na cipeli poprima oblik noge. Služi kao izolator jer ima nisku toplinsku vodljivost, a treba istaknuti da može upiti i do 50% od svoje težine znoja ili vode koji se npr. pri nošenju cipela ispari. Do sada ni jedan umjetni materijal nije zadovoljio i uspio imitirati navedena svojstva.

U svjetskoj proizvodnji gotove kože najveći udio pripada izradi obuće (70%), 15% za odjevne svrhe, 10% za kožnu galanteriju a 5% za industrijske svrhe, konjska sedla i presvlačenje namještaja.

Potražnja za kožom raste jer postojeće količine sirovih koža ne zadovoljavaju svjetske potrebe i povećanjem kvalitete te boljim korištenjem postojećih sirovina može se nadoknaditi njen nedostatak [2].

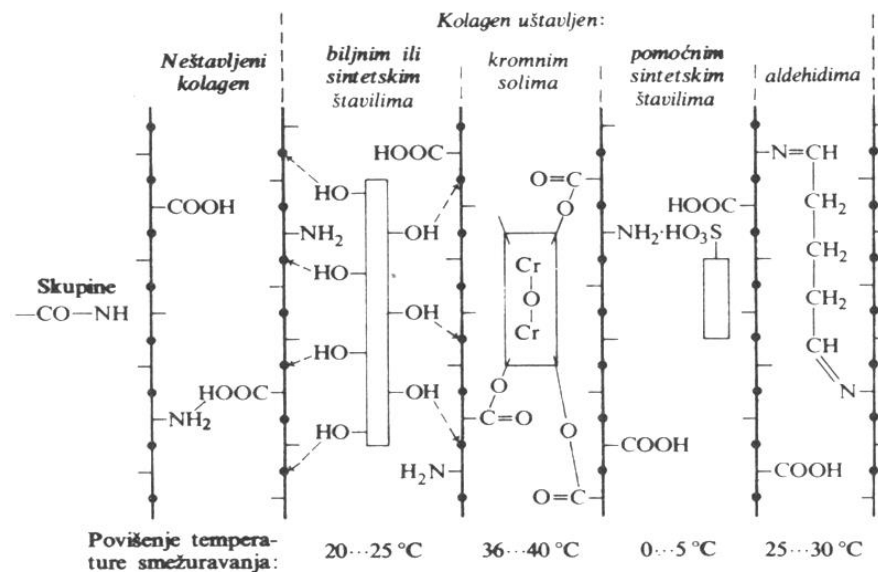
### **2.2.2. Štavljenje**

Štavljenje je jedan od važnijih procesa u preradi kože i krzna. Svježa koža može se sušenjem, usoljavanjem ili zamrzavanjem očuvati i konzervirati. Tim postupcima predobrade nastoji se spriječiti mikroorganizme u njenoj razgradnji te smanjenje količine

vode, nakon čega se može pristupiti samom postupku štavljenja nakon kojeg se dobije koža određene namjene [8].

Postupak se provodi na način da se štavna sredstva uvode u strukturu kože, vežu se sa funkcionalnim skupinama iz bjelančevina kože stvarajući poprečne veze. Štavilo će se ovisno o naboju vezati na negativne karboksilne ili pozitivne amino skupine kolagena pri čemu dolazi do stvaranja novih postojanijih i čvršćih veza a njihova jačina ovisi o načinu provođenja postupka štavljenja te samoj štavi. Te postojanije veze dovode do veće otpornosti kolagena prema hidrolizirajućim tvarima, fermentima, povećava se otpornost na kidanje, smanjuje bubrenje, povećava niz mehaničkih svojstava kože i povisuje temperaturu mežuranja, tj. temperaturu pri kojoj dolazi do skupljanja kolagena.

Sredstva za štavljenje mogu sadržavati mnoge anorganske i organske tvari; od anorganskih su to najčešće kromne soli, te soli željeza, aluminijske, cirkonijske, titanske, kobaltne kao i anioni kiselina silicijne, volframske, vanadijske, fosforne i molibdenske. Od organskih tvari to su formaldehid, tanini, masti, amino-smole i razna druga sintetička sredstva za štavljenje [2].



Sl. 2 Shema mehanizama različitih načina štavljenja koža [2]

Štavljenje je jedna od najvažnijih operacija u proizvodnji kože, gdje se koža tretira sa sredstvima za štavljenje kako bi pretvorili raspadivu kožu u neraspadivu. Kromno i biljno štavljenje su popularne metode štavljenja od koje je prva dobro poznata te se prakticira širom svijeta (90%). Proces štavljenja kromom se provodi uz pomoć bazičnog kromovog sulfata pri koncentracijama od 8-10 %. Ipak kromov sulfat korišten u procesu štavljenja se ne iskoristi u potpunosti za umrežavanje kolagenskih vlakana kože te se

zajedno sa tekućim otpadom kasnije odbacuje. To može dovesti do ozbiljnog problema onečišćenje vode i okoliša. Kromov sulfat u obliku kroma (III) se koristi u štavljenju. Krom (VI) koji je kancerogen može se pojaviti u gotovoj koži i otpadu kao posljedica velike reaktivnosti kroma kao elementa uslijed povećanja pH vrijednosti, temperature, izloženosti UV zračenju i oksidirajućim sredstvima tijekom obrade, skladištenja, tijekom uporabe kože i konačno, prilikom odlaganja upotrijebljenog predmeta. Prema zakonskoj regulativi [9].

U međunarodnim standardima, preporučeno ograničenje u eluatu otpada je 0,5 – 70 mg ukupnog kroma/kg suhe tvari, ovisno o vrsti otpada i sve iznad te razine može uništiti DNA, utjecati na kožu, jetru i bubrege kod ljudi. Uz to krom pri višoj koncentraciji utječe na tlo, pitku vodu, riblje i vodene organizme. Unatoč tim ograničenjima, postalo je nužno proizvoditi kožu koristeći kromov sulfat kako bi se dobila koža vrhunske kvalitete. Ipak, ekološke norme i zakonska regulativa ograničavaju razinu otpuštenih kemikalija koje su prisutne u obrađenoj vodi. Neke mjere su postale obavezne i krom prisutan u procesu štavljenja se mora ponovno iskoristiti. Kako bi se smanjila količina kroma u otpadnim vodama nakon štavljenja uvelo se recikliranje štavniha otopina [10].

Međunarodno udruženje tehnologa kože i kemijskih društava (IULTCS) u 2013. godini izradilo je popis najboljih primijenjenih tehnologija i nekoliko rizika sa ciljem izbjegavanja nastajanja kroma (VI) tijekom proizvodnje, skladištenja i upotrebe:

- Vrlo je važno koristiti soli vrhunske kvalitete za štavljenje kože,
- Ne koristiti oksidacijska sredstva nakon štavljenja kože,
- završiti procese mokre obrade u uvjetima niske pH vrijednosti (3.5-4.0),
- provesti završno pranje,
- izbjegavati upotrebu viška amonijaka prilikom procesa bojadisanja,
- koristiti omekšavajuća sredstva visokih performansi (izbjegavati nezasićene masti i voskove),
- izbjegavati korištenje kromatnih pigmenata,
- koristiti 1-3 % biljnih ekstrakta za štavljenje
- u svrhu antioksidativne zaštite te sintetskih antioksidanata ako nije moguće koristiti biljna sredstva [3].

### **2.3.Nepovoljan učinak kroma na ljude i okoliš**

Više puta ispitivanja koja se provode na obući i proizvodima od kože otkrivaju prisutnost opasnog kroma (VI). Ukoliko dođe do prekoračenja granične vrijednosti Cr (VI), koja za prihvatljiv proizvod mora biti ispod 3 mg/kg, proizvod se kao takav ne može

staviti na tržište ili se čak ponekad mora i ukloniti sa tržišta. To može značiti ozbiljnu ekonomsku štetu za proizvođače i trgovinu.

Kako je već prethodno spomenuto, trovalentni krom je esencijalan element, ali naravno u određenim granicama. Za razliku od kroma (III) koji može uzrokovati mjestimičnu iritaciju, krom (VI) vrlo je toksičan radi jačeg oksidacijskog svojstva. Problem je što se upravo ovaj oblik kroma češće upotrebljava u industriji te time dolazi u vodu, tlo i u zrak. Najreaktivnije stanje kroma je upravo njegov šesterovalentni oblik, karakterističan po visokoj toksičnosti te samim time predstavlja opasnost za zdravlje čovjeka. Takav oblik kroma često se nalazi kao sastavni dio metalo-kompleksnih bojila koja se koriste u kožarskoj i tekstilnoj grani industrije te u procesima štavljenja kože. Štetno djelovanje kroma (VI) je dokazano i manifestira se u vidu oštećenja jetre, kontaktnog dermatitisa, iritacijama sluznice oka, bronhijalnoj astmi, karcinomu bronhija, remeti i oštećuje rad probavnog sustava i bubrega. Iz navedenih razloga nastoji ga se izbjeći odnosno što manje koristiti u tehnološkim procesima kako bi se izbjegla onečišćenja okoliša te oboljenja ljudi i ostalih živih bića. Za organizam je toksična doza od 200 mg. Upravo radi svojeg nepovoljnog djelovanja, definirana je maksimalno dopuštena koncentracija kroma, (vidjeti tablicu 6.) koja je određena prema kriterijima toksičnosti, razgradljivosti i bioakumulacije. S obzirom na njegovu veliku štetnost i toksičnost, on se pokušava zamijeniti nekim drugim sredstvima u tehnološkim procesima, a ukoliko to nije moguće, otpadne vode moraju se obraditi prije nego li se ispuste u vodotok ili sustav javne odvodnje [13], najčešće primjenom postupaka ionske izmjene, kemijskog taloženja ili adsorpcije na pogodnom adsorbensu. Važno je postići najveće moguće iskorištenje prilikom procesa štavljenja što znači kromnu kupku ponovno upotrijebiti.

Zbog svog štetnog djelovanja, a i gubitaka koji mogu nastati u njihovoj prisutnosti, maksimalno dozvoljene koncentracije kroma (MDK) u otpadnim vodama i na predmetima od kože, tekstilnim materijalima i vodi za piće i otpadnim vodama strogo su definirane (Tab.6-8) [11-13].

Tab. 7 Vrijednosti maksimalnih dozvoljenih koncentracija (MDK) iona Cu, Co, Cr, Cd, Ni, Pb i As za dječju i ostalu odjeću prema Öko-tex standardu [11]

Metal	MDK-za djecu (ppm)	MDK-direktni kontakt s kožom (ppm)	MDK-indirektni kontakt s kožom (ppm)	MDK-dekorativni materijali (ppm)
Cu	25,0	50,0	50,0	50,0
Co	1,0	4,0	4,0	4,0
Ni	1,0	4,0	4,0	4,0
<b>Cr</b>	<b>1,0</b>	<b>2,0</b>	<b>2,0</b>	<b>2,0</b>
<b>Cr(VI)</b>	<b>&lt; 0,5</b>			
Cd	0,1	0,1	0,1	0,1
Pb	0,2	1,0	1,0	1,0
As	0,2	1,0	1,0	1,0

Iz prethodne je tablice vidljivo da su ti zahtjevi vrlo strogi. O strogosti tih standarda najbolje pokazuje usporedba s maksimalno dozvoljenim koncentracijama kroma u vodi za ljudsku potrošnju i otpadnim vodama. (tablica 7 i 8.).

Tab. 8 Kemijski parametri (krom) zdravstvene ispravnosti vode za ljudsku potrošnju [12]

Pokazatelj	jedinica	M.D.K.
Krom	µg/l	50

Tab. 9 Maksimalno dozvoljene koncentracije kroma u otpadnim vodama [13]

POKAZATELJI	IZRAŽENI KAO	JEDINICA	POVRŠINSKE VODE	SUSTAV JAVNE ODVODNJE	ZABRANA ISPUŠTANJA U PODZEMNE VODE
Krom (VI)	Cr	mg/l	0,1	0,1	
GRANIČNE VRIJEDNOSTI EMISIJA OTPADNIH VODA IZ POSTROJENJA ZA SPALJIVANJE OTPADA I POSTROJENJA ZA SUSPALJIVANJE OTPADA					
Krom i njegovi spojevi	Cr	mg/l	0,5	0,5	
GRANIČNE VRIJEDNOSTI EMISIJA OTPADNIH VODA IZ OBJEKATA I POSTROJENJA ZA PRERADU I ŠTAVLJENJE KOŽE I PROIZVODNJE KRZNA					
Krom (VI)	Cr VI	mg/l	0,1	0,1	
GRANIČNE VRIJEDNOSTI EMISIJA OTPADNIH VODA IZ OBJEKATA I POSTROJENJA ZA PROIZVODNJU I PRERADU TEKSTILA*					
Krom (VI)	Cr	mg/l	0,1	0,1	
GRANIČNE VRIJEDNOSTI EMISIJA OTPADNIH VODA IZ OBJEKATA I POSTROJENJA ZA PROIZVODNJU BILJNIH I ŽIVOTINJSKIH ULJA I MASTI					
Krom ukupni	Cr	mg/l	0,5 (b)	0,5 (b)	
GRANIČNE VRIJEDNOSTI EMISIJA OTPADNIH VODA IZ OBJEKATA I POSTROJENJA ZA PROIZVODNJU I PRERADU STAKLA I MINERALNIH VLAKANA					
Krom (VI)	Cr	mg/l	0,1	0,1	
GRANIČNE VRIJEDNOSTI EMISIJA OTPADNIH VODA IZ OBJEKATA I POSTROJENJA ZA PROIZVODNJU ORGANSKIH KEMIKALIJA I PROIZVODA					
Krom ukupni	Cr	mg/l	0,5	0,5	
GRANIČNE VRIJEDNOSTI EMISIJA OTPADNIH VODA IZ OBJEKATA I POSTROJENJA ZA PROIZVODNJU ANORGANSKIH KEMIKALIJA I PROIZVODA					
Krom (VI)	Cr	mg/l	0,1	0,1	
GRANIČNE VRIJEDNOSTI EMISIJA OTPADNIH VODA IZ OBJEKATA I POSTROJENJA IZ FARMACEUTSKE INDUSTRIJE					
Ukupni krom	Cr	mg/l	0,05	0,3	
GRANIČNE VRIJEDNOSTI EMISIJA PROCJEDNIH VODA IZ ODLAGALIŠTA NEOPASNOG OTPADA					
Krom (VI)	Cr	mg/l	0,1	0,1	
GRANIČNE VRIJEDNOSTI EMISIJA OTPADNIH VODA IZ OBJEKATA I POSTROJENJA ZA PROIZVODNJU TOPLINSKE I ELEKTRIČNE ENERGIJE <i>Granične vrijednosti onečišćujućih tvari za rashladne otpadne vode</i>					
Ukupni krom **	Cr	mg/l	0,5	0,5	
GRANIČNE VRIJEDNOSTI EMISIJA OTPADNIH VODA IZ OBJEKATA I POSTROJENJA ZA PROIZVODNJU TOPLINSKE I ELEKTRIČNE ENERGIJE <i>Granične vrijednosti emisija onečišćujućih tvari za tehnološke otpadne vode</i>					
Ukupni krom	Cr	mg/l	0,5	0,5	

\* izrade i prerade pređe i prediva,

- bijeljenje, merceriziranje ili alkalne obrade tekstila,
- bojenje tekstila,
- tiskanje tekstila,
- plastificiranje ili kaširanje tekstila, apretiranje tekstila i
- čišćenje i pranje vlakana u svim oblicima
- pranje sirove vune,
- grafičke i fotografičke procese i obrada kovinskih površina pri proizvodnji valjaka za otiskivanje tekstila i šablona,
- kemijsko čišćenje tekstila, ako se za čišćenje koriste halogena organska otapala,
- (b) - vrijedi za izvore onečišćenja, u kojima se tehnološkim procesima koristi krom ili živa ili njihovi spojevi,
- \*\* analiza se radi samo kod reciklacijskih rashladnih sustava [13]

### **2.3.1. Određivanje kroma**

Zbog prepoznate i dokazane štetnosti kroma, pogotovo njegovog šesterovalentnog oblika, maksimalno dopuštene koncentracije tog metala jasno su definirane zakonskom regulativom. Stoga je neophodno kontinuirano praćenje i određivanje njegova sadržaja u svim okolišnim uzorcima (voda, zrak, tlo), otpadu, tekstilnim materijalima kao i proizvodima od kože.

Metode određivanja kroma su razne a u Tablici 10 dan je prikaz nekih normi za određivanje kroma.

Tab. 10 Pregled nekih normi za određivanje kroma vodi i koži

HRN ISO 11083:1998	<p>Kakvoća vode -- Određivanje kroma (VI) -- Spektrometrijska metoda s 1,5 - difenilkarbazidom (ISO 11083:1994)</p> <p>Water quality – Determination of chromium (VI) – Spectrometric method using 1,5 - diphenylcarbazide (ISO 11083:1994)</p> <p>Metoda je primjenjiva za određivanje kroma (VI) u raznim vrstama voda, u koncentracijskom području od 0,05 mg/L do 3 mg/L. Više koncentracije mogu se odrediti razrijeđivanjem uzorka.</p>
HRN EN ISO 11885:2010	<p>Kvaliteta vode -- Određivanje određenih elemenata optičkom emisijskom spektrometrijom induktivno vezane plazme (ICP-OES) (ISO 11885:2007; EN ISO 11885:2009)</p> <p>Water quality – Determination of selected elements by inductively coupled plasma optical emission spectrometry (ICP-OES) (ISO 11885:2007; EN ISO 11885:2009)</p>
HRN EN ISO 5398-1:2008	<p>Koža - Kemijsko određivanje sadržaja kromovih oksida - 1. dio: Metoda titracije (ISO 5398-1:2007; EN ISO 5398-1:2007)</p> <p>Leather - Chemical determination of chromic oxide content -- Part 1: Quantification by titration (ISO 5398-1:2007; EN ISO 5398-1:2007)</p>
HRN EN ISO 5398-2:2010	<p>Koža - Kemijsko određivanje sadržaja kromovih oksida - 2. dio: Mjerenje količine kolorimetrijskim određivanjem (ISO 5398-2:2009; EN ISO 5398-2:2009)</p> <p>Leather - Chemical determination of chromic oxide content -- Part 2: Quantification by colorimetric determination (ISO 5398-2:2009; EN ISO 5398-2:2009)</p>
HRN EN ISO 5398-3:2008	<p>Koža -- Kemijsko određivanje sadržaja kromovih oksida -- 3. dio: Metoda atomske apsorpcijske spektrometrije (ISO 5398-3:2007; EN ISO 5398-3:2007)</p> <p>Leather - Chemical determination of chromic oxide content -- Part 3: Quantification by atomic absorption spectrometry (ISO 5398-3:2018)</p>
HRN EN ISO 5398-4:2008	<p>Koža - Kemijsko određivanje sadržaja kromovih oksida -- 4. dio: Metoda s induktivno spregnutom plazmom -- Optički emisijski spektrometar (ICP-OES) (ISO 5398-4:2007; EN ISO 5398-4:2007)</p> <p>Leather - Chemical determination of chromic oxide content -- Part 4: Quantification by inductively coupled plasma – Optical emission spectrometer (ICP-OES) (ISO 5398-4:2007; EN ISO 5398-4:2007)</p>
HRN EN ISO 17075-1:2017	<p>Koža – Kemijsko određivanje sadržaja kroma (VI) u koži – 1. dio: Kolorimetrijska metoda (ISO 17075-1:2017; EN ISO 17075-1:2017) Leather – Chemical determination of chromium (VI) content in leather – Part 1: Colorimetric method (ISO 17075-1:2017; EN ISO 17075-1:2017))</p>
HRN EN ISO 17075-2:2017	<p>Koža – Kemijsko određivanje sadržaja kroma (VI) u koži – 2. dio: Kromatografska metoda (ISO 17075-2:2017; EN ISO 17075-2:2017) Leather – Chemical determination of chromium (VI) content in leather – Part 2: Chromatographic method (ISO 17075-2:2017; EN ISO 17075-2:2017)</p>
nHRN EN ISO 17072-2	<p>Koža -- Kemijsko određivanje sadržaja metala -- 2. dio: Ukupan sadržaj metala (ISO/DIS 17072-2:2017; prEN ISO 17072-2)</p> <p>Leather -- Chemical determination of metal content -- Part 2: Total metal content (ISO/DIS 17072-2:2017; prEN ISO 17072-2)</p>

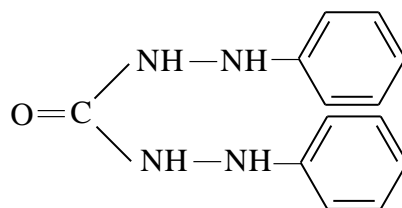


### 2.3.2. Izbor spektrofotometrijskog reagensa za analizu

Za spektrofotometrijsko određivanje sadržaja kroma postoji cijeli niz organskih i anorganskih reagensa čiji su principi određivanja dobro opisani u literaturi. Najpogodniji za kvantitativno određivanje kroma su: 1,5-difenilkarbazid (DFK), ksilenoloranž, kromazurol S, hidroksilamin, hidroklorid, 4-(2-piridilazo) rezorcinol (PAR), itd. Prema hrvatskim normama teški metali se najčešće u vodama i tekstilnim materijalima određuju spektrometrijski, metodom apsorpcijske spektrometrije ili induktivno spregnute plazme, ovisno o vrsti vode, odnosno tekstilnom materijalu, o očekivanom koncentracijskom području, smetnjama i opremljenosti laboratorija.

Jedna od najčešće korištenih metoda za određivanja kroma (VI) je spektrofotometrijsko određivanje s 1,5 – difenilkarbazidom. Zbog jednostavnosti, učinkovitosti i osjetljivosti, navedena metoda je propisana i normama kao što je prikazano u prethodnoj tablici.

#### 2.3.2.1. 1,5 – difenilkarbazid



Sl. 3 Molekula 1,5 – difenilkarbazida [18]

1,5 – difenilkarbazid (slika 5) je bijeli kristalni prašak koji poružičasti u prisutnost zraka. Topljiv je u vrućem etanolu, acetonu i ledenoj octenoj kiselini, djelomično je topljiv u vodi a netopljiv u eteru. Koristi se za fotometrijska određivanja metalnih iona, kao što su npr.: krom (Cr), kadmij (Cd), magnezij (Mg) te molidben (Mo). Obojene komplekse s 1,5 – difenilkarbazidom daju i kobalt (Co), nikal (Ni), olovo (Pb), srebro (Ag) i bakar (Cu), ali s vrlo niskom osjetljivošću.

Građa samog kompleksa s metalnim ionima varira. Tako na primjer kadmij i bakar daju kelatne komplekse dok se kod određivanja kroma prvo zbiva oksidacija 1,5 – difenilkarbazida u 1,5 – difenilkarbazon koji zatim tvori kompleks crveno-ljubičaste boje s ionima Cr(VI).

Reakcija s 1,5 – difenilkarbazidom je vrlo osjetljiva i visoko selektivna, pa je upravo zbog toga pogodna za određivanje malih količina kroma. Kako s 1,5 – difenilkarbazidom stvara kompleks samo s Cr(VI) ionom, prije nastajanja kompleksa

potrebno je eventualno prisutni Cr(III) ion oksidirati. U tu svrhu najčešće se koriste amonijevpersulfat ili kalijev permanganat. Nastajanje kompleksa kvantitativno se odvija u sulfatno kiselom mediju.

Alkalijski i zemnoalkalijski metali ne interferiraju. 10 puta veće koncentracije Mo(VI) i Cu u odnosu na Cr smetaju [18].

U ovome radu kao ispitna metoda korištena je spektrofotometrija.

## **2.4. Spektrometrija**

Spektrometrija je grana analitičke kemije koja se bavi dobivanjem informacije o kemijskom sastavu i strukturi tvari na temelju energijskih promjena koje se događaju u atomskim jezgrama, atomskom elektronskom omotaču ili u molekulama kao rezultat njihove interakcije s elektromagnetskim zračenjem ili s česticama. Spektrometrija je svaki postupak snimanja spektra, tj. intenziteta izdvojenih dijelova nekog zračenja o ovisnosti o nekom njegovom svojstvu (energiji, valnoj duljini, frekvenciji).

### **2.4.1. Apsorpcijska spektrometrija**

Apsorpcijska spektrometrijska analiza temelji se na sposobnosti atoma, iona i molekula da apsorbiraju zračenje. Količina apsorbiranog zračenja je kvantitativna mjera za koncentraciju apsorbirajuće tvari, dok se energija apsorbiranog zračenja ( $\Delta E$ ) koja određuje prirodu apsorbirajuće tvari može se izraziti matematičkom jednačinom:

$$\Delta E = h \cdot \nu \quad (7)$$

pri čemu je

$h$  – Planckova konstanta koja iznosi  $6,626 \times 10^{-34}$  Js, a

$\nu$  – frekvencija zračenja

Spektrometrijska analiza u užem smislu riječi podrazumijeva apsorpcijsku spektrometrijsku analizu monokromatskim zračenjem u ultraljubičastom (UV) i vidljivom (Vis) području spektra, 190 – 1000 nm. Ispitivanja svih apsorbirajućih tvari (anorganskih i organskih atoma iona i molekula) provode se pretežito u otopinama [14].

Poznato je da pojedine tvari ili nisu obojene ili je intenzitet njihova obojenja slab. U tom slučaju, pri njihovoj analizi, spektrometrijska metoda ne daje zadovoljavajuće rezultate. Da bi se postigao odgovarajući intenzitet boje, koriste se određene kemijske reakcije, koje ispitivanoj tvari daju intenzivno obojenje. To su najčešće ili reakcije kompleksiranja, kada kao rezultat nastaju intenzivno obojeni kompleksi ili reakcije oksido

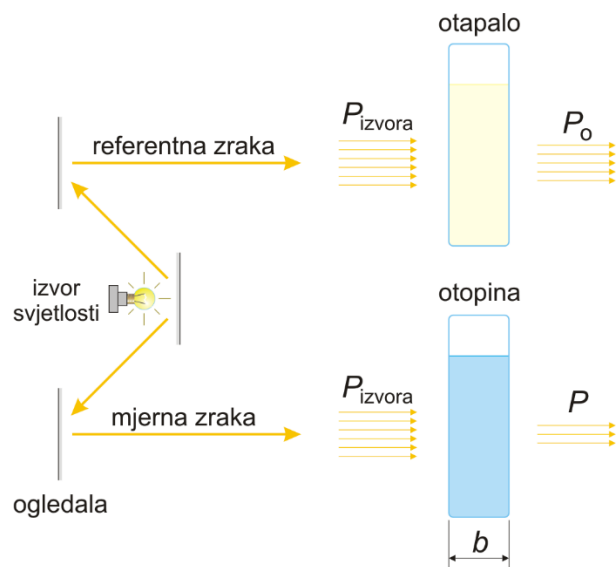
– redukcije, pri kojima se stvara oblik s jako izraženim apsorbirajućim svojstvima. Dakle, adsorpcijska spektrometrija temelji na fizikalnom fenomenu apsorpcije svjetlosti, ali dio njene primjene pripada kemijskim reakcijama, prije svega reakcijama kompleksiranja.

Osnovni princip spektrometrijske metode o temelje se na Lambert - Beerovom zakonu, zakon koji kaže da je apsorbancija monokromatskoga elektromagnetskog zračenja u homogenome izotropnom mediju proporcionalna duljini optičkoga puta i množinskoj koncentraciji otopljene tvari ili u plinovitoj fazi parcijalnomu tlaku tvari koja apsorbira. Proučavajući apsorpciju svjetlosti u obojenim otopinama, A. Beer je došao do zakonitosti da promjena intenziteta pri prolasku kroz obojenu otopinu ovisi o debljini sloja obojene otopine i koncentraciji ispitivane tvari [14,15].

Beerov zakon opisuje apsorpciju monokromatskog i paralelnog upadnog snopa zračenja u homogenoj sredini, sl.3. Ako se intenzitet upadnog zračenja označi sa  $I_0$ , intenzitet propuštenog zračenja sa  $I_b$ , debljinu sloja koji apsorbira sa  $b$  i koncentraciju molekula koja apsorbiraju sa  $c$ , onda matematički izraz Beerovog zakona glasi:

$$I_b = I_0 \cdot 10^{-\epsilon bc} \quad (8)$$

pri čemu je  $\epsilon$  molarni apsorpcijski koeficijent ( $\text{m}^2 \text{mol}^{-1}$ ).



Sl. 4 Smanjenje intenziteta zračenja nakon prolaska kroz otopinu koja apsorbira [16]

Odnos intenziteta izlaznog ( $I_b$ ) i ulaznog ( $I_0$ ) zračenja naziva se transparentija  $T$  i ona se često izračunava u postocima:

$$T = \frac{I_b}{I_0} \cdot 100\% \quad (9)$$

Negativni logaritam transparentije naziva se apsorbanacija  $A$  (ekstinkcija):

$$A = -\log T \quad (10)$$

Beerov zakon izražava linearnu ovisnost između apsorbanacije i koncentracije molekula koje apsorbiraju u otopini, a nizom transformacija prethodnih jednadžbi dobiva se pojednostavljeni izraz Beerovog zakona:

$$A = \varepsilon \cdot b \cdot c \quad (11)$$

Molarni apsorpcijski koeficijent karakterizira vjerojatnost da čestica apsorbira upadni kvant zračenja.

Prema Beerovom zakonu dijagram ovisnosti apsorbanacije o množinskoj koncentraciji trebao bi biti pravac s nagibom  $\varepsilon \cdot b$  koji prolazi ishodištem. Odstupanje od Beerovog zakona nastaje zbog toga što nisu uvijek ispunjeni uvjeti pod kojima on vrijedi, tj. da apsorpcija bude jedini mehanizam interakcije elektromagnetskog zračenja i analita, da se primjenjuje monokromatsko zračenje, da otopljene apsorbirajuće kemijske vrste djeluju jedna o drugu neovisno te da apsorpcija bude ograničena na uzorak jednolika presjeka [14].

#### 2.4.2. Baždarni dijagrami

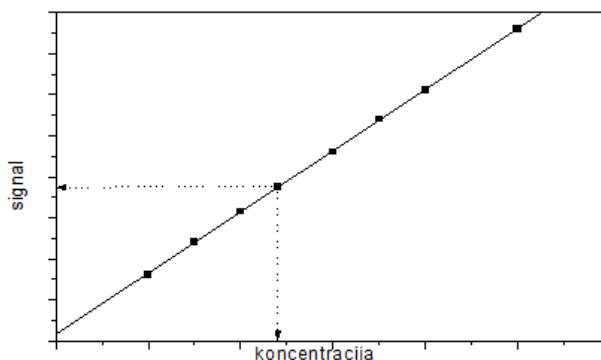
Baždarni dijagram predstavlja prikaz ovisnosti niza, najčešće, rastućih koncentracija analita o odzivu analitičkog instrumenta. Izrađuje se na način da se ispitivanoj tvari poznatih koncentracija mjeri npr. apsorbanacija pogodnim analitičkim instrumentom pod istim uvjetima kao što se mjeri i nepoznata količina analita u nekom uzorku. Na temelju prikupljenih podataka izradi se baždarni pravac iz kojeg se može očitati koncentracija analita na temelju izmjerene apsorbanacije, Slika 5. Druga je mogućnost da se koncentracija izračuna iz jednadžbe pravca, najčešće dobivene računalnim programom. Jednadžba baždarnog pravca može se prikazati jednadžbom pravca.

$$y = a + bx \quad (12)$$

pri čemu je,

$b$  – nagib pravca,  $a$

$a$  – odsječak na osi  $y$  [17].



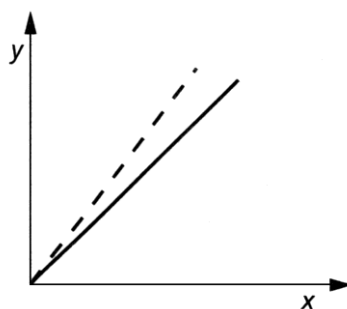
Sl. 5 Baždarni pravac

### 2.4.3. Učinak matice (*matrix effect*)

Na analitičku kalibraciju uvijek utječe i matica, koja osim analita sadrži i brojne druge sastojke koji na različite načine mogu utjecati na dobiveni rezultat.

Mogući utjecaji na određivanje analita su:

a) *Učinak matice*, pri čemu se mijenja osjetljivost senzora kojim se dobiva analitički signal, što rezultira promjenom nagiba kalibracijske krivulje;

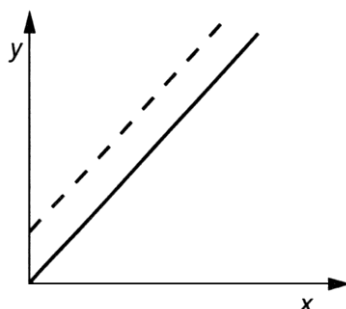


Sl. 6 Učinak matice

b) *Učinak interferencija*, pri čemu neki sastojci matice sudjeluju u odzivu senzora, ali ne utječu na osjetljivost.

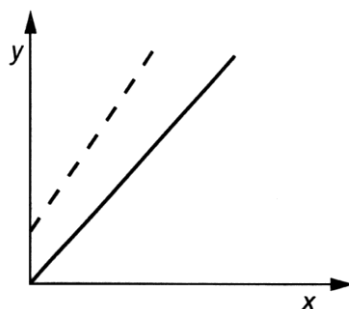
Prema IUPAC-u, interferencije se u analitičkom postupku definiraju kao uzrok predodređene sustavne pogreške analitičkog rezultata.

Taj se učinak često susreće u spektrofotometriji ako se pri istoj valnoj duljini mjeri željeni i neželjeni sastojak, pa je konačni odziv (apsorbancija) jednak zbroju pojedinačnih odziva analita i interferencije.



Sl. 7 Učinak interferencija

c) Zajedničko djelovanje matice i interferencija, što je najsloženiji slučaj.

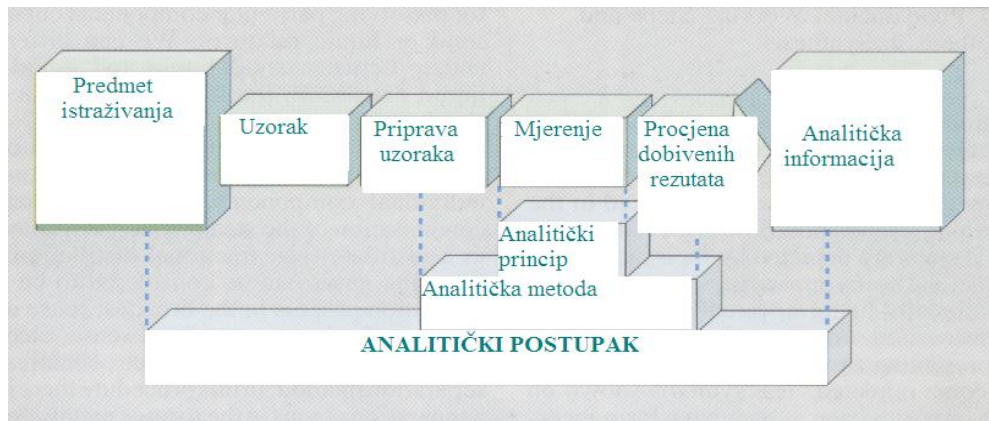


Sl. 8 Zajednički utjecaj matice i interferencija na određivanje analita

Treba naglasiti važnost prepoznavanja utjecaja matice i interferencija na točnost određivanja analita. Što je manja vjerojatnost da će sastojci matice ili interferencije poremetiti analitički postupak, to će kvaliteta postignutih rezultata biti bolja.

## 2.5. Analitički sustav

Suvremeni razvoj tehnologije i drugih područja (medicine, ekologije) ostavlja nove i teže zahtjeve u području analitičke kemije. Glavna značajka novog postupka je sagledavanje cjeline analitičkog postupka, čime se podrazumijeva da on *započinje od glavne mase o kojoj se traži informacija, a ne od tzv. laboratorijskog uzorka*. Rezultat svake analize izravno je ovisan o mjerenju. Mjerenje je samo jedan od koraka koji vodi pravom rezultatu. Analitički mjerni sustav se može prikazati kao na Slici 9.



Sl. 9 Analitički postupak [15]

Analitički postupak se sastoji od slijedećih koraka:

1. Predmet istraživanja (okolišni uzorci; voda, zrak, tlo, otpad, tekstil, koža...)
2. Uzorkovanje i uzorak
3. Izbor analitičke metode
4. Priprema uzorka za analizu
  - I. Uklanjanje interferencija (smetnje)
  - II. Priprema otopina, standarda
  - III. Provjera ispravnosti rada uređaja/aparata/mjernih instrumenata
  - IV. Baždarenje (umjeravanje) i
5. Završno mjerenje
6. Izračunavanje rezultata
7. Procjena pouzdanosti rezultata i interpretacija mjernih podataka [19]

### 2.5.1. Priprema uzoraka za analizu

Osim homogenizacije i usitnjavanja uzorka pod pojmom priprava uzorka podrazumijeva se razlaganje uzorka i uklanjanje vode. Kada se analizira plinoviti ili tekući uzorak priprava je jednostavna, uzorak se homogenizira miješanjem i iz njega se uzimaju uzorci. Čvrstom uzorku u analizi pristupa se individualno, kako je on u pravilu reprezentativan, radi što boljeg otapanja najčešće prethodi homogenizacija i usitnjavanje uzorka. Čvrsti uzorci mogu sadržavati vodu, ili vezati na sebe atmosfersku vlagu, stoga prije vaganje je potrebno vodu ukloniti ili odrediti njen udio kako bi ponovljene rezultate analize mogli računati na stalnu masu uzorka.

Voda na čvrstom uzorku naziva se na dva načina:

1. Bitna voda- integralni je dio kristalne ili molekularne strukture neke tvari. Može biti *konstitucijska*- koja se zagrijavanjem postupno gubi ili *kristalna*- prisutna u stehiometrijskom omjeru, npr.  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$
2. Nebitna voda- vezana na uzorak fizikalnim silama, može biti:
  - Adsorbirana voda- fizikalnim silama vezana na površinu materijala
  - Okludirana voda- zarobljena šupljinama unutar koaguliranog koloida ili kristala
  - Sorbirana voda- karakteristična za koloide i kondenzirana u njihovoj unutrašnjosti
  - Čvrsta otopina- voda homogeno dispergirana unutar materijala

#### **2.5.1.1.Određivanje vode u uzorku**

Određivanje vode u uzorku može biti:

- Neizravno- najčešće se primjenjuje gravimetrijska metoda. Sastoji se od vaganja uzorka prije i nakon postupka sušenja te se na temelju dobivenih podataka izračuna gubitak odnosno razlika mase uzorka. Prednost ove metode je jednostavnost a nedostatak hlapljenje drugih sastojaka uzorka pri temperaturi sušenja i nemogućnost definiranja koja voda je izašla.
- Izravno- Pri zagrijavanju voda izlazi iz uzorka i veže se na adsorbens. Izravna mjera udjela vode u uzorku je povećanje mase adsorbensa. Ako se uzorak zagrijava do izlaska ukupne vode, dobiveni podaci su točni. Aparatura za određivanje udjela vode sastoji se od cijevi za spaljivanje u kojoj se nalazi porculanska lađica u kojoj je uzorak. Zrak prolazi kroz osušenu  $\text{H}_2\text{SO}_4$  i struji nad uzorkom. Nastali plinovi prolaze kroz U-cijev sa sredstvom za upijanje vode a istovremeno pomoćna U-cijev sprječava ulazak vlage iz atmosfere. Cijev s adsorbiranom vodom se važe prije i nakon analize.

Metode koje se još koriste za izravno određivanje vodu su titracija Karl-Fischerovom metodom i Penfieldova metoda.

#### **2.5.1.2.Razlaganje čvrstih uzoraka**

Vrlo često u praksi je prisutna velika raznolikost uzoraka, mogu sadržavati samo organske ili anorganske sastojke, a najčešće se susreću uzorci koji sadržavaju kombinaciju oba tipa tvari, kao što su npr. tlo ili voda.



### 2.5.1.2.1. Razlaganje anorganskih čvrstih tvari

Najčešće upotrebljavane analitičke tehnike određivanja anorganskih tvari su: titrimetrija, gravimetrija, spektrofotometrija, spektrofluorometrija, atomska apsorpcijska spektroskopija (AAS), atomska fluorescencijska spektroskopija (AFS). Sve navedene tehnike zahtijevaju prevođenje tvari u topljiv oblik što se postiže otapanjem i taljenjem.

1. Otapanje- bitan je ispravan izbor otapala, idealno je ono otapalo koje osigurava potpuno otapanje, postupak otapanja mora biti brz i siguran, otapalo mora biti zadovoljavajuće čistoće, te ne smije nagrizzati posudu

Veoma je važna čistoća otapala. Tzv. *purum* kemikalije nisu dovoljno čiste za kemijsku analizu, upotrebljavaju se za pranje laboratorijskog posuđa. Oznaka *purissimum* znači da se takve kemikalije mogu koristiti u analizama od kojih se ne zahtijeva visoka preciznost, oznakom *pro analysi* proizvođač jamči sastav i čistoću kemikalija. Najviši stupanj čistoće otapala nosi oznaku *pro chromatographia* i rabi se u analizi tragova.

#### Otapanje anorganskih uzoraka

Može se provesti na tri načina:

- Otapanje u vodenom mediju ili vodi- voda je idealno otapalo ali otapa mali broj tehničkih i prirodnih vrsta materijala (kovine, keramika, stakla, minerali, tlo, pepeo, soli i elektroliti) stoga je njena upotreba ograničena
- Otapanje u razrijeđenim i koncentriranim vrućim kiselinama-
  - ukoliko se uzorak ne može otopiti u vodi, nastoji se otopiti u *razrijeđenim* hladnim ili slabo zagrijanim mineralnim kiselinama, pri čemu dolazi do reakcije kojom nastaje metalna sol topiva u vodi. U reakciji se anion gubi hlapljenjem ( $H_2S$  ili  $CO_2$ ), određuje se udio metala. U razrijeđenim kiselinama otapaju se metali, karbonati i sulfidi, metalni oksidi
  - Nemogućnošću otapanja uzoraka u razrijeđenim kiselinama pristupa se postupku kuhanja uzorka u kiselini i uparavanju kiseline nakon otapanja do suha, ili u čeličnim bombama sa unutarnjim slojem od polimernog materijala ili platine radi otpornosti na kiseline. *Koncentrirane* kiseline se ponašaju kao jake kiseline, daju visoku koncentraciju  $H^+$  iona, zbog visoke koncentracije aniona tvore komplekse, kiseline koje sadrže kisik su jaki oksidansi.

Pojedini uzorci ne otapaju se u pojedinačnim kiselinama, ali mogu se otopiti u njihovoj smjesi pri čemu dolazi do sinergijskog djelovanja svih sastojaka smjese.

Fluoridna kiselina (HF)- je slaba kiselina, nema oksidirajuća svojstva. Tvori stabilne komplekse s metalima, upotrebljava se uglavnom za otapanje silikatnih minerala i stijena. HF u smjesi s drugim kiselinama može otopiti neke teško topljive čelike. Potreban je dodatan oprez u radu s ovom kiselinom jer uzrokuje teške i bolne opekline. Treba napomenuti da otapa i staklo pa treba izbjegavati uporabu staklenog laboratorijskog posuđa.

Koncentrirana solna kiselina (HCl)- izvrsno otapa metale i metalne okside koji se lakše otapaju oksidiraju od vodika. Tvori stabilne komplekse s mnoštvom metala (Ti, Au, Fe, Hg, In, Sn) i otapa većinu borata, karbonata, fosfata, silikata i sulfida.

Vruća koncentrirana dušična kiselina (HNO<sub>3</sub>)- je jak oksidans i otapa sve metale osim plemenitih metala i Cr i Al koji postaju pasivniji zbog nastanka površinskog oksidnog sloja. Antimon, volfram i kositar daju otapanjem u koncentriranoj HNO<sub>3</sub> teško topljive okside i na taj način se mogu odvojiti od ostalih sastojaka.

Fosforna kiselina (H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>)- ima malo značenje u otapanju anorganskih kiselina. Pripada u kategoriju slabih kiselina, nema veliku oksidacijsku moć, a većina nastalih fosfata netopljiva je u vodi. Fosfatni ion može ometati tj. interferirati u nastavku analize, no unatoč svim razlozima, nalazi svoju primjenu u otapanju sulfida, uz gubitak H<sub>2</sub>S, kromita, ferita i silikata, pri čemu metal ostaje u nižem oksidacijskom stanju.

- Otapanje u ostalim otapalima- odnosi se na otapanje aluminija i njegove slitine koncentriranom otopinom NaOH u vodi, pri čemu nastaje topljivi aluminat uz oslobađanje kisika.

#### Taljenje anorganskih čvrstih tvari

Ukoliko se uzorci ne mogu otopiti onda se tale, odnosno razlažu se na vrlo visokoj temperaturi (300-1000 °C) i uz visoku koncentraciju reagensa. Treba napomenuti da zbog visoke temperature postoji velika mogućnost gubitka analita hlapljenjem, a budući kako je potrebna puno veća količina taljiva od količine uzorka, velika je šansa da nastane onečišćenje uzorka nečistoćama iz reagensa. Zbog navedenih razloga najpovoljnije je taliti netopljivi dio a otopiti samo netaljiv dio.

Vrste taljiva mogu biti kisela i bazna taljiva. Postupci taljenja koji se koriste za razlaganje netopivih uzoraka su: razlaganje alkalijskim hidroksidima uz dodatak

oksidansa, taljenje alkalijskim karbonatima i alkalijskim hidroksidima, razlaganje smjesom alkalijskih karbonata i oksidansa itd.

#### **2.5.1.2.2. Razlaganje organskih i bioloških uzoraka**

Provodi se kada je potrebno napraviti elementnu analizu organskih spojeva, pritom se elementi vezani u organskim spojevima prevode u anorganski oblik, tj. u vodenu otopinu a zatim se određuju uobičajenim analitičkim metodama. Metali u organskom spoju prelaze u katione, a nemetali u anione.

Metode razlaganja ovog tipa uzoraka su: oksidacija u cijevi za izgaranje, mokro spaljivanje, suho spaljivanje, spaljivanje u kisikovim bocama te mikrovalno spaljivanje.

Mikrovalno spaljivanje- je postupak mokrog spaljivanja koji se u današnje vrijeme vrlo često primjenjuje. Postupak se provodi u zataljenim teflonskim posudama sa sigurnosnim ispustom za paru, pod visokim tlakom (do 110 bara) u prisustvu mineralnih kiselina. Uređaj se sastoji od mikrovalne peći u unutrašnjosti prekrivene teflonom, ventilatora za uklanjanje para i plinova koji nastaju spaljivanjem te kontrolne ploče. Na kontrolnoj ploči postoji mogućnost podešavanja automatske kontrole tlaka i temperature te ugrađenim programom za izbor programa spaljivanja. Time se može uštediti na količini kiselina i vremenu razlaganje čime se ujedno i štiti okoliš.

#### **2.5.2. Separacija i izolacija analita**

Separacija je važan korak u analitičkom procesu jer u većini slučajeva osim s analitom reagira i s brojnim drugim sastojcima uzorka, što bez dobrog postupka separacija donosi veliku sustavnu pogrešku. Definicija separacije je fizikalni prijenos tvari iz jedna faze (medija) u drugu. Svaka separacija sastoji se od tri važna koraka:

1. Kemijska reakcija analita s reagensom koji ne reagira s interferencijom
2. Razdioba analita između dviju faza koje su u kontaktu, taj korak ovisi o afinitetu analita ili njegovo kemijskog oblika prema jednoj ili drugoj fazi
3. Fizikalno-mehaničko razdvajanje faza, npr. filtriranje, destilacija, odvajanje lijevkom za odjeljivanje i sl.

Separacijske tehnike koje se primjenjuju su: odvajanje analita od interferencije. Prijenos analita u pogodan medij, koncentriranje tragova analita ili neselektivna separacija, izolacija analita u čistom obliku, identifikacija, neizravna analiza, pojednostavnjenje matice.

### 2.5.2.1. Kvantitativnost separacije

Separacijski faktor  $\alpha$  je koristan parametar u separaciji dviju tvari. Izražava se kao omjer razdiobe u ravnoteži ili omjer koeficijenata razdiobe:

$$\alpha = \frac{K_{D1}}{K_{D2}} \quad (13)$$

$$\alpha = \frac{D_1}{D_2} \quad (14)$$

Separacijski faktor primjenjuje se u kromatografiji i ekstrakciji. Kod diskontinuirane ekstrakcije za kvantitativnu separaciju vrijednost  $\alpha$  često je veoma visoka ( $\geq 10\ 000$ ), postiže se kemijskom konverzijom. U kromatografiji su te vrijednosti veće od 1 a dok je  $\alpha=1$  nema separacije jer je  $D_1=D_2$ .

Koeficijent razdiobe  $K_D$ - konstanta ravnoteže- razdioba između dviju faza je ravnotežni proces koji je jednak omjeru koncentracija tvari u obje faze dok je sustav u ravnoteži:

$$K_D = \frac{c(A) \text{ u fazi 1}}{c(A) \text{ u fazi 2}} \text{ u ravnoteži} \quad (15)$$

Ima čestu upotrebu pri ekstrakciji, adsorpciji, ionskoj izmjeni i svim vrstama kromatografije. Kada se provode taložne tehnike koeficijent razdiobe označava se kao konstanta produkta topljivosti  $K_{pt}$ . Kada je sustav u ravnoteži brzine prijelaza iz jedne faze u drugu su stalne i brze.

Omjer razdiobe  $D$  je omjer koncentracije u svim njezinim oblicima u obje faze koje su u ravnoteži:

$$D = \frac{c(A) \text{ u svim kemijskim oblicima u fazi 1}}{c(A) \text{ u svim kemijskim oblicima u fazi 2}} \text{ u ravnoteži} \quad (16)$$

Analitičara zanima ukupna količina ekstrahirane tvari bez obzira na oblik vrste, što se iskazuje izrazom za omjer razdiobe. Koeficijent razdiobe ovisi o samo jednoj ionskoj vrsti a omjer razdiobe o pH- vrijednosti. Vrlo je visok kada je riječ o koncentriranju analita ( $\geq 1000$ ), u kromatografiji je značajno niži (0,1–1).

Prednosti suvremene pripreme uzoraka temelje se na dva osnovna principa:

- mikrovalno zagrijavanje
- digestija uzoraka u zatvorenom sustavu [20]

### 2.5.2.2. Usporedba zatvorene i otvorene digestije uzoraka

Otvoreni konvencionalni sustav digestije uzoraka pokazuje nekoliko prednosti ali i nedostataka:

Prednosti otvorenog sustava:

- Jednostavna oprema i lako rukovanje
- Niski troškovi investiranja zbog sustava složenih tehnologija
- Visoka propusnost uzorka
- Velika težina uzorka- bilo koji plinoviti produkti razgradnje otpuštaju se bez ikakvog stvaranja tlaka

Nedostaci:

- Povećan rizik od kontaminacije (čestice u zraku)
- Veća potrošnja uzoraka- važan čimbenik cijena koštanja
- Velika količina reagensa- isparavanje reagensa zahtijeva nadopunu kiselina
- Rizik od gubitaka uzorka pri isparavanju
- Ograničena temperatura- ovisi o kombinaciji reagensa
- Dulje vrijeme digestije- obzirom na ograničenu temperaturu

Temperatura je ključan faktor za poboljšanje tehnike pripreme uzoraka. Povećanje temperature značajno smanjuje vrijeme potrebno za kompletnu digestiju prema pravilu:

**"Povećanje temperature za 10° C udvostručuje brzinu reakcije."**

Maksimalna temperatura u otvorenom sustavu ovisi o kombinaciji reagensa, npr. 120-130° C za koncentriranu dušičnu kiselinu. Mogu se dodati reagensi visokog vrelišta kako bi se postigla što viša temperatura no dodatak takvih reagensa može utjecati na naknadnu analizu.

Digestijom uzoraka u zatvorenom sustavu, temperatura reakcije može doseći točku vrelišta. Stoga temperatura može biti ograničena i djelovanjem tlaka i/ili temperature u upotrijebljenom tipu kivete za digestiju. Posljedica toga je da se i reagensi nižeg vrelišta mogu se upotrijebiti pri višim temperaturama u zatvorenom sustavu.

## Digestija u zatvorenom sustavu

### Prednosti:

- Kompletna digestija- minimalna smetnje analize
- Potrebna je minimalna količina reagensa
- Visoka temperatura reakcije - brza metoda
- Nema potrebe za dodatkom reagensa visokog vrelišta
- Nema gubitka analita
- Minimalni rizik od kontaminacije
- Ponovljivost
- Dokumentacija

### Nedostaci:

- Potreba za kivetama otpornima na tlak
- Dodatak reagensa tijekom procesa nije moguć- potrebna procedura od dva koraka (obrada i hlađenje)
- Procedura u dva stupnja zahtijeva više vremena
- Viši troškovi investiranja

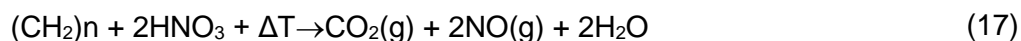
#### **2.5.2.2.1. Tehnologija ventiliranja aktivirana tlakom**

Pri višem tlaku tehnologija ventiliranja aktivirana tlakom omogućava veću temperaturu reakcije nego što omogućavaju kivete zatvorenog tipa uslijed oslobađanja reakcijskih plinova. Upotreba tlakom aktiviranog ventiliranja kiveta predstavlja određene kompromise između zatvorenog i otvorenog tipa kiveta za digestiju, odnosno kombinira prednosti oba tipa digestije.

Uzimajući u obzir kemijske reakcije koje se odvijaju tijekom digestije organskih materijala, treba imati na umu da u takvim reakcijama nastaje mnogo plinovitih produkata razgradnje koji doprinose upravo visokom tlaku unutar zatvorene kivete.

Hermetički zatvorena reakcijska kiveta zahtijeva mjerenje tlaka i praćenje snage mikrovalova kako bi se spriječio nadtlak i puknuće kivete. Osim toga kontrola tlaka uvjetuje i snagu mikrovalova. Kada je jednom postignut određeni tlak, ograničiti će se i temperatura. Iz toga proizlazi da veća količina uzorka rezultira manjom temperaturom digestije [20].

Tipična reakcijska jednadžba:



[uzorak + kiselina + toplina → plinoviti produkti]

Više uzorka = Više plinovitih produkata = Viši tlak

Sustav kontrole tlaka:

- Temperatura reakcije ovisi o težini uzorka - veća težina uzorka niža temperatura i obrnuto
- Kontrolom tlaka prati se snaga mikrovalova

Tlakom aktivirano ventiliranje omogućava otpuštanje suvišnog tlaka čime se može održavati razina potrebne temperature a samim time se povećava kvaliteta digestije uzorka.

Tab. 11 Reagensi za organske uzorke: 1-4 tipični za metodu sa zatvorenim kivetama, 5,6 za metodu otvorenih kivetama [21]

	HNO <sub>3</sub>	HCl	H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	HClO <sub>4</sub>	H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	Napomena
1	✓					Formiranje topivih nitrata
2	✓				✓	Redukcija jačine kiseline
3	✓	✓				Kompleksiranje analita
4	✓		✓*	✓*		Povećanje oksidacijskog potencijala
5			✓		✓	Pougljenje i oksidacija
6	✓		✓	✓		Zahtijeva kontrolu temperature

Tab. 12 Reagensi za anorganske uzorke [21]

	HNO <sub>3</sub>	HCl	HF	H <sub>3</sub> PO <sub>4</sub>	H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	HClO <sub>4</sub>
Metali, legure	✓	✓				✓*
Dragocjeni metali	✓	✓				
Oksidi	✓	✓			✓*	
Rude	✓	✓	✓			✓
Refraktorni materijali			✓	✓	✓	
Tlo, sedimenti	✓	✓	✓*			✓*

Napomena:

✓ - prihvatljivo

✓\* - djelomično prihvatljivo, ovisno o vrsti uzorka [21]

### 2.5.2.3. Ekstrakcija

Pod nazivom ekstrakcija podrazumijeva se ekstrakcija tekuće-tekuće, a posljednjih godina sve se više primjenjuje i ekstrakcija iz čvrste faze.

U kemijskoj analizi ekstrakcija se vrši iz više razloga:

- Koncentriranje tragova analita kako bi se odredila granica određivanja- analit se ekstrahira iz velikog volumena u manji volumen, analit se jednom ekstrakcijom može koncentrirati 20 do 50 puta, ovaj postupak primjenjuje se za koncentriranje anorganskih i organskih spojeva
- Selektivna ekstrakcija- postupak odvajanja interferencije ili analita iz matice, najčešća primjena je za analize metala, pri čemu se ekstrahiraju kao metalni kompleksi
- Priprava netopljivih u vodi obojenih metalnih kompleksa radi određivanja na spektrofotometru
- Preliminarno čišćenje bioloških kompleksnih uzoraka

Ekstrakcija tekuće-tekuće je česta i značajna separacijska tehnika za velik raspon analita, sastoji se od sljedećih koraka:

1. Priprava otopine uzorka u odgovarajućem otapalu
2. Kemijskim reakcijama- kompleksiranjem i podešavanjem pH uspostavi se maksimalna razlika u topljivosti između dviju faza i doda se drugo otapalo kako bi se dobio dvofazni sustav
3. Miješanje do uspostavljanja ravnoteže u zatvorenom spremniku do uspostave ravnoteže (npr. lijevak za odjeljivanje)
4. Razdvajanje faza

Jedna skupina otopljenih tvari trebala bi se otapati u jednom, a druga u drugom otapalu te bi došlo do njihovog kvantitativnog razdvajanja. Većinom je jedna faza vodena, najčešće pufer, čista voda, elektrolit, kompleksirajući ion dok je drugo otapalo organsko i slabo se miješa s vodom, i dobiva se dvofazni sustav. Organsko otapalo je najčešće toluen, ksilen, benzen, diklormetan, eter, ugljikov tetraklorid, keton ili alkohol viših molekularnih masa. Kako su takva organska otapala štetna za okoliš i zdravlje čovjeka ekstrakciju je potrebno provoditi oprezno uz maksimalnu zaštitu.

Kada se kompleksne smjese razdvajaju na pojedine komponente, jednokratna ekstrakcija nije dovoljno efikasna stoga se primjenjuje se višekratna ili kromatografska separacija.



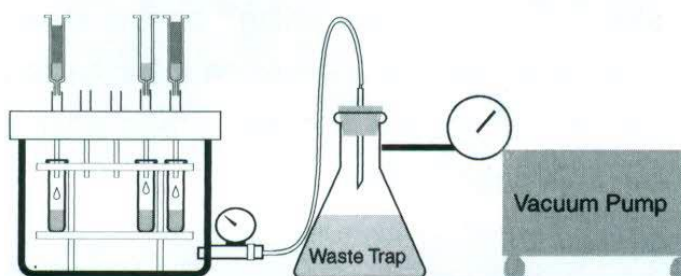
Separacijske tehnike ekstrakcije tekuće-tekuće mogu biti:

- Ekstrakcija neutralnih kelatnih kompleksa
- Ekstrakcija metalnih iona
- Ekstrakcija ionskih parova

Ekstrakcija čvrsto-tekuće koristi se u analitičke svrhe u pripravi koncentriranju i izoliranju analita za kromatografsku analizu. Primjenjuju se dvije vrste postupka ekstrakcije iz čvrste faze:

#### 1. Ekstrakcija na čvrstim nosačima (SPE)

U posljednjih deset godina ova metoda sve više istiskuje ekstrakciju tekuće-tekuće iz upotrebe zbog manjeg utroška štetnih otapala i veće brzine, najviše u području uklanjanja interferencija i koncentriranju tragova analita. Veliki volumen uzorka propušta se kroz reaktivni sorbens koji je smješten u diskovima ili mikrokolonama a pritom se analit koncentrira na aktivnoj površini sorbensa i eluira manjim volumenom pogodnog otapala. Postoje dvije vrste punjenja kolona- dijatomejskom zemljom (za primjenu klasične ekstrakcije tekuće-tekuće u lijevcima za odjeljivanje), drugi tip je kolona ispunjena čvrstim sorbensom načinjenim od polimernog materijala ili silikagela te služi za ekstrakciju čvrsto-tekuće. Najčešći sorbens je modificirani silikagel jer je pogodan za različite vrste uzoraka zbog svoje visoke stabilnosti. Sorbensi na bazi polimernog materijala se sve više primjenjuju posljednjih nekoliko godina jer omogućuju širok spektar selektivne ekstrakcije. Sama ekstrakcija vrši se u četiri koraka: kondicioniranje –solvatacija sorbensa, retencija- vezanje analita na površinu sorbensa, propuštanje neželjenih sastojaka uzorka i eluiranje analita. Učinak ovisi o ionskoj jakosti, pH vrijednosti, polarnosti otapala kojim se eluira analit, brzini protoka i fizikalno-kemijskim svojstvima sorbensa. Može se i ubrzati protok ekstrakcije stoga se ona može provoditi uz vakuum ili centrifugiranje i povišeni tlak [20].



Sl. 10 Shematski prikaz uređaja za ekstrakciju čvrste faze (SPE)[20]

#### 2. Ekstrakcija fluidom u superkritičnim uvjetima (SFE)

Pri višim tlakovima i temperaturama kritični fluidi mogu kroz čvrstu fazu prolaziti poput plinova, a analit otapaju kao otapala. Najčešće se rabi ugljikov dioksid (1-10%-tni) uz organski modifikator npr. metanol. Ova metoda primjenjuje se za ekstrakciju organskih i anorganskih analita iz složenijih uzoraka poput hrane.

### 3. EKSPERIMENTALNI DIO

#### 3.1. Pribor i kemikalije

##### 3.1.1. Pribor

- Staklene čaše 50 ml, 100 ml, 200 ml 500 ml
- Odmjerne tikvice od 25 ml, 50 ml, 100 ml, 1000 ml
- Trbušaste pipete 1 ml, 2 ml, 5ml, 10 ml, 25 ml
- Graduirane pipete 1 ml
- Menzura od 100 ml
- Eksikator
- Lijevak
- Stakleni štapići
- Gumena propipeta
- Kapaljke
- Petrijeva zdjelica
- pH papir
- Metalna žlica
- Rotor za mikrovalnu peć 8 SXF 100
- mikrokolone za ekstrakciju na čvrstim nosačima, Strata C18-E (55  $\mu$ m, 70A; 1000 mg/ 6 mL, Phenomenex) Kemikalije
- $\text{CaCl}_2$  – Kemika
- $\text{NH}_4\text{Cl}$  – Kemika
- $\text{NaCl}$  – Carlo Erba
- $\text{KCl}$  – Kemika
- $\text{NaH}_2\text{PO}_4 + \text{H}_2\text{O}$  – Kemika
- $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$  – Kemika
- 1,5 – difenilkarbazid (Kemika)
- $\text{K}_2\text{HPO}_4$  – Kemika
- $(\text{NH}_4)_2\text{CO}_3$  – Kemika
- Aceton – Grammol
- $\text{CH}_3\text{COOH}$  – Carlo Erba
- $\text{H}_3\text{PO}_4$  – Kemika
- $\text{HNO}_3$  – Kemika
- $\text{HCl}$  – Grammol
- $\text{H}_2\text{O}_2$  – Grammol
- $\text{HF}$  – VWR Chemicals
- Standardne puferske otopine:

- pH(1)= 4,01 – MettlerToledo
- pH(2)= 7,00 – MettlerToledo

Sve kemikalije upotrijebljene za eksperimentalni dio su p.a. čistoće.

### **3.1.2. Uzorci kože**

Za izradu ovoga diplomskog rada, pet uzoraka kože donirani su od tvrtke Euroinspekt Eurotextil d.o.o. Dva uzorka su iz vlastite zbirke uzoraka.

### **3.1.3. Mjerni i ostali uređaji**

- UV/VIS spektrofotometar – Lambda 20, PerkinElmer
- Analitička vaga – MettlerToledo, AB 204DR
- pH metar – Schott, CG 842
- Peć za mikrovalnu digestiju Multiwave 3000, Anton Paar
- Termostatirana miješalica Heidolph 1010 + Heidolph inkubator 1000
- Uređaj za ekstrakciju čvrstom fazom, Phenomenex
- Mlin za usitnjavanje kože, EuroinspektEurotextil d.o.o.

#### **3.1.3.1. UV/Vis spektrofotometar Lambda 20, PerkinElmer**

Spektrofotometar Lambda 20, Perkin Elmer je dvozračni spektrofotometar s monokromatorom optičkom refleksijskom mrežicom. Mjerno područje ovoga spektrofotometra je od 190 – 1100 nm. Posjeduje dva izvora zračenja – halogeni za vidljiv dio spektra i deuterijski za ultraljubičasti dio spektra a kao detektor služi fotodioda.

Uvjeti mjerenja:

- Početna valna duljina: 350 nm
- Konačna valna duljina: 650 nm
- Veličina pukotine: 2 nm
- Brzina: 250 nm/min
- Kiveta (radna i referentna): 1,00 cm - staklena

Izrada baždarne krivulje i određivanje nepoznate koncentracije kroma u ekstraktima kože

- Valna duljina apsorpcijskog maksimuma: 540 nm
- Veličina pukotine: 2 nm
- Brzina: 250 nm/min
- Kiveta (radna i referentna): 1,00 cm - staklena

### 3.1.3.2. Analitička vaga Mettler Toledo AB204-S



Sl. 11 Analitička vaga

### 3.1.3.3. pH-metar

Standardne puferne otopine su sljedive prema certificiranim međunarodnim standardima (NIST).

Svaki puta prije nego što se pristupa radu s pH-metrom potrebno je provjeriti njegovu ispravnost u dva koraka:

- Provjera voda pH-metra sa standardnom pufernom otopinom 3x, pri čemu je dozvoljeno odstupanje  $\pm 0,03$
- Interna kalibracija pH metra – sa standardnim pufernim otopinama pH=4,01 i pH=7,00, pri čemu je poželjan raspon nagiba pravca -56,0 do -61,0 mV/pH, a koeficijent asimetrije  $\pm 20$  mV



Sl. 12 pH – metar sa pripadajućom elektrodom

### 3.1.3.4. Peć za mikrovalnu digestiju Multiwave 3000, Anton Paar



Sl. 13 Peć za mikrovalnu digestiju Multiwave 3000, Anton Paar

### 3.1.3.5. Termostatorana miješalica Heidolph 1010 + Heidolph inkubator 1000



Sl. 14 Termostatorana miješalica sa uzorcima

### 3.1.3.6. Uređaj za ekstrakciju čvrstom fazom

Ovaj uređaj za ekstrakciju sa čvrstim nosačima (ili uređaj za ekstrakciju čvrstom fazom –Solid Phase Extraction - SPE) posjeduje 12 mjesta. Namijenjen je filtraciji uzoraka ili pak ekstrakciji uzoraka sa čvrstim nosačima pod vakuumom. Sastoji se od staklene komore i poklopca koji dobro pirjanja (brtvi) kako bi se osigurao jednoličan protok kroz SPE nosače ili filtracijski medij u vakuum uvjetima. Na poklopcu se nalaze priključci te sigurnosni ventili, kojima se podešava protok. Upotrebom podesivih nosača, prilagođava se način i volumen laboratorijskog posuđa u koje se sakuplja ekstrakt ili filtrat. Preporuča se postaviti vakuum tikvicu između uređaja i vakuum pumpe iz sigurnosnih razloga.



Sl. 15 Uređaj za ekstrakciju čvrstom fazom

### 3.1.3.7. Mlin za usitnjavanje kože



Sl. 16 Mlin za usitnjavanje kože

Uzorci kože usitnjeni su u prikazanom mlinu sukladno normi HRN EN ISO 2418 (ISO 2418:2017; EN ISO 2418:2017) [22]. Mjesto uzorkovanja je bilo u Laboratoriju za ispitivanje tekstila, kože, obuće i zaštitne opreme tvrtke Euroinspekt Eurotextil d.o.o.

### **3.2. Priprema otopina**

#### **3.2.1. Ekstrakcijska otopina 1, pH = 8,00**

Otopiti 17,42g dikalijevog hidrogenfosfata,  $K_2HPO_4 \cdot 3H_2O$  u 1000 ml vode, s pH vrijednosti otopine podešenim na  $8,0 \pm 0,1$  sa fosfornom kiselinom.

Uobičajena praksa je napraviti svježu otopinu svaki dan. Međutim, otopina se može čuvati u hladnjaku na  $(4 \pm 3)^\circ C$ , ali treba biti ugrišana na sobnu temperaturu i odaerirana za upotrebu ili obrađena na ultrazvučnoj kupelji.

#### **3.2.2. Ekstrakcijska otopina 2, pH = 9,00**

Otopina umjetnog znoja sadrži po litri otopine :

- 10 g natrij-klorida NaCl
- 6 g amonij-karbonata  $(NH_4)_2CO_3$
- 2 g kalij- hidrogenfosfata  $K_2HPO_4$

Destiliranom vodom nadopuni se čaša do zadanog volumena (1000 ml). Prije nadopunjavanja, pH vrijednost otopine se podesi prema potrebi s otopinama  $NH_4OH$  ili  $H_3PO_4$ .

#### **3.2.3. Priprema otopine reagensa difenilkarbazida (DPK)**

Otopiti 1,0 g 1,5-difenilkarbazida,  $CO(NHNHC_6H_5)_2$  u 100 ml acetona,  $(CH_3)_2CO$  i zakiseliti jednom kapi ledene octene kiseline,  $CH_3COOH$ .

Otopina se treba čuvati u smeđoj, staklenoj boci, a rok upotrebe je 14 dana na  $4^\circ C$ .

#### **3.2.4. Priprema otopine fosforne kiseline**

Otopina o-fosforne kiseline, priređena je razrjeđenjem 700 ml koncentrirane kiseline,  $\rho = 1,71 \text{ g/cm}^3$  do 1000 ml sa destiliranom vodom.

Prvo se doda približno 200 ml deionizirane vode u volumetrijsku tikvicu od 1000 ml, zatim dodati 700 ml o- fosforne kiseline i razrijediti do oznake sa destiliranom vodom.

#### **3.2.5. Priprema temeljne standardne otopine kroma – 1g/l**

Otopiti 2, 829g kalijevog dikromata ( $K_2Cr_2O_7$ ) u destiliranoj vodi u volumetrijskoj tikvici od 1000 ml i dopuniti je do oznake (do 1000 ml) sa vodom.



Jedan mililitar ove otopine sadrži 1 mg kroma. Otopina ove koncentracije, razine šesterovalentnog kroma je alternativa komercijalnoj otopini.

### **3.2.6. Priprema radne standardne otopine kroma- 1 mg/L (ppm)**

Otpipetirati 1 ml temeljne standardne otopine kroma (VI) (3.2.5.) u volumetrijsku tikvicu od 1000 ml i dopuniti je do oznake sa ekstrakcijskom otopinom.

1 ml ove otopine sadrži 1 µg kroma.

Otopina se može čuvati u hladnjaku na  $(4 \pm 3)^\circ\text{C}$ , ali treba biti ugrišana na sobnu temperaturu prije upotrebe.

### **3.2.7. Priprema radne standardne otopine kroma- 5 mg/l (ppm)**

Otpipetirati 5 ml temeljne standardne otopine kroma (VI) u volumetrijsku tikvicu od 1000 ml i dopuniti je do oznake sa ekstrakcijskom otopinom.

1 ml ove otopine sadrži 5 µg kroma.

### **3.2.8. Argon ili dušik, bez kisika – plinovi za otplinjavanje**

Prema potrebi se provodi propuhivanje uzoraka argonom ili dušikom. Prednost se daje argonu kao inertnom plinu jer za razliku od dušika, argon ima veću specifičnu težinu od zraka. Moguća je i obrada na ultrazvučnoj kupelji.

### **3.2.9. Destilirana ili deionizirana voda**

Voda koja se koristi treba biti tipa 3, specificiranoga u normi ISO 3696.

### **3.2.10. Kalijev dikromat ( $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ ) i metanol**

Sušen  $(16 \pm 2)$ h na  $(102 \pm 2)^\circ\text{C}$ , metanol-HPLC čistoće.

## **3.3. Postupak**

### **3.3.1. Priprema uzoraka kože**

Koža je pripremljena, odnosno usitnjena u mlinu za usitnjavanje (Slika 16.) prema metodi specificiranoj u normi HRN EN ISO 2418 (ISO 2418:2017; EN ISO 2418:2017).

### **3.3.2. Priprema analitičkog sustava za ekstrakciju uzoraka kože**

Izvagati približno  $(2 \pm 0,1)$  g usitnjene kože.

Otpipetirati 100 ml otopine 3.2.1. ili 3.2.2. u konusnu tikvicu od 250 ml. Dodati uzorke kože i zatvoriti tikvicu s čepom. Zabilježiti volumen ekstrakta kao  $V_0$ . Zatim se konusna tikvica sa uzorcima kože stavi na miješanje  $3\text{h} \pm 5\text{ min}$  na mehaničku orbitalnu miješalicu (slika 10.) na  $(100 \pm 10)\text{ min}^{-1}$  kako bi se ekstrahirao krom (VI).

Miješati tikvicu kružnim pokretima kako bi se spriječila adhezija komadića uzoraka kože na stjenke tikvice. Stoga se preporuča izbjegavanje bržeg miješanja tikvice od specificiranog.

Odmah nakon završetka 3h ekstrakcije, filtrirati sadržaj u konusnu tikvicu kroz membranski filter u staklenu ili plastičnu posudu s poklopcem. Zatim se provjerava pH otopine, koji mora biti između 7,0 i 8,0. Ako pH otopine nije u tom rangu potrebno je ponoviti proceduru a također se može uzeti u obzir uzimanje manje mase uzorka, čime se povećava granica kvantifikacije.

### **3.3.3. Utvrđivanje kroma (VI) u otopini dobivenoj postupkom ekstrakcije**

Ako je uzorak kože obojen, vjerojatno će se obojene tvari, npr. bojilo, koekstrahirati. To može utjecati na detekciju kroma (VI). Ekstrahirana bojila mogu biti uklonjena propuštanjem ekstrakcijske otopine (3.2.1. ili 3.2.2.) kroz patrone koje sadrže odgovarajući materijal za ekstrakciju čvrstom fazom.

Prethodno treba obraditi SPE patrone na sljedeći način:

- a) Prvo isprati patrone sa 5 ml metanola
- b) Zatim isprati sa 5 ml destilirane vode i
- c) Odmah nakon sa 10 ml ekstrakcijske otopine

Patrone nije potrebno sušiti tijekom ili nakon predobrade.

Uzeti 10 ml ( $V_1$ ) od dobivene otopine i kvantitativno prenijeti kroz patrone na SPE sustavu sa vakuum uređajem ili štrcaljkama. Prikupiti dobivenu otopinu u volumetrijsku tikvicu od 25 ml. Isprati patrone sa 10 ml ekstrakcijske otopine u tikvicu od 25 ml. Napuniti tikvicu do volumena ( $V_2$ ) tj. do oznake sa ekstrakcijskom otopinom. Označiti otopinu sa  $S_1$ .

Otpipetirati 10 ml ( $V_3$ ) od otopine  $S_1$  u volumetrijsku tikvicu od 25 ml. Razrijediti otopinu sa  $\frac{3}{4}$  volumena tikvice sa ekstrakcijskom otopinom. Dodati 0,5 ml otopine fosforne kiseline i zatim 0,5 ml otopine difenilkarbazida. Napuniti tikvicu do volumena ( $V_4$ ) sa ekstrakcijskom otopinom i dobro promiješati. Zatim otopinu označiti sa  $S_2$ .

Ostaviti odstajati barem  $15 \pm 5$  min. Izmjeriti apsorbanciju otopine na 540 nm u usporedbi sa otopinom slijepe probe, te zabilježiti dobivenu apsorbanciju sa  $A_1$ .

Za svaki uzorak, otpipetirati novih 10 ml alikvota otopine  $S_1$  u volumetrijsku tikvicu od 25 ml i postupiti kao što je gore napisano, ali bez dodataka otopine difenilkarbazida. Također izmjeriti apsorbanciju i za ovu otopinu, i označiti sa  $A_2$ .

### 3.3.4. Otopina slijepe probe standarda

Napunite odmjernu tikvicu od 25 ml do  $\frac{3}{4}$  sa ekstrakcijskom otopinom, dodati 0,5 ml fosforne kiseline i 0,5 ml otopine difenilkarbazida te napuniti do oznake sa ekstrakcijskom otopinom, i dobro promiješati. Otopinu treba pripremiti na dnevnoj bazi i pohraniti ju na tamnom mjestu. Tretirati otopinu na isti način kao i analitičku otopinu, izuzimajući ekstrakciju čvrstom fazom.

### 3.3.5. Izračun sadržaja kroma VI

$$w_{Cr(VI)} = \frac{(A_1 - A_2) \times V_0 \times V_4 \times V_2}{V_1 \times V_3 \times m \times F} \quad (18)$$

gdje je

$w_{Cr(VI)}$  maseni udio kroma (VI), izražen u miligramima po kilogramu (mg/kg), od ekstrahiranog kroma VI u koži;

$A_1$  je apsorbancija otopine uzorka sa DFK (difenilkarbazidom)

$A_2$  je apsorbancija otopine uzorka bez DFK-a

$F$  je gradijent kalibracijske krivulje (y/x), izražen u mililitrima po mikrogramu (ml/ $\mu$ g);

$m$  je masa uzorka kože, izražena u gramima (g)

$V_0$  je volumen ekstrakta početnog uzorka, izraženog u mililitrima (ml)

$V_1$  alikvot oduzet od ekstrakcijskog volumena početnog uzorka, izražen u mililitrima (ml)

$V_2$  volumen ukupnog eluata ( $S_1$ ), nakon prolaza kroz SPE kolone, od kojeg je načinjen alikvot  $V_1$ , i izražava se u mililitrima (ml)

$V_3$  alikvot uzet od otopine  $S_1$ , izražava se u mililitrima (ml)

$V_4$  finalni volumen alikvota od  $S_1$ , izražen u mililitrima (ml)

#### 3.3.5.1. Stupanj iskorištenja

$$\eta = \frac{(A_{1s} - A_{2s}) - (A_1 - A_2)}{\rho \times F} \quad (19)$$

gdje je

$\eta$  stopa oporavka, izražena u postocima (%)

$\rho$  masena koncentracija dodanog kroma (VI), izražena u mikrogramima po mililitru ( $\mu\text{g/ml}$ )

$F$  gradijent kalibracijske krivulje, izražen u mililitrima po mikrogramu ( $\text{ml}/\mu\text{g}$ )

$A_{1s}$  apsorbancija otopine nakon dodavanja kroma VI i DFK-a

$A_{2s}$  apsorbancija otopine nakon dodavanja kroma VI, ali bez dodatka DFK-a

$A_1$  apsorbancija otopine uzorka sa DFK-om

$A_2$  apsorbancija otopine uzorka bez DFK-a [23]

### 3.3.6. Kvalitativno ispitivanje kroma u pepelu u uzorcima kože

Uzme se približno 0,5 g usitnjenog uzorka kože i stavi u prethodno izžareni porculanski lončić te se uzorak žari do konstantne mase. Zbog ograničene količine uzorka, provedena su mjerenja u duplikatu.

$m_0$ - masa praznog žarenog lončića

$m_k$ - masa uzorka kože

$m_{p+}$ - masa lončića s pepelom nakon žarenja

$$m_{\text{pepela}} = m_{p+} - m_0$$

Tab. 13 Vrijednosti mase uzorka kože, mase pepela i volumni udio pepela

UZORAK	$m_k$ [g]	$m_{\text{pepela}}$ [g]	w% pepela	$w_{SR}\%$ pepela	$\sigma$
Uz1- 1	0,5422	0,1139	21,01	20,87	0,21
Uz1- 2	0,5443	0,1128	20,72		
Uz2- 1	0,5383	0,1139	21,16	21,50	0,48
Uz2- 2	0,5201	0,1136	21,84		
Uz3- 1	0,5365	0,1169	21,79	21,74	0,07
Uz3- 2	0,5401	0,1172	21,69		
Uz4- 1	0,5297	0,1125	21,24	21,69	0,64
Uz4- 2	0,5171	0,1145	22,14		
UzGB- 1	0,5408	0,0083	1,53	3,11	2,23
UzGB- 2	0,5497	0,0258	4,69		
Uz5- 1	0,5114	0,0548	10,72	9,65	1,52
Uz5- 2	0,5135	0,0440	8,57		

### 3.3.7. Priprema uzoraka i postupak određivanja ukupnog sadržaja kroma mikrovalnom digestijom

Prvenstveno treba poduzeti mjere opreza i zaštite na radu: staviti zaštitne naočale, zaštitne rukavice i zaštitnu odjeću- laboratorijsku kutu.

Zatim se provjerava jesu li kivete čiste, ukoliko nisu pristupa se postupku čišćenja.

Postupak mikrovalne digestije može se opisati u dva koraka:

1. priprema i postupak digestije i
2. postupak nakon digestije.

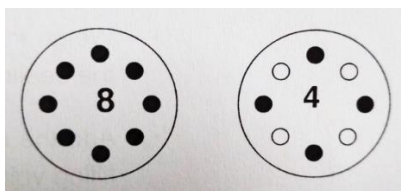
### 3.3.8. Priprema i postupak digestije

Izvaže se 200-500 mg uzorka kože te prenese u kivetu za mikrovalnu digestiju, a pri tom se pazi se da na području zatvaranja odnosno na čepu kiveta ne zaostaju dijelovi uzorka. Zatim se dodaju kemikalije i namjesti se temperatura na mikrovalnoj pećnici a koje su zadane u priručniku uređaja za mikrovalnu digestiju: 5 ml dušične kiseline  $\text{HNO}_3$ , 1 ml klorovodične kiseline  $\text{HCl}$ , 1 ml vodikovog peroksida  $\text{H}_2\text{O}_2$  i 2 ml fluorovodične kiseline  $\text{HF}$ . Temperatura se namjesti na  $200^\circ\text{C}$ . Fluorovodična se kiselina dodaje radi digestije eventualno prisutnih punila.

Rašire se rubovi čepova pomoću alata za formiranje rubova čepova kako bi čep maksimalno prijanjao sa kivetom. Zatim se ručno zategnu vijci za odzračivanje (nikad sa alatom!), kivete se ulože u zaštitno keramičko kućište i zatvore zaštitnom kapom.

Uloži se svih 8 kiveta u rotor. Svako keramičko kućište kivete označeno je rednim brojem (1-8) i tako se i pozicionira pravilno, po rednom broju, u rotor.

Rotor se zatvara na gornjoj ploči na osam kotačića. Oni se otvaraju po redu, po dva suprotna, istovremeno (prema shemi) dok se ne zatvori svih osam.



Sl. 17 Shema preporučenog obrasca za pravilno zatvaranje 8 kotačića na rotoru [24]

Kada se provjeri jesu li kivete sa pripadajućim keramičkim kućištima pravilno pozicionirane u rotor, te kada se zatvori rotor, stavlja se na rotor poklopac i zakrene u

smjeru kazaljke na satu do trenutka kada se čuje zvuk zaključavanja odnosno kada se zaključa poklopac.

Rotor se zatim prenese u mikrovalnu pećnicu i zatvore se vrata.

Slijedi automatska provjera svih senzora i priključaka.

Zatim se na zaslonu mikrovalne pećnice pristupa bazi metoda za digestiju (ako je ona upisana). Ukoliko nije upisana, unose se nova metoda digestije prema pripadajućim uputama a ovisno o vrsti uzoraka koji se obrađuje i vrsti i konfiguraciji kiveta.

Započinje se sa programom digestije.



*Sl. 18 Otvorene kivete i pravilno odloženi čepovi kiveta na odgovarajućem stalku, iza-keramička kućišta za kivete, lijevo- prazan rotor bez poklopca*

### **3.3.8.1. Postupak nakon digestije**

Uključi se ventilacija, na jačinu 2 ili 3. Otvore se vrata mikrovalne pećnice.

Pomoću specijalnog ključa kroz otvor na poklopcu rotora otvore se ventili za odzračivanje suprotno od smjera kazaljke na satu, za pola kruga (maksimalno za 1 krug).

Zatvore se vrata pećnice i pričeka se nekoliko minuta kako bi se otpušteni plinovi uklonili. Rotor se tek tada može izvaditi iz pećnice i prenese se u digestor u kojem je uključena ventilacija. Ukloni se poklopac rotora na način da se pritisne dugme za otključavanje i poklopac se zakrene u smjeru suprotnom od kazaljke na satu.

Rotor se otvori na način da se otpuste kotačići, isto kao i kod zatvaranja, po principu dva suprotna kotačića istovremeno, po redu, u svrhu jednolikog otpuštanja sile.

Zatim se izvade kivete sa keramičkim kućištima, otvori se svaki keramički poklopac, izvade kivete uz oprez, svo vrijeme se pazi da se kivete prenese jedna po jedna po svom rednom broju, od 1-8 i prenese se u odgovarajući stalak.

Ukloni se poklopac svake kivete i stavi isključivo na gornju stranu, tako da dio čepa koji je bio u dodiru sa kemikalijama i uzorkom je okrenut prema gore (Slika 18.).

Obrađeni uzorci iz kiveta prenesu se u odgovarajuće označene bočice sa čepom, otporne na jake kiseline.

Kivete se dobro isperu destiliranom vodom, i zatim se pristupa programu čišćenja kiveta u mikrovalnoj pećnici.

Nakon mikrovalne digestije, dobivene otopine kože se analiziraju prema gore opisanom postupku.



Sl. 19 Zatvorene kivete u keramičkim kućistima učvršćene u rotor, specijalni ključ za otvaranje ventila za odzračivanje (isključivo za otvaranje-nakon digestije)

### 3.4. Izrada baždarnog dijagrama (kalibracija)

Kalibracijske otopine pripreme se od standardne otopine. Koncentracija kroma u tim otopinama treba pokriti očekivani raspon mjerenja.

Kalibracijske otopine pripreme se u tikvice od 25 ml.

Potrebno je postaviti prikladnu kalibracijsku krivulju koristeći najmanje 6 standarda, u rangu od 0,5 ml do 15 ml standardne otopine. Otpipetirati zadane volumene od standardne otopine u odmjerne tikvice od 25 ml. Dodati 0,5 ml fosforne kiseline i 0,5 ml otopine difenilkarbazida u svaku tikvicu. Dopuniti volumen sa ekstrakcijskom otopinom, dobro promiješati i ostaviti odstajati ( $15 \pm 5$ ) min. Izmjeriti apsorbanciju otopina u istoj fotometrijskoj ćeliji uzoraka na 540 nm u usporedbi sa dobivenom slijepom probom.

Koncentracija kroma (VI) postavi se u mikrogramima po litri ( $\mu\text{g/ml}$ ) u odnosu na izmjerenu apsorbanciju. Koncentracija kroma (VI) postavi se na x- os a apsorbancija na y- os.

Napomena:

U međulaboratorijskim ispitivanjima, kiveta od 40 mm dokazana je kao najprikladnija. Iznad opisane standardne otopine namijenjene su za analize sa kivetama veličine 40 mm. Međutim, u nekim slučajevima potrebno je koristiti manje ili veće dužine ćelija.

U ovome radu korištene su kivete od 10 mm.

Treba se pobrinuti da se upotrebljava raspon kalibracije unutar linearnog mjernog raspona spektrofotometra.

*Tab. 14 Sastav otopina za spektrofotometrijsko određivanje kroma s reagensom difenilkarbazidom (0,2 - 0,6) 1 ppm*

UZORAK	$\gamma$ (Cr) [ml] [ppm]	V(Cr) [ml] 1 ppm	V(H <sub>3</sub> PO <sub>4</sub> ) [ml]	V(DFK) [ml]
0	0	0	1	1
1	0,2	10	1	1
2	0,3	15	1	1
3	0,4	20	1	1
4	0,5	25	1	1
5	0,6	30	1	1

*Tab. 15 Sastav otopina za spektrofotometrijsko određivanje kroma s reagensom difenilkarbazidom (0,7–3) 5 ppm*

UZORAK	$\gamma$ (Cr) [ml] [ppm]	V(Cr) [ml] 5 ppm	V(H <sub>3</sub> PO <sub>4</sub> ) [ml]	V(DFK) [ml]
6	0,7	7	1	1
7	0,8	8	1	1
8	0,9	9	1	1
9	1,0	10	1	1
10	1,5	15	1	1
11	2,0	20	1	1
12	3,0	30	1	1





*Sl. 20 Kalibracijske otopine*

## 4. RASPRAVA I REZULTATI

Rezultati određivanja Cr (VI) vrlo su važni parametri kako za industriju tako i za ljude koji se redovito koriste predmetima izrađenim od kože. Iako se u današnje vrijeme postupci štavljenja solima kroma provode sa bazičnim kromovim sulfatom, tj. pomoću soli trovalentnog kroma, ipak je utvrđeno da će se određene količine Cr (VI) nalaziti u koži ili pak otpadnim vodama. To se može objasniti činjenicom da je kromat/bikromat ion jako oksidacijsko i reaktivno sredstvo te već i manje koncentracije pomoćnih sredstava iz kupelji za obradu kože mogu uzrokovati oksidaciju iona Cr (III) u Cr (VI) [25].

Za štavljenje proizvoda od kože koji se koriste za proizvodnju gornjišta obuće, odjeće, zaštitne odjeće, torbica, remena, presvlaka, luksuznog namještaja i sl. uobičajeno se koriste sulfatne soli kroma. Te soli sadrže krom u svom trovalentnom stanju. Međutim, oksidacija kroma (III) do kroma (VI) može biti potaknuta određenim čimbenicima kao što su npr. povećanje pH vrijednosti, temperature, izloženost UV zračenju i oksidirajućim sredstvima tijekom obrade, skladištenja, tijekom uporabe kože i konačno, prilikom odlaganja upotrijebljenog predmeta. Zbog prepoznate i dokazane štetnosti kroma, pogotovo njegovog šesterovalentnog oblika, maksimalno dopuštene koncentracije tog metala jasno su definirane zakonskom regulativom (Poglavlje 2.3.). Stoga je neophodno kontinuirano praćenje i određivanje njegova sadržaja u svim okolišnim uzorcima (voda, zrak, tlo), otpadu, predmetima opće uporabe, tekstilnim materijalima kao i proizvodima od kože. Također, temeljem podataka o sadržaju kroma, procjenjuje/ocjenjuje se sukladnost proizvoda od kože sa zakonskom regulativom koja bi morala biti manja od 3 mg/kg.

Metode za određivanje kroma su brojne a princip određivanja pojedine metode ovisi o vrsti uzorka (čvrsti, tekući, plinoviti), njegovoj količini, očekivanom koncentracijskom rasponu i opremljenosti laboratorija. Za određivanje Cr (VI) u koži definirane su dva dijela norme: EN ISO 17075-1:2017 i EN ISO 17075-2:2017, koje su prije posljednje revizije bila sadržane u jednoj normi. Princip određivanja kroma za obje metode sastoji se u ekstrakciji topljivog Cr (VI) iz uzoraka kože u fosfatnom puferu, strogo definirane pH vrijednosti, 8. pH vrijednost ekstrakcije je od presudne važnosti za određivanje kroma jer je poznato da prisutnost ionske vrste kroma jako ovisi o pH vrijednosti otopine (vidjeti sliku 1.). Također, šesterovalentni oblik kroma tvori komplekse u prisutnosti fosforne kiseline (Tablica 5.), koji dodatno pospješuju ekstrakciju topljivog Cr (VI) iz kože i time omogućava kvantitativnost postupka. S druge strane, sastav ekstrakcijske otopine pojednostavljeno simulira otopinu ljudskog znoja koji se nalazi na površini ljudske kože čime se ispituje mogućnost ekstrakcije topljivog Cr (VI) sa proizvoda od kože i transfer tako ekstrahiranog kroma na površinu ljudske kože. Ukoliko

je sadržaj kroma jednak ili viši od 3 mg/kg, takovi proizvodi od kože nisu sukladni sa zakonskom regulativom. Nadalje, točno definirana pH vrijednost ekstrakcijske otopine na 8, osigurava da ne dođe do oksidacije Cr (III) u Cr (VI) niti do taloženje Cr (VI) (Slika 1.). Nastajanjem taloga, smanjila bi se kvantitativnost ekstrakcije što bi rezultiralo smanjenjem sadržaja topljivog Cr (VI). Iz toga se razloga ekstrakcijska otopina ponekad naziva i puferska otopina jer u praksi ne dolazi do značajnijih varijacija u pH vrijednostima iako koža štavljena kromovim solima ima kiseli karakter.

Nakon provedene ekstrakcije, nije neuobičajeno da je ekstrakcijska, puferska otopina obojena. Obojenje je prisutno od bojila ekstrahiranog iz ispitivanog uzorka kože. Ovo obojenje može ozbiljno interferirati prilikom spektrofotometrijskog određivanja kroma, metodom EN ISO 17075-1, prekrivajući signal kompleksa kroma s difenilkarbazidom što može dovesti do pogrešnog tumačenja rezultata. Upravo se to dogodilo i sa uzorcima označenim kao GC i GB (Slika 27. i 28.) Stoga je neophodno ukloniti ekstrahirano bojilo, propuštanjem ekstrakta preko staklenih ili polipropilenskih kolona punjenih čvrstim nosačima/sredstvom za ekstrakciju (SPE – solid phase extraction). Kolone su punjene sa odgovarajućim sredstvom koje je potrebno prije same ekstrakcije aktivirati, najčešće metanolom i vodom (Poglavlje 3.1.3.6. i 3.3.3.). Pri odabiru odgovarajućeg sredstva za sorpciju bojila iz ekstrakta, potrebno je voditi računa o svojstvima bojila koje mora zaostati na koloni. Količina koekstrahiranog bojila ovisi o vrsti bojila primijenjenog na koži kao i o procesu njegova fiksiranja. U ovome radu su korištene kolone sa RP (*reversed phase*) C18 punjenjem koje zadržava bojilo a propušta ione kroma. Primjena nekog drugog sredstva, npr. aktivnog ugljena se pokazala neprikladnom za postupak uklanjanja koekstrahiranog bojila [23].

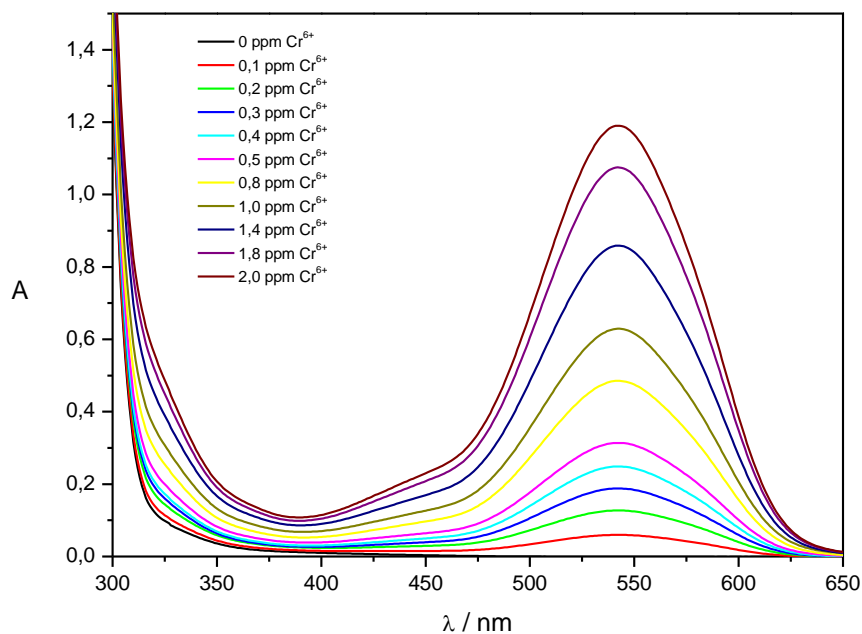
Metoda EN ISO 17075-1 sastoji se propuštanjem ekstrakcijske, puferske otopine kroz SPE kolone, dodatku otopine fosforne kiseline te otopine difenilkarbazida (DFK). Zbog oksidativnog djelovanja Cr (VI), DFK regira s Cr (VI) pri tome tvoreći crvenoljubičasti kompleks, 1,5 difenilkarbazon. Intenzitet obojenja otopine proporcionalan je količini Cr (VI) i mjeri se spektrofotometrijski pri apsorpcijskom maksimumu od 540 nm.

Za provedbu određivanja Cr (VI) metodom EN ISO 17075-2 također je potrebno provesti ekstrakciju s puferskom otopinom ali je sama tehnika detekcije drugačija. Koristi se tekućinska kromatografija visoke djelotvornosti sa nizom dioda kao detektorom (HPLC-DAD). Ovom se separacijskom tehnikom izravno određuje Cr (VI) pri 372 nm jer se na kromatografskoj koloni razdvoje pojedini sastojci iz smjese te se na kromatogramu prikazuju zasebno jedni od drugih. Ovom je metodom značajno smanjen utjecaj interferencija uslijed koekstrakcije bojila.

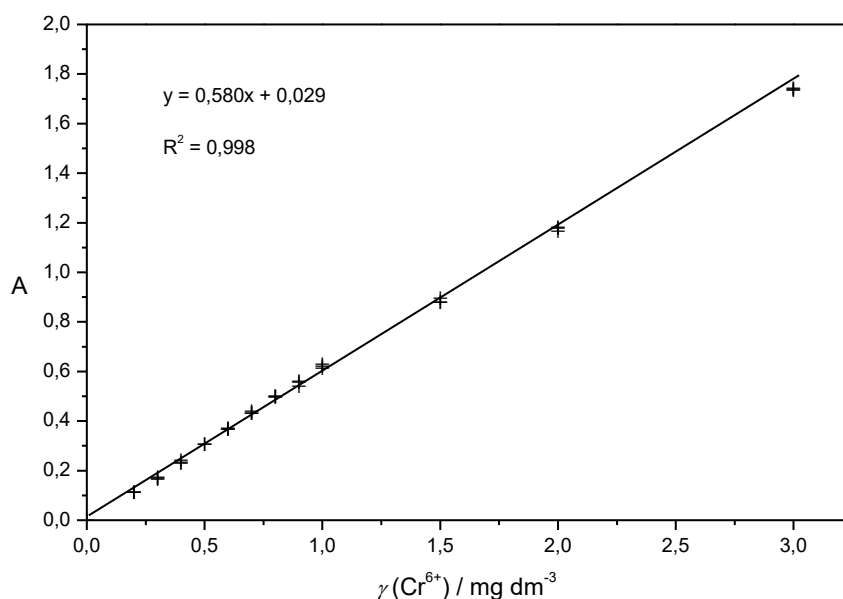
U ovome radu je provedeno određivanja sadržaja Cr (VI) na sedam uzoraka koža. Kako bi se odredio sadržaj kroma prema normi HRN EN ISO 17075-1:2017, potrebno je uzorak pravilno prirediti za analizu. Uzorak kože koji je analiziran u ovome radu prethodno je usitnjen pomoću keramičkog mlina (Slika 16., Poglavlje 3.1.3.7.) u suradnji s Laboratorijem za za ispitivanje tekstila, kože, obuće i zaštitne opreme tvrtke Euroinspekt Eurotextil d.o.o. Ekstrakcija se, sukladno normi, provodi na višim pH vrijednostima (pH ekstrakta nakon završenog procesa ekstrakcije mora biti između 7,5 i 8,0) jer je poznato da prisutnost ionske vrste kroma jako ovisi o pH vrijednosti otopine (vidjeti sliku 1.). Ispitane su dvije ekstrakcijske otopine i to pH = 8,00, sukladno HRN EN ISO 17075-1:2017 te na pH = 9,00, prema HRN EN ISO 2418:2017. Ispitivanjem na višoj pH vrijednosti, nastojala se je utvrditi mogućnost određivanja Cr (VI) i pri toj vrijednosti.

Za kvantitativno određivanje kroma (VI), prethodno je bilo potrebno napraviti baždarni dijagram koji prikazuje ovisnost apsorbancije o koncentraciji. Na slici 21. prikazane su apsorpcijske krivulje kompleksa difenilkarbazda s kromom. Vidi se da porastom koncentracije Cr (VI) u otopini dolazi i do porasta apsorbancije. Baždarni dijagram (Slika 22.) prikazuje linearnu ovisnost koncentracije o apsorbanciji.

Ovom metodom određuje se samo šesterovalentni oblik kroma.



Sl. 21 Apsorpcijske krivulje kompleksa kroma s 1,5-difenilkarbazidom



Sl. 22 Baždarni dijagram za određivanje kroma (VI)

Prije postupka spektrofotometrijskog određivanja Cr (VI), nastojalo se je jednostavnim postupkom spaljivanja u otvorenom sustavu kvalitativno ispitati prisutnost kroma u navedenim uzorcima koža. U tu je svrhu svaki uzorak spaljen u porculanskom lončiću. Prisutnost pepela zelene boje, koja potječe od kromovog (III) oksida,  $\text{Cr}_2\text{O}_3$ , ukazivao je da je u svim ispitivanim uzorcima prisutan krom. Rezultati određivanja mase pepela prikazani su u tablici 13. Prisutnost topljivog Cr (VI) moguće je odrediti jedino spektrofotometrijskim određivanjem. U slučaju da postupkom spaljivanja nije nastao pepeo zelene boje, može se posumnjati da se radi o uzorcima kože koji nisu štavljeni kromovim solima.

Postupak ekstrakcije proveden je za dvije ekstrakcijske otopine i to za pH 8 i za pH 9. Postupak uklanjanja bojila iz obojenih ekstrakata proveden je sukladno normi za oba ekstrakta. Iz baždarnog dijagrama (Slika 22.), određen je sadržaj Cr (VI) u uzorcima koža. Na slikama 23. – 36. prikazane su apsorpcijske krivulje svih uzoraka nakon provedene ekstrakcije pri pH 8 i pH 9, a u tablicama 16. – 29. rezultati mjerenja i ispitivanja.

Kod pojedinih uzoraka 1. – 5. te GC i GB uočeno je ružičasto obojenje otopine S2 što ukazuje da je u tim uzorcima prisutan krom(VI). Primjećuje se manji utjecaj matice jer je apsorbcija standardne otopine kroma neznatno viša od ekstrakta u kojemu se ispitivao utjecaj matice a kojemu je dodana poznata koncentracija Cr (VI) – 1 ppm.

Zbog složenosti uzoraka kao i postupka pripreme uzorka za spektrofotometrijsko određivanje, za svaki pojedinačni uzorak se nastojao ispitati utjecaj matice (tzv. *matrix effect*) na rezultat analize. Utjecaj matice izmjeren je na način da je u ekstrakt svakog uzorka pri pH 8 ili pH 9 dodana poznata količina standardne otopine Cr (VI), 1 ppm, te je izračunato iskorištenje između stvarne (tj. standardne) otopine i izračunate koncentracije količine kroma nakon dodatka standardne otopine u ekstrakt.

Na slikama 23. – 36. se uočava da kod pojedinih uzoraka matica nema značajnog utjecaja na rezultat dok je kod nekih uzoraka primijećen značajan utjecaj matice. To se naročito uočava pri izračunu iskorištenja (Tablica 31.). Za ekstrakte, čija je pH vrijednost bila 8, iskorištenje se kretalo od 90-99 %, što je za ovako složenu maticu i zahtjevan postupak određivanja više nego prihvatljivo. Ovako visoke vrijednosti iskorištenja bi se ipak mogle protumačiti da je sadržaj kroma u ispitivanim uzorcima ispod granice detekcije, odnosno da u većini ispitivanih uzoraka nema Cr (VI). To se može uočiti i po vrijednostima apsorbanacija. No, prisutnost karakteristične ružičaste boje kompleksa kroma (VI) s DFK ukazuje da je krom ipak prisutan u uzorcima 1. i 2., dok se u ostalim uzorcima eventualno prisutan ispod 3 mg/kg (Tablica 30.).

S druge pak strane, za ekstrakte, čija je pH vrijednost bila 9, iskorištenje se kretalo od 41-94 %, što svakako nije zadovoljavajuće. Ovakva rasipanja se mogu pripisati neodgovarajućoj pH vrijednosti tijekom ekstrakcije, mogućem taloženju kroma što umanjuje kvantitativnost reakcije s DFK i najvažnije, značajnom utjecaju matice na rezultat. Stoga se sva ispitivanja trebaju provoditi s ekstrakcijskom otopinom čija je pH vrijednost 8, a ne pH 9, kako bi se izbjegao značajan utjecaj matriksa na točnost ispitivanja. Kod spektrofotometrijskog reagensa primijećeno je da je u pojedinim otopinama došlo do razvijanja mjehurića, što ukazuje na odvijanje sporedne reakcije. Također, zbog veće količine razvijenih plinova tijekom reakcije kroma (VI) sa DFK (pojava mjehurića), značajno je otežano mjerenje na spektrofotometru što dodatno unosi pogrešku u rezultat. Razvoj mjehurića se povezuje s prisustvom reducirajućih tvari u uzorku kože, koje pri ovim reakcijskim uvjetima najvjerojatnije uzrokuju razgradnju DFK i time umanjuju kvantitativnost reakcije. Redukcijom DFK-a se smanjuje optimalna koncentracija DFK-a koji bi trebao tvoriti kompleks sa Cr (VI). Zbog smanjene koncentracije, dio DFK ipak reagira s Cr (VI) ali u znatno smanjenom udjelu nego što je kod standardne otopine. Pojava mjehurića izraženija je kod otopina u kojima je ekstrakcija provedena pri pH 9. To je još jedan razlog da se izbjegava raditi na pH vrijednostima drugačijim od normom propisanih tj. pri pH 8.

Promatranjem spektara, uočava se, naročito na slici 28., da je neophodno snimiti apsorpcijsku krivulju ispitivanih uzoraka, te da nije zadovoljavajuće samo očitati vrijednost apsorpcije pri 540 nm kako predlaže norma jer bi se jednostavnim uvrštavanjem u jednadžbu (18), (Poglavlje 3.3.5.) dobio lažno pozitivan rezultat na krom iako je iz izgleda apsorpcijske krivulje jasno uočljivo da se u uzorku GC krom (VI) nalazi ispod granice detekcije. Također, zbog veće količine razvijenih plinova tijekom reakcije kroma (VI) sa DFK (pojava mjehurića), značajno je otežano mjerenje sadržaja kroma u uzorku GC na spektrofotometru što dodatno unosi pogrešku u rezultat.

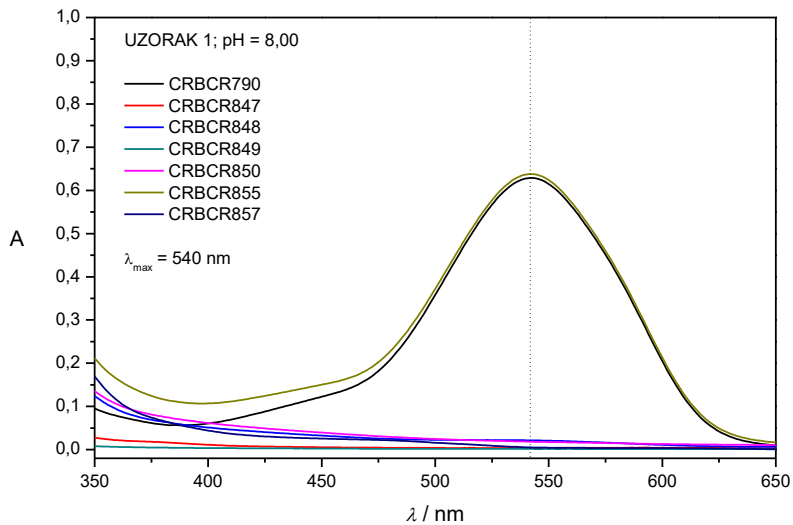
Uslijed višestrukog nastojanja da se odrede optimalni uvjeti za određivanje Cr (VI) u analitički vrlo kompleksnom uzorku GB (Slika 29., tablica 22.), preostala količina uzorka za analizu je bila premala za daljnja istraživanja i određivanje Cr (VI) te je daljnje ispitivanje na tom uzorku prekinuto a da nije bilo moguće odrediti sadržaj kroma u njemu. Unatoč tome, bilo je moguće izvesti određene zaključke, proučavanjem ovakvog kompleksnog uzorka a koji su gore navedeni.

Sa ciljem pronalaženja optimalne metode za određivanje sadržaja kroma (VI), uzorci kože podvrgnuti su mikrovalnoj digestiji. Mikrovalnom digestijom uzorci koža su u potpunosti prevedeni u otopljeno stanje. Otopine nakon digestije imale su zeleno-plavo obojenje, što je ukazivalo na prisutnost kroma (III). Nakon digestije, otopine uzoraka su prebačene u odgovarajuće posude te se u njima nastojao spektrofotometrijski odrediti krom (VI) prema postupku opisanom u Poglavlju 3.3.3. Dodatkom DFK, otopina nije poprimila karakteristično ružičasto-crveno obojenje od kompleksa kroma (VI) sa DFK. Unatoč tome, snimljene su apsorpcijske krivulje navedenim otopinama što je dodatno potvrdilo činjenicu da u uzorcima raščinjenim mikrovalnom digestijom nije pronađen krom u svojem šesterovalentnom obliku. Određivanjem sadržaja ukupnog kroma (npr. metodom ICP-OES), moglo bi se zaključiti o prisutnosti kroma (III) u uzorcima ali to nije bio cilj ovoga rada.

Moguća daljnja istraživanja trebala bi ići u smjeru ispitivanja ekstrakta i u neutralnim i kiselim pH vrijednostima a ne samo u lužnatima. Također bi trebalo odrediti ukupan krom u uzorcima a navedene rezultate usporediti sa kromatografskom metodom za određivanje kroma (VI) u uzorcima koža. Kao problem u razvoju ove kompleksne analitičke metode može se spomenuti nedostatak certificiranog referentnog materijala kojim bi se ispitali i potvrdili optimalni parametri same metode.

## 4.1. Spektrofotometrijsko određivanje Cr (VI) pri pH = 8

### 4.1.1. Uzorak 1, pH = 8,00



Sl. 23 Apsorpcijske krivulje; Uzorak 1, pH = 8,00

Tab. 16 Rezultati određivanja Cr (VI)- Uzorak 1, pH = 8,00

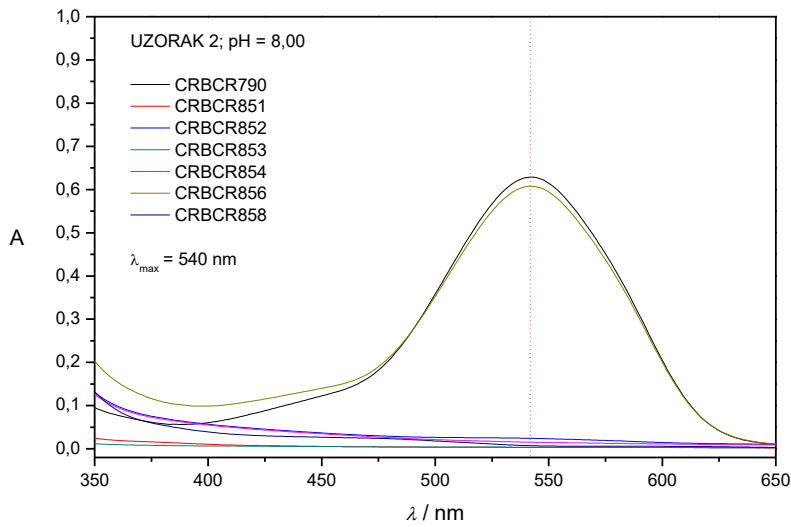
Naziv spektra	Oznaka i opis uzorka	pH	A	Napomena	Sadržaj kroma	Iskorištenje
B - Crbcr790	St.otop. Cr - 1 ppm Cr		0,6279		1,03 ppm	100 %
Crbcr847	S1-1	8,00	0,0037			
Crbcr848	S2-1	8,00	0,0217	Prisutan Cr!	10,8 mg/kg	
Crbcr849	A2-1	8,00	0,0017			
Crbcr850	SP_1	8,00	0,0186			
Crbcr855	M.E.1*	8,00	0,6214		1,02 ppm	99 %
Crbcr857	Ekstrakt uz. 1, bez H <sub>3</sub> PO <sub>4</sub> i DFK	8,00	0,0056			

\*M.E. – utjecaj matice (matriks efekt): ekstrakt + 1 ppm Cr + H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> + DFK

- pH (nakon ekstrakcije pri pH 8) = 7,71



#### 4.1.2. Uzorak 2, pH = 8,00



Sl. 24 Apsorpcijske krivulje; Uzorak 2, pH = 8,00

Tab. 17 Rezultati određivanja Cr (VI)- Uzorak 2, pH = 8,00

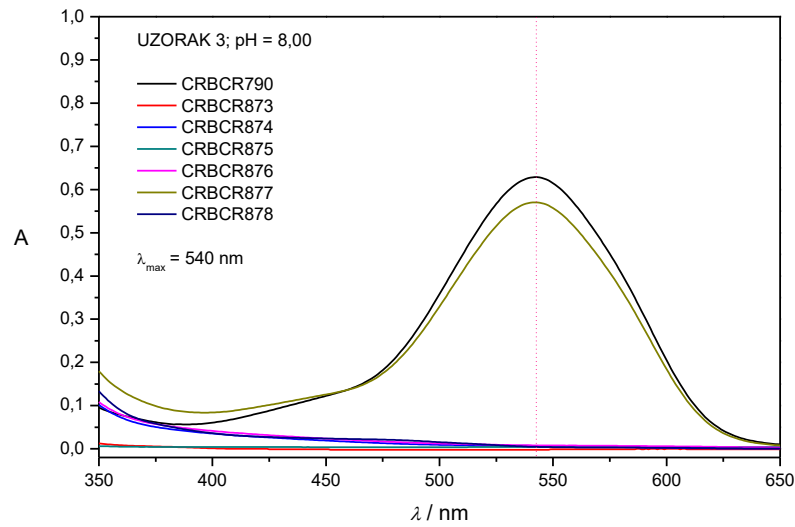
Naziv spektra	Oznaka i opis uzorka	pH	A	Napomena	Sadržaj kroma	Iskorištenje
B - Crbcr790	St.otop. Cr – 1 ppm Cr		0,6279		1,03 ppm	100,%
Crbcr851	S1-2	8,00	0,0033			
Crbcr852	S2-2	8,00	0,0245	Prisutan Cr!	11,1 mg/kg	
Crbcr853	A2-2	8,00	0,0038			
Crbcr854	SP_2	8,00	0,0156			
Crbcr856	M.E.2*	8,00	0,6071		0,99 ppm	96 %
Crbcr858	Ekstrakt uz. 2, bez H <sub>3</sub> PO <sub>4</sub> i DFK	8,00	0,0076			

\*M.E. – utjecaj matice (matriks efekt): ekstrakt uzorka 2 + 1 ppm Cr + H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> +

DFK

- pH (nakon ekstrakcije) = 7,72

### 4.1.3. Uzorak 3, pH = 8,00



Sl. 25 Apsorpcijske krivulje; Uzorak 3, pH = 8,00

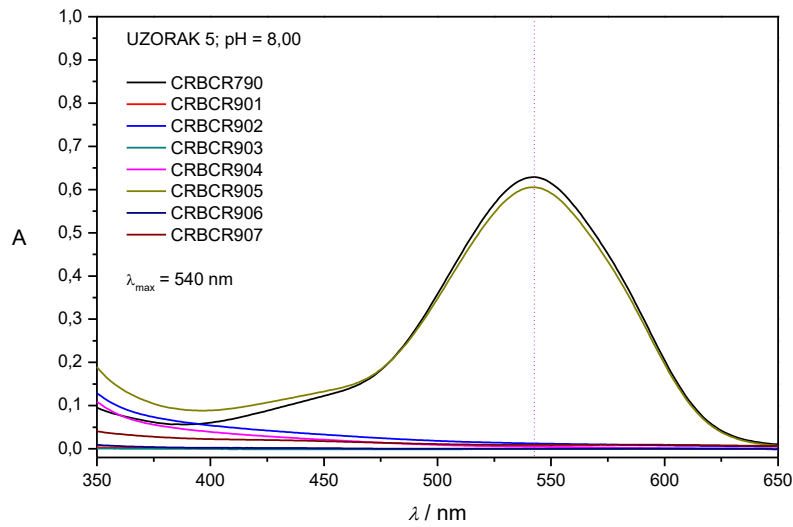
Tab. 18 Rezultati određivanja Cr (VI)- Uzorak 3, pH = 8,00

Naziv spektra	Oznaka i opis uzorka	pH	A	Napomena	Sadržaj kroma	Iskorištenje
Crbc790	St.otop. Cr – 1 ppm Cr		0,6279		1,03	100 %
Crbc873	S1-3	8,00	≈0,000			
Crbc874	S2-3	8,00	0,0069	< 3 mg/kg		
Crbc875	A1-3	8,00	0,0043			
Crbc876	SP_3	8,00	0,0082			
Crbc877	M.E.3*	8,00	0,5699		0,93	90 %
Crbc878	Ekstrakt uz. 3, bez H <sub>3</sub> PO <sub>4</sub> i DFK	8,00	0,0050			

\*M.E. – utjecaj matice (matriks efekt): ekstrakt uzorka 2 + 1 ppm Cr + H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> + DFK

- pH (nakon ekstrakcije) = 7,72

#### 4.1.4. Uzorak 4, pH = 8,00



Sl. 26 Apsorpcijske krivulje; Uzorak 4, pH = 8,00

Tab. 19 Rezultati određivanja Cr (VI)- Uzorak 4, pH = 8,00

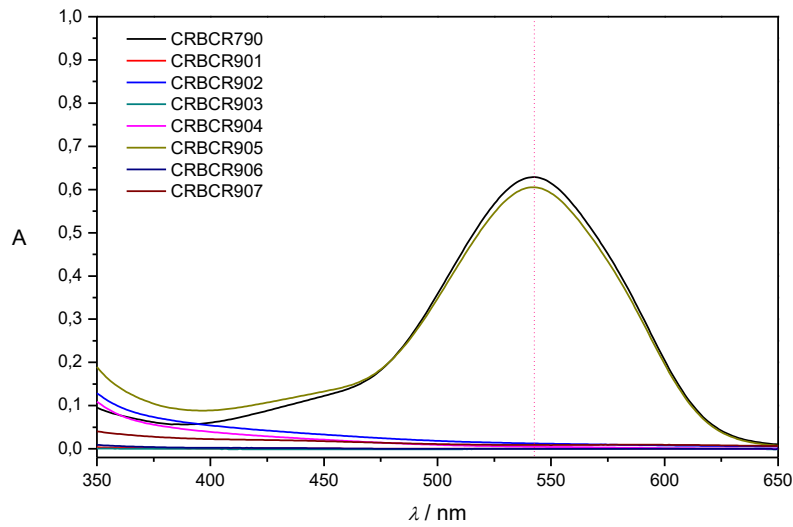
Naziv spektra	Oznaka i opis uzorka	pH	A	Napomena	Sadržaj kroma	Iskorištenje
B - Crbcr790	St.otop. Cr – 1 ppm Cr		0,6279		1,03 ppm	100 %
Crbcr879	S1-4	8,00	≈0,000			
Crbcr880	S2-4	8,00	0,0082	< 3 mg/kg		
Crbcr881	A1-4	8,00	≈0,000			
Crbcr882	SP_4	8,00	0,0062			
Crbcr883	M.E.4*	8,00	0,5691		0,93 ppm	90 %
Crbcr884	Ekstrakt uz. 4, bez H <sub>3</sub> PO <sub>4</sub> i DFK	8,00	0,0014			

\*M.E. – utjecaj matrice (matriks efekt): ekstrakt uzorka 2 + 1 ppm Cr + H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> +

DFK

- pH (nakon ekstrakcije) = 7,80

#### 4.1.5. Uzorak 5, pH = 8,00



Sl. 27 Apsorpcijske krivulje; Uzorak 5, pH = 8,00

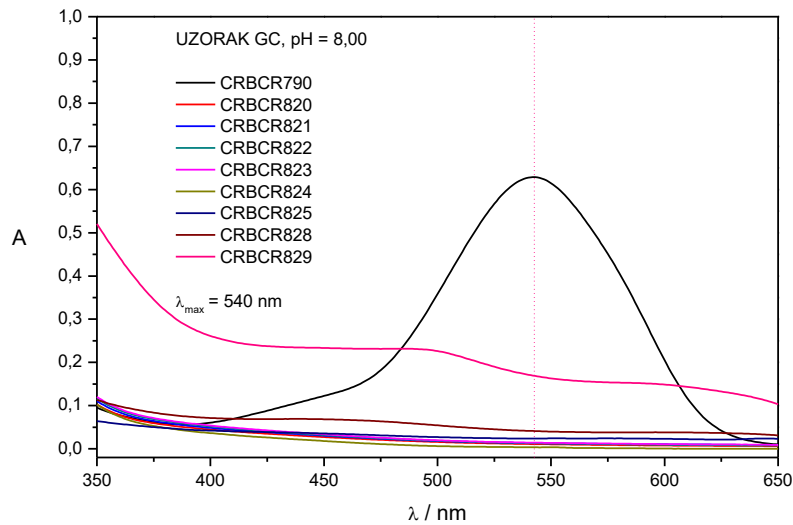
Tab. 20 Rezultati određivanja Cr (VI)- Uzorak 5, pH = 8,00

Naziv spektra	Oznaka i opis uzorka	pH	A	Napomena	Sadržaj kroma	Iskorištenje
B - Crbcr790	St.otop. Cr - 1 ppm Cr		0,6279		1,03 ppm	100 %
Crbcr901	S1-5	8,00	≈0,000			
Crbcr902	S2-5	8,00	0,0127	< 3 mg/kg		
Crbcr903	A1-5	8,00	≈0,000			
Crbcr904	SP_5	8,00	0,0051			
Crbcr905	M.E.5*	8,00	0,6046		0,99 ppm	96 %
Crbcr906	Ekstrakt uz. 5, bez H <sub>3</sub> PO <sub>4</sub> i DFK	8,00	0,0089			
Crbcr907	Ekstrakt uz. 5, + H <sub>3</sub> PO <sub>4</sub> + DFK - bez SPE	8,00	≈0,000			

\*M.E. – utjecaj matrice (matriks efekt): ekstrakt uzorka 2 + 1 ppm Cr + H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> + DFK

- pH (nakon ekstrakcije) = 7,80

#### 4.1.6. Uzorak GOVEDI CJEPANIK, GC, pH = 8,00



Sl. 28 Apsorpcijske krivulje; Uzorak GC, pH = 8,00

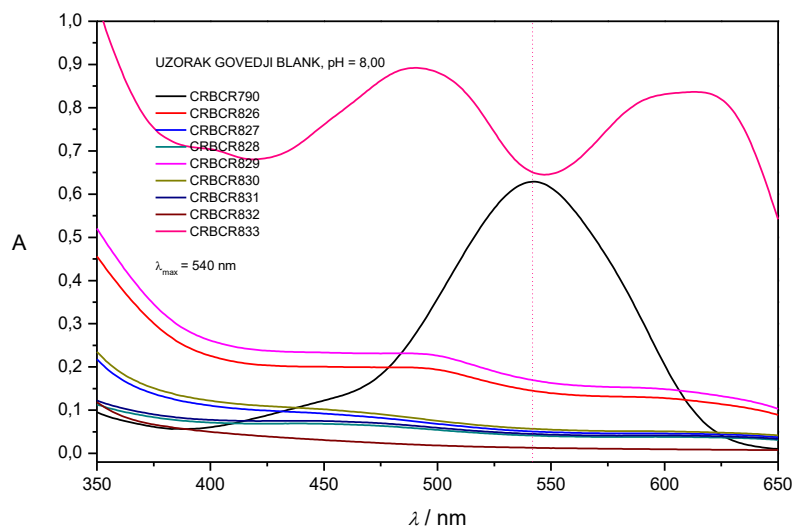
Tab. 21 Rezultati određivanja Cr (VI)- Uzorak GC, pH = 8,00

Naziv spektra	Oznaka i opis uzorka	pH	A	Napomena	Sadržaj kroma	Iskorištenje
B - Crbcr790	St. otop. Cr – 1 ppm Cr		0,6279		1,03 ppm	100 %
Crbcr820	Aps.k-lja puferske otopine nakon 3h mućkanja – bez kože	8,00	≈0,000			
Crbcr821	Aps.k-lja puferske otopine nakon 3h mućkanja+uzorak GC	8,00	0,0127	< 3 mg/kg		
Crbcr822	Aps.k-lja puferske otopine nakon 3h mućkanja – bez kože, pH = 2,16	8,00	≈0,000			
Crbcr823	Aps.k-lja puferske otopine nakon 3h mućkanja+uzorak GC, pH = 2,18	8,00	0,0051			
Crbcr824	Ekstrakt + H <sub>3</sub> PO <sub>4</sub> + DFK	8,00	0,6046		0,99 ppm	96 %
Crbcr825	Sam ekstrakt	8,00	0,0089			
Crbcr828	Ekstrakt uz. GC, + H <sub>3</sub> PO <sub>4</sub> +z DFK – bez SPE	8,00	≈0,000			
Crbcr829	Ekstrakt uz. GC, + H <sub>3</sub> PO <sub>4</sub> bez DFK – bez SPE					

- pH (nakon ekstrakcije) = 7,75

NIJE IZMJERENO – PREVIŠE MJEHURIĆA!

#### 4.1.7. Uzorak GOVEDI BLANK, GB, pH = 8,00



Sl. 29 Apsorpcijske krivulje; Uzorak GOVEDI BLANK, GB, pH = 8,00

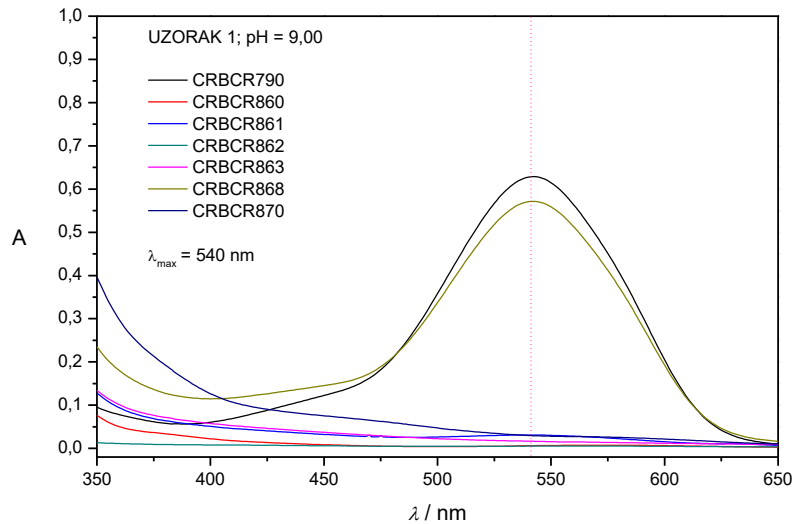
Tab. 22 Rezultati određivanja Cr (VI)- Uzorak GOVEDI BLANK, GB, pH = 8,00

Naziv spektra	Oznaka i opis uzorka	pH	A	Napomena
B - Crbcr790	St. otop. Cr – 1 ppm Cr		0,6279	
Crbcr826	S1-1	8,00	0,1463	
Crbcr827	S2-1	8,00	0,0511	mjehurići
Crbcr828	A2-1	8,00	0,0415	
Crbcr829	S1-2	8,00	0,1710	mjehurići
Crbcr830	S2-2	8,00	0,0573	mjehurići
Crbcr831	A2-2	8,00	0,0454	mjehurići
Crbcr832	Pufer pH 8	8,00	0,0131	mjehurići
Crbcr833	Ekstrakt, razrj. 1:1, OBOJEN	8,00	0,6542	Izvan podr.

- pH (nakon ekstrakcije pri pH 8) = 7,64

## 4.2. Spektrofotometrijsko određivanje Cr (VI) pri pH = 9

### 4.2.1. Uzorak 2, pH = 9,00



Sl. 30 Apsorpcijske krivulje; Uzorak 1, pH = 9,00

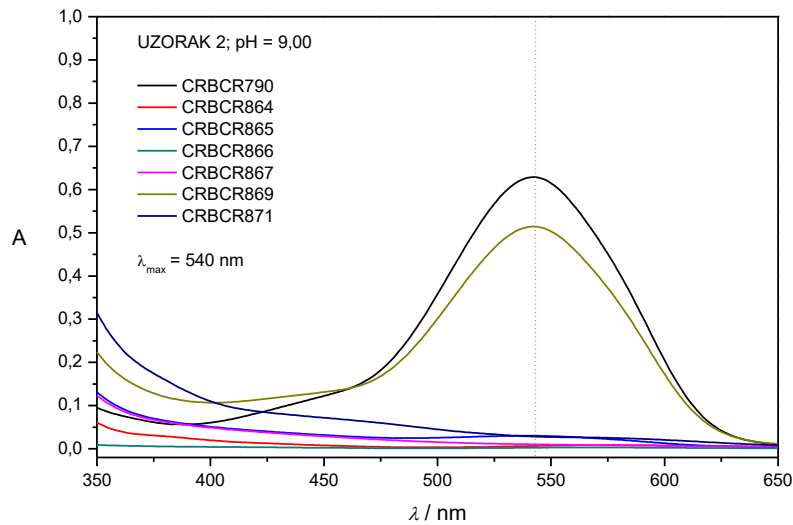
Tab. 23 Rezultati određivanja Cr (VI)- Uzorak 1, pH = 9,00

Naziv spektra	Oznaka i opis uzorka	pH	A	Napomena	Sadržaj kroma	Iskorištenje
B - Crbcr790	St. otop. Cr – 1 ppm Cr		0,6279		1,03 ppm	100 %
Crbcr860	S1-1	9,00	0,0061			
Crbcr861	S2-1	9,00	0,0312	mjehurići Prisutan Cr!	14,0 mg/kg	
Crbcr862	A2-1	9,00	0,0052	mjehurići		
Crbcr863	SP_1	9,00	0,0167	mjehurići		
Crbcr868	M.E.1*	9,00	0,5710		0,95 ppm	92 %
Crbcr870	Ekstrakt uz. 1, bez H <sub>3</sub> PO <sub>4</sub> i DFK	9,00	0,0298			

\*M.E. – utjecaj matice (matriks efekt): ekstrakt + 1 ppm Cr + H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> + DFK

- pH (nakon ekstrakcije pri pH 9) = 8,74

#### 4.2.2. Uzorak 2, pH = 9,00



Sl. 31 Apsorpcijske krivulje; Uzorak 2, pH = 9,00

Tab. 24 Rezultati određivanja Cr (VI)- Uzorak 2, pH = 9,00

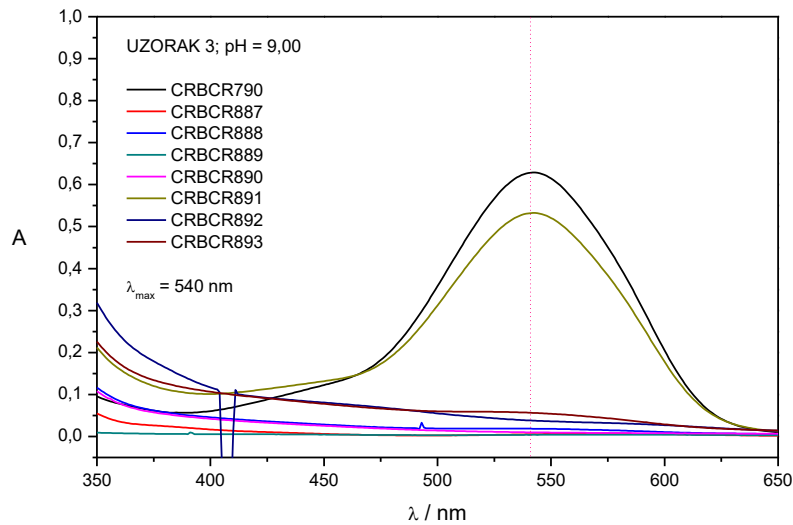
Naziv spektra	Oznaka i opis uzorka	pH	A	Napomena	Sadržaj kroma	Iskorištenje
B - Crbcr790	St.otop. Cr – 1 ppm Cr		0,6279		1,03 ppm	100 %
Crbcr864	S1-2	9,00	0,0065			
Crbcr865	S2-2	9,00	0,0304	mjehurići Prisutan Cr!	15,0 mg/kg	
Crbcr866	A2-2	9,00	0,0025	mjehurići		
Crbcr867	SP_2	9,00	0,0104	mjehurići		
Crbcr869	M.E.2*	9,00	0,5137		0,83 ppm	81 %
Crbcr871	Ekstrakt uz. 2, bez H <sub>3</sub> PO <sub>4</sub> i DFK	9,00	0,0288			

\*M.E. – utjecaj matice (matriks efekt): ekstrakt + 1 ppm Cr + H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> + DFK

- pH (nakon ekstrakcije pri pH 9) = 8,72



### 4.2.3. Uzorak 3, pH = 9,00



Sl. 32 Apsorpcijske krivulje; Uzorak 3, pH = 9,00

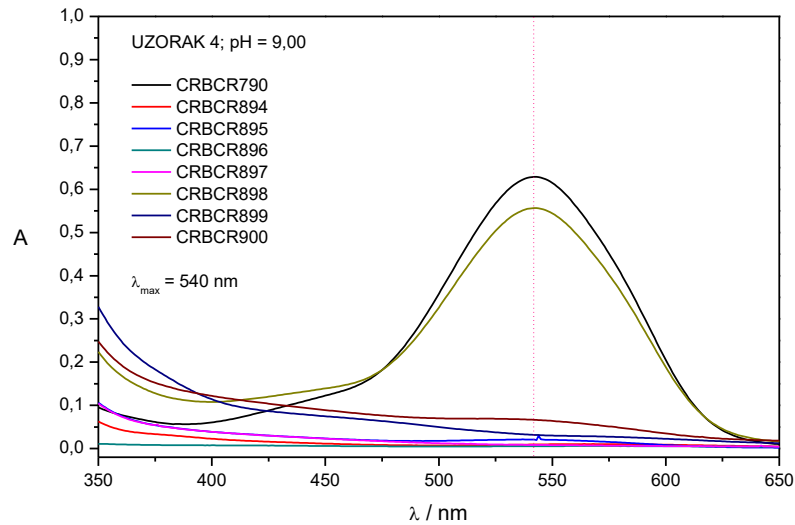
Tab. 25 Rezultati određivanja Cr (VI)- Uzorak 3, pH = 9,00

Naziv spektra	Oznaka i opis uzorka	pH	A	Napomena	Sadržaj kroma	Iskorištenje
B - Crbcr790	St.otop. Cr – 1 ppm Cr		0,6279		1,03 ppm	100 %
Crbcr887	S1-3	9,00	0,0052			
Crbcr888	S2-3	9,00	0,0187	mjehurići Prisutan Cr!	7,9 mg/kg	
Crbcr889	A1-3	9,00	0,0039	mjehurići		
Crbcr890	SP_3	9,00	0,0099	mjehurići		
Crbcr891	M.E.3*	9,00	0,5315		0,87 ppm	84 %
Crbcr892	Ekstrakt uz. 3, bez H <sub>3</sub> PO <sub>4</sub> i DFK	9,00	0,0384			
Crbcr893	Ekstrakt uz. 3, + H <sub>3</sub> PO <sub>4</sub> + DFK – bez SPE	9,00	0,0568	mjehurići		

\*M.E. – utjecaj matice (matriks efekt): ekstrakt + 1 ppm Cr + H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> + DFK

- pH (nakon ekstrakcije pri pH 9) = 8,78

#### 4.2.4. Uzorak 4, pH = 9,00



Sl. 33 Apsorpcijske krivulje; Uzorak 4, pH = 9,00

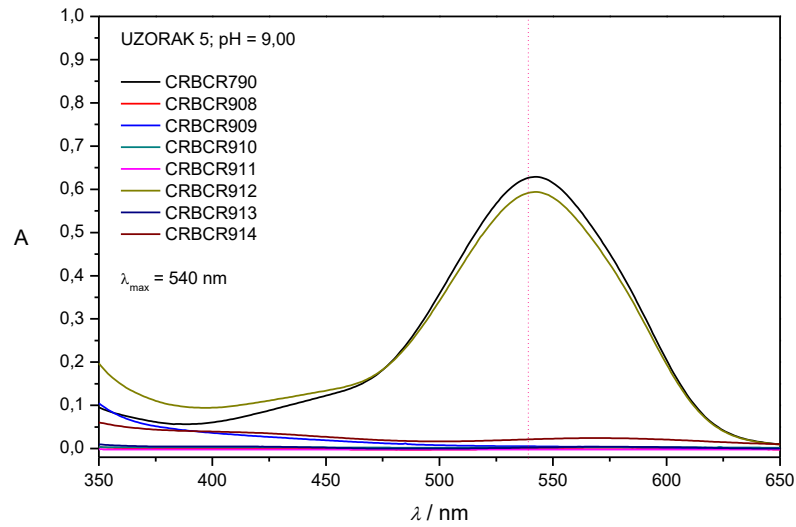
Tab. 26 Rezultati određivanja Cr (VI)- Uzorak 4, pH = 9,00

Naziv spektra	Oznaka i opis uzorka	pH	A	Napomena	Sadržaj kroma	Iskorištenje
B - Crbcr790	St.otop. Cr – 1 ppm Cr		0,6279		1,03 ppm	100 %
Crbcr894	S1-4	9,00	0,0093			
Crbcr895	S2-4	9,00	0,0210	mjehurići Prisutan Cr!	18,4 mg/kg	
Crbcr896	A1-4	9,00	0,0552	mjehurići		
Crbcr897	SP_4	9,00	0,0086			
Crbcr898	M.E.4*	9,00	0,5554		0,91 ppm	88 %
Crbcr899	Ekstrakt uz. 4, bez H <sub>3</sub> PO <sub>4</sub> i DFK	9,00	0,0323			
Crbcr900	Ekstrakt uz. 4, + H <sub>3</sub> PO <sub>4</sub> + DFK – bez SPE	9,00	0,0667			

\*M.E. – utjecaj matice (matriks efekt): ekstrakt + 1 ppm Cr + H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> + DFK

- pH (nakon ekstrakcije pri pH 9) = 8,78

#### 4.2.5. Uzorak 5, pH = 9,00



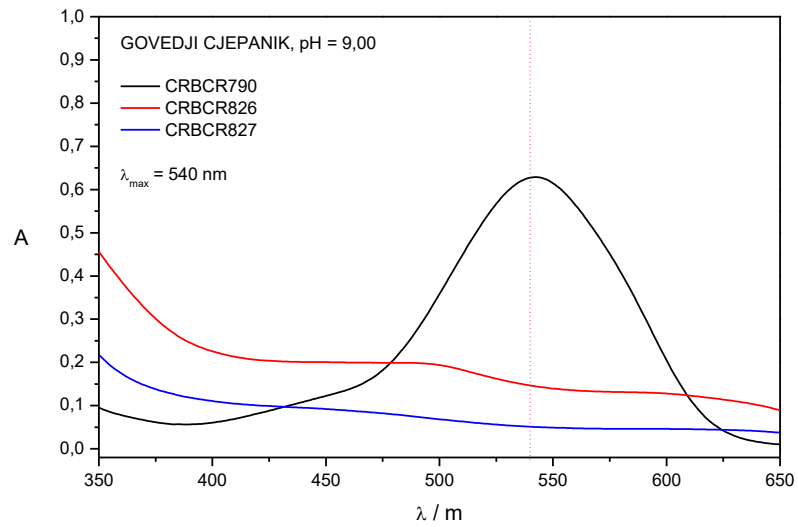
Sl. 34 Apsorpcijske krivulje; Uzorak 5, pH = 9,00

Tab. 27 Rezultati određivanja Cr (VI)- Uzorak 5, pH = 9,00

Naziv spektra	Oznaka i opis uzorka	pH	A	Sadržaj kroma	Iskorištenje
B - Crbcr790	St.otop. Cr – 1 ppm Cr		0,6279	1,03 ppm	100 %
Crbcr908	S1-5	9,00	0,0001		
Crbcr909	S2-5	9,00	0,0052	< 3 mg/kg	
Crbcr910	A1-5	9,00	0,0026		
Crbcr911	SP_5	9,00	≈0,000		
Crbcr912	M.E.5*	9,00	0,5930	0,97 ppm	94 %
Crbcr913	Ekstrakt uz. 5, bez H <sub>3</sub> PO <sub>4</sub> i DFK	9,00	0,0025		
Crbcr914	Ekstrakt uz. 5, + H <sub>3</sub> PO <sub>4</sub> + DFK – bez SPE	9,00	0,0021		

\*M.E. – utjecaj matrice (matriks efekt): ekstrakt + 1 ppm Cr + H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> + DFK  
- pH (nakon ekstrakcije pri pH 9) = 8,70

#### 4.2.6. Uzorak GOVEDJI CJEPANIK, GC, pH = 9,00

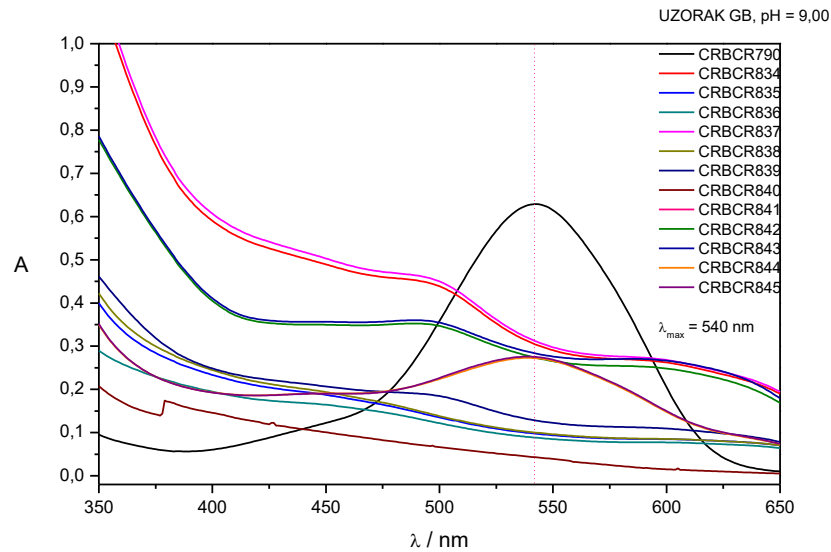


Sl. 35 Apsorpcijske krivulje; Uzorak GC, pH = 9,00

Tab. 28 Rezultati određivanja Cr (VI)- Uzorak GC, pH = 9,00

Naziv spektra	Oznaka i opis uzorka	pH	A	Napomena
B - Crbcr790	St.otop. Cr – 1 ppm Cr		0,6279	
Crbcr826	Ekstrakt-1 + H <sub>3</sub> PO <sub>4</sub> + DFK	9,00	0,1466	
Crbcr827	Ekstrakt-2 + H <sub>3</sub> PO <sub>4</sub> + DFK	9,00	0,0512	

#### 4.2.7. GOVEDI BLANK, GB, pH = 9,00



Sl. 36 Apsorpcijske krivulje; Uzorak GB, pH = 9,00

Tab. 29 Rezultati određivanja Cr (VI)- Uzorak GB, pH = 9,00

Naziv spektra	Oznaka i opis uzorka	pH	A	Napomena	Sadržaj kroma	Iskorištenje
B - Crbcr790	St.otop. Cr – 1 ppm Cr		0,6279		1,03	100 %
Crbcr834	S1-1	9,00	0,3082			
Crbcr835	S2-1	9,00	0,0985	mjehurići		
Crbcr836	A2-1	9,00	0,0893			
Crbcr837	S1-2	9,00	0,3159	mjehurići		
Crbcr838	S2-2	9,00	0,1012	mjehurići		
Crbcr839	A2-2	9,00	0,1299	mjehurići		
Crbcr840	Pufer pH 9	9,00	0,0440	mjehurići		
Crbcr841	Ekstrakt - OBOJEN	9,00	1,7493	Izvan podr.		
Crbcr842	ME S1-1 + 1 ppm Cr (VI), bez DFK	9,00	0,2762	Nema max		
Crbcr843	ME S2-1 + 1 ppm Cr (VI), bez DFK	9,00	0,2858	Nema max		
Crbcr844	ME S1-2 - + 1 ppm Cr(VI) + DFK	9,00	0,2728		0,42 ppm	41 %
Crbcr845	ME S2-2 + 1 ppm Cr(VI) + DFK	9,00	0,2728		0,42 ppm	41 %

- pH (nakon ekstrakcije pri pH 9) = 8,85

#### 4.2.8. Sadržaj kroma (VI) u uzorcima kože

Tab. 30 Sadržaj kroma (VI) u uzorcima kože

Uzorak	pH=8	pH=9
1	10,8 mg/kg	14,0 mg/kg
2	11,2 mg/kg	15,0 mg/kg
3	< 3 mg/kg	7,9 mg/kg
4	< 3 mg/kg	18,4 mg/kg
5	< 3 mg/kg	< 3 mg/kg
GC	< 3 mg/kg	< 3 mg/kg
GB	n.o.	n.o.

n.o. - nije moguće odrediti zbog intenzivnog razvijanja mjehurića

#### 4.2.9. Utjecaj matice na određivanje kroma (VI)

Tab. 31 Utjecaj matice na određivanje kroma (VI)

Uzorak	pH=8			pH=9		
	Apsorbancija	Koncentracija	Iskorištenje	Apsorbancija	Koncentracija	Iskorištenje
1	$A_0 = 0,6279$	1,03 ppm	100 %	$A_0 = 0,6279$	1,03 ppm	100 %
	$A_1 = 0,6214$	1,02 ppm	99 %	$A_1 = 0,5710$	0,95 ppm	90 %
2	$A_0 = 0,6279$	1,03 ppm	100 %	$A_0 = 0,6279$	1,03 ppm	100 %
	$A_1 = 0,6071$	0,99 ppm	96 %	$A_1 = 0,5137$	0,83 ppm	81 %
3	$A_0 = 0,6279$	1,03 ppm	100 %	$A_0 = 0,6279$	1,03 ppm	100 %
	$A_1 = 0,5699$	0,93 ppm	90 %	$A_1 = 0,5315$	0,87 ppm	84 %
4	$A_0 = 0,6279$	1,03 ppm	100 %	$A_0 = 0,6279$	1,03 ppm	100 %
	$A_1 = 0,5691$	0,93 ppm	90 %	$A_1 = 0,5554$	0,91 ppm	88 %
5	$A_0 = 0,6279$	1,03 ppm	100 %	$A_0 = 0,6279$	1,03 ppm	100 %
	$A_1 = 0,6046$	0,99 ppm	96 %	$A_1 = 0,5930$	0,97 ppm	94 %
GC	$A_0 = 0,6279$	1,03 ppm	100 %	$A_0 = 0,6279$	1,03 ppm	100 %
	$A_1 = 0,6046$	0,99 ppm	96 %	n.p.		
GB	$A_0 = 0,6279$	1,03 ppm	100 %	$A_0 = 0,6279$	1,03 ppm	100 %
	n.p.			$A_1 = 0,2728$	0,42 ppm	41 %

3. n.p. nije primjenjivo

## 5. ZAKLJUČAK

Štavljenje je najznačajniji tehnološki proces obrade kože te kao takav ima veliko značenje za dobivanje brojnih svojstava kože. Kvaliteta uštavljene kože ovisit će o mnogo čimbenika, među kojima je i sredstvo štavljenja. Kako se postupkom kromnog štavljenja dobivaju izvrsne karakteristike koža, ono se vrlo često primjenjuje. Stoga je krom redoviti pratilac procesa štavljenja. Poznato je da je trovalentni krom kojim se provodi štavljenje relativno netoksičan, dok šesterovalentni krom uzrokuje oštećenje na ljudskoj koži i u dišnim organima te je dokazano njegovo kancerogeno djelovanje. Zbog svoje štetnosti na zdravlje čovjeka i okoliš, procese štavljenja je potrebno voditi tako da uz minimalne koncentracije kroma u procesu dođe do zadovoljavajućih učinaka štavljenja.

Moguća interakcija predmeta od kože sa ljudskom kožom nameće potrebu razvoja pouzdanih analitičkih metoda za određivanje sadržaja kroma (VI) u ekstraktima koji oponašaju ljudski znoj. S druge strane, zbog prepoznate i dokazane štetnosti kroma, pogotovo njegovog šesterovalentnog oblika, maksimalno dopuštene koncentracije tog metala jasno su definirane zakonskom regulativom te se temeljem podataka o sadržaju kroma, procjenjuje/ocjenjuje sukladnost proizvoda od kože sa zakonskom regulativom koja bi morala biti manja od 3 mg/kg, a najbolje bi bilo da Cr (VI) nije uopće prisutan.

U ovome radu spektrofotometrijski je ispitano sedam uzoraka koža pri dvije pH vrijednosti ekstrakta: pH 8 i pH 9. Rezultati ispitivanja su pokazali da je ekstrakcija pri pH vrijednosti 8 efikasnija i točnija te da je manje izražen utjecaj matice. U dva uzorka je prisutan krom (VI) i to u koncentracijama većima od 3 mg/kg.

Spektrofotometrijsko određivanje kroma (VI) sa difenilkarbazidom u uzorcima koža relativno je pouzdana metoda, podložna brojnim interferencijama koje se prije dodatka reagensa moraju ukloniti. U ovome radu obojenje ekstrakta uspješno je uklonjeno za šest od sedam uzoraka koža metodom ekstrakcije na čvrstim nosačima. Unatoč uklonjenom obojenju, prisutan je znatan utjecaj same matice na rezultate ispitivanja, što se naročito uočava kod ekstrakata pri pH 9.

Iako su obje norme EN ISO 17075-1 i EN ISO 17075-2 prikladne za određivanje sadržaja kroma (VI), za očekivati je da se će kromatografska metoda EN ISO 17075-2 zbog manjeg utjecaja matice na rezultate ispitivanja u budućnosti sve više koristiti u tu svrhu.

## 6. LITERATURA

- [1] Tonetti, A.; Montarsolo, R.; Innocenti, R.: *Extraction of chromium from dyed textiles by means of artificial skin surface film liquid*, 6th Central European Conference 2010, Bratislava, Slovak Republic **13-14**. (2010)
- [2] Gregurić, H.; Vuković, T.; Bajza, Ž.: *Tehnologija kože i krzna*, 1. izdanje, Zajednica kemijskih, obučarskih, gumarskih i rudarskih organizacija udruženog rada odgoja i usmjerenog obrazovanja SR Hrvatske, Zagreb, (1985)
- [3] Lovell, C.; Chromium VI method updated, SATRA Bulletin, (2017), str. 38
- [4] Stefaniak, A.B.; Harvey, C.J.; *Dissolution of materials in artificial skin surface film liquids*, Toxicology in Vitro **20** (2006) 1265–1283
- [5] Filipović I., Lipanović, S.: *Opća i anorganska kemija*, Školska knjiga, Zagreb, (1984)
- [6] Medić – Šarić, M., Buhač, I., *Minerali i vitamini*, ITD d.o.o., Zagreb, (1997)
- [7] Charlot, G., *Les Reactions Chimiques en Solution, L'Analyse Qualitative Minerale*, Massonet CIE Editeurs, Paris (1969)
- [8] Gujić, N., *Validacija metode za spektrofotometrijsko određivanje kroma (VI)*, diplomski rad, Zagreb (2012) str. 14-20
- [9] *Pravilnik o načinima i uvjetima odlaganja otpada, kategorijama i uvjetima rada za odlagališta otpada*; NN 117/2007
- [10] Kanagaraj, J.etal, *Journal Of Cleaner Production*, Eco-friendly waste management strategies for green environment towards sustainable development in leather industry: a comprehensive review **89** (2015), str. 1-17
- [11] [https://www.oeko-tex.com/media/init\\_data/downloads/STANDARD%20100%20by%20OEKO-TEX%C2%AE%20-%20Limit%20Values%20and%20Individual%20Substances%20According%20to%20Appendices%204%20-%20205\\_en.pdf](https://www.oeko-tex.com/media/init_data/downloads/STANDARD%20100%20by%20OEKO-TEX%C2%AE%20-%20Limit%20Values%20and%20Individual%20Substances%20According%20to%20Appendices%204%20-%20205_en.pdf), pristupljeno 2018-12-11
- [12] *Pravilnik o parametrima sukladnosti, metodama analize, monitoringu i planovima sigurnosti vode za ljudsku potrošnju te načinu vođenja registra pravnih osoba koje obavljaju djelatnost javne vodoopskrbe*; NN 125/2017



- [13] *Pravilnik o graničnim vrijednostima emisija otpadnih voda*; (NN 80/13, 43/14, 27/15i 3/16)
- [14] Skoog, D.; West, D.; Holler, F. J.: *Osnove analitičke kemije*, Školska knjiga, Zagreb, (1999)
- [15] Schwedt, G.: *The Essential Guide to Analytical Chemistry*, John Wiley&Sons, New York, (1997)
- [16] <https://glossary.periodni.com/glosar.php?hr=Beerov+zakon>; Pristupljeno: 2018-10-11
- [17] Miller, J.N.; Miller, J.C.: *Statistics and Chemometrics for Analytical Chemistry*, 4th edition, Pearson Education Limited, ISBN 0 130 22888 5, London (2000)
- [18] Merck, E: *Organic Reagents for Trace Analysis*, Darmstadt, (1987)
- [19] Vojnović, B.: *Radni materijali s predavanja iz predmeta „Parametri analitičkog postupka“ ak.god 2017./2018.*, nastavna jedinica Analitički postupak; Tekstilno – tehnološki fakultet, Sveučilište u Zagrebu
- [20] Kaštelan-Macan, M.: *Kemijska analiza u sustavu kvalitete*, Školska knjiga, Zagreb, (2003)
- [21] Prezentacijski materijali: *Self-venting – a Different Concept*, D54IV001EN-A, Anton-Paar
- [22] HRN EN ISO 2418:2017; *Koža -- Kemijska, fizikalna i mehanička ispitivanja i ispitivanja postojanosti*
- [23] HRN EN ISO 17075-1:2007; *Koža - Kemijsko određivanje sadržaja kroma (VI) u koži – 1. dio: Kolorimetrijska metoda* (ISO 17075-1:2017; EN ISO 17075-1:2017)
- [24] *Instruction Manual Multiwave 3000*, Microwave Reaction System, Anton Paar
- [25] Chandra Babu et al, N.K.: *Screening of leather auxiliaries for their role in toxic hexavalent chromium formation in leather—posing potential health hazards*, Journal of Cleaner Production **13**, (2005), str. 1189–1195