

# Détermination spectrophotométrique du chrome dans les matières végétales = Spectrophotometric determination of chromium in plant material

Autor(en): **Ribaux, M. / Haerdi, W.**

Objektyp: **Article**

Zeitschrift: **Mitteilungen aus dem Gebiete der Lebensmitteluntersuchung und Hygiene = Travaux de chimie alimentaire et d'hygiène**

Band (Jahr): **77 (1986)**

Heft 4

PDF erstellt am: **12.07.2024**

Persistenter Link: <https://doi.org/10.5169/seals-983396>

## **Nutzungsbedingungen**

Die ETH-Bibliothek ist Anbieterin der digitalisierten Zeitschriften. Sie besitzt keine Urheberrechte an den Inhalten der Zeitschriften. Die Rechte liegen in der Regel bei den Herausgebern. Die auf der Plattform e-periodica veröffentlichten Dokumente stehen für nicht-kommerzielle Zwecke in Lehre und Forschung sowie für die private Nutzung frei zur Verfügung. Einzelne Dateien oder Ausdrucke aus diesem Angebot können zusammen mit diesen Nutzungsbedingungen und den korrekten Herkunftsbezeichnungen weitergegeben werden. Das Veröffentlichen von Bildern in Print- und Online-Publikationen ist nur mit vorheriger Genehmigung der Rechteinhaber erlaubt. Die systematische Speicherung von Teilen des elektronischen Angebots auf anderen Servern bedarf ebenfalls des schriftlichen Einverständnisses der Rechteinhaber.

## **Haftungsausschluss**

Alle Angaben erfolgen ohne Gewähr für Vollständigkeit oder Richtigkeit. Es wird keine Haftung übernommen für Schäden durch die Verwendung von Informationen aus diesem Online-Angebot oder durch das Fehlen von Informationen. Dies gilt auch für Inhalte Dritter, die über dieses Angebot zugänglich sind.

## Détermination spectrophotométrique du chrome dans les matières végétales

Spectrophotometric Determination of Chromium in Plant Material

*M. Ribaux et W. Haerdi*

Département de chimie minérale, analytique et appliquée de l'Université de Genève

### Introduction

En 1911 déjà, *Pfeil* (1) était confronté aux problèmes posés par le chrome dans l'environnement. En effet, il indiqua que 140 cas de cancers des poumons avaient été provoqués par des chromates. Actuellement, le caractère carcinogène, mutagène et teratogène du chrome est largement admis. Le nombre de publications et de symposiums qui lui sont consacrés en est la preuve (2, 3).

Le Cr(+VI) est l'état d'oxydation le plus souvent incriminé principalement à cause de son pouvoir oxydant et sa facilité à passer à travers les membranes biologiques. *Connet et Wetterhan* (4) ont décrit les mécanismes possibles de réduction de Cr(+VI) en Cr(+III) à l'intérieur du système cellulaire afin d'essayer de comprendre la carcinogénéité de cet élément.

Malgré la stabilité chimique de Cr(+III) et sa prépondérance à former des hydroxydes polynucléaires peu solubles et biologiquement inertes (5), sa présence dans l'environnement ne doit pas être négligée. En effet, il existe des conditions naturelles particulières dans lesquelles le Cr(+III) est oxydé en Cr(+VI) (6, 7) devenant ainsi un toxique potentiel.

Néanmoins, il ne faudrait pas que la toxicité dénoncée éclipse le caractère nécessaire du chrome. Il est considéré comme un oligo-élément impliqué dans le métabolisme des sucres notamment (8). Un composé organométallique du chrome agit en synergie avec l'insuline pour dégrader le glucose (9).

L'aspect aussi bien vital que toxique du chrome a rendu nécessaire la détermination quantitative et qualitative de celui-ci dans divers milieux naturels. Malheureusement, l'analyse de cet élément est compliquée par des effets de matrices importants, par sa faible concentration dans les milieux biologiques, par l'éventuelle volatilité de certains complexes du chrome, par la propriété inhérente à ces complexes de se lier de manière non spécifique aux différents récipients et instruments ainsi que par les problèmes de contaminations, notamment pendant l'échantillonnage (9). De nombreuses méthodes analytiques ont été développées,

mais toutes souffrent d'inconvénients plus ou moins importants selon le milieu dans lequel le chrome doit être déterminé.

Les principales sont la spectrophotométrie d'absorption atomique (avec ou sans flamme), les méthodes photométriques, l'activation neutronique, la coulométrie, la polarographie, la fluorescence de rayons X, la chromatographie liquide haute performance, la chromatographie gaz-liquide, la chimiluminescence, la spectroscopie d'émission de plasma, la spectroscopie d'émission d'arc et la spectrographie de masse avec étincelle. Une description critique de ces méthodes a été faite par *Fishbein* (10), mais depuis cet article, des améliorations dans le domaine de la chromatographie liquide haute performance ainsi que l'utilisation de l'effet Zeemann en absorption atomique ont été publiées.

En chromatographie liquide haute performance, la formation de complexes entre le chrome et un dithiocarbamate est à la base de la séparation. Des essais avaient déjà été entrepris par *Schwedt* (11) qui faisaient ressortir l'apparition de pics chromatographiques non identifiés. *Bond* et *Wallace* (12) améliorèrent la méthode en changeant de détecteur et identifièrent les pics «inconnus». Dans une étude récente (13), ces mêmes auteurs ont étudié plusieurs modes de formation du complexe Cr-dithiocarbamate, mais malheureusement l'application à un échantillon environnemental n'a pas été faite. Une autre voie par chromatographie liquide a été explorée par *Hoshino* et *Yotsuyanagi* (15). Ils ont étudié la détermination de traces de Cr(+III) sur phase inversée basée sur la formation d'un composé coloré avec le 4-(2-pyridylazo) resorcinol en présence de triethanolamine. La sensibilité en présence de ions minéraux est de l'ordre de 100–200 ng/cm<sup>3</sup>. Cette analyse est relativement lente et n'a été appliquée qu'à des milieux synthétiques. L'utilisation de l'effet Zeemann en spectroscopie d'absorption atomique semble (dans certains cas) permettre l'analyse directe, sans dissolution de l'échantillon (14). Le point délicat de la méthode paraît être l'inhomogénéité de la prise à analyser. La sensibilité pour le Cr sur 10 ng de prise varie de 0,02 à 5 µg/g selon le type d'échantillon.

Comme l'indique la littérature, la plupart des méthodes d'analyse du chrome sont relativement sophistiquées, faisant appel à un appareillage coûteux, donc pas toujours disponible. Nous nous sommes proposés de développer une technique déjà ancienne, mais qui a l'avantage d'être facilement accessible dans tous les laboratoires d'analyse. Il s'agit de la spectrophotométrie.

Le Cr(+VI) forme avec le diphenylcarbazide un complexe de coloration magenta ( $\lambda_{\text{max}} = 546 \text{ nm}$ ) dont le coefficient d'extinction molaire est d'environ  $4,10^4 \text{ cm}^{-1} \cdot \text{mol}^{-1}$  (16). Ce réactif fut déjà utilisé en 1900 par *Cazeneuve* (17). Les applications analytiques de cette réaction colorée furent nombreuses et chaque cas particulier faisait ressortir une difficulté quant à l'obtention d'un complexe de couleur suffisamment stable et d'intensité reproductible. En effet, le pH, la température, la présence d'ions étrangers (Fe, Mn) ou de restes organiques après une digestion incomplète de l'échantillon, la quantitativité de l'étape d'oxydation du Cr(+III) en Cr(+VI) (afin d'effectuer la réaction colorée) sont autant de facteurs critiques à l'élaboration du complexe. Afin de s'affranchir au maximum d'interférences, il a semblé judicieux d'effectuer une extraction du chrome par un solvant

organique et d'effectuer la réaction colorée directement dans ce solvant. De plus, une extraction permet une préconcentration qui dans certains cas peut s'avérer être utile.

*Abréviations:* AASF = absorption atomique sans flamme  
MIBK = méthylisobutylcétone  
MTCA = méthyltricaprylammonium chloride.

## Partie expérimentale

### *Réactifs*

Tous les réactifs utilisés proviennent de la maison Merck. Les acides sont de qualité «suprapur» et les autres réactifs de qualité «pro analysis».

### *Appareillages*

Toute la verrerie employée était en borosilicate, lavée avec de l'acétone, trempée une nuit dans l'acide nitrique 10% et rincée à l'eau déminéralisée.

Les valeurs de pH ont été déterminées à l'aide d'un pH-mètre Metrohm type E-520 muni d'une microélectrode combinée Metrohm (KCl 3M).

Les mesures colorimétriques ont été effectuées avec un spectrophotomètre «Eppendorf» muni d'une microfente et d'un filtre à bande passante de 546 nm. Le porte échantillon était une microcuve en quartz de 4 cm de long.

Le spectrophotomètre d'absorption atomique utilisé était un Perkin-Elmer 2280 muni d'un échantillonneur automatique AS-1 (injections de 20 microlitres), d'un programmeur de température pour le four en graphite HGA-500 et d'une lampe à cathode creuse de chrome Cathoden type 4uAX. La correction du bruit de fond était faite par une lampe à deutérium.

### *Mode opératoire*

#### *Minéralisation*

Environ 1 g d'échantillon préalablement séché à l'étuve à 80 °C est placé dans un ballon à long col de 250 ml (fig. 1.) en présence de 1 ml d'H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> et 5 ml d'HNO<sub>3</sub>. Laisser reposer une nuit. Faire chauffer doucement au début pour ne pas évaporer l'HNO<sub>3</sub>, puis faire distiller l'eau formée après un certain temps. Chauffer jusqu'à apparition des vapeurs de SO<sub>3</sub> et laisser revenir à température ambiante. Ajouter 2 ml d'HNO<sub>3</sub> et 2 ml d'HClO<sub>4</sub>, chauffer jusqu'à apparition des vapeurs de SO<sub>3</sub>. Si la solution est encore colorée, ajouter 1 ml d'HNO<sub>3</sub> et 1 ml d'HClO<sub>4</sub>, chauffer jusqu'aux vapeurs de SO<sub>3</sub> et à ce stade maintenir la température pendant encore 5 minutes pour bien détruire les derniers restes organiques

éventuels. Laisser refroidir. Ajouter 3 ml d'H<sub>2</sub>O, la distiller et répéter cette opération. Mettre l'échantillon minéralisé dans un ballon jaugé de 25 ml et compléter.

#### *Hydrofluoration* (pour échantillons à haute teneur en silice)

Après avoir ajouté les 3 ml d'H<sub>2</sub>O sur la fin de l'opération décrite sous «minéralisation», transvaser le minéralisat dans une capsule de platine et évaporer avec une lampe infra-rouge. Ajouter 1 ml d'HF et évaporer avec la lampe jusqu'à apparition des vapeurs de SO<sub>3</sub> puis laisser refroidir, reprendre avec un peu d'H<sub>2</sub>O, placer dans un ballon de 25 ml et compléter à volume.

#### *Détermination spectrophotométrique*

5 ml du minéralisat sont placés dans un tube à essai de 15 ml et amenés à pH 1,5–2 avec du NaOH 5M. Le tube, additionné de 0,5 ml de persulfate de sodium 0,1 M fraîchement préparé, est placé dans un bain-marie à ébullition pendant 15 minutes. Après que l'échantillon soit revenu à température ambiante et que son pH ait été contrôlé (pH 2), le placer dans une ampoule à extraire de 50 ml ainsi que 3 ml de MTCA (5% dans MIBK). L'ampoule est agitée une minute et repose un quart d'heure. La phase aqueuse est éliminée et la phase organique introduite dans un tube à centrifuger à l'aide d'une pipette Pasteur. Ajouter 0,5 ml d'HClO<sub>4</sub> 10%, 80 mg de diphénylcarbazide, agiter la solution et centrifuger. 2 ml de la phase organique sont prélevés et introduits dans une microcuve de mesure de 4 cm ainsi que 0,5 ml d'acétone. Homogénéiser la solution dans la cuve avec une pipette Pasteur et effectuer la mesure à 546 nm.

#### *Détermination par AASF*

Les mesures d'absorption atomique de Cr ont été faites à 357,9 nm avec une fente de 0,7 nm, un volume d'injection de 20 microlitres et en appliquant le programme de température indiqué sur le tableau 1.

Tableau 1. Programmation du four pour l'analyse du chrome

	Etapas			
	1	2	3	4
Température (°C)	150	1200	2500	2700
Ramp time (s)	10	10	0	1
Hold time (s)	10	20	3	2
Rec			-5	
Read			+	
Base line			-5	
Int flow (ml/min)	300	300	300*	300

\* Pour augmenter la sensibilité, le débit de l'étape 3 a été programmé à 50 ml/min lors du dosage d'échantillons contenant peu de chrome.

## Discussion

La littérature relative à la mise en solution et au dosage d'échantillons biologiques contenant du chrome fait état de résultats contradictoires. C'est la raison pour laquelle nous avons cultivé du «ray gras» sur un milieu marqué au  $^{51}\text{Cr}$  afin d'avoir l'isotope métabolisé par la plante (18). Ce matériel végétal marqué nous avait alors permis de contrôler les pertes éventuelles et rendements lors des différentes étapes de préparation de l'échantillon avant la détermination quantitative du chrome par une méthode physicochimique choisie. Plusieurs méthodes de minéralisation furent testées et nous en avons conclu que la voie humide en milieu  $\text{H}_2\text{SO}_4\text{-HNO}_3\text{-HClO}_4$  en vue d'un dosage spectrophotométrique de Cr était la plus adéquate (98% du Cr retenu). La voie sèche provoque notamment la formation d'oxydes de chrome insolubles rendant ce dernier inaccessible au dosage. Le mode opératoire décrit dans cet article ainsi que les différentes remarques sont le résultat de cette étude préliminaire (18).

La minéralisation d'échantillons végétaux supérieures à 0,5 g nécessite un appareillage comme celui indiqué sur la figure 1. Il est effectivement important d'utiliser un reflux afin de ne pas avoir à ajouter des volumes d'acides trop importants au risque d'élever la valeur du blanc. Pour la minéralisation d'échantillons végétaux d'environ 0,1 g, il n'est pas nécessaire d'utiliser un reflux, aucune perte de chrome n'ayant été constaté en procédant ainsi (18). Il est important de distiller tout l'acide perchlorique sur la fin de la digestion et de laisser l'acide sulfurique à ébullition avant de reprendre le minéralisat avec de l'eau distillée. Une minéralisation poussée permet de venir à bout des derniers restes organiques ayant encore une activité chimique. En effet, ces restes seraient coextraits et perturberaient la formation et la stabilité du complexe coloré.

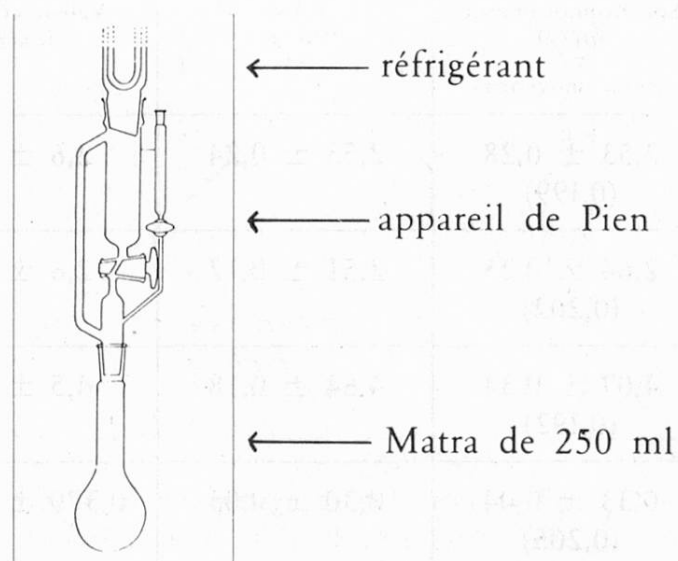


Fig. 1. Appareillage pour la décomposition de matières végétales. L'ensemble est chauffé par un bec Bunsen

Le système d'extraction MTCA/MIBK fonctionne sur le principe de la formation d'une paire d'ions entre le Cr(+VI) ( $\text{HCrO}_4^-$  ou  $\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-}$ ) et le MTCA. Il a été choisi car son rendement d'extraction (98%) n'est que très peu influencé par la présence d'ions étrangers (18, 20), contrairement au système HCl/MIBK généralement utilisé (21). Les ions provoquant une diminution de rendement d'extraction sont les nitrates et les perchlorates, mais ceux-ci ont été éliminés par distillation sous forme acide lors de la minéralisation. Un pH d'extraction de 2 est nécessaire afin d'assurer un rendement optimum (19). Le persulfate de sodium permettant l'oxydation du Cr(+III) en Cr(+VI) n'est pas utilisé ici en présence d'un sel d'argent, son catalyseur habituel. Ce dernier serait précipité par les chlorures apportés par le MTCA. Cette précipitation diminuerait l'effet catalytique, troublerait fortement le milieu et pourrait entraîner du chrome par coprécipitation. Une ébullition de 15 minutes permet en effet l'oxydation complète du chrome (18, 19).

### Applications

Le mode opératoire décrit a été appliqué à l'analyse de Cr dans plusieurs standards végétaux fournis par le NBS (National Bureau of Standards, Washington D. C.) ainsi que par *Bowen* (23). Les résultats des dosages de Cr par AASF, sont répertoriés dans le tableau 2.

L'AASF a été utilisée afin de permettre une comparaison avec les résultats déterminés par spectrophotométrie. Les quantités de chrome obtenues par les deux techniques analytiques sont comparables et correspondent bien aux valeurs certi-

Tableau 2. Teneurs en Cr de différents standards végétaux

Echantillon	Nombre d'essais	Spectrophotométrie ( $\mu\text{g/g}$ ) $\pm s^*$ (pente moyenne)	AASF ( $\mu\text{g/g}$ ) $\pm s$	Valeur certifiée ( $\mu\text{g/g}$ )
Pine Needles NBS 1575	6	$2,53 \pm 0,28$ (0,199)	$2,53 \pm 0,24$	$2,6 \pm 0,2$
Orchard Leaves NBS 1571	4	$2,64 \pm 0,25$ (0,202)	$2,51 \pm 0,12$	$2,6 \pm 0,3$
Tomato Leaves NBS 1573	4	$4,07 \pm 0,34$ (0,192)	$4,64 \pm 0,18$	$4,5 \pm 0,5$
Bowen's kale	3	$0,33 \pm 0,04$ (0,205)	$0,30 \pm 0,05$	$0,370 \pm 0,089$
*s : déviation standard				

fiées soit par le NBS, soit par Bowen. L'hydrofluoration n'a été appliquée qu'au standard NBS 1573 (feuilles de tomates) car ces dernières contiennent relativement beaucoup de silice. En effet, la silice est un adsorbant de divers éléments métalliques dont le chrome. Ces adsorptions peuvent être importantes, allant facilement jusqu'à 50%. C'est notamment le cas pour la minéralisation des feuilles de tomates (18). De tels phénomènes ont déjà été constatés par *Kumpulainen* (24), *Cary* (25), *Jones* (26), *Gorsuch* (27) et *Chao* (19). Même si le traitement à l'acide fluorhydrique n'élimine pas totalement la silice (sous forme de  $\text{SiF}_4$ ), la surface en est attaquée, ce qui suffit à remettre en solution les métaux adsorbés. Néanmoins, le traitement à l'acide fluorhydrique est délicat car des pertes de chromes sous forme de fluorure de chromyle ( $\text{CrO}_2\text{F}_2$ ) sont possibles, comme d'ailleurs postulées par *Dinnin* (28). Si les conditions d'hydrofluoration sont douces, les pertes sont au maximum de 5%. Par contre, des conditions plus sévères peuvent provoquer une volatilisation d'environ 10% (18).

Les résultats du tableau 2 ont été obtenus en effectuant pour chaque cas la droite d'étalonnage interne. Il est toutefois intéressant de constater que la pente de la droite moyenne d'étalonnage interne est tout à fait comparable à une droite d'étalonnage externe établie à l'aide de solutions acides de  $\text{CrCl}_3$  ou de  $(\text{NH}_4)_2\text{CrO}_4$  (fig. 2 et 3). La similitude entre les pentes des droites d'étalonnage interne

$[\text{Cr}^{+3}]$	Nombre d'essais	Absorbance A	Déviatoin standard
$1 \cdot 10^{-6}$ M	6	0,216	$\pm 0,012$
$2 \cdot 10^{-6}$ M	13	0,391	$\pm 0,015$
$3 \cdot 10^{-6}$ M	5	0,598	$\pm 0,008$
$4 \cdot 10^{-6}$ M	4	0,791	$\pm 0,006$

$[\text{CrO}_4^{-2}]$	A
$10^{-6}$ M	0,20
$2 \cdot 10^{-6}$ M	0,42
$3 \cdot 10^{-6}$ M	0,58
$4 \cdot 10^{-6}$ M	0,84

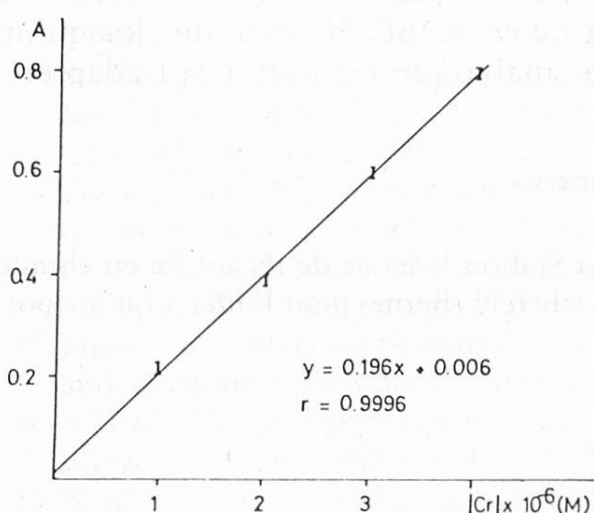


Fig. 2. Droite d'étalonnage de solutions de  $\text{CrCl}_3$  dans  $\text{HCl } 10^{-2}\text{M}$  (cuve: 4 cm, temps d'ébullition: 15 min, 0,5 ml de  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_8$  0,1M, réactif: diphénylcarbazine,  $\lambda = 546$  nm)

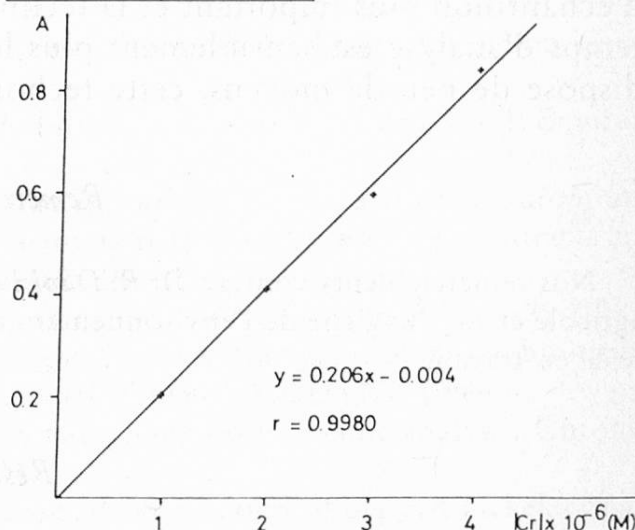


Fig. 3. Droite d'étalonnage de solutions de  $(\text{NH}_4)_2\text{CrO}_4$  dans  $\text{H}_2\text{SO}_4$   $0,5 \cdot 10^{-3}\text{M}$  (réactif: diphénylcarbazine,  $\lambda = 546$  nm)



et externe indique que grâce à une bonne minéralisation et à l'extraction, on s'est affranchi des effets de matrice.

La limite de dosage (selon la définition de IUPAC (29) et du «Subcommittee on Environmental Analytical Chemistry» de l'ACS (30)) de la technique spectrophotométrique proposée est de  $5 \cdot 10^{-7} \text{M}$  et celle de l'AASF est de  $2 \cdot 10^{-7} \text{M}$  (avec un débit d' $\text{N}_2$  de 300 ml/min) (18). On constate que ces limites sont proches. Néanmoins, il faut remarquer que, pour une mesure spectrophotométrique, il faut 5 ml d'échantillon, alors qu'en AASF, 0,02 ml suffisent. Ceci impliquent, dans le cas de la spectrophotométrie, un échantillon végétal de masse plus importante et par conséquent un temps de minéralisation plus long. En outre, une extraction est absolument nécessaire pour effectuer une mesure spectrophotométrique correcte. Cette étape n'est pas indispensable dans la cas de l'AASF. Le temps pour effectuer une analyse par spectrophotométrie est donc relativement plus long que par AASF. Il ne faut toutefois pas perdre de vue que l'AASF n'est pas totalement exempté d'inconvénients. On peut notamment constater que l'état de surface du four en graphite ainsi que les types d'acides injectés avec l'échantillon ont une réelle importance sur la valeur du signal d'absorption (18, 31).

### Conclusion

La méthode spectrophotométrique décrite permet un dosage du chrome à l'état de traces dans les matières végétales. La formation du complexe entre le chrome et le diphénylcarbazine en phase organique a permis l'obtention d'un composé stable et reproductible. La limite de dosage se situe vers  $5 \cdot 10^{-7} \text{M}$  et est comparable à celle obtenue en AASF. La mesure s'effectuant sur un volume d'échantillon plus important et la technique faisant intervenir une extraction, le temps d'analyse est sensiblement plus long qu'en AASF. Néanmoins, lorsqu'on dispose de peu de moyens, cette technique analytique est tout à fait adaptée.

### Remerciements

Nos remerciements vont au Dr R. Daniel de la Station fédérale de recherche en chimie agricole et sur l'hygiène de l'environnement de Liebefeld (Berne) pour l'intérêt qu'il a porté à ce travail.

### Résumé

Le dosage spectrophotométrique du chrome dans les matières végétales avec le diphényl-1,5 carbazine a été amélioré. Une extraction dans un solvant organique suivie de la mesure spectrophotométrique a permis d'obtenir des résultats stables, reproductibles et précis. Cette méthode a été appliquée à diverses matières végétales, et les teneurs obtenues sont comparables aux valeurs certifiées.

## Zusammenfassung

Die spektrophotometrische Chrombestimmung im pflanzlichen Material mit 1,5-Diphenylcarbazid wurde verbessert. Durch Extraktion in einem organischen Lösungsmittel und anschließende spektrophotometrische Messung konnten reproduzierbare und genaue Resultate erzielt werden. Diese Methode wurde für verschiedenes pflanzliches Standardmaterial angewendet, wobei die erhaltenen Resultate mit den deklarierten Werten vergleichbar sind.

## Summary

The spectrophotometric determination of chromium in plant material using 1,5-diphenylcarbazide was improved. This was achieved by extraction of chromium in an organic phase followed by spectrometric measurement. The method was applied to some standard biological materials and the results obtained were found to be quantitative and reproducible.

## Bibliographie

1. *Eckhardt*: Industrial carcinogens, p. 6. Grune and Stratton, New-York 1959.
2. *Bianchi, V. and Lewis, A. G.*: Mechanisms of chromium genotoxicity. *Toxicol. Environm. Chem.* **9**, 1–25 (1984).
3. *Merian, E., Frei, R. W., Haerdi, W. and Schlatter, Ch.*: Carcinogenic and mutagenic metal compounds. Current topics in environmental and toxicological chemistry, vol. 8. Gordon and Breach Science Publishers, New York 1985.
4. *Connet, P. H. and Wetterhan, K. E.*: Metabolism of the carcinogen chromate by cellular constituents. *Structure and Bonding* **54**, 93–124 (1983).
5. *Mertz, W.*: Chromium occurrence and function in biological systems. *Physiol. Rev.* **49**, 163–239 (1969).
6. *Bartlett, R. J. and Kimble, J. M.*: Behavior of chromium in soils I and II. *J. Environ. Qual.* **5**, 379–386 (1976).
7. *James, B. R. and Bartlett, R. J.*: Behavior of chromium in soils V, VI and VII. *J. Environ. Qual.* **12**, 169–181 (1983).
8. *Toepfer, E. W., Mertz, W., Polansky, M. M. and Roginski, E. E.*: Preparation of chromium-containing material of glucose tolerance factor activity from brewer's yeast extracts and by synthesis. *J. Agric. Food Chem.* **25**, 162–166 (1977).
9. *Anderson, R. A.*: Nutritional role of chromium. *Sci. Total Environ.* **17**, 13–29 (1981).
10. *Fishbein, L.*: Overview of analysis of carcinogenic and/or mutagenic metals in biological and environmental samples. *J. Environ. Anal. Chem.* **17**, 113–170 (1984).
11. *Schwedt, G.*: High-performance liquid chromatography in inorganic analysis. *Chromatographia* **12**, 613–619 (1979).
12. *Bond, A. M. and Wallace, G. G.*: Simultaneous determination of copper, nickel, cobalt, chromium (VI) and chromium (III) by liquid chromatography with electrochemical detection. *Anal. Chem.* **54**, 1706–1712 (1982).
13. *Bond, A. M. and Wallace, G. G.*: Preparation of metal dithiocarbamate complexes for chromatographic separation and multi-element determinations. *Anal. Chim. Acta* **164**, 223–232 (1984).

14. *Rosopulo, A., Grobecker, K.-H. und Kurfürst, Z.*: Untersuchungen über die Schwermetallanalyse in Feststoffen mit der direkten Zeeman-Atom-Absorptionsspektroskopie Teil IV. *Z. Anal. Chem.* **319**, 540–546 (1984).
15. *Hoshino, H. and Yotsutsuyanagi, T.*: Selective determination of trace level chromium(III) by ion-pair reversed-phase high-performance liquid chromatography based on color formation with 4-(2-pyrylazo) resorcinol in the presence of triethanolamine. *Anal. Chem.* **57**, 625–628 (1985).
16. *Meites, L.*: Handbook of analytical chemistry, p. 6–25. Mc Graw-Hill, New York 1963.
17. *Cazeneuve, A.*: Sur la diphénylcarbazine, réactif très sensible de quelques composés métalliques: cuivre, mercure, fer au maximum, acide chromique. *Bull. Soc. Chim.* **23**, 701–706 (1900).
18. *Ribaux, M.*: Etude de la détermination quantitative du chrome dans les matières végétales, thèse n° 2136, Faculté des sciences de l'Université de Genève, 1984.
19. *Chao, S. S. and Pickett, E. E.*: Trace chromium determination by furnace atomic absorption spectrometry following enrichment by extraction. *Anal. Chem.* **52**, 335–339 (1980).
20. *Adam, J. and Pribil, R.*: Extraction with long-chain amines II. *Talanta* **18**, 91–95 (1971).
21. *Cresser, M.*: Solvent extraction in flame spectroscopic analysis, p. 105. Butterworths, London 1978.
22. *Agterbendos, J., Van Broekhoven, L., Jütte, B. A. H. G. and Schuring, J.*: Spectrophotometric determination of 0–50 ng of chromium in 1 ml of human serum. *Talanta* **19**, 341–345 (1972).
23. *Bowen, H. J. M.*: Problems in the elementary analysis of standard biological materials. *J. Radioanal. Chem.* **19**, 215–226 (1974).
24. *Kumpulainen, J. T., Wolf, W. R., Veillon, C. and Mertz, W.*: Determination of chromium in selected United States diets. *J. Agric. Food Chem.* **27**, 490–494 (1979).
25. *Cary, E. E. and Olson, O. E.*: Atomic absorption spectrophotometric determination of chromium in plants. *J. Assoc. Off. Anal. Chemists* **58**, 433–435 (1975).
26. *Jones, G. B., Buckley, R. A. and Chandler, C. S.*: The volatility of chromium from brewer's yeast during assay. *Anal. Chim. Acta* **80**, 389–392 (1975).
27. *Gorsuch, T. T.*: Radiochemical investigation on the recovery for analysis of trace elements in organic and biological materials. *Analyst* **84**, 135–173 (1959).
28. *Dinnin, J. I.*: Rapid analysis of chromite and chrome ore. *US Geol. Surv. Bull.* **1084-B**, 31–68 (1959).
29. *Long, G. L. and Winefordner, J. D.*: Limit of detection. A closer look at the IUPAC definition. *Anal. Chem.* **55**, 712A–724A (1983).
30. *ACS Committee on Environmental Improvement*: Guidelines for data acquisition and data quality evaluation in environmental chemistry. *Anal. Chem.* **52**, 2242–2249 (1980).
31. *Harnly, J. H. and Kane, J. S.*: Optimization of electrothermal atomization parameters for simultaneous multielements, atomic absorption spectrometry. *Anal. Chem.* **56**, 48–54 (1984).

Dr M. Ribaux  
 Centre horticole de Lullier  
 Ecole d'ingénieurs  
 CH-1254 Lullier

Prof. Dr W. Haerdi  
 Département de chimie minérale, analytique  
 et appliquée de l'Université  
 Science II  
 30, Quai Ernest-Ansermet  
 CH-1211 Genève 4