

ist die Übereinstimmung des Atomabstandes S ... S und Me ... Me natürlich noch nicht ausreichend für eine Inhibitorwirkung. Es gehören dazu, wie oben schon erwähnt, noch Affinität, günstige Löslichkeitsverhältnisse, nicht zu große Reduzierbarkeit usw.

Wie verwickelt die Faktoren ineinanderspielen, zeigt das Beispiel des Propylen-trithiocarbonats, das trotz seiner strukturellen Ähnlichkeit mit den Trithionen bei Zink in HCl einen ausgezeichneten Schutz bietet, während die Trithione hier völlig versagen.

Erinnert sei zum Schluß noch an die von *Prelog*<sup>29)</sup> angegebene morphologische Deutung für seine elegante Ausnutzung der Acyloin-Synthese aus Diestern und Natrium zur Gewinnung sonst äußerst schwer zugänglicher mittelgroßer Ringsysteme. Unsere Auffassung unterscheidet sich von der *Prelogschen* nur darin, daß wir das Einfangen des Metallelektrons am O annehmen, *Prelog* am C.

Wir hoffen, mit diesen Ausführungen gezeigt zu haben, daß die chemische, die moderne stereochemische und die elektronentheoretische Erfahrung das Verständnis der Inhibitorwirkung vertiefen kann. Die Stereochemie wird auch heute noch viel zu einseitig lediglich auf die Einzelmolekel bezogen. Die Kenntnis quantitativer Größen, die uns die Strukturphysik schenkte, wird, so will uns scheinen, vom Chemiker, Physiologen und Pharmakologen noch immer zu wenig verwertet. 1937 gaben wir Abbildungen von *Stuartschen* Kalottenmodellen und versuchten, deren

<sup>29)</sup> V. *Prelog*, L. *Frenkiel*, M. *Kobelt* u. P. *Barman*, Helv. Chim. Acta 30, 1741 [1947]. Anm. bei der Korrektur: K. *Ziegler* hat die Hydrierung von Butadien an Na zu *cis*-Buten an Hand morphologischer und Abstands-Betrachtungen gedeutet; Handbuch der Katalyse (Schwab) VII, 1. Hälfte, S. 121. (Springer, Wien 1943).

Bedeutung für den organischen Chemiker nachzuweisen<sup>30)</sup>; es hat eines Jahrzehnts bedurft, bis sie allgemein erkannt wurde. Es gilt, eine *Hetero-Stereochemie* aufzubauen; die doch weitgehend erforschten Tatsachen über Molekellbau, Abstands- und Winkelwerte müssen dem Studium der Reaktionen zwischen verschiedenen Molekülen, homogenen und heterogenen, prinzipiell zu Grunde gelegt werden. *K. Freudenberg* gab den befruchtenden Anstoß zum Studium der Einschlußverbindungen (Literaturübersicht bei *Bengen*<sup>31)</sup>, *Schlenk jr.*<sup>32)</sup>, *Powell*<sup>33)</sup>, *Cramer*<sup>34)</sup>), an Hand raumerfüllender Modelle; *Eucken* und *Wicke*<sup>35)</sup>, verdanken wir wertvolle Hinweise auf geometrische Faktoren bei der heterogenen Katalyse, über die *Griffith*<sup>36)</sup> den ersten Versuch einer Zusammenstellung machte. In der Pharmakologie deutet sich allenfalls (Östrogene, Stoffe mit Curarewirkung u. a.) die Bedeutung geometrischer Faktoren an; hier und in der Physiologie dürften molekulare Dimensionen und innermolekulare Abstände den ersten Steckbrief zur Ermittlung des oft noch unbekannten Substrats am Wirkungsort geben. Sehr weit ist der Chemiker in der Synthese von Pharmaka noch entfernt vom Wirken eines unter Benutzung lauter bekannter Faktoren konstruktiv arbeitenden Ingenieurs. Auf dem Gebiet der Inhibitoren dürfte die Prognose ein wenig optimistischer liegen. Inhibitorenchemie und Pharmakologie stehen nicht ganz so entfernt, wie es bei oberflächlicher Betrachtung erscheint.

Eintrag am 9. September 1952 [A 460]

<sup>30)</sup> A. *Lüttringhaus*, Liebigs Ann. Chem. 528, 181 [1937].

<sup>31)</sup> M. F. *Bengen*, diese Ztschr. 63, 207 [1951].

<sup>32)</sup> W. *Schlenk jr.*, Fortschr. chem. Forschg. 2, 92 [1951].

<sup>33)</sup> H. M. *Powell*, Nature [London] 168, 11 [1951].

<sup>34)</sup> Fr. *Cramer*, diese Ztschr. 64, 437 [1952].

<sup>35)</sup> z. B. E. *Wicke*, Z. Elektrochem. angew. physik. Chem. 53, 279, 288 [1949].

<sup>36)</sup> R. H. *Griffith*: in „The Mechanism of Contact Catalysis“, 2nd Edition, Oxford University Press 1946.

## Borsäure-Bestimmung in pflanzlichen und tierischen Produkten

Von Dr. WALTER OTTING, Heidelberg

Aus dem Max-Planck-Institut für medizinische Forschung, Heidelberg, Institut für Chemie

Es werden die verschiedenen Methoden zur Borsäure-Bestimmung und Veraschung von Substanzen auf ihre Brauchbarkeit zur Analyse pflanzlicher und tierischer Produkte untersucht. Die zur Analyse geeigneten Verfahren zur Aufarbeitung der Proben und zur Bor-Bestimmung werden genau beschrieben.

Während des ersten Weltkriegs reifte die Erkenntnis, daß geringe Mengen Borsäure zum Gedeihen mancher Pflanzen unbedingt notwendig sind, während eine zu große Menge Borsäure den Ertrag vieler Feldfrüchte stark herabsetzen kann. Deutschland ersetzte damals den Chilesalpeter durch synthetischen Natronsalpeter, der frei ist von Borsäure. Die USA konnten keine deutschen Kalisalze mehr einführen und waren gezwungen, kaliarme Salzlagerstätten abzubauen, die relativ reich an Borsäure waren, die auf diese Weise mit auf die Felder gelangte. Seit dieser Zeit sind viele Untersuchungen angestellt worden, die sich mit dem Einfluß kleinstter Borsäure-Mengen auf das Wachstum und den Ertrag der wichtigsten Kulturpflanzen befassen.

### A. Quantitative Bestimmungsmethoden von Borsäure

Zur quantitativen Bestimmung von Borsäure gibt es verschiedene Methoden, die sich aber für die Bor-Bestimmung in pflanzlichen und tierischen Produkten nicht alle eignen. Da noch kein für Borsäure spezifisches schwerlösliches Salz bekannt ist, das es erlaubt, Borsäure aus einer

größeren Menge anderer Substanzen selektiv abzuscheiden, muß zur gravimetrischen Borsäure-Bestimmung diese zunächst durch Abdestillation als Borsäure-methylester von den Fremdstoffen abgetrennt werden. Sie läßt sich dann durch Eindunsten des Destillats und Ausglühen des Rückstands in Gegenwart von  $MgO^1)$ ,  $CaO^2)$  oder  $Na_2WO_4 + WO_3^3)$  als  $B_2O_3$  wägen. Auch in Form von  $KBF_4$  wurde Borsäure gravimetrisch bestimmt<sup>4)</sup>. In Gegenwart von Weinsäure läßt sich Borat mit Barium in Form eines in Wasser schwer löslichen komplexen Bariumborotartrats der Zusammensetzung  $4(CO_2\text{--}CHOH\text{--}CHOH\text{--}CO_2)^2 \cdot 2(BO_2) \cdot 5Ba^{2+} \cdot 2H_2O$  fällen<sup>5, 6)</sup>. 1,55% des Niederschlags entfallen auf Bor, während der Bor-Gehalt in  $B_2O_3$  31% und in  $KBF_4$  8,6% beträgt. Alle diese

<sup>1)</sup> Th. *Rosenbladt*, Z. analyt. Chem. 26, 18 [1887].

<sup>2)</sup> F. A. *Gooch*, ebenda 26, 364 [1887].

<sup>3)</sup> F. A. *Gooch* u. L. C. *Jones*, Z. anorg. Chem. 19, 417 [1899].

<sup>4)</sup> C. *Thaddeeff*, Z. analyt. Chem. 36, 568 [1897].

<sup>5)</sup> J. A. *Gautier* u. P. *Pignard*, Mikrochen. 36/37, 793 [1951].

<sup>6)</sup> Die von J. A. *Gautier* und P. *Pignard*<sup>5)</sup> angegebene Summenformel  $Ba_5B_4C_{12}H_4O_4 \cdot 4H_2O$  stimmt nicht mit den angeführten Analysenwerten überein. Bei der Aufstellung der Formel wurde für Weinsäure  $(CO_2\text{--}CHOH\text{--}CO_2)^2$  statt  $(CO_2\text{--}CHOH\text{--}CHOH\text{--}CO_2)^2$  eingesetzt. Es errechnen sich 2 statt 4 Kristallwasser. Von den analytisch (durch Erhitzen der Substanz auf 300°C) gefundenen 6 Wasser-Molekülen entstammen 4 den 4 Weinsäuremolekülen.

Methoden sind zur Bestimmung der geringen Bor-Mengen, die in Pflanzen vorhanden sind, nicht geeignet.

Spektrographisch läßt sich Bor an Hand der Linien 2496,8 und 2497,7 Å noch in einer Konzentration von 0,0005%  $B_2O_3$  nachweisen<sup>7, 8)</sup>. Die quantitative Genauigkeit nach dieser Methode ist jedoch nicht so groß, wie man es von chemischen Methoden zu fordern gewohnt ist.

Die polarimetrische Borsäure-Bestimmung<sup>9)</sup> beruht auf der Beobachtung, daß das Drehungsvermögen einer wäßrigen Weinsäure-Lösung durch steigenden Zusatz von Borsäure erheblich vergrößert wird. Die Fehlergrenze beträgt bei völlig reinen Lösungen 0,25 mg  $H_3BO_3$  in 10 ml Lösung. Da aber auch verschiedene Salze die Drehung stark beeinflussen, muß deren Einfluß jedesmal berücksichtigt werden. Dadurch wird die Bestimmung noch unsicherer und ist für die Bor-Bestimmung in Pflanzen nicht geeignet.

In der quantitativen Makroanalyse wird Borsäure meistens volumetrisch bestimmt<sup>10)</sup>. Diese Bestimmung ist wohl die genaueste Analysenmethode für Borsäure. Sie beruht darauf, daß Borsäure eine sehr schwache Säure ist. Ihre Dissoziationskonstante für das erste  $H^+$  beträgt bei 20 °C  $k = 7 \cdot 10^{-10}$ . Setzt man zur Lösung jedoch einen mehrwertigen Alkohol zu wie Glycerin, Mannit oder Fructose, dann bildet sich ein Borsäure-Komplex, der sich gegen Phenolphthalein als einbasische Säure titrieren lässt.

Man neutralisiert die Lösung zunächst gegen Methylrot ( $pH$  5), gibt Mannit, Fructose oder eine reichliche Menge Glycerin zu und titriert weiter bis zum Umschlag von Phenolphthalein ( $pH$  8,2). Die Titration ist beendet, wenn auf weiteren Zusatz von Mannit die rosa Färbung des Phenolphthaleins nicht wieder verschwindet. Aus dem Laugenverbrauch von  $pH$  5–8,2 berechnet man die Borsäure-Menge. Die Genauigkeit dieser Bestimmung wird in der Makroanalyse nur durch reichliche Mengen von Sesquioxiden, Fluor,  $CO_2$  oder andere schwache Säuren gestört, die vorher entfernt werden müssen. Der Wirkungswert der Lauge wird in gleicher Weise gegen Försäure bestimmt, wobei sich als Urtitersubstanz Borax<sup>11)</sup> ( $Na_2B_4O_7 \cdot 10 H_2O$ ) besser eignet als Borsäure bzw.  $B_2O_3$ .

Dasselbe Verfahren ist auch in der Mikroanalyse anwendbar, jedoch sind nun verschiedene Vorsichtsmaßnahmen zu beachten. Zur Titration verwendet man nicht mehr 0,1 n, sondern 0,01 n oder 0,003 n Lauge.  $CO_2$  stört nun schon sehr stark, weil es nicht nur als schwache Säure mittitriert wird, sondern durch Mannit zu einer stärkeren komplexen Säure aktiviert werden kann. Dasselbe gilt für Kieselsäure, Phosphorsäure und andere schwache Säuren, vornehmlich schwache organische Säuren. Es ist daher notwendig, diese störenden Säuren nicht nur vor der Titration aus der Lösung zu entfernen, sondern auch die zur Titration verwendete Lauge muß frei davon sein. Ebenso muß während der Titration die Kohlensäure der Luft ferngehalten werden.

Die Herstellung völlig Kohlensäure-freier Natronlauge beschreiben O. Unverdorben und R. Fischer<sup>12)</sup>. Sie lösen Natriumhydroxyd in frisch ausgekochtem Wasser und setzen 5 % der Natriumhydroxyd-Menge an Fariumhydroxyd zu. Die Flasche wird mit einem doppelt durchbohrten Gummistopfen verschlossen. In der einen Bohrung steckt ein Natronkalkrohr mit Glashahnverschluß, in der anderen ein Heberohr, das bis fast auf den Boden der Flasche reicht und ebenfalls mit einem Hahn verschlossen ist.

<sup>7)</sup> V. M. Goldschmidt u. Cl. Peters, Nachr. Ges. Wiss. Göttingen, Math.-phys. Klasse 1932, 402 u. 1932, 528.

<sup>8)</sup> Da Elektrodenkohle selbst erhebliche Mengen Bor enthält, müssen Metallelektroden verwendet werden. Kupfer-Elektroden aus Elektrolytkupfer waren geeignet.

<sup>9)</sup> A. Rosenheim u. F. Leyser, Z. anorg. u. allgem. Chem. 119, 1 [1921].

<sup>10)</sup> H. Biltz u. W. Biltz: Ausführung quantitat. Analysen; 5. Auflage. Verlag S. Hirzel, Leipzig 1947, S. 412.

<sup>11)</sup> Ein gutes Handelsprodukt wird dreimal aus Wasser umkristallisiert und im Exsikkator über zerfließendem Natriumbromid bis zur Gewichtskonstanz getrocknet (rel. Dampfdruck 60%).

<sup>12)</sup> O. Unverdorben u. R. Fischer, Bodenkunde u. Pflanzenernähr. 13 (58), 177 [1939].

Die Flasche wird wiederholt umgeschüttelt und bis zur völligen Klärung stehengelassen. Die Lösung wird dann in eine mit kohlensäurefreier Luft gefüllte Flasche übergehebert, wobei die in die 1. Flasche eindringende Luft durch das Natronkalkrohr einströmt, somit kohlensäurefrei ist.

Zur Herstellung von 0,01 n Lauge wird eine Flasche unter denselben Vorsichtsmaßnahmen mit ausgekochtem Wasser gefüllt und eine entsprechende Menge der zuerst hergestellten Lauge zupipettiert. Dcm ausgekochten Wasser waren auf 4 l etwa 0,1 g Pariumhydroxyd zugesetzt. Es wurde nach der Klärung wie oben beschrieben in eine andere Flasche übergehebert und diente dann zur Herstellung der 0,01 n und 0,003 n Lauge. Die 0,003 n Lauge gewinnt man entsprechend aus der 0,01 n Lauge. Die so hergestellten Laugen sind frei von Kohlensäure, enthalten aber Bariumhydroxyd.

Kohlensäure-freie Lauge läßt sich auch bequem nach dem Preßlschen Annäherungsverfahren<sup>13)</sup> aus Öllauge herstellen. Öllauge ist eine 50 proz. Natronlauge, worin Natriumcarbonat unlöslich ist, das sich daher am Boden der Flasche absetzt. Zur Bereitung von 0,01 n NaOH gibt man in das mit Kohlensäure-freier Luft gefüllte 500 ml fassende Bürettestandgefäß 400 ml frisch ausgekochtes, destilliertes Wasser und 0,3 ml Öllauge. Man verschießt das Gefäß, schüttelt um und titriert die Lösung gegen 0,01 n HCl. Der Mehrgehalt an Lauge wird bis auf etwa 10 % durch Zugabe der berechneten Menge ausgekochten Wassers korrigiert und der Vorgang nochmals wiederholt.

Titriert wird die Borsäure-Lösung in Erlenmeyerkolben aus Borfreiem Glas oder Quarz. Zur Vertreibung der Kohlensäure wird die saure Lösung ausgekocht und nach Aufsetzen eines Natronkalkröhrchens abgekühlt. Man titriert unter Natronkalkverschluß. Das Büretteauslaufrohr ist durch einen kurzen Gummischlauch mit der Auslaufspitze verbunden. Die Auslaufspitze steckt in einem doppelt durchbohrten Gummistopfen, in dessen zweiter Bohrung sich ein Natronkalkrohr befindet. Mit diesem Gummistopfen wird das Titriergefäß während der Titration verschlossen. Eine Glasverle im Gummischlauch verschließt die Auslaufbürette. Durch Druck auf den Schlauch an dieser Stelle läßt sich der Zulauf von Lauge bei der Titration bequem regeln.

Es ist bekannt, daß Glasgefäße von Lauge angegriffen werden. Auf diese Weise gelangen die Bestandteile des Glases in die Lauge, von denen das Bor Anlaß zu Blindwerten gibt, die sich vor allem bei Spurenborbestimmungen bemerkbar machen. „Alkalibeständiges“ Jenaer Glas enthält 1,5 % Bor, Thüringer Glas 0,5 % Bor, Ruhrglas 0,4 % Bor. Bor-freies Geräteglas ist gegenwärtig in Deutschland nicht im Handel. Quarzgefäße sind einwandfrei. Man kann Glasgefäße innen paraffinieren und so vor dem Angriff der Laugen schützen. Die Paraffin-Schicht löst sich jedoch mit der Zeit ab. Es ist daher ratsam, vor allem bei Spurenborbestimmungen die Laugen öfter frisch herzustellen. Auch die Büretten mit dem Glasverlenverschluß im Gummischlauch sollen vor einer Bestimmungsserie mit frischer Lauge durchspült werden.

Ei Titration mit 0,01 n oder gar 0,003 n NaOH ist es nicht ratsam, mit zwei Indikatoren zu arbeiten, bei der Neutralisation also gegen Methylrot zu titrieren, bei der Borsäure-Bestimmung aber gegen Phenolphthalein. Um 50 ml Wasser von  $pH$  5 auf  $pH$  8,2 zu bringen, sind 0,19 ml 0,003 n NaOH notwendig. Das sind etwa 6 Tropfen. Von 0,01 n NaOH werden 2 Tropfen gebraucht. Verwendet man für beide Titrationen nur einen Indikator, z. B. Phenolphthalein<sup>12)</sup>, dann werden bei der ersten Neutralisation bei  $pH$  8,2 schon etwa 10 % der Borsäure mit erfaßt. Richtige Werte sind nur dann zu erhalten, wenn man den Wirkungswert der Lauge gegen Borsäure unter genau gleichen Bedingungen bestimmt. H. Schäfer und A. Sieverts<sup>14)</sup> titrieren gegen Bromkresolpurpur auf  $pH$  5,8 (schmutzigblaugrün im Tageslicht). Bei diesem  $pH$  werden weniger als 1 % der Borsäure neutralisiert. Um aber den Neutralpunkt des Borsäure-Komplexes ebenfalls auf  $pH$  5,8 zu bringen, ist nach H. Schäfer<sup>15)</sup> eine Konzentration von 1,5–2 Mol Mannit (270–360 g) oder Fructose im Liter notwendig. Fructose ist im Wasser sehr leicht löslich, doch ist sie sehr teuer. Mannit ist weniger löslich, doch bildet er übersättigte Lösungen. Man gibt daher zur Titration die notwendige Menge Mannit zur Lösung, kocht nach der Neutralisation auf, wobei der Mannit restlos gelöst wird, kühlst im Eisbad ab und läßt 3 min stehen. Die übersättigte Mannit-Lösung kann dann zu Ende titriert werden. Jeder Indikator hat ein bestimmtes Umschlagsgebiet. Bei Verwendung sehr verdünnter Maßlösungen für die Titration ist es oft günstiger, mit Mischindikatoren zu arbeiten, deren Farbe in einem viel engeren Bereich umschlägt. Bei der Titration sehr kleiner Mengen Borsäure hat sich ein Mischindikator aus 1 Teil Bromthymolblau-Natrium (0,15 % in Wasser) und 1 Teil Phenolrot-Natrium (0,1 % in Wasser) sehr bewährt. Im sauren Gebiet ist

<sup>13)</sup> F. Preßl, Z. analyt. Chem. 67, 23 [1925].

<sup>14)</sup> H. Schäfer u. A. Sieverts, Z. analyt. Chem. 121, 170 [1941].

<sup>15)</sup> H. Schäfer, Z. anorg. Chem. 247, 96 [1941].

der Indikator gelb, wird bei  $p_{\text{H}}$  7,2 schmutzig grün, bei  $p_{\text{H}}$  7,4 schwach violett und ist ab  $p_{\text{H}}$  7,6 stark violett. Die stärkste Farbänderung ist bei  $p_{\text{H}}$  7,5. Bei diesem  $p_{\text{H}}$  werden bei der ersten Titration etwa 2% Borsäure mit erfaßt. Da der Farbumschlag in einem sehr engen Bereich stattfindet, ist die Einstellung leicht reproduzierbar, so daß sich der Wirkungswert der Natronlauge gegen Borsäure relativ genau bestimmen läßt.

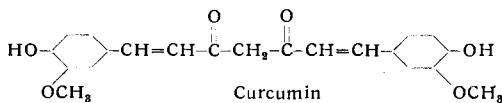
Für die Titration des Borsäure-Komplexes sind bei  $p_{\text{H}}$  7,5 0,5 Mol ( $\sim 90$  g) Mannit oder Fructose im Liter günstig. Der Mannit wird vorher bei dem gleichen  $p_{\text{H}}$  umkristallisiert, so daß eine  $p_{\text{H}}$ -Änderung durch Zugabe von Mannit ausgeschlossen ist.

Da 1 ml 0,003 n NaOH 32,46 γ Bor entspricht, kommen auf 1 Tropfen Lauge etwa 1 γ Bor. Eine Titration mit noch verdünnterer Lauge als 0,003 n NaOH ergab keine besseren Ergebnisse.

Mit noch größerer Empfindlichkeit als alkalimetrisch läßt sich Bor nach *J. A. Gautier* und *P. Pignard*<sup>5)</sup> jodometrisch bestimmen. 3 ml neutrale Lösung mit 30–200 γ Bor werden mit 5 ml alkalischem Fällungsreagens versetzt und zur Ausscheidung des komplexen Bariumborotartrats 3 h bei 0° stehengelassen. (Das Fällungsreagens bereitet man aus 13 g  $\text{BaCl}_2 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$ , 14 g Weinsäure (rechtsdrehend) und 240 g  $\text{NH}_4\text{Cl}$ , mit Wasser auf 1000 ml aufgefüllt und nach 24 h filtriert. Diese saure Lösung ist haltbar. Zum Gebrauch werden 10 Teile Reagens mit 1 Teil 15 n  $\text{NH}_4\text{OH}$  alkalisch gemacht.) Der Niederschlag wird abzentrifugiert und mit einer frisch bereiteten Lösung von 2 Vol. 15 n  $\text{NH}_4\text{OH}$ , 1 Vol. Wasser und 1 Vol. Aceton gewaschen, bis das Waschwasser mit Sulfat keine Reaktion auf Barium mehr gibt. Der ausgewaschene Niederschlag wird in 5 ml 0,5 n HCl gelöst, mit 1 ml 0,5 n  $\text{K}_2\text{CrO}_4$  versetzt und mit 1 ml 15 n  $\text{NH}_4\text{OH}$  alkalisch gemacht. Nach 30 min zentrifugiert man, wäscht das gebildete  $\text{BaCrO}_4$  mit Wasser aus und löst den Niederschlag in 0,5 n HCl. Nach Zugabe von 0,1 g KJ oxydiert das Chromat das Jodid zu Jod, das in bekannter Weise mit n/100 Thiosulfat titriert wird. 1 ml n/100  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$  entsprechen 14,4 γ Bor, 1 Tropfen etwa 0,5 γ Bor.

Um in Pflanzen Bor zu bestimmen, müssen, um einigermaßen richtige Werte durch Titration zu erhalten, etliche Gramm Substanz verbraucht werden. Die Bor-Analyse in geringeren Substanzmengen ist mit gleicher Genauigkeit nur colorimetrisch möglich.

Von den colorimetrischen Bor-Bestimmungen ist die mit Curcumin am bekanntesten. Zur quantitativen

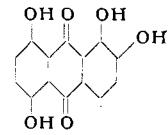


Bestimmung von Borsäure mit Curcumin sind zwei Methoden ausgearbeitet worden. *G. Bertrand* und *H. Agulhon*<sup>6)</sup> reichern das Bor durch Abdestillation als Borsäuremethylester an. Der Ester wird in Alkali aufgefangen, das Borat zur Trockne eingedampft, der Rückstand mit 4 Tropfen 10 n HCl angesäuert, mit Wasser aufgenommen und in ein kurzes Reagenzglas überführt (1,5 ml Lösung). Entlang der Wand des Reagenzglases wird ein 45 mm langer, 3 mm breiter Streifen Curcumapapier so in die Lösung eingelegt, daß 20 mm in die Lösungen eintauchen und 15 mm aus dem Reagenzglas herausragen. Zusammen mit Vergleichslösungen von 0; 0,5; 1; 5; 10; 50 und 100 γ B erwärmt man die Proben 3 h auf 30–35° C. Das Curcumapapier färbt sich bei Anwesenheit von Borsäure an dem aus dem Reagenzglas herausragenden Ende rot. Mit Ammoniak wird die Färbung blau. Die Länge des gefärbten Papierstreifens ist der Borsäure-Menge proportional. Sie betrug bei 1 γ B 2 mm, bei 10 γ B 5 mm, bei 100 γ B 8 mm.

<sup>6)</sup> *G. Bertrand u. H. Agulhon*, C. R. hebdo. Séances Acad. Sci. 155, 248 [1912].

Wesentlich genauer ist die Bestimmung nach *J. A. Nafel*<sup>7)</sup>. Die Borsäure-haltige Lösung wird mit 0,1 n  $\text{Ca}(\text{OH})_2$ -Suspension alkalisch gemacht und eingedampft. Der Rückstand wird mit 1 ml gesättigter Oxalsäurelösung, die 20% konz. HCl enthält, angesäuert und zusammen mit 2 ml 0,1 proz. alkoholischer Curcumin-Lösung bei 55° zur Trockne eingedampft. Die Substanz ist vor direktem Sonnenlicht und Zugluft zu schützen. Man läßt weitere 30 min bei dieser Temperatur, kühlt ab, extrahiert den Rückstand mit 95 proz. Alkohol, filtriert oder zentrifugiert und füllt auf ein bekanntes Volumen auf. Die Extinktion der Lösung wird bei 550 m $\mu$  colorimetrisch gemessen. Da die Extinktion dem Beerschen Gesetz nicht folgt, werden gleichbehandelte Vergleichslösungen bekannter Borsäure-Mengen mit gemessen. Auf diese Weise lassen sich 0,05 γ B noch bestimmen.

Schneller als mit Curcumin läßt sich Borsäure mit Chinalizarin<sup>8)</sup> in 89 proz. Schwefelsäure analysieren. Die Lösung von Chinalizarin in Schwefelsäure ist violett. Absorptionsbanden liegen bei 530 und 570 m $\mu$ . Der Chinalizarin-Borsäure-Komplex in Schwefelsäure ist blau. Absorptionsbanden liegen bei 600 und 630 m $\mu$ .

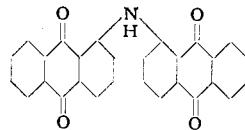


Da das Beersche Gesetz nicht erfüllt ist, müssen mit bekannten Bor-Mengen Eichkurven aufgenommen werden.

Eine 0,001 proz. Chinalizarin-Lösung in 89 proz. Schwefelsäure ist für die Spurenbestimmung von Bor bei visueller Betrachtung gut geeignet, da ein starker Farbwechsel von violett nach blau eintritt. Eine Extinktionsmessung am Photometer ist wegen des flachen Anstiegs der Eichkurve relativ ungenau.

Die genauesten photometrischen Ergebnisse wurden bei 600 m $\mu$  mit 0,0075 proz. Chinalizarin-Lösung in 89 proz. Schwefelsäure erzielt. Die Chinalizarin-Reaktion wird durch Oxydationsmittel und Wasser gestört. Geringe Änderungen im Wassergehalt der Schwefelsäure ändern den Verlauf der Eichkurve stark. Der Eindampfrückstand der zu untersuchenden Lösung wird daher kurz durchgeglüht und mit einer 0,0075 proz. Chinalizarin-Lösung aufgenommen. Der Farbumschlag tritt bei schwachem Erwärmen in wenigen Minuten ein. Eine quantitative Bestimmung ist bis zu 0,5 γ Bor möglich. Die Erfassungsgrenze liegt bei 0,15 γ Bor, der günstigste Meßbereich zwischen 2 und 20 γ B.

Genauer als die Bor-Bestimmung mit Chinalizarin ist diejenige mit 1,1'-Anthrimid<sup>19)</sup>



das sich leicht aus 1-Aminoanthrachinon und 1-Chloranthrachinon in Gegenwart von Kupfer bei 200° unter HCl-Abspaltung darstellen läßt<sup>20)</sup>. Die Lösung von 1,1'-An-

<sup>7)</sup> *J. A. Nafel*, Ind. Engng. Chem., anal. Edit. 11, 407 [1939].

<sup>8)</sup> *R. Gottschall*, Dissert. Göttingen 1935.

<sup>9)</sup> *G. H. Ellis, E. G. Zook u. O. Baudisch*, Analyt. Chemistry 21, 1345 [1949].

<sup>20)</sup> Zur Darstellung von 1,1'-Anthrimid (*A. Eckert u. K. Steiner*, Mh. Chemie 35, 1129 [1914]) werden 4,4 g 1-Aminoanthrachinon, 4,8 g 1-Chloranthrachinon, 2,4 g Natriumacetat und 0,4 g feine Kupferspäne in 30–40 g Nitrobenzol 12 h auf 200° erhitzt. Nach dem Abkühlen wird das abgeschiedene 1,1'-Anthrimid abgesaugt und der Reihe nach mit Alkohol, Wasser, Ammoniumchlorid, Ammoniak und schließlich wieder mit Wasser gewaschen.

Das entstandene Reaktionsprodukt ist ziemlich rein. Geringe Mengen Ausgangsmaterial können bei höchstens 200° i.V. wegsublimiert werden. Die Substanz ist fast unlöslich in niedrig siedenden Lösungsmitteln. Aus Chlor- und Nitrobenzol läßt sie sich umkristallisieren. Sie bildet dann dunkelrote Nadelchen, die bis 350° nicht schmelzen.

thrimid in konz. Schwefelsäure ist olivgrün. In Gegenwart von Borsäure schlägt die Farbe nach tiefblau um. Zur Entwicklung der blauen Farbe erwärmt man 3 h auf 90° oder 5 h auf 80°. Der 1,1'-Anthrimid-Borsäure-Komplex hat eine starke Absorptionsbande bei 630 m $\mu$ . Die Farbtiefe folgt in relativ großen Bereichen dem Beerschen Gesetz recht gut.

Von den in Pflanzenaschen vorhandenen Elementen Na, K, Ca, Mg und Zn wird die Farbbildung nicht merklich beeinflußt. Al und Fe sind in konz. Schwefelsäure nur in geringen Mengen löslich. Größere Mengen dieser Elemente würden als unlöslicher Niederschlag ausfallen. Dieser Niederschlag, vor allem Aluminiumsulfat, stört die Farbreaktion. Er muß daher vorher abzentrifugiert werden. Gesättigte Lösungen von Aluminiumsulfat und Eisensulfat beeinflussen die Farbbildung nicht. Cu, das auch als Spurenlement in Pflanzen vorkommt, stört nur, wenn es in solchen Mengen vorliegt, daß die blaue Eigenfarbe des Cu<sup>2+</sup> die Extinktion beeinflußt.

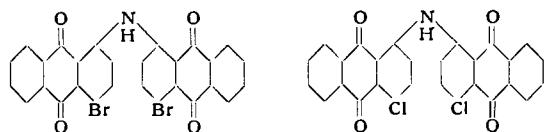
Oxydierende Substanzen zerstören den Farbstoff. Diese kann man vor Zugabe der Anthrimid-Lösung durch Erwärmen der schwefelsauren Lösung mit 2 Tropfen 95–100 proz. Ameisensäure reduzieren.

Die Entwicklung zur größten Farbtiefe erfolgt langsam. Es wurde beobachtet, daß ihre Geschwindigkeit von der Menge des anwesenden Wassers abhängig ist. Je wasserhaltiger die Probe ist, umso schneller entwickelt sich die Farbe. Nach Erreichen des Endwerts ist die Abhängigkeit der Extinktion vom Wassergehalt nur gering, wenn weniger als 5 % Wasser in der konz. Schwefelsäure sind. Bei 10 % Wasser ist das Ergebnis bereits um 9 %, bei 16 % Wasser um 50 % zu tief. Bei 3 % Wasser erreichte die Farbtiefe ein Maximum, jedoch war der Wert nur um 1 % zu hoch.

Die entwickelte Farblösung hält sich bei Zimmertemperatur im Dunkeln unter Ausschluß von Luftfeuchtigkeit wochenlang fast unverändert. Erwärmt man länger als 3 h auf 90°, dann verblasen die grünen Bor-freien und Bor-armen Lösungen immer mehr, während die blaue Forsäure-Komplexverbindung unter diesen Bedingungen länger haltbar ist, so daß die Proben noch ausgemessen werden können. Bei 120° zersetzt sich die Farblösung langsam, bei 180° ziemlich schnell in eine rote Lösung, die nicht mehr ausgewertet werden kann.

Bei bor-reichen Proben wird eine so große Farbtiefe erreicht, daß die Extinktionsmessung schwierig wird. Solche Proben lassen sich noch mit großer Genauigkeit bestimmen, wenn man die Farbentwicklung bei 80° vornimmt und vorzeitig abbricht. Sind die Wassergehalte der Vergleichsproben und der Analysenprobe völlig gleich, dann ist das Beersche Gesetz unter diesen Bedingungen noch recht gut erfüllt. Es lassen sich so 0,1–200 γ B in 10 ml konz. Schwefelsäure quantitativ bestimmen.

#### 4,4'-Dibrom-1,1'-Anthrimid



und 4,4'-Dichlor-1,1'-Anthrimid sind zur Bor-Bestimmung ebenfalls geeignet. Der Farbumschlag geht wie bei 1,1'-Anthrimid in der Wärme von grün nach blau. Da aber die Farbtiefe der Bor-freien Lösungen ebenfalls zunimmt, wird die Extinktionsmessung schwieriger. Das gilt vor allem für das Dibrom-anthrimid, das darum für die Bor-Bestimmung weniger geeignet ist als Anthrimid. Die Entwicklung zur größten Farbtiefe verläuft bei Dichloranthrimid bei wasserhaltigen Proben ebenfalls schneller als bei wasserfreien. Die Abweichung der Extinktion des Endwertes der wasserhaltigen Proben von denen der wasserfreien ist etwas größer als beim Anthrimid. Die Empfindlichkeit der Reaktion auf Borsäure ist die gleiche wie beim Anthrimid. Dichloranthrimid bietet also keine Vorteile gegenüber Anthrimid.

G. H. Ellis<sup>19)</sup> hat eine große Anzahl Verbindungen auf ihre Farbreaktion mit Borsäure in konz. Schwefelsäure un-

tersucht. 1,1'-Anthrimid war für die colorimetrische quantitative Bor-Bestimmung die geeignete.

Manche Substanzen zeigen mit Borsäure eine Fluoreszenz oder eine Fluoreszenzänderung. In Gegenwart von Citronensäure geben Flavonole wie Quercetin oder Morin mit Borsäure in wasserfreiem Aceton eine grünliche Fluoreszenz zwischen 475 und 540 m $\mu$ <sup>21)</sup>. Die Anregung der Fluoreszenz ist besonders stark im Blaulicht (Kobalt-Glas-Filter). UV-Licht wird von der Lösung absorbiert, so daß nur eine dünne Schichtdicke angeregt werden kann. Die Fluoreszenz ist zu lichtschwach, um mit dem Auge am Zeißschen Stufenphotometer genau gemessen zu werden. Außerdem wird sie durch Feuchtigkeit gelöscht.

Von den vielen von G. H. Ellis<sup>19)</sup> untersuchten Substanzen gibt 1-Amino-4-hydroxyanthrachinon die stärkste Fluoreszenzänderung mit Borsäure. Da aber Fluoreszenzmessungen schwerer sind als colorimetrische Messungen, sind quantitative Bor-Bestimmungen auf Grund von Fluoreszenzänderungen weniger geeignet.

## B. Aufarbeitung der organischen Proben für die Borbestimmung

### I. Die Oxydation der organischen Substanz

Um das Bor in organischen Proben quantitativ zu bestimmen, müssen diese durch Oxydation zerstört werden.

#### 1. Trockene Veraschung

Enthält eine organische Substanz mehr als 1% Bor, dann kann man diese nach H. Roth<sup>22)</sup> mit der 20 fachen Menge Natriumcarbonat (geschmolzen) im Platin-Tiegel überschichten und nach vorsichtiger Erwärmung durch kräftiges Glühen in 3–5 min in eine rein weiße Schmelze überführen. Man bringt den Tiegel in einen Quarzkolben und gibt 15 ml n/5 HCl hinzu. Nachdem die Kohlensäure verkocht ist, wird neutralisiert, Mannit zugesetzt und die Borsäure durch Titration bestimmt.

Im pflanzlichen Material ist die Bor-Konzentration normalerweise viel geringer als 1 %. Die meisten Autoren schlagen vor, die pflanzliche Substanz bei Temperaturen unter 100° zu trocknen, die Trockensubstanz zu pulvren und mit oder ohne Zusatz von Alkali bei möglichst tiefer Temperatur (450–600°) zu veraschen. Es sind die verschiedensten Alkalien erprobt worden, z. B. NaOH, KOH, CaO, Ba(OH)<sub>2</sub>, Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>. Die zugesetzte Menge beträgt etwa 10 % des Trockengewichts der Analysenprobe. Obwohl die Veraschungszeit unter diesen Umständen viele Stunden dauert, lassen sich Bor-Verluste nicht mit Sicherheit vermeiden.

Borsäure selbst ist mit Wasserdampf flüchtig, Borsäuremethylester siedet bei 69°. Da somit Bor-Verluste bereits beim Trocknen der Substanz unter 100° möglich sind, gibt man das Alkali besser zur Frischsubstanz und nicht zur gepulverten Trockensubstanz, wie meist vorgeschlagen wird. Die meisten Bor-Verluste entstehen jedoch beim Veraschen bei höherer Temperatur, weshalb man die Veraschungstemperatur so niedrig wie möglich halten soll.

Tierische Organe enthalten im allgemeinen weniger als 1 mg % Bor, oft nur wenige γ %. Bei der Aufarbeitung solcher Proben ist besondere Vorsicht geboten, da nicht nur Bor-Verluste, sondern auch geringfügige Verunreinigungen der Reagenzien gleich erheblich ins Gewicht fallen. Da Glasgeräte meist Bor-haltig sind und immer von

<sup>21)</sup> K. Tauböck, Naturwiss. 30, 439 [1942].

<sup>22)</sup> Diese Ztschr. 60, 593 [1937].

Laugen, etwas aber auch von Säuren und Wasser angegriffen werden, dürfen die Proben nie längere Zeit mit Glas in Berührung stehen. Man verwendet Geräte aus Quarz, Silber oder Platin. Gibt man stets zu den Analysenproben und Vergleichsproben die gleichen Mengen Reagenzien, dann läßt sich deren Bor-Gehalt weitgehend vernachlässigen. Der Bor-Gehalt einiger analysenreiner Alkalien betrug z. B.  $\text{CaO} = 12,5 \gamma \%$ ,  $\text{KOH} = 9,3 \gamma \%$ ,  $\text{NaOH} = 8,9 \gamma \%$ .

Wegen des geringen Bor-Gehalts werden die Einwaagen größer gewählt als bei Pflanzenanalysen (5–50 g). Die Veraschung in normalen Tiegeln macht dann aber Schwierigkeiten, weil die Fleischmasse während des Verkohlens oft stark schäumt. Die Verkholung wird darum vorteilhafterweise mit Wärmestrahlnern durchgeführt, die die Probe von oben her erhitzen. Bewährt hat sich z. B. ein Philips-Infrarot-Trockenstrahler von 250 Watt. Man kann in Silberschalen arbeiten, auf deren Boden die alkalisch gemachte, zerkleinerte Fleischprobe ausgebreitet ist. Als Alkali wählt man Natrium- oder Kaliumhydroxyd, nicht Calciumhydroxyd. Zunächst trocknet man im Trockenschrank bei etwa 100°. Dann wird die Schale unter den Wärmestrahler gestellt, dessen Abstand so gewählt wird, daß sich nur langsam Blasen bilden, die dann die darunterliegende Schicht vor weiterer schneller Erwärmung schützen, bis sie platzen (Abzug). So wird das sonst lästige Überschäumen beim Erhitzen der Schale von unten oder von allen Seiten im elektrischen Ofen vermieden. Läßt die Blasenbildung nach, so steigert man die Wärmezufuhr durch Verringerung des Abstands zum Strahler. Die Substanz raucht nun stark, bis sie restlos verkohlt und bereits teilweise verascht ist. Sie wird dann in einen Tiegel überführt und im oben offenen Tiegelofen bei Dunkelrotglut verascht.

Als Tiegelofen hat sich eine Konstruktion bewährt, die es erlaubt, den Tiegel zuerst von oben her zu erhitzen, damit Blasen, die sich jetzt noch bilden können, langsam austreten und platzen, ohne daß der Tiegelinhalt überschäumt (Bild 1). Zunächst wird nur die Ofenwandung aufgeheizt und von oben dem Tiegel so langsam genähert, daß ein zu schnelles Erhitzen der ganzen Masse vermieden wird. Ist die Wandung über den ganzen Tiegel geschoben,

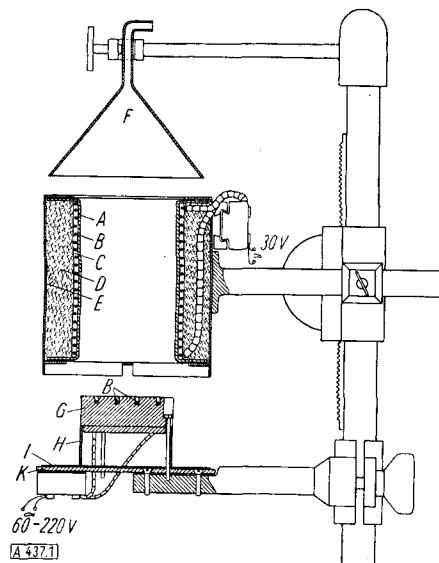


Bild 1. Regelbarer Tiegelofen

- A) Quarzmantel, B) Heizdraht, C) Einbettmasse, D) Asbest
- E) Blechmantel, F) Glastrichter (Staubschutz), G) Bodenkörper
- H) Metallring, I) Glimmerplatte, K) Metallplatte

dann kann der Boden des Ofens mit geheizt werden. Da der Tiegelofen unten nicht dicht verschlossen ist, steigt darin ständig Frischluft hoch, die die Verbrennungsgase fortführt. An einem Schwenkarm kann ein Trichter als Staubschutz über dem Tiegelofen befestigt werden.

## 2. Nasse Veraschung

Die Fehlerquellen der trockenen Veraschung lassen sich bei Pflanzenmaterial, dessen Bor-Gehalt normalerweise in der Größenordnung von etlichen mg % liegt, umgehen. G. H. Ellis<sup>19)</sup> hat folgenden Weg der nassen Veraschung vorgeschlagen: 25–50 mg des fein zerriebenen Pflanzenmaterials werden in einem Reagenzglas mit 2 ml konz. Schwefelsäure versetzt und über kleiner Flamme so lange vorsichtig erhitzt, bis die Verkholung beginnt. Man läßt abkühlen und gibt 1 Tropfen 90proz. Wasserstoffperoxyd hinzu. Es wird zunächst vorsichtig, dann stärker erhitzt, bis die ersten  $\text{SO}_3$ -Dämpfe auftreten. Nach dem Abkühlen gibt man den nächsten Tropfen Wasserstoffperoxyd hinzu und erhitzt wie vorher. Nach etwa viermaliger Zugabe des Oxydationsmittels wird die Lösung farblos. In dieser farblosen Lösung läßt sich das Bor mit 1,1'-Anthrimid oder Chinalizarin bestimmen. Es ist jedoch darauf zu achten, daß alles Oxydationsmittel zerstört ist, was G. H. Ellis durch genügend langes Erhitzen erreicht. Sicherer ist es, nach der thermischen Zerstörung des Persulfats noch 1–2 Tropfen konz. Ameisensäure zur erkalteten Lösung zu geben, die dann nochmal unter Umschütteln bis zum Aufhören der Gasentwicklung erhitzt wird. Nach der Abkühlung wird die Farbstofflösung zugegeben.

Als Oxydationsmittel eignet sich auch Ammoniumpersulfat  $(\text{NH}_4)_2\text{S}_2\text{O}_8$ , 30proz. Wasserstoffperoxyd, das Perhydrol des Handels, dagegen nur, wenn die zu oxydierende Menge Kohlenstoff sehr gering ist, so daß die Schwefelsäure nicht stärker als mit 5% Wasser verdünnt wird. Der Gehalt an aktivem Sauerstoff beträgt bei 90proz. Wasserstoffperoxyd 42,3%, bei 30proz. Wasserstoffperoxyd 14,1% und bei Ammoniumpersulfat 7%.

Die nasse Veraschung mit Ammoniumpersulfat hat den Vorteil, daß als Reaktionsprodukt neben Ammoniumsulfat und Sauerstoff, der die Oxydation bewirkt,  $\text{SO}_3$  entsteht, das überschüssiges Wasser aus der Substanz bzw. den Verbrennungsprodukten unter Schwefelsäure-Bildung bindet. Dadurch wird eine Verdünnung der Schwefelsäure mit Wasser vermieden, so daß die Bor-Bestimmung mit 1,1'-Anthrimid ohne Abtrennung des Bors aus dem Oxydationsgemisch möglich ist. Da aber der Gehalt an aktivem Sauerstoff bei Ammoniumpersulfat nur 7% beträgt, ist seine Anwendung bei Pflanzenanalysen fast immer möglich, bei Analysen tierischer Produkte jedoch nur in Ausnahmefällen, wenn der Bor-Gehalt noch relativ hoch ist (Seewassertiere) oder die Substanz sich leicht veraschen läßt (wasserreiche, fettarme Proben).

Erfahrungsgemäß lassen sich in 5 ml konz. Schwefelsäure bis zu 100 mg wasserfreie organische Proben mit Ammoniumpersulfat veraschen, ohne daß eine Abtrennung des Bors notwendig wird, wenn man das Bor mit 1,1'-Anthrimid bestimmt. Da die Schwefelsäure zur ungetrockneten Substanz gegeben werden kann, wählt man Einwaagen bis zu 500 mg. In dieser Menge lassen sich noch 0,1 γ Bor bestimmen. Das Verfahren ist also anwendbar, wenn mindestens 20 γ % Bor vorhanden sind.

Die Genauigkeit nach diesem Verfahren beträgt etwa 0,05 bis 0,1 γ Bor für Mengen von weniger als 1 γ. Bei größeren Bor-Mengen ist der x-Fehler etwa 5–10%.

### 3. Nasse Veraschung durch elektrischen Strom

Die nasse Veraschung mit Ammoniumpersulfat läßt sich bei tierischen Produkten meist nicht anwenden, da der Bor-Gehalt in diesen Proben vielfach in der Größenordnung von 1 : 10000000 liegt. Um 1 γ Bor zur Bestimmung vorliegen zu haben, sind also 10 g Substanz zu veraschen. Die dazu notwendige Menge Ammoniumpersulfat oder Wasserstoffperoxyd würde die Schwefelsäure zu sehr verdünnen, so daß eine direkte Bor-Bestimmung ohne Abtrennung schwierig wird. Andererseits besteht die Gefahr, daß minimale Verunreinigungen der Reagenzien mit Borsäure sich sehr störend bemerkbar machen, wenn diese in zu großer Menge zugesetzt werden.

Da Ammoniumpersulfat und Wasserstoffperoxyd durch elektrolytische Oxydation gewonnen werden, müßte die elektrolytische Oxydation von Fleischproben in schwefelsaurer Lösung möglich sein. Elektrolysiert man verdünnte Schwefelsäure, so entstehen Wasserstoff und Sauerstoff. In konzentrierten Lösungen bildet sich bei hohen Stromdichten Peroxy-dischwefelsäure und daraus durch Hydrolyse Peroxyschwefelsäure und schließlich Wasserstoffperoxyd. Nach F. Ullmann<sup>23)</sup> lassen sich Stromausbeuten von 67,5% erzielen, wenn man Schwefelsäure der Dichte 1,35–1,5 bei 5–6° C mit Pt-Anoden und einer Stromdichte von 500 Amp/qdm elektrolysiert. Man kann bei höherer Temperatur arbeiten, wenn man die Anode selbst kühlst.

Um dieses Verfahren analytisch für die Bor-Bestimmung anzuwenden, muß man mit Bor-freiem Gefäßmaterial arbeiten, wozu aus Mangel an Bor-freiem Glas Quarz genommen wurde. Vorversuche zur Ermittlung der günstigsten Anordnung wurden mit Glasgefäßen ausgeführt.

In einem zum Viereck gebogenen Glasrohr entsprechend dem Schmelzpunktsbestimmungsapparat nach Thiele kreist die Flüssigkeit, wenn in den beiden aufsteigenden Schenkeln unterschiedliche Temperaturen herrschen. Dieses Temperaturgefälle wurde erzeugt, indem ein aufsteigender Schenkel durch einen umgebenen Wassermantel gekühlt wurde. Die Anode befindet sich in dem gekühlten Schenkel, die Kathode am oberen Ende des zweiten Schenkels, so daß der dort entstehende Wasserstoff an der sich hier befindenden Öffnung entweichen kann, ohne am Kreislauf der Flüssigkeit teilzunehmen. Erwärm wird durch den elektrischen Strom. Nachteilig bei dieser Anordnung war der sehr hohe Widerstand des Elektrolyten (60 proz. Schwefelsäure) auf der relativ großen Entfernung zwischen den beiden Elektroden. Um die hohe Stromdichte von 5 Amp/cm<sup>2</sup> Anodenfläche zu erzielen, waren 220 Volt notwendig. Die Lösung erwärmt sich sehr rasch und geriet ins Sieden. Dadurch umgab sich die Anode mit einem Gasmantel. Während nun durch das Gas hindurch eine Entladung verlief, sank die Stromstärke auf kleine Werte. Mit 14 Volt konnte bei einer Anodenfläche von 2 cm<sup>2</sup> nur 0,7 Amp Stromstärke erzielt werden, obwohl die Schwefelsäure mit einem Brenner bis zum Sieden erhitzt wurde. Gleichstromspannungen zwischen 14 Volt und 220 Volt standen für diese Versuche leider noch nicht zur Verfügung.

Der Hauptnachteil der Anordnung, die große Entfernung zwischen den beiden Elektroden, wurde nun dadurch umgangen, daß beide Elektroden in ein Becherglas tauchten. Als Anode diente ein Glasrohr, das an einem Ende durch ein angeschmolzenes Platin-Blech verschlossen war und von Kühlwasser durchflossen wurde. Der elektrische Widerstand hing nicht nur von der Temperatur der Schwefelsäure im Becherglas ab, sondern in starkem Maße auch von der Temperatur der Anode. Verzichtete man auf Kühlung der Anode, dann stieg die Stromstärke sofort stark an. Es zeigte sich, daß auch bei nicht gekühlter Anode sich genügende Mengen oxydierende Substanzen bilden — es trat ein starker Ozon-Geruch auf —, um eine Oxydation organischer Substanz durchzuführen.

Damit der kathodisch gebildete Wasserstoff aus der Lösung abgeleitet wird, wurde über der Kathode eine Glocke mit Ableitungsrohr angebracht. In 50 proz. Schwefelsäure floß nun bei 14 Volt ein Strom von 4 Amp. Der Wasserstoff entwich aus dem Ableitungsrohr. Als aber organische Substanz in die Lösung gegeben wurde, trat nach kurzer Zeit Schaumbildung auf. Der Schaum stieg im Ableitungsrohr hoch und drückte die Schwefel-

säure unter der Glocke fort, so daß der Stromkreis unterbrochen wurde. Es war also notwendig, den Zutritt der organischen Substanz zur Kathode durch ein Diaphragma zu verhindern. Leider stieg dadurch der Widerstand wieder an.

Eine elektrolytische Oxydation organischer Substanz war folgendermaßen möglich: In einem 1 l-Quarzkolben wurden in 60 ml konz. Schwefelsäure und 20 ml Wasser 7 g Fleisch elektrolytisch verascht. Als Kathode diente ein Platinblech in einem Quarzrohr, das unten durch eine 2 cm<sup>2</sup> große Quarzsinterplatte B 3 verschlossen war. In dieses Quarzrohr wurde konz. Schwefelsäure gegeben, die sich langsam verbrauchte und dann durch frische ergänzt wurde. Die Anode bestand aus einem 1 cm<sup>2</sup> großen Pt-Blech, das in die Versuchslösung eintauchte. Die Stromzuführung zu den Elektrolyten geschah durch Platindrähte, die durch enge Quarzröhren geführt und innerhalb der Quarzröhren mit Kupferdraht verbunden waren, so daß der Kupferdraht nicht durch Schwefelsäure oder Ozon angegriffen werden konnte, die Isolierung im Kolben aber aus Bor-freiem Material bestand. Der Kolbenhals wurde durch einen übergeschobenen Wasserkühler gekühlt.

Mit 14 Volt betrug die Stromstärke 1,5–2 Amp. Sie sank unter 1,5 Amp, wenn die Schwefelsäure im Kathodenraum verbraucht oder die Temperatur der Lösung noch zu tief war. Nach 40 h Elektrolysdauer war die Lösung hellgelb. Bei der Abdestillation der Borsäure als Methylester gingen eine große Menge flüchtiger Säuren mit über, die das vorgelegte Alkali neutralisierten und die Bor-Bestimmung erschwerten.

Bei einem anderen Versuch wurden 5,6 g Leber bei 2 bis 2,5 Amp oxydiert. Nach 24 h Elektrolyse war die Lösung klar. Bei der Abtrennung der Borsäure als Methylester wurde wieder viel vorgelegtes Alkali (1,7 g KOH) verbraucht. Wie die Versuche gezeigt haben, ist die nasse Veraschung durch elektrischen Strom möglich. Um aber größere Mengen organischer Substanz (50–100 g) in vünftigen Zeiten veraschen zu können, muß die Stromstärke erhöht werden, wozu höhere Spannungen als 14 Volt notwendig sind. Ob sich dann Vorteile gegenüber der trockenen Veraschung ergeben, soll in späteren Versuchen untersucht werden, wenn geeignete Spannungen zur Verfügung stehen. Es scheint aber notwendig zu sein, zur Oxydation flüchtiger Säuren die Elektrolyse noch eine gewisse Zeit fortzusetzen, nachdem die Lösung schon klar geworden ist.

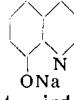
## II. Die Abtrennung des Bors aus der oxydierten Substanz

Im allgemeinen ist es notwendig, im Anschluß an eine trockene Veraschung von pflanzlicher oder tierischer Substanz das Bor von den übrigen anorganischen Verunreinigungen abzutrennen.

### 1. Abtrennung der Fremdsubstanzen durch Fällung

Die Titration der Borsäure wird durch amphoter Ionen wie Zn<sup>2+</sup>, Pb<sup>2+</sup>, Al<sup>3+</sup>, Fe<sup>3+</sup>, Ni<sup>2+</sup> sowie durch Phosphat, größere Mengen Arsenat, Arsenit und Kieselsäure gestört. Diese müssen entfernt werden.

Eine Fällung der Metallionen als Hydroxyde ist nicht angebracht, da diese Niederschläge leicht Borsäure mitreißen. H. Schäfer und A. Sieverts<sup>24)</sup> haben gefunden, daß

durch Fällung der Metalle mit Natriumoxinat  ein Mitreißen von Borsäure weitgehend verhindert wird.

<sup>23)</sup> F. Ullmann: Enzyklopädie d. techn. Chem. 9, 21 [1921].

<sup>24)</sup> H. Schäfer u. A. Sieverts, Z. analyt. Chem. 121, 161 [1941].

Handelt es sich jedoch um Bor-Mengen von weniger als 1 γ Bor, dann kann der Bor-Gehalt des Filtrierpapiers schon störend wirken.

## 2. Abtrennung der Borsäure durch Extraktion

Zur Bestimmung des Bors mit Curcumin extrahiert J. A. Nafel<sup>12)</sup> die Fflanzenasche mit einer Extraktionsflüssigkeit, die aus einem Gemisch gleicher Teile 0,25 n HCl und 0,25 n KCl besteht. Der Extrakt wird mit Calciumhydroxyd alkalisch gemacht, eingedampft und die Borsäure mit Curcumin wie oben beschrieben bestimmt.

G. H. Ellis und Mitarbeiter<sup>13)</sup> extrahieren die Asche 4–5 mal mit warmer 0,07 n Schwefelsäure, spülen in einen 25 ml Meßkolben, füllen auf und lassen absitzen. Sie bestimmen das Bor in einem aliquoten Teil, der 0,3–3 γ Bor enthält. Dieser Teil wird mit 0,1 n Calciumhydroxyd alkalisch gemacht, bei 125° zur Trockne gedampft und das Bor in konz. Schwefelsäure mit 1,1'-Anthrimid wie oben beschrieben bestimmt.

## 3. Abtrennung der Borsäure durch Destillation

In konz. Schwefelsäure bildet Borsäure mit Methanol Borsäuremethylester, der bei 69° siedet. Durch Alkali wird er leicht wieder gespalten. Diese Reaktion wird vielfach zur Abtrennung der Borsäure von Verunreinigungen benutzt<sup>12)</sup>.

In einen 50 ml Quarzkolben gibt man die veraschte Substanz. Geringe Spuren Kohlenstoff stören nicht. Man schließt nach Bild 2 den Kühler an, dessen Vorstoß 5 mm tief in die vorgelegte Lauge taucht. (1–4 Plätzchen KOH p.a. in wenig Wasser und Methanol gelöst.) Die Lauge befindet sich in einem Quarz-Erlenmeyer von 100 ml Inhalt. Sie ist durch 1 Tropfen Phenolphthalein-Lösung gefärbt. Unter Kühlung des Kolbens lässt man vorsichtig ein Gemisch von 5 ml konz. Schwefelsäure und 15 ml Methanol zulaufen. Es wird umgeschüttelt und das Methanol aus einem Sand- oder Paraffin-Bad in die Vorlage destilliert. Ein langsam durchgeleiteter Stickstoff-Strom verhindert das Stoßen der Lösung. Zum Schluß bildet sich Dimethyläther, was man an den in der Vorlage lebhaft aufsteigenden Gasblasen erkennen kann. Es wird weiterdestilliert, bis die Äther-Bildung nachlässt, während die Temperatur im Paraffin-Bad bis 210° ansteigt. Dieses Destillieren bei 210° ist notwendig, um vorhandenes Wasser aus dem Gemisch auszutreiben. (Eine Entzündung des entweichenden Äthers lässt sich vermeiden, indem man die Vorlage durch eine aufgestellte Scheibe von der Flamme des Destillierkolbens trennt.)

Die erste Destillation wird beendet, indem man die Vorlage senkt, bis der Kühlervorstoß nicht mehr eintaucht, Flamme und Heizbad entfernt und den Kolben durch Eintauchen in ein Becherglas mit kaltem Wasser abkühlt. Unter Kühlung und Umschwenken lässt man für die 2. Destillation 10 ml Methanol vorsichtig einlaufen, taucht den Vorstoß in die Vorlage und destilliert wie vorher. In gleicher Weise werden noch 1–3 weitere Destillationen mit je 10 ml Methanol ausgeführt.

Es ist darauf zu achten, daß die Vorlage nie sauer wird, was man an der Färbung des Phenolphthaleins sehen kann. Man gibt andernfalls rechtzeitig weiteres Alkali hinzu. War die Veraschung nur unvollständig, dann werden beim Ansäuern mit konz. Schwefelsäure Säuren frei, die die vorgelegte Alkali neutralisieren. Außerdem enthält die Asche Carbonate. Das frei werdende CO<sub>2</sub> neutralisiert ebenfalls vorgelegtes Alkali. Schließlich kann ein Teil der Schwefelsäure reduziert werden, so daß SO<sub>2</sub> frei wird. Schwefelsäure soll bei richtig geleiteter Destillation nicht

übergehen. War die Einwaage groß und hat man viel Alkali vor der Veraschung zur Substanz gegeben (tierische Proben), dann muß man bei der Destillation entsprechend mehr Alkali vorlegen (etwa 1/2 g KOH in 1 ml Wasser und 4 ml Methanol). Sind wenig Säuren zu erwarten (kleine Einwaagen bei bor-reichen Pflanzen), dann genügen 5 ml n/10 alkoholische Kalilauge.

Die Borsäure-Destillation verläuft nach H. Funk und H. Winter<sup>25)</sup> in Gegenwart von Al-, Cr- und Fe-Salzen nicht quantitativ. Eigene Versuche haben aber ergeben, daß die Abtrennung der Borsäure von diesen Salzen durch Destillation mit Methanol in Gegenwart von konz. Schwefelsäure möglich ist, wenn die Destillation mehrfach wiederholt wird. Die Bor-haltige Probe darf aber nicht mit diesen Salzen auf so hohe Temperatur gebracht werden, daß sich schwerlösliche Oxyde bilden, die Borsäure festhalten können.

Auch große Mengen Ca<sup>2+</sup>, die als Calciumsulfat ausfallen, erschweren das Abdestillieren des Borsäure-methylesters. Destilliert man nur bis zur beginnenden Äther-Bildung, wie die meisten Autoren vorschreiben, dann destilliert die Borsäure nur unvollständig ab. Destilliert man das entstandene Wasser mit ab, dann neigt der Kolbeninhalt bei den folgenden Destillationen zu heftigem Stoßen. Man wählt daher bei großen Einwaagen (tierische Organe) Natronlauge oder Kalilauge zum Alkalischmachen der Probe vor dem Veraschen.

Diese Art der Abdestillation des Borsäure-methylesters wurde bisher meist angewandt. Sie ist umständlich und erfordert ständige Kontrolle. Einfacher ist die Methanol-Dampfdestillation wie sie M. W. Kelley<sup>26)</sup> für die Bor-Bestimmung in Stahlwaren vorschlägt. Für die quantitative Abtrennung sehr geringer Bor-Mengen sind dabei einige Vorsichtsmaßnahmen notwendig.

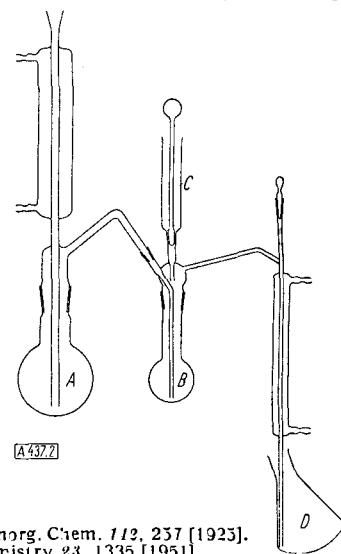
Versuche haben ergeben, daß Borsäure beim Abdestillieren von Methanol mit den Methanol-Dämpfen flüchtig ist, auch wenn das Methanol alkalisch gemacht ist. Gibt man aber außer Alkali Mannit mit in das Methanol hinein, dann gehen beim Abdestillieren des Methanols nur sehr geringe Bor-Mengen mit über. Es wurden aus einer Lösung von 88 mg Borsäure (~ 15,4 mg Bor) in 100 ml Methanol, die 2,25 g Mannit enthält und gegen Thymolphthalein deutlich alkalisch ist, 50 ml Methanol abdestilliert. Im Destillat wurden 3,4 γ Bor nachgewiesen. Von der vorgelegten Menge Borsäure sind also 0,022 % Bor mit übergegangen. Ohne Mannit-Zusatz wurden in 50 ml Destillat 200 γ Bor oder 1,24 % Bor gefunden. Das ist etwa 50 mal so viel Bor. (92 mg Borsäure ~ 16,1 mg Bor in 100 ml Methanol, gegen Thymolphthalein alkalisch gemacht). Methanol reinst. von Merck enthielt 0,2 γ Bor in 100 ml Methanol.

In den 250 ml Siedekolben (A) (Bild 2) gibt man zu etwa 150 ml Methanol etwas Phenolphthalein, etwa 2 g Mannit und 1 Plätzchen KOH, wodurch das Methanol alkalisch wird (kräftige Rotfärbung). Zur veraschten Substanz im Quarzkolben (B) läßt man durch den Tropftrichter (C) ein Gemisch von 4 ml konz. Schwefelsäure und 10 ml Methanol vorsichtig einfließen. Der Quarzkolben wird dann in

Bild 2. Destillationsapparatur

A) 250 ml Siedekolben, B) 50 ml Quarzkolben, C) Tropftrichter, D) 100 ml Quarz-

Erlenmeyerkolben



<sup>25)</sup> H. Funk u. H. Winter, Z. anorg. Chem. 112, 237 [1923].

<sup>26)</sup> M. W. Kelley, Analyt. Chemistry 23, 1335 [1951].

einem Phosphorsäure-Bad auf 120° erwärmt und durch die erwärmte Lösung so lange Methanol-Dampf geleitet, bis sich etwa 50 ml Destillat im vorgelegten Quarz-Erlenmeyer angesammelt haben. Der Kühler taucht etwa 5 mm tief in die vorgelegte Lauge (0,2–0,5 ml 20 proz. Kalilauge, die mit Bor-freiem Methanol so weit verdünnt ist, daß der Kühler 5 mm tief bei schräg stehendem Erlenmeyerkolben eintauchen kann; Phenolphthalein-Zusatz). Es ist darauf zu achten, daß die Vorlage stets alkalisch ist.

Es hat sich gezeigt, daß bei dieser Methanol-Dampfdestillation auch geringe Borsäure-Mengen schon mit etwa 30 ml Destillat fast restlos übergetrieben sind. Auch wenn von 1 g CaO abdestilliert wurde, fand sich unter den angegebenen Versuchsbedingungen die gesamte vorgelegte Menge Borsäure in 50 ml Destillat, obwohl jetzt von einem dicken  $\text{CaSO}_4$ -Schlamm abdestilliert wurde. Die Masse zeigt keine Neigung mehr zum Stoßen.

### Aufarbeitung des Destillats

Nach dem Abdestillieren befindet sich die Borsäure als Borat in etwa 50 ml Methanol und Wasser. Das Eindampfen muß vorsichtig geschehen, damit kein Bor verlorengieht. Schon sehr geringe Mengen Borsäure, die sich mit den Wasser- und Methanol-Dämpfen verflüchtigen, fälschen das Ergebnis stark, wenn z. B. nur 1 γ Bor vorhanden war. Damit keine freie Borsäure vorliegt, muß man also stark alkalisch machen. Kaliumhydroxyd ist in Methanol leicht löslich, doch kriecht solch eine Lösung leicht über den Rand der Schale hinaus, wenn man auf dem Wasserbad bei 60° eindampft. Calciumhydroxyd ist nur wenig löslich und verhindert den Bor-Verlust nicht genügend. Auch der Ultrarotstrahler, der sich beim Verkohlen der Fleischproben sehr bewährt hat, bringt hier keine Vorteile, weil die Lösung die Strahlen zu wenig absorbiert. Die Erwärmung geschieht durch die Gefäßwände, so daß die Lösung leicht bei Siedeverzug überschäumt.

Setzt man aber zur Lösung eine kleine Spatelspitze voll Mannit (50–100 mg) zu, dann bildet sich der saure Mannit-Borsäure-Komplex, der es erlaubt, in alkalischer Lösung das Methanol und Wasser über freier Flamme aus einem Quarz-Erlenmeyer abzudampfen, ohne daß störende Mengen Borsäure mit den Dämpfen verlorengiehen. Damit keine Spritzverluste beim Zerplatzen von Blasen entstehen, hält man die Lösung in ständiger Bewegung und erwärmt möglichst nur die obere Schicht. Die austretenden Methanol-Dämpfe werden angezündet. Es wird nun so stark über freier Flamme erwärmt, daß die Lösung nicht aufwallt und die Methanol-Dämpfe mit einer etwa 5 cm langen blauen Flamme abbrennen.

Das Methanol läßt sich auch aus einem Wasserbad von 75–90° ohne Gefahr des Überschäumens schnell abdampfen, wenn man einen Luftstrom auf die Flüssigkeitsoberfläche bläst, der die Dämpfe so schnell fortführt, daß die Lösung nie aufwallt. Der Luftstrom wird durch konz. Natronlauge, konz. Schwefelsäure und eine kurze Schicht Glaswolle und Watte geleitet und so gereinigt. Besonders wirksam ist der Luftstrom, wenn er vorgewärmt ist, was vor allem beim Eindunsten wässriger Lösungen in Reagenzgläsern ratsam ist.

Ist die Lösung bis auf etwa 1 ml eingedampft, dann läßt man etwas abkühlen und gießt sie in ein Quarzreagenzglas. Der Erlenmeyerkolben wird abwechselnd mit Methanol und wenig Tropfen Wasser (zur Lösung des ausgefallenen Mannits) ausgespült. Jetzt wird in gleicher Weise in dem Quarzreagenzglas so weit eingedampft, daß ein feuchter Brei zurückbleibt (etwa 0,1–0,3 ml). Würde man zur Trockne eindampfen, dann läuft man Gefahr, daß bei zu schnellem

Trocknen Spritzverluste entstehen, bei zu langsamem Trocknen aber das Quarzglas vom Alkali zu stark angegriffen wird. Es bildet sich dann Kieselgallerte, die die genaue Bor-Bestimmung beeinträchtigt.

Das Bor ist jetzt Mannit-haltig, läßt sich durch Titration also nicht bestimmen. Es ist jedoch die Bor-Analyse mit 1,1'-Anthrimid möglich, wenn man den Mannit, wie oben beschrieben, in konz. Schwefelsäure mit Ammoniumpersulfat oxydiert.

### III. Beispiele für die Bor-Analyse

#### 1. Pflanzenmaterial

##### Apparatives:

15 Reagenzgläser, 16 mm × 160 mm aus Quarz oder Bor-freiem Glas. (Glasergeräte aus Bor-freiem Glas werden gegenwärtig in Deutschland nicht hergestellt).

##### Reagenzglasgestell aus Metall.

Regelbarer elektrischer Ofen (Trockenschrank).

Filter-Photometer (z. B. Pulfrich-Photometer von Zeiß) oder Spektrometer mit zugehörigen Küvetten.

##### Reagenzien:

Konz. Schwefelsäure p.a. ( $d = 1,84$ ). 5 ml Pipette.

Ammoniumpersulfat p.a.

Vorratslösung von 1,1'-Anthrimid. 400 mg 1,1'-Anthrimid werden in 100 ml konz. Schwefelsäure p.a. ( $d = 1,84$ ) gelöst und die Lösung in gut verschlossener Flasche im Eisschrank aufbewahrt, wo sie sich etliche Monate hält.

Die Gebrauchslösung von 1,1'-Anthrimid stellt man sich jedesmal durch Verdünnen von 1 Teil Vorratslösung mit 20 Teilen konz. Schwefelsäure p.a. ( $d = 1,84$ ) frisch her. Für sehr Bor-reiche Proben von mehr als 10 γ Bor verdünnt man 1:4. 4 ml Pipette.

Standard-Lösung von Borsäure, die 1 mg Por in 1 ml Lösung enthält. Man löst 0,5715 g Borsäure p.a. in 100 ml Wasser.

Die Gebrauchslösung bereitet man durch Verdünnen der Standard-Lösung 1:100 (0,1 ml = 1 γ B) oder 1:25 (0,1 ml = 4 γ B). 2 Meßpipetten (0,5 ml, Ablesegenauigkeit 0,001 ml). Jede Meßpipette wird vorn zu einer langen Spitze ausgezogen und abgeschliffen, so daß der Pipettierfehler durch anhaftende Flüssigkeit klein gehalten wird.

95–100 proz. Ameisensäure in Tropfflasche.

#### Veraschung der Substanz

Die vom anhaftenden Schmutz befreiten Pflanzenproben werden zerkleinert und in Quarzreagenzgläsern eingewogen. Verholzte Substanzen und Samen müssen fein zerteilt werden, bei Blättern und wasserreichen Proben kann die Zerkleinerung unterbleiben. Die Einwaagen variieren bei Pflanzenanalysen je nach Feuchtigkeitsgehalt und vorhandener Bor-Menge zwischen 20 und 50 mg. Es ist ratsam, bei einer Bestimmungsreihe von etwa 10 Proben die Einwaagen so zu wählen, daß sie auf das Trocken gewicht bezogen etwa gleich schwer sind. Die Bor-Menge einer Probe kann zwischen 0,1 γ und 200 γ Bor liegen, doch sollten die Mengen in den Gläsern derselben Serie von gleicher Größenordnung sein.

In 5 weitere Quarzreagenzgläser werden Vergleichslösungen bekannter Bor-Gehalts abgemessen, z. B. mit 0, 1, 2, 4 und 8 γ Por. Die Menge der abpipettierten Vergleichslösungen soll möglichst klein sein, nicht größer als 0,5 ml. (Nach dem Aufsaugen der Meßlösung wird die Pipette mit Filterpapier von anhaftender Lösung gereinigt. Während des Ablassens der Lösung bis zur O-Marke berührt die Pipettenspitze den Boden eines Reagenzglases in derselben Weise wie hinterher beim Abpipettieren der Lösung in die Quarzgläser. Beim Herausziehen der Pipette darf die Spitze die Glaswand nicht berühren. Auf diese Weise wird der Pipettierfehler durch anhaftende Flüssigkeit möglichst klein gehalten).

Die Gewichte aller Einwaagen und Vergleichslösungen werden nun durch Zupipettieren entsprechender Mengen Wasser mit einer Genauigkeit von 0,01 ml auf einen konstanten Wert gebracht, z. B. 400 oder 500 mg (10 mg = 0,01 ml Wasser).

In jedes Glas pipettiert man nun 5 ml konz. Schwefelsäure p.a. ( $d = 1,84$ ) so ein, daß alle an den Gefäßwänden haftenden Wassertropfen in die Gläser gespült werden, und erhitzt vorsichtig über freier Flamme, bis die Substanzen verkohlt sind (Abzug). Blätter verkohlen leicht, Holzteile und Fette schwerer. In diesem Fall erwärmt man etwa 1–2 min, Schwefelsäure-Dämpfe sollen nicht entweichen. Man läßt die Gläser abkühlen (Reagenzglasgestell

aus Metall) und gibt in alle Gläser die gleiche Menge Ammoniumpersulfat (Spatelspitze mit etwa 100–200 mg) zur Oxydation des vorhandenen Kohlenstoffs. Die Gläser werden nun der Reihe nach über freier Flamme vorsichtig unter Umschütteln erhitzt, bis die Gasentwicklung aufhört, jedoch noch keine Schwefelsäure-Dämpfe auftreten, und wieder abgekühlt. Ist das letzte Glas erhitzt, dann ist das erste bereits so weit abgekühlt, daß die zweite Spatelspitze voll Ammoniumpersulfat zugegeben werden kann. Es wird wieder vorsichtig erhitzt, bis die Gasentwicklung aufhört, und zur Abkühlung zurückgestellt. In dieser Weise wird fortgeführt, bis alle Lösungen völlig farblos und frei von Kohlenstoff sind. In alle Gläser kommt grundsätzlich dieselbe Menge Oxydationsmittel, auch wenn bei einigen Proben die Oxydation schon beendet ist. Bei geringen Einwaagen oder leicht oxydierbaren Substanzen, wie weiche Blätter oder wasserhaltige Früchte, ist die Oxydation schon mit einer Spatelspitze voll Ammoniumpersulfat möglich. Bei größeren Einwaagen und schwer oxydierbaren Substanzen muß man 10–20 ml Persulfat zugeben, bis aller Kohlenstoff verbrannt ist. Dabei beobachtet man manchmal bei verholzten Proben und Samen, daß die Lösung schon farblos wird, während noch kompakte Massen in der Lösung schwimmen. Durch Erhitzen bis auf den Siedepunkt der Schwefelsäure werden diese in Lösung gebracht. Manchmal lösen sie sich nur schlecht, vor allem, wenn die Substanz nicht fein genug zerkleinert war. Um nicht zuviel Persulfat zugeben zu müssen, erwärmt man nach Zugabe von Persulfat solche Proben nur wenig, so daß infolge thermischer Zersetzung noch kein Persulfat zerstört wird, und läßt die Probe einige Zeit warm stehen. Dadurch zersetzen sich die Substanzen besser und lassen sich dann leichter oxydieren. Die zuerst schwarzen Lösungen werden schließlich braun, dann klar, bei stärkerem Erhitzen oft aber wieder gelbbraun. Diese Farbe läßt sich mit neuem Ammoniumpersulfat wieder fortoxydieren, erscheint aber manchmal bei stärkerem Erhitzen immer wieder. In diesem Fall darf man das Glas nur so stark erhitzen, daß das Ammoniumpersulfat und  $H_2O_2$  sicher zerstört werden, was man am Aufhören der Gasentwicklung erkennt, aber nicht höher bzw. länger.

Sind alle Proben klar und abgekühlt, was  $\frac{1}{2}$  h bis 3 h dauert, dann werden die Reagenzgläser in ihrem unteren Drittel gehalten und die Gefäßwände des oberen Teils über freier Flamme so stark erhitzt, daß die dort haftenden Persulfat-Reste zerstört werden und die Tropfen aus Ammoniumsulfat und Schwefelsäure in die Lösung fließen. Dabei entweichen Nebel von  $SO_3$  und  $H_2SO_4$ . Die Reagenzglaswände sind jetzt frei von anhaftender Substanz.

Nach Abkühlung der Gläser gibt man zur Zerstörung oxydierender Bestandteile wie  $NO_3^-$ ,  $ClO_3^-$ ,  $JO_3^-$ , Reste  $S_2O_8^{2-}$  usw. in jedes Glas 2 Tropfen konz. Ameisensäure und erhitzt vorsichtig unter gutem Umschütteln bis zum Aufhören der Gasentwicklung.

### Entwicklung des Farbstoffes

In die erkalteten Gläser gibt man je 4 ml der 1,1'-Anthrimid-Lösung und mischt, indem man mit einem Handgebläse und einem ausgezogenen Glasrohr vorsichtig Luft durch die Lösung drückt. Die aufsteigenden Gasblasen sorgen für schnelle und gründliche Mischung.

Die Gläser werden jetzt so in ein trockenes Becherglas gestellt, daß alle in gleicher Weise an der Außenwand anliegen, damit sich alle völlig gleichmäßig erwärmen. Sie kommen dann in einen elektrischen Ofen (Trockenschrank), wo sich bei  $90^\circ$  in 3 h die maximale Farbtiefe entwickelt. Die grüne Lösung wird je nach dem Bor-Gehalt mehr oder weniger blau. Bei sehr Bor-reichen Proben erwärmt man nur auf  $80^\circ$  und beobachtet v. Farbentwicklung, die man auf diese Weise vor Erreichen der größten Farbtiefe anhalten kann, so daß die Messung noch leicht möglich ist. Man läßt die Gläser im Exsikkator abkühlen. Im Exsikkator und Dunkeln aufbewahrt, sind die Farblösungen tagelang haltbar.

Die Extinktionen wurden bei 620 m $\mu$  in einem Zeißschen Stufenphotometer gemessen. Durch Vergleich mit den Testsubstanzen lassen sich die Bor-Gehalte berechnen. Die Farbstärke folgt in weiten Grenzen dem Beerschen Gesetz recht gut.

Die Genauigkeit der Bor-Bestimmung nach dieser Methode ist abhängig von der zur Veraschung der Substanz notwendigen Menge Ammoniumpersulfat. Sie dürfte bei Bor-Mengen von weniger als 1 γ Bor etwa  $\pm 0,05$ –0,1 γ Bor betragen, bei größeren Bor-Mengen etwa  $\pm 5$ –10 % x-Fehler.

Der Zeitbedarf für eine Analysenserie von 10 Substanzen und 5 Vergleichslösungen beträgt etwa 8 h.

Das Trockengewicht und damit der Prozentgehalt an Trockensubstanz werden in einer zweiten Probe gesondert bestimmt.

**Beispiele:**  
Verteilung des Bors in einer Tomatenpflanze

Pflanzenteil	mg Ein- waage	% Trocken- gewicht	Bor	mg Frisch- gewicht	% Bor Trocken- gewicht
Wurzel ohne Rinde	301,9	19,3	0,97	0,32	1,67
Stiel unten .....	363,2	18,4	1,10	0,30	1,64
Stiel oben .....	386,0	6,9	0,68	0,18	2,53
Blätter .....	368,7	14,1	2,64	0,72	5,07
Blütenblätter .....	336,2	13,4	1,35	0,40	2,99
grüne Tomate					
Fruchtfleisch .....	342,3	6,2	0,40	0,12	1,88
grüne Samenkerne ..	514,0	9,4	0,56	0,11	1,17
grüne Schale .....	324,5	22,3	1,03	0,32	1,42
reife Tomate					
Fruchtfleisch .....	451,0	4,4	0,44	0,10	2,21
reife Samenkerne ...	451,7	11,1	0,57	0,13	1,14

Weitere Beispiele für den Bor-Gehalt und die Verteilung des Bors in verschiedenen Pflanzen sind an anderer Stelle veröffentlicht<sup>27)</sup>.

### 2. Tierisches Material

#### Apparatives:

Für die Analyse tierischen Materials benötigt man zusätzlich:  
Silberbeschalen 8–10 cm Ø.  
Oberflächenverdampfer (z. B. Philips-Infrarot-Trockenstrahler, 250 Watt).

Silbertiegel 35–40 mm Ø.  
Tiegelofen (z. B. Ofen nach Abb. 1).  
Destillationsapparatur nach Abb. 2.  
Quarzerlenmeyer (100 ml).

#### Réagenzien:

An Reagenzien werden zusätzlich gebraucht:

Kaliumhydroxyd p.a. in Plätzchen.  
20 proz. Kalilauge, im Quarzgefäß aufbewahrt oder jeweils frisch aus Bor-freiem Kaliumhydroxyd hergestellt. 5 ml Meßpipette.

Methanol, borfrei. (Methanol wird aus alkalischer, mannit-haltiger Lösung abdestilliert.)

Phenolphthalein, 0,1 proz. alkoholische Lösung. Tropfglas. Mannit.

### Veraschung der Substanz

Die in einer Silberbeschale eingewogene zerkleinerte Substanz (5–50 g) wird mit 0,5–5 ml 20 proz. Kalilauge versetzt und gut vermischt. Hat die Lauge die ganze Fleischmasse durchzogen, trocknet man diese bei etwa 100°. Die Schale wird dann auf ein Tondreieck oder Asbestdrahtnetz gestellt und von oben mit einem Wärmestrahler (z. B. Philips-Infrarot-Trockenstrahler) langsam verkohlt (Abzug!). Die Gasblasen sollen sich nur langsam entwickeln, so daß die Masse nicht überschäumt. Läßt die Gasentwicklung nach, dann verringert man den Abstand zwischen Strahler und Substanz, wodurch diese stärker erwärmt wird. Sie raucht nun stark und verkohlt allmählich. Hat die Rauchentwicklung aufgehört, dann verascht die Kohle. Durch gelegentliches Auflockern mit einem Spatel und durch vorsichtiges Überleiten von Sauerstoff ist die Veraschung bei manchen Substanzen derart restlos möglich. Eleiben schwer veraschbare Teile übrig, dann bringt man diese in einen Silbertiegel und vollendet die Veraschung im Tiegelofen.

Man kann die Veraschung im Tiegelofen bereits vornehmen, sobald die Rauchentwicklung aufgehört hat. Der Tiegel mit der Kohle wird dann zunächst nur von oben erhitzt, weil sich jetzt manchmal wieder Elasen bilden. Man schiebt die Ofenwandlung langsam über den Tiegel und heizt den Tiegelboden erst zum Schluß, wenn der größte Teil der Kohle verascht ist. Die Ofentemperatur soll nicht mehr als 600° C betragen. Die Veraschung ist manchmal aber schwierig. Das ist vor allem der Fall, wenn man zu viel Alkali zur Substanz gegeben hat. Es bildet sich dann ein fester Koks. Man unterstützt die Veraschung, indem man vorsichtig Sauerstoff in den Tiegel leitet (Einleitungsrohr aus Quarz). Die Kohle soll dabei aber nicht hell aufglühen, sondern bei möglichst tiefer Temperatur verbrennen.

Es hängt von der Substanzmenge ab, ob die Veraschung mit dem Ultrarotstrahler oder dem Tiegelofen schneller zum Ziele

<sup>27)</sup> W. Otting, Z. Pflanzenernähr., Düng., Bodenkunde 55 (100), 235 [1951].

führt. Große Einwaagen wird man mit dem Ultrarotstrahler vor teilhaft möglichst weitgehend veraschen, weil in den großen Schalen die Substanz in dünnerer Schicht ausgebreitet werden kann als im Tiegel. Die Substanz läßt sich auf diese Weise bei niedrigerer Temperatur, also schonender veraschen. Kleine Substanzmengen über den ganzen Schalenboden zu verteilen, ist unvorteilhaft. Die Asche läßt sich aus dem kleineren Tiegel besser sammeln.

#### Abtrennung des Bors aus der Asche

Die Abtrennung des Bors aus der Asche gelingt durch Destillation als Boräure-methylester, wie im Abschnitt II/3 eingehend beschrieben ist. Die Asche wird in einen 50 ml Quarzkolben über führt, dieser an die Destillationsapparatur (Bild 2) angeschlossen und ein Gemisch von 4 ml konz. Schwefelsäure und 10 ml Methanol vorsichtig zugegeben. Die Vorlage enthält 1–4 Plättchen KOH in wenig Wasser gelöst und mit Methanol so hoch aufgefüllt, daß der Vorstoß etwa 5 mm tief eintaucht. (Erlenmeyer schräg stellen.) Ein Tropfen Phenolphthalein-Lösung zeigt alkalische Reaktion an. Der 250 ml Siedekolben enthält 150 ml Methanol, 2 g Mannit, 1 Plättchen KOH und etwas Phenolphthalein als Indikator. Die Lösung soll kräftig rot sein.

Nachdem der Quarzkolben in einem Paraffin- oder Phosphorsäure-Bad auf 120° aufgeheizt ist, wird so lange Methanol-Dampf durchgeleitet, bis sich 50 ml Destillat gebildet haben. Nach be endeter Destillation gibt man in das noch alkalisch reagierende Destillat eine Spatelpitze (50–100 mg) voll Mannit und dampft vorsichtig über freier Flamme oder im Wasserbad von 75–90° und Aufblasen eines gereinigten Luftstroms (konz. Natronlauge, konz. Schwefelsäure, Glaswolle und Watte) bis auf etwa 1 ml ein. Die Lösung wird in ein Quarz-Reagenzglas überführt, der Erlenmeyerkolben mit Methanol und wenig Wasser nachgespült und die Lösung im Reagenzglas bis auf etwa 0,3 ml eingedampft.

#### Bestimmung des Bors

Die Bor-Analyse verläuft wie bei den Pflanzenanalysen be schrieben. Der Destillationsrückstand wird gleichzeitig mit weiteren Analysenproben und Vergleichslösungen in konz. Schwefelsäure mit Ammoniumpersulfat oxydiert und das Bor in der klaren Lösung mit 1,1'-Anthridim bestimmt.

Die Genauigkeit der Bor-Bestimmung nach dieser Methode ist geringer als die der nassen Veraschung von Pflanzenproben. Durch die trockene Veraschung und Destillation kommt eine zusätzliche Unsicherheit von etwa 0,2 γ Bor in die Bestimmung hinein, so daß die Genauigkeit bei Bor-Mengen unter 3 γ Bor etwa ± 0,3 γ Bor beträgt, bei größeren Bor-Mengen etwa ± 10 % x Fehler.

Da die Veraschung der Probe vorsichtig geschehen muß, sind dazu mehrere Stunden erforderlich. Der Zeitbedarf für eine Analyse beträgt etwa 2 Tage.

Beispiele:  
Rind

	g Ein waage	γ Bor	γ % Bor
Nierenbecken .....	6,23	2,21	35,5
Niere .....	44,7	10,43	23,4
Milz .....	25,2	5,53	21,9
Leber .....	39,6	5,21	13,2
Pankreas .....	45	3,71	8,2

Herrn Prof. Dr. R. Kuhn danke ich für seine Unterstützung und sein Interesse an dieser Arbeit.

Eingeg. am 13. Juni 1952 [A 437]

## Aktivierungsanalyse

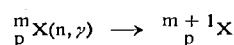
Von Dr. W. HERR, Mainz

Aus dem Max-Planck-Institut für Chemie, Mainz

Die Radioaktivierungsanalyse durch Neutronen bzw. Deuteronen oder Protonen wird zu einem wichtigen Werkzeug der analytischen Chemie, besonders für den Spuren nachweis. Hinzu kommt die Methode der Analyse durch Neutronen-Absorption. Die Verfahren wurden sowohl in der anorganischen wie organischen Analytik und der chemischen Technik erfolgreich verwandt und ergänzen die Radioindikator-Untersuchungen besonders dort, wo keine brauchbaren längerlebigen Indikatoren vorhanden sind oder mit Strahlenschädigungen bei biologischen Objekten zu rechnen wäre. Einige typische Beispiele aus den bisherigen Untersuchungen werden hier zusammengestellt.

Die gewaltige Entwicklung der Kernphysik im letzten Jahrzehnt hat u. a. auch der analytischen Chemie eine neue Arbeitsmethode gebracht. Sie basiert auf der Tatsache, daß heute durch geeignete Kernprozesse künstlich radioaktive Isotope von praktisch jedem Element erzeugt werden können. Der Nachweis der radioaktiven Isotope aber ist noch in geringsten Konzentrationen mit Strahlungsmeßgeräten möglich. Heute schon hat sich diese Art der Analyse außerordentlich bewährt, und sie ist besonders für den Spuren nachweis bestimmter Elemente in den verschiedensten Materialien geeignet.

Das mächtigste Instrument für Kernumwandlungen ist der Uran-Pile<sup>1)</sup>. Neutronen sind hier die wirksame Komponente, und sie können in den meisten chemischen Elementen durch eine sog. Neutroneneinfangreaktion radioaktive Atomarten erzeugen. Die Gleichung läßt sich in der Form



schreiben. Die Neutronenzahl m im Atomkern des Elementes X wird um eins vermehrt. Die überschüssige Bindungsenergie des Neutrons wird in Form eines γ-Quants

<sup>1)</sup> Dank dem Entgegenkommen des A. E. R. E., Harwell (England), können heute Pile-Aktivierungen von Proben, die bestimmten Richtlinien entsprechen, auch für uns dort ausgeführt werden.

abgestrahlt. Die Kernladungszahl p bleibt unverändert erhalten, so daß die neu entstandene Atomart dem Ausgangselement isotop ist und sich daher von diesem chemisch nicht unterscheidet. Bei den meisten (n, γ)-Reaktionen werden, mit wenigen Ausnahmen, β-radioaktive Atomarten gebildet, und diese können auf Grund ihrer Halbwertszeit und der Energie ihrer Strahlung identifiziert werden.

Wenn also das Auftreten einer bestimmten Radioaktivität zunächst eine Aussage über das Vorhandensein des betreffenden Elementes, aus dem es entstanden ist, zuläßt, so gibt die genaue Messung dieser Aktivität die Menge des Isotops und somit auch die Menge des bestrahlten Elementes an. Wenn sich die entstehenden Radioisotope durch ihre Halbwertszeiten oder Energien genügend unterscheiden, ist es möglich, mehrere Elemente nebeneinander im gleichen Probestück nachzuweisen. Häufiger dagegen wird erst eine chemische Trennung und nachfolgende Messung der einzelnen Komponenten zum Ziele führen.

Der besondere Vorteil der Aktivierungsanalyse ist nun, daß die chemisch-analytische Trennung des aktivierten Elementes ungewöhnlich frei von Störungen chemisch ähnlicher, nicht radioaktiver Elemente ist. Auch kann bei einer Spurenanalyse etwa ein nachträgliches Einschleppen