

EXTRAKTION DES BOR-CURCUMINKOMPLEXES UND IHRE ANWENDUNG BEI DER PHOTOMETRISCHEN BORBESTIMMUNG

M. VRCHLABSKÝ

*Institut für analytische Chemie,
Purkyně-Universität, Brno*

Eingegangen am 8. November 1971

Der aus dem Medium konzentrierter Schwefel- und Essigsäure entstehende Bor-Curcumin-komplex wird quantitativ in Dichlormethan extrahiert. Bei der Extraktion wird die Färbung des Blindversuchs markant unterdrückt. Die Intensität der zu messenden Färbung des Komplexes wird durch Konzentrieren in ein zweieinhalbfach kleineres Volumen der organischen Phase erhöht. Bor wurde in einer Menge von 0,1–0,7 µg mit einer Genauigkeit von 2–10% beim scheinbaren Extinktionskoeffizienten $\epsilon = (1,32 \pm 0,02) \cdot 10^5 \text{ cm}^2 \text{ mmol}^{-1}$ extraktionsphotometrisch bestimmt. In der Dichlormethanphase wurde die stufenweise Bildung von Bor-Curcumin-komplexen mit einem Komponentenverhältnis B : R 1 : 1 und 1 : 2 nachgewiesen. Die Methode wurde zur Borbestimmung in Abdampfrückständen, die einen ternären Komplex der Borsäure mit Brenzcatechin und Tetraphenylphosphonium enthielten, herangezogen.

Bor bildet mit Curcumin in Abhängigkeit von den Reaktionsbedingungen¹ gefärbte Komplexe mit der Zusammensetzung 1 : 1, bzw. 1 : 2. Zur photometrischen Bestimmung wird die Bildung des Komplexes Bor-Curcumin-Oxalsäure (1 : 1 : 1) (Rubrocurcumin) im wässrig-äthanolischen Medium² oder das Entstehen von Rosocyanin (Bor-Curcumin 1 : 2) im wasserfreien Medium von Essigsäure und Chlorphenol³, von Essigsäure und Äthanol⁴, sowie von Essigsäure und Ammoniumacetat⁵ verwendet. In der Literatur wird eine Reihe von auf Modifikationen der angeführten Verfahren beruhenden Methoden⁶ beschrieben, deren Zweck in der Stabilisierung der Färbung des Reaktionsproduktes besteht. Eine der letzten Verbesserungen, die sich bei der photometrischen Bestimmung der Nanogramm-Bormengen bewährte, beruht auf der Extraktion des Borkomplexes mit Curcumin von der Zusammensetzung $\{B(\text{curc})_2^+, \text{HSO}_4^-\}$ in das Gemisch von Methyläthylketon und Chloroform oder Cyclohexan in Gegenwart von Phenol⁷.

In der vorliegenden Arbeit wird ein einfaches, auf der Extraktion des Bor-Curcumin-komplexes in Dichlormethan aus dem Medium von Essigsäure und Ammoniumacetat beruhendes Extraktionsverfahren überprüft. Der Borkomplex mit Curcumin bildet sich im Medium eines Gemisches von Schwefel- und Essigsäure⁵. Mit Hilfe einer Ammoniumacetat enthaltenden Pufferlösung wird die Schwefelsäure neutralisiert und die protonisierte Form des nichtumgesetzten Reagens zersetzt, worauf der Komplex nach Zugabe einer kleinen Wassermenge in Dichlormethan extrahiert wird.

EXPERIMENTELLER TEIL

Reagentien. Die Curcuminlösung wurde durch Lösen von 0,125 g Reagens (Schuchardt, München) in 100 ml Eisessig hergestellt. Die Borsäurelösungen (10^{-4} – 10^{-5} M) in Wasser wurden in Polyäthylengefäßen aufbewahrt. Das Säuregemisch enthielt 50 ml 96%iges H_2SO_4 , das unter Kühlen mit 50 ml Eisessig gemischt wurde. Zur Abstumpfung der Lösungszacidität diente eine Pufferlösung, die durch Lösen von 250 g Ammoniumacetat in 300 ml Eisessig und Auffüllen auf 1000 ml Wasser hergestellt wurde.

Arbeitsgang. Die maximal 0,7 µg Bor enthaltende Probe wird in einer Teflonschale mit drei Tropfen 1M-NaOH verdampft. Der Abdampfrückstand wird mit 3 ml Curcuminlösung gemischt, 5 Minuten am Wasserbad bis zum Lösen erhitzt (60°C) und mit 3 ml Säuregemisch versetzt. Nach 30 Minuten wird die Azidität der Probe durch Zugabe von 10 ml Pufferlösung abgestumpft, worauf das Gemisch mit 10 ml Wasser quantitativ in einen Schüttelapparat übergeführt wird. Es wird 10 Minuten mit 10 ml Dichlormethan geschüttelt. Die organische Schicht wird über schwach mit Dichlormethan angefeuchtetes Filterpapier filtriert und bei 555 nm photometriert. Parallel wird ein Blindversuch durchgeführt.

Gültigkeit des Lambert-Beerschen Gesetzes. Das Lambert-Beersche Gesetz gilt für eine Menge von 0,02–0,7 µg in 10 ml einer Dichlormethanphase extrahiertem Bor. Durch Auswerten der Eichgeraden mittels Regressionsanalyse⁸ wurden die charakteristischen Daten für die Exaktheit der Methode gewonnen. Durch den Richtungskoeffizienten der Eichgeraden wird der Molextinktionskoeffizient $\epsilon_{555} = 1,32 \cdot 10^5 \text{ cm}^2 \text{ mmol}^{-1}$ bestimmt. Seine Bestimmungsgenauigkeit wird durch die Standardabweichung $s_b = \pm 2,58 \cdot 10^3 \text{ cm}^2 \text{ mmol}^{-1}$ ausgedrückt. Für die Streuung der einzelnen Punkte auf der Eichkurve ist die Standardabweichung $s_{A,c} = \pm 9,3 \text{ ng B}$ in 10 ml Extrakt charakteristisch, so daß die Variationskoeffizienten für den Bereich der Eichkurve 100–700 ng die Werte $v = 9,3$ – $1,3\%$ aufweisen. Die nach Kaiser abgeleitete Nachweisgrenze aus der Anzahl der Messungen $i = 10$ des Blindversuchs in Grenzen von $A = 0,040$ – $0,060$ ist $c = 22,6 \text{ ng B}$ in 10 ml Extrakt. Die nach Sandel ausgedrückte Bestimmungsempfindlichkeit weist für $A = 0,01$ den Wert $1,1 \text{ ng B cm}^2$ auf. Der Verlauf der Eichgeraden ist, insofern länger als 5 Minuten extrahiert wurde, von der Schütteldauer unabhängig. Die Extinktion der Extrakte ist mehr als 5 Stunden beständig.

DISKUSSION

Die Extraktion verläuft aus dem Medium von 5M Essigsäure, aus der 20% zusammen mit dem Borkomplex in die Dichlormethanphase extrahiert werden. Die Gegenwart von Essigsäure in der Dichlormethanphase ist als Bedingung für die Extraktion des Bor-Curcuminkomplexes anzusehen. Wird die Essigsäure durch Schütteln mit destilliertem Wasser aus der organischen Phase reextrahiert, scheidet sich der Bor-Curcuminkomplex in der Zwischenphase als roter Niederschlag aus. Nach Zugabe von 1M Essigsäure zum Dichlormethan löst sich der Niederschlag wieder in der organischen Phase. Der für den Extrakt berechnete Molextinktionskoeffizient $\epsilon_{555} = 1,32 \cdot 10^5 \pm 0,02 \cdot 10^5$ ist mit den Werten des Koeffizienten für das Acetatmedium vor der Extraktion ($1,35 \cdot 10^5$ auf Grund eigener Messung, $1,39 \cdot 10^5$ nach Grinstead⁵) vergleichbar. Beim Vergleich mit der Methode ohne Extraktion ändert sich demnach bei der Extraktion des Bor-Curcuminkomplexes in Dichlormethan die Bestimmungsempfindlichkeit nicht. Die Bedeutung der Methode besteht darin, daß

Konzentrierung des Komplexes in das 2,5 mal kleinere Volumen der organischen Phase bei gleichzeitiger Unterdrückung des Blindversucheinflusses erfolgt, da das freie Reagens nur teilweise in das Dichlormethan extrahiert wird. Dadurch wird die Intensität der zu messenden Komplexfärbung erhöht und auf diese Weise die Bestimmung kleinerer Bormengen als bei der extraktionslosen Methode ermöglicht, wobei sich die Ergebnisse als reproduzierbarer und die Färbungsstabilität als höher erweisen. Trotz hoher Essigsäurekonzentrationen im System erfolgt bei der Extraktion mit Dichlormethan kein Mischen der Phasen, die Volumänderungen der Dichlormethanphase unterscheiden sich nicht von denen beim Schütteln des Dichlormethans mit Wasser beobachteten.

Auf Grund der Konzentrationsüberschußkurven der Extinktionsabhängigkeit von der Reagenskonzentration $A = f_{c_R}$ (Abb. 1) erfolgt maximale Borextraktion, falls die Curcuminkonzentration in der Acetatphase höher ist als $2,5 \cdot 10^{-4} M$, also einem mehr als hundertfachen Reagensüberschuß entspricht.

Wie die logarithmische Analyse^{10,11} der Überschubkurve $A = f(c_R)$ zeigt (Abb. 2), wird der Komplex mit dem Verhältnis Bor: Curcumin 1 : 1 bis zur Curcuminkonzentration $1,2 \cdot 10^{-4} M$ gebildet und extrahiert (Kurvenabschnitt A-B). Es handelt sich offensichtlich um den Diacetato-Bor-Curcuminkomplex¹. Bei höheren Curcu-

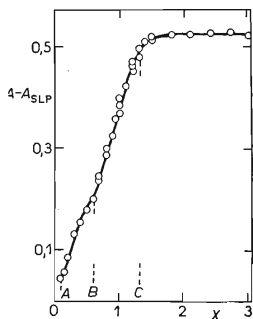


ABB. 1

Abhängigkeit der Extraktion und Färbung des Bor-Curcuminkomplexes in der Dichlormethanphase von der Curcuminkonzentration

$c_M 5 \cdot 10^{-6} M$, Phasenvolumen 10 ml, $x =$ ml Reagenslösung mit dem Gehalt von 1,25 µg Curcumin in 1 ml.

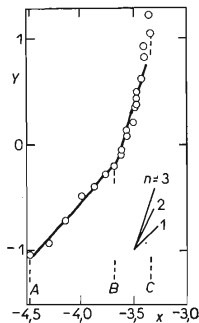


ABB. 2

Logarithmische Analyse der extraktionsphotometrischen Überschubkurve

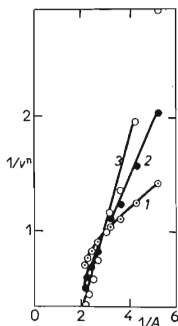
$Y = \log A / (A_{max} - A)$; $x = \log c_R$; $c_M 5 \cdot 10^{-6} M$; A, B, C, Abschnitte der Überschubkurve.

minüberschüssen (Kurvenabschnitte B-C) wird ein weiterer Komplex mit der Ligandenzahl $n = 2$ extrahiert. Dies wird auch durch die Analysenergebnisse der photometrischen Kurve mittels der Methode der Geraden^{12,13} bestätigt (Abb. 3). Es kann daher vorausgesetzt werden, daß unter den Bedingungen der quantitativen Borextraktion in der organischen Phase der Komplex $\{B(\text{curc})_2^+, \text{CH}_3\text{COO}^-\}$ existiert. Der Molextinktionskoeffizient des Komplexes in der Dichlormethanphase $\epsilon_{555} = 1,32 \cdot 10^5$ steht in guter Übereinstimmung mit den Werten, die von Umland und Thierig⁷ für den Extrakt des analogen Komplexes $\{B(\text{curc})_2^+, \text{HSO}_4^-\}$ ($\epsilon_{555} 1,46 \cdot 10^5$) im Chloroform-Methyläthylketongemisch in Gegenwart von Phenol gefunden wurden.

ABB. 3

Graphische Transformation der extraktions-photometrischen Überschußkurve

$1/v^n = f(1/A)$ im B-C-Abschnitt; $c_M 5 \cdot 10^{-6} \text{ M}$, $v = \text{ml } 1,25$. $10^{-1}\%$ ige Reagenslösung; n für Kurve 1 1, 2 2, 3 3.



Borbestimmung nach der extraktiven Trennung von anderen Elementen

Zur Trennung des Bors von Fe(III), Al(III), Sc(III), Y(III), La(III), Cd(II), Zn(II), Ni(II) und Co(II) wurde in der Arbeit¹⁴ die Extraktion von Assoziaten der Borsäure mit Brenzcatechin und dem Tetraphenylphosphoniumkation (TPP) in Dichlormethan vorgeschlagen. Zur Borbestimmung in diesen Extrakten kann auch die beschriebene extraktionsphotometrische Methode mit Curcumin unter Voraussetzung parallel durchgeführter Vergleichsbestimmungen mit Lösungen bekannten Borgehaltes herangezogen werden. Die organische Phase enthält nämlich außer Bor noch mitextrahierte Überschüsse von Brenzcatechin und TPP, die bei der Borbestimmung mit Curcumin eine konstante Verminderung des Molextinktionskoeffizienten um 20% gegenüber den Werten für reine Borlösungen verursachen. Wie die Analysen der durch Verdampfen von Borlösungen mit einer Konzentration von $5 \cdot 10^{-6} \text{ M}$ in Gegenwart von Brenzcatechin und TPP hergestellten Modellproben zeigen, bleibt dieser effektive Molextinktionskoeffizient auch bei Schwankungen der Brenzcatechinkonzentration im weiten Bereich konstant ($2 \cdot 10^{-5} - 5 \cdot 10^{-2} \text{ M}$) und es gilt die Linearabhängigkeit zwischen der Borkonzentration im System und der Extinktion des Curcuminkomplexextraktes für Mengen von 0,1–0,7 $\mu\text{g B}$ in der Probe. Durch die

Gegenwart von TPP wird der Verlauf und die Absorbanz der Extrakte nicht beeinflußt. Die Methode wird durch folgende, mittels Auswertung der Eichkurve gewonnenen Angaben charakterisiert: $-e_{555} = 1,1 \cdot 10^5 \text{ cm}^2 \text{ mmol}^{-1}$, $s_e = \pm 2,0 \cdot 10^3 \text{ cm}^2 \text{ mmol}^{-1}$; $s_{A,c} = 23,6 \text{ ng B}$, $v = 24\%$ (für 100 ng B) und 3,4% für 700 ng B, Nachweisgrenze ($i = 7$ für $A = 0,070 - 0,090$) $c = 36,4 \text{ ng B}$ in der Probe.

Verfahrensgang. Bor in Mengen von 0,1–0,8 µg wird aus 5 ml 0,4M Brenzcatechin und 0,5M Acetatpuffer (pH 4,6) enthaltender wäßriger Phase in 5 ml 1%ige Tetraphenylphosphoniumbromidlösung in Dichlormethan quantitativ extrahiert. Die Lösungen werden 15 Minuten in Polyäthylengefäßen geschüttelt. Nach Teilen der Phasen wird der Extrakt quantitativ in Teflonschalen eingebracht, das Schüttelgefäß wird zweimal mit 2 ml Dichlormethan durchgespült und die vereinigten organischen Phasen werden am Wasserbad (60°C) oder unter einer Infrarotlampe erhitzt, bis das Dichlormethan verdampft. In Gegenwart von Brenzcatechin und TPP verflüchtigt sich die Borsäure nicht, weshalb der Abdampfrückstand nicht alkalisiert werden muß. Die extraktionsphotometrische Borbestimmung im Abdampfrückstand mit Curcumin wird weiter mit Hilfe des bereits beschriebenen Verfahrens durchgeführt.

LITERATUR

1. Umland F., Pottkamp F.: *Z. Anal. Chem.* 241, 223 (1968).
2. Spicer G. S., Strickland J. D. H.: *J. Chem. Soc.* 1952, 4650.
3. Spicer G. S., Strickland J. D. H.: *Anal. Chim. Acta* 18, 231 (1958).
4. Hayes M. R., Mettcalfe J.: *Analyst* 87, 956 (1962).
5. Grinstead R. R., Snider S.: *Analyst* 92, 532 (1967).
6. *Analitičeskaja Chimija Bora*. Sammelwerk (A. A. Nemostruk, Z. K. Karalova, Eds), S. 64. Izd. Nauka, Moskau 1964.
7. Thierig D., Umland F.: *Z. Anal. Chem.* 211, 161 (1966).
8. Eckschlagner K.: *Errors Measurement and Results in Chemical Analysis*, S. 142. (Übersetzung 2. Aufl.). Herausgegeben von SNTL, Prag 1969.
9. Kaiser H.: *Z. Anal. Chem.* 209, 1 (1965).
10. Babko A. K., Korotun M. V.: *Ž. Obšč. Chim.* 23, 1302 (1953).
11. Sommer L.: *Folia Fac. Rerum Nat. Univ. Brno* 5, (1), 1 (1964).
12. Specker H., Werding G., Schiewe G., *Z. Anal. Chem.* 206, 61 (1964).
13. Asmus E., Hinz U., Ohls K., Richly W.: *Z. Anal. Chem.* 178, 104 (1960–61).
14. Bock R., Vrchlabský M.: *Z. Anal. Chem.* 246, 228 (1969).

Übersetzt von K. Grundfest.