

Detection of boric acid in urine using turmeric test strips - implications for immunological ethyl glucuronide screening

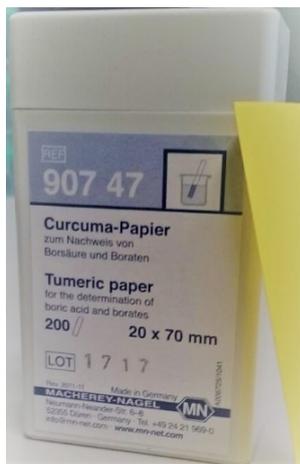
Torsten Arndt, Reinhild Beyreiß, Christina Hahn, Karsten Stemmerich

Bioscientia Institut für Medizinische Diagnostik GmbH,
Konrad-Adenauer-Straße 17, D-55218 Ingelheim, Germany; torsten.arndt@bioscientia.de

Background: Ethylglucuronide (EtG) in urine is considered a marker of ethanol consumption or exposition. Immunological EtG screenings are effected by high concentrations of boric acid, but these are not detected by common urine sample checks. We have tested turmeric paper for the detection of boric acid in urine. **Methods:** EtG-free urines with different creatinine concentrations and without or with EtG-spiking were sampled in boric acid tubes (Urin Monovette 10 mL Borsäure, Sarstedt, Nümbrecht, Germany), diluted to achieve boric acid concentrations between 1 mg/L and 15.000 mg/L and checked by turmeric paper (Macherey-Nagel, Düren, Germany). The DRI EIA ethyl glucuronide and the creatinine assay were from ThermoFisher Scientific Microgenics (Passau, Germany) and run on an AU680 analyzer (Beckman Coulter, Krefeld, Germany). **Results:** At pH 1-2 (first step), boric acid concentrations of approx. 500 mg/L and higher were indicated by a color shift from yellow to orange-red. After adding 1 M NaOH to the dried paper (second step), a color shift from orange-red to green-black indicated boric acid concentrations of approx. 5000 mg/L and greater. The detection limit of approx. 5000 mg/L was independent from the urine concentration. False-negative EtG screenings were obtained, however, already at boric acid concentrations of approx. 500 mg/L. **Conclusion:** The turmeric paper can reliably identify urine samples with high boric acid concentrations (≥ 5000 mg/L), e. g. from urine containers with boric acid preservatives. However, since false-negative EtG screenings by the DRI EIA EtG assay may already occur by boric acid concentrations of 500 mg/L and since these remain undetected by the turmeric paper, visual control of the urine void remains imperative for valid EtG testing.

1. Einleitung

Ethylglukuronid (EtG) im Urin gilt als Kenngröße einer Ethanolaufnahme oder -exposition [1]. Die enzymatische Bestimmung mit dem DRI EIA Ethylglucuronid Assay von Thermo Fisher Scientific Microgenics kann durch Borsäure in der Urinmatrix gestört werden [2], wobei die im immunologischen Drogenscreening üblichen Urinverfälschungstests unphysiologisch hohe Borsäure-Konzentrationen nicht erkennen [3].



Dieses ist unbefriedigend, weil erhöhte Borsäure-Konzentrationen im Urin nicht nur durch die Verwendung von Urinröhrchen mit Borsäure-Zusatz für die Mikrobiologie resultieren können, sondern auch durch Manipulation der Urinproben mit Borsäure. Unabhängig hiervon wird über suizidale und akzidentielle Borsäure-Intoxikationen durch Pestizide oder Reinigungsmittel berichtet [4-6]. Ein Borsäure-Schnelltest, zum Beispiel mit Curcuma-Papier von Macherey-Nagel (Abb. 1), könnte somit auch jenseits des EtG-Screenings von Interesse sein. Das Testpapier ist mit Curcumin getränkt, welches in Gegenwart von Borsäure und Boraten pH-abhängig einen orange-roten bzw. grün-schwarzen Borsäure-Curcumin-Komplex bildet [7].

Abb. 1. Curcuma-Papier (Macherey-Nagel) zum Nachweis von Borsäure/ Boraten.

Ziel unserer Untersuchungen war, zu prüfen, ob Borsäure im menschlichen Urin mit dem zum Nachweis von Borsäure in salzsauren Lösungen ausgelegten Curcuma-Papier nachweisbar ist, ob dies von der Urinkonzentration abhängt und ab welcher Borsäure- bzw. EtG-Konzentration falsch-negative Immunoassay-EtG-Screenings zu erwarten sind.

2. Material und Methoden

Test auf Borsäure/ Borate mit Curcuma-Papier (Macherey-Nagel, Düren): Ansäuern der Urine mit 3 M HCl auf pH 1-2, Eintauchen des Papiers, abhängig vom Borsäure-Gehalt verfärbt sich das gelbe Papier orange bis rot (Abb. 2, links), Lufttrocknung, Aufgabe von 1 M NaOH, abhängig von der Borat-Konzentration verfärbt sich das Papier von orange-rot nach grün-schwarz (Abb. 2, rechts). Oxidantien und Iodid können den Test stören [7].

Die Sensitivität des Curcuma-Papiers in Urin wurde wie folgt untersucht: 4 EtG-freie Urine wurden entsprechend der Testanleitung des Herstellers auf einen pH-Wert von 1-2 eingestellt und in Urin Monovetten 10 mL Borsäure (Sarstedt, Nümbrecht, Deutschland) aufgezogen. Eine vollständige Füllung ergibt eine Borsäure-Konzentration von 15000 mg/L. Anschließend wurden jeweils 10 Verdünnungsstufen zwischen ca. 1 und 15000 mg/L Borsäure durch serielle Verdünnung mit dem zugehörigen nativen Urin hergestellt. Anmerkung: Die Konzentration von 1 mg/L Borsäure ist eine rechnerische Angabe mit einer für die 4 nativen Urine angenommenen (nicht gemessenen) physiologischen Borsäure-Konzentration von 0 mg/L.

Ein möglicher Einfluss der Urinkonzentration auf den Curcuma-Test wurde mit Urinen mit Kreatinin-Konzentrationen von 172 bis 3080 mg/L geprüft (Referenzbereich Männer 390-2590 mg/L, Frauen 260-2170 mg/L [8]).

Eine mögliche Beziehung zwischen falsch-negativen DRI EIA EtG-Ergebnissen und der Borsäure-Konzentration im Urin wurde anhand EtG-dotierter Urine getestet. Hierzu wurde ein EtG-freier Urin mit EtG auf 0,1 mg/L (forensischer Cut-off), 0,5 mg/L (vom Hersteller empfohlener Cut-off) und 1 mg/L eingestellt und in o. g. Borsäure-Urindröhrchen aufgezogen. Anschließend wurden 10 Verdünnungsstufen zwischen 1 und 15000 mg/L Borsäure durch serielle Verdünnung mit Urin mit identischer EtG-Konzentration und physiologischem Borsäure-Gehalt hergestellt und auf EtG getestet (Abb. 3). Urine ausgewählter Borsäure-Konzentrationen (0, 100, 500 und 1000 mg/L) wurden einer 10-fach EtG-Bestimmung unterzogen (Abb. 4).

EtG und Kreatinin wurden mit dem DRI EIA EtG-Assay und dem Kreatinin-Assay (kinetisch Jaffe) von Thermo Fisher Scientific Microgenics (Passau) auf einem AU680 (Beckman Coulter, Krefeld) nach DIN 17025 akkreditierten Protokollen bestimmt.

3. Ergebnisse

Abbildung 2 zeigt den zweistufigen Farbnachweis von Borsäure/ Borat mit Curcuma-Papier für vier unterschiedlich konzentrierte Urine.

| Urin-Nr. Kreatinin [mg/L] | I II III IV | | | | I II III IV | | | |
|---------------------------------|-------------|-----|------|------|--------------|-----|------|------|
| | 172 | 951 | 1749 | 3080 | 172 | 951 | 1749 | 3080 |
| | Saurer pH | | | | Basischer pH | | | |
| Borsäure [mg/L] | | | | | | | | |
| 15000 | | | | | | | | |
| 10000 | | | | | | | | |
| 5000 | | | | | | | | |
| 1000 | | | | | | | | |
| 500 | | | | | | | | |
| 100 | | | | | | | | |
| 50 | | | | | | | | |
| 20 | | | | | | | | |
| 10 | | | | | | | | |
| 1 | | | | | | | | |

Bei saurem pH tritt ab einer Borsäure-Konzentration von 500 mg/L ein noch schwach ausgeprägter Farbumschlag von gelb zu orange ein, der bei höheren Konzentrationen intensiver wird und ab 5000 mg/L Borsäure in orange-rot übergeht.

Nach Trocknen und Auftropfen von NaOH (basischer pH-Bereich) tritt ein Farbwechsel von orange-rot zu grün-schwarz ab 5000 mg/L ein.

Setzt man die Kombination beider Farbumschläge als Nachweis von Borsäure/ Borat an, ergibt sich eine Nachweisgrenze von 5000 mg/L.

Abb. 2. Borsäurenachweis in Urin mit Curcuma-Papier. Links: nach Eintauchen des Papiers in die auf pH 1 bis 2 angesäuerten Urine, Rechts: nach Trocknung und anschließendem Auftropfen von 1 M NaOH. Der Farbumschlag von gelb nach orange-rot im sauren pH-Bereich (links) und dann von orange-rot nach grün-schwarz bei basischem pH (rechts) gilt als Borsäure/ Borat-Nachweis.

Das Ergebnis des EtG-Immunoassays in Gegenwart unphysiologisch hoher Borsäure-Konzentrationen (s. u.) hängt stark von der EtG-Konzentration des Urins ab (Abb. 3). Für die niedrige EtG-Konzentration von 0,1 mg/L führen schon ca. 500 mg/L Borsäure zu einem falsch-negativen Befund, bei 0,5 mg/L EtG tritt ein solcher erst ab 5000 mg/L ein, bei einer EtG-Konzentration von 1 mg/L erst ab 10000 mg/L Borsäure (Abb. 3).

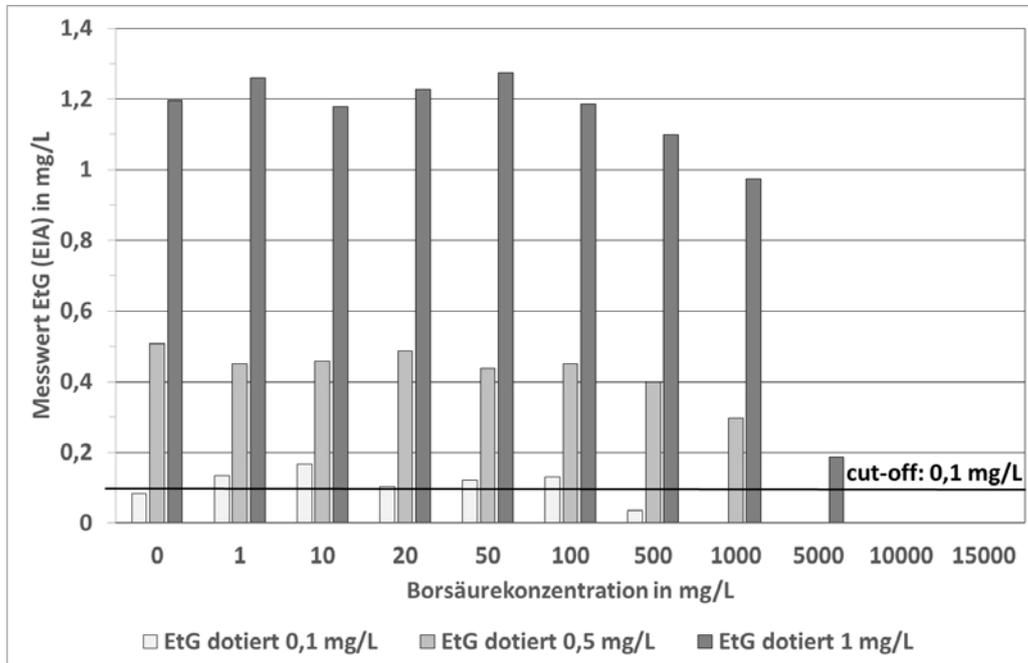


Abb. 3. Einfluss der Borsäure-Konzentration auf den Befund des immunologischen EtG-Screenings in Abhängigkeit von der EtG-Konzentration.

Von der Messunsicherheit unabhängige falsch-negative EtG-Immunoassay-Ergebnisse lagen ab einer Borsäure-Konzentration von 500 mg/L vor (Mann-Whitney-Test, Signifikanzniveau $\alpha = 0,05$; Abb. 4). Anmerkung: 0 mg/L Borsäure wird für den nativen Urin ohne Zugabe von Borsäure definiert. Die physiologische Borsäure-Konzentration der Urine wurde nicht ermittelt.

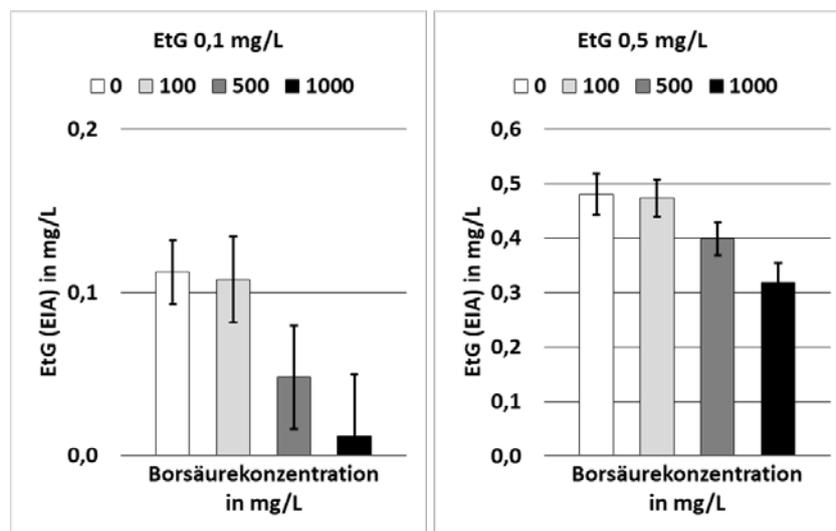


Abb. 4. EtG-Screening mit dem DRI EIA EtG-Assay: Mittelwerte (n = 10) aus dem EtG-Screening für EtG-dotierten Urin (links 0,1 mg/L, rechts 0,5 mg/L) bei Borsäure-Konzentrationen von 0 mg/L (weiß), 100 mg/L (hellgrau), 500 mg/L (dunkelgrau) und 1000 mg/L (schwarz).

4. Diskussion

In Anwesenheit von Boraten bildet Curcumin einen Komplex mit Bor als Zentralatom und 2 Curcumin-Liganden (Abb. 5). Die Farbe des Komplexes, auch Rosocyanin genannt, hängt vom pH-Wert ab [9,10]. Bei saurem pH ist sie orange bis rot, bei basischem pH grün-schwarz. Auf diesem Phänomen beruht auch das von uns getestete Curcuma-Papier [7]. Schon im Jahr 1836 wurde ein Nachweis von Borsäuren und Boraten mit Curcuma-Papier beschrieben [11].

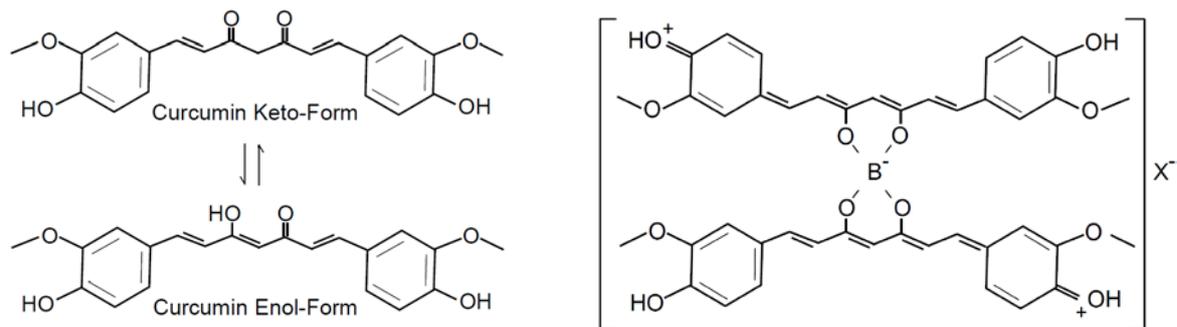


Abb. 5. Links: Keto-Enol-Tautomerie des Curcumins (nach [9]), rechts: Curcumin-Borat-Komplex (Rosocyanin) (nach [10]).



Die von uns untersuchten Borsäure-Urinröhrchen von Sarstedt ergeben laut Hersteller bei kompletter Befüllung mit 10 mL Urin eine Borsäure-Konzentration von 15000 mg/L [12]. Diese Röhrchen werden im mikrobiologischen Labor zur Stabilisierung von Urinproben eingesetzt, um die Vermehrung von u. U. einzelnen Bakterienstämmen zu Lasten anderer zu unterbinden und damit das in vivo Besiedlungsprofil für einen Zeitraum von circa 48 Stunden bei Raumtemperatur zu konservieren [12]. Werden solche Urinröhrchen irrtümlich zur EtG-Analyse eingesandt und wird der grüne Aufdruck „Borsäure“ auf dem Röhrchen (Abb. 6) vom Einsender mit dem Barcode-Etikett überklebt und deshalb im Labor nicht erkannt, sind falsch-niedrige bzw. falsch-negative EtG-Immunoassay-Ergebnisse zu erwarten [2,3].

Abb. 6. Sarstedt Urin-Monovette 10 mL für klinische Chemie und Toxikologie (gelb) und Sarstedt Urin-Monovette 10 mL Borsäure für die Mikrobiologie (rechts).

Unsere Ergebnisse bestätigen diese Befunde, wobei bei niedrigen EtG-Konzentrationen von 0,1 und 0,5 mg/L bei einem Cut-off von 0,1 mg/L schon ab Borsäure-Konzentrationen von circa 500 mg/L falsch-negative Befunde zu erwarten sind (Abb. 3 und 4), ohne dass diese mit dem von uns getesteten Curcuma-Papier sicher nachgewiesen werden können (Abb. 2).

Physiologische Borsäure-Gehalte im Urin werden durch das von uns verwendete Curcuma-Papier nicht angezeigt. Allerdings differieren die Angaben zur physiologischen Borsäure-Ausscheidung im Urin: Wallace et al. [13] ermittelten zum Beispiel eine mittlere Bor(!)-Ausscheidung von 0,80 bzw. 0,88 mg/L im 24-Stunden-Urin von 15 jungen Männern. Baselt zitiert diese Arbeit und gibt eine mittlere Bor-Konzentration im Urin („expressed as borate“) von 2,2 mg/L an [4], was sich durch den Umrechnungsfaktor zwischen Borat und Bor jedoch nicht erklären lässt. Laut Tietz [14] liegt die Borat-Ausscheidung im Urin erwachsener Männer bei weniger als 2 mg/L.

Unabhängig hiervon ist ganz offensichtlich die von uns ermittelte „kritische“ Konzentration für den Borsäure/ Borat-Nachweis von circa 5000 mg/L um ein Vielfaches höher als die physiologische Borsäure-Ausscheidung. Sie ist auch höher als die vom Hersteller für salzsaure Lösungen angegebene Nachweisgrenze von 20 mg/L Bor [7] bzw. daraus berechnet 115 mg/L Borsäure. Die Ursache für diesen Befund bleibt unklar. Möglicherweise sind hierfür Matrixeffekte, nicht aber die Urinkonzentration als solche, verantwortlich.

So lassen sich schon ab 500 mg/L Borsäure leichte Verfärbungen des Curcuma-Papiers im sauren Milieu erkennen (Abb. 1, links), ein deutlicher Umschlag, insbesondere nach grün-schwarz im basischen pH-Bereich jedoch erst ab 5000 mg/L (Abb. 1, rechts). Dabei ist unerheblich, ob ein gering konzentrierter (170 mg Kreatinin/L) oder hochkonzentrierter (3080 mg Kreatinin/L) Urin vorliegt (Abb. 2). Zu alternativen photometrischen Verfahren siehe [15,16]. Eine Borsäure-Bestimmung mit ICP-MS wird in [6] beschrieben.

Eine umfassende Darstellung der Anwendung von Borverbindungen und ihren physiologischen Wirkungen in Biologie, Medizin und Pharmakologie gibt [17]. Bor wird vom Menschen mit dem Trinkwasser, Mineralwässern und der Nahrung aufgenommen. Weitere Quellen sind Arzneimittel, Kosmetika, Bedarfsgegenstände in Kontakt mit Lebensmitteln, Spielzeug, Waschmittel, Klebstoffe und Teppiche. Sie enthalten Borverbindungen wegen der antiseptischen, konservierenden, weichmachenden und flammenhemmenden Eigenschaften [18].

Der Trinkwasser-Grenzwert für Bor liegt in Deutschland bei 1 mg/L [19]. Für Lebensmittel ist Borsäure als Konservierungsmittel E284 nur für Störrogen (Kaviar) zugelassen (Grenzwert 4 g/kg) [20]. Nach der europäischen Behörde für Lebensmittelsicherheit (EFSA - European Food Safety Authority) liegt für den Erwachsenen die maximale tägliche, nicht zu Gesundheitsrisiken führende, Bor-Aufnahmemenge (tolerable upper intake level, UL) bei 10 mg [18]. Einnahmen von zusätzlich bis 30 mg/Tag durch Nahrungsergänzungsmittel wurden für Bodybuilder berichtet [18]. Borsäure wird nicht im Körper akkumuliert, sondern zu 85-100% innerhalb von 5 bis 7 Tagen renal eliminiert [4]. Hieraus wird klar: Borsäure-Ausscheidungen im Urin von 5000 mg/L sind unter Normalbedingungen nicht zu erwarten.

5. Zusammenfassung

Durch die hohe Nachweisgrenze im Urin werden physiologische Borsäure-Konzentrationen mit dem Curcuma-Papier nicht angezeigt. Dies vermeidet „Fehlalarme“ in Hinsicht auf eine Intoxikation mit Boraten oder eine Borsäure-Urinmanipulation, birgt aber gleichzeitig das Risiko, moderate Borsäure-Belastungen oder „intelligente“ Manipulationen des Urins mit Borsäure zu übersehen. Wird zum Beispiel Urin mit Borsäure derart manipuliert, dass sich eine Borsäure-Konzentration von circa 500 bis 5000 mg/L einstellt und wird gleichzeitig auf eine Sichtkontrolle während der Urinabgabe verzichtet, bliebe dieser Manipulationsversuch unentdeckt und es wäre mit falsch-niedrigen, abhängig von der EtG-Konzentration sogar falsch-negativen EtG-Immunoassay-Ergebnissen zu rechnen.

6. Schlussfolgerung

Das Curcuma-Papier ist als Schnelltest zur Erkennung von borsäurehaltigen Urinen, z. B. aus den von uns geprüften Sarstedt Urin Monovette 10 mL Borsäure Röhrchen, geeignet.

Da Borsäure-Konzentrationen ab 500 mg/L bereits zu falsch-negativen EtG-Immunoassay-Befunden führen können, vom Curcuma-Papier aber nicht sicher erkannt werden, bleibt die sichtkontrollierte Urinabgabe eine unverzichtbare Prämisse für ein valides EtG-Screening.

7. Botanischer Nachtrag (unter Verwendung von Angaben in [21])

Curcumin ist ein wichtiger Inhaltsstoff der Rhizome der zur Familie der Ingwergewächse (Zingiberaceae) gehörenden Kurkumapflanze (*Curcuma domestica*, früher *C. longa*; engl. Turmeric plant). Der Gehalt an Curcumin in den Rhizomen nimmt während der Vegetationsperiode zu. Der höchste Gehalt von 4,0 bis 8,6% des Trockengewichts wird kurz vor der Reife, d. h. ca. 22 bis 26 Wochen nach der Pflanzung erreicht. Die Droge *Curcumae rhizoma* (*Curcuma*-Wurzelstock) enthält 3 bis 5% Curcuminoide, u. a. Curcumin.



Im Haushalt wird das gepulverte Rhizom als Gewürz und gelber Farbstoff eingesetzt, z. B. in Curry und Senf. In der Industrie wird Curcumin aus *Curcuma*-Rhizomen isoliert und als Farbstoff für zum Beispiel Textilien, Leder, Holz, Wachse, Butter, Käse, Gebäck, Likör und Kosmetika verwendet.

Curcumin werden choleritische (den Gallenfluss fördernde), cholikinetische (die Gallenblasenentleerung fördernde), antihepatotoxische, antihyperlipidämische, antiinflammatorische, anticarcinogene und antimikrobielle Effekte zugeschrieben.

Abb. 7. *Curcuma longa* L. (aus Köhler's Medizinalpflanzen [22]). Ursprünglich wurde Kurkuma von Linné als *Curcuma longa* L. beschrieben. Im Jahr 1918 wurde dies auf *Curcuma domestica* VAL. korrigiert [21].

Die Datenlage zu den o. g. pharmakologischen Wirkungen ist für den Menschen nicht selten unsicher. Die Droge findet deshalb vor allem in den Ursprungsländern Indien und Indonesien vielfältige Anwendungen, insbesondere bei gastrointestinalen Beschwerden. Selbst Dosen von einigen Gramm/Tag sollen keine akuten oder chronischen toxischen Effekte auslösen.



Dass die Familie der Ingwergewächse nicht nur pharmakologisch und aus Ernährungssicht interessante Vertreter wie *Curcuma domestica* und Ingwer (*Zingiber officinale*) umfasst und dass die Bearbeitung von toxikologischen Fragestellungen über das eigentliche Thema hinaus immer wieder inspirierend sein kann, soll abschließend das Foto einer im Zusammenhang mit dieser Arbeit erworbenen und nun bei einem der Autoren blühenden *Curcuma alismatifolia* zeigen (Abb. 8).

Dabei sind die rosafarbenen „Blüten“ im botanischen Sinn keine Blüten, sondern Hoch- bzw. Deckblätter wie bei dem Weihnachtsstern (*Euphorbia pulcherrima*); so wie die im Handel erhältlichen Kurkumawurzeln botanisch betrachtet keine Wurzeln, sondern unterirdische Rhizome (Sprosse) sind.

Abb. 8. *Curcuma alismatifolia* Gagnep. (Foto TA).

8. Literatur

1. Walsham NE, Sherwood RA. Ethyl glucuronide. *Ann Clin Biochem* 2012;49:110-117.
2. Gnann H, Wurst F, Thon N, Haschke E, Halter C, Weinmann W. Auswirkung von Konservierungsmitteln bei der Ethylglucuronidbestimmung von Urinproben mittels Immunoassay (DRI) und LC-MS/MS. *Toxichem Krimtech* 2008;76:110 (Poster).
3. Beyreiß R, Schröfel S, Stemmerich S, Arndt T. Boric acid causing false-negative ethyl glucuronide immunoassay screenings is not detected by common sample checks – indication for revised sample checking or enhanced visual control of urine voiding? *Toxichem Krimtech* 2017;84:192-195.
4. Baselt RC. Disposition of toxic drugs and chemicals in man. 11th ed., Seal Beach, California, 2017.
5. Hamilton RA, Wolf BC. Accidental boric acid poisoning following the ingestion of household pesticide. *J Forensic Sci* 2007;52:706-708.
6. Pedicelli S, Picca S, Di Nardo M, Perrotta D, Cecchetti C, Marano M. Treatment of boric acid overdose in two infants with continuous venovenous hemodialysis. *Clin Toxicol* 2015;53:920-922.
7. Macherey-Nagel. Curcumapapier. Einfacher Schnellnachweis von Borsäure und Boraten. <http://www.mn-net.com/Testpapers/Testpapersforqualitativeterminations/Curcumapapier/tabid/10434/language/de-DE/Default.aspx>; letzter Zugriff am 20.07.2018.
8. Gressner AM, Arndt T (Hrsg.). *Lexikon der Medizinischen Laboratoriumsdiagnostik*. 2. Auflage, Springer, Heidelberg, 2013, Seite 814.
9. Cooksey CJ. Turmeric: old spice, new spice. *Biotech Histochem* 2017;92(5):309-314.
10. Roth HJ, Miller B. Zur Kenntnis der Farbreaktion zwischen Borsäure und Curcumin. *Archiv Pharmazie* 1964;297(11):660-673.
11. Wackenroder H. Anleitung zur qualitativen chemischen Analyse der unorganischen und organischen Verbindungen; Jena; 3. Auflage; 1836, Seiten 386-389. <https://www.books.google.de/books?id=lrs5AAAAcAAJ&pg=PA388&lpg=PA388&dq=entdeckung+curcumapapier&source=bl&ots=v0EOVuEILD&sig=THOYpjxsZvbO01GFMh6N8UaYzL8&hl=de&sa=X&vve=0ahUKEwi2pcrQ6p3aAhWJ1yWKHY7rCMQQ6AEIKjAB#v=onepage&q=entdeckung%20curcumapapier&c&f=false>; letzter Zugriff am 16.07.2018.
12. Sarstedt AG. Urine Monovette with boric acid. Simulated use - study showing stabilization of specific microorganisms in urine. https://dafxbb5uxjcds.cloudfront.net/fileadmin/user_upload/99_Literatur/Englisch/397_urin_mono_boricacid_GB.pdf; letzter Zugriff am 16.07.2018.
13. Wallace JMW, Hannon-Fletcher MPA, Robson PJ, Gilmore WS, Hubbard SA, Strain JJ. Boron supplementation and activated factor VII in healthy men. *Eur J Clin Nutr* 2002;56:1102-1107.
14. Tietz NW (ed.) *Clinical guide to laboratory tests*. 3rd ed., W. B. Saunders, Philadelphia, U.S.A., 1995, page 96.
15. Smith WC, Goudie AJ, Sivertson JN. Colorimetric determination of trace quantities of boric acid in biological materials. *Anal Chem* 1955;27:295-297.
16. Jander-Blasius. *Lehrbuch der analytischen und präparativen anorganischen Chemie*. 14. Aufl. bearbeitet von Strähle J und Schweda E, S. Hirzel, Stuttgart, 1995, Seiten 369-372.
17. Kliegel W. Bor in Biologie, Medizin und Pharmakologie. Physiologische Wirkungen und Anwendungen von Borverbindungen. Springer, Heidelberg, 1980.
18. Bundesinstitut für Risikobewertung. Zusatz von Borsäure oder Borax in Nahrungsergänzungsmitteln. Gesundheitliche Bewertung Nr. 005/2006 des BfR vom 16. November 2005. https://www.bfr.bund.de/cm/343/zusatz_von_borsaure_oder_borax_in_nahrungsergaenzungsmitteln.pdf; letzter Zugriff am 16.07.2018.
19. Bekanntmachung der Neuordnung der Trinkwasserverordnung vom 10.03.2016. Anlage 2 zu §6 Absatz 2, Seite 477. http://www.bgbl.de/xaver/bgbl/start.xav?startbk=Bundesanzeiger_BGBl&jumpTo=bgbl116s0459.pdf; letzter Zugriff am 16.07.2018.
20. Zusatzstoff-Zulassungsverordnung vom 29. Januar 1998 (BGBl. I S. 230, 231), die zuletzt durch Artikel 23 der Verordnung vom 5. Juli 2017 (BGBl. I S. 2272) geändert worden ist. Teil C, Liste 2 Andere Konservierungsstoffe., Seite 77. https://www.gesetze-im-internet.de/zzulv_1998/ZZulV.pdf; letzter Zugriff am 16.07.2018.
21. Blaschek W, Ebel S, Hackenthal E, Holzgrabe U, Keller K, Reichling J, Schulz V (Hrsg.). *Hagers Enzyklopädie der Arzneistoffe und Drogen*, Band 5 Cod-Dig, 6. Aufl. Wissenschaftliche Verlags-gesellschaft mbH, Stuttgart, 2007, Seiten 435-459.
22. Köhler's *Medizinal-Pflanzen in naturgetreuen Abbildungen mit kurz erläuterndem Texte*. Gera-Untermhaus, 1887, Tafel 601. Wierdergabe mit freundlicher Genehmigung von <http://caliban.mpiz-koeln.mpg.de/koehler2/index.html>; letzter Zugriff am 16.07.2018.