

Über den Nachweis von Saponin.

III. Mitteilung¹⁾.

Von

J. Rühle.

Mitteilung aus dem Chemischen Untersuchungsamte der Königlichen Aus-
landfleischbeschauanstalt zu Stettin.

Bei der Untersuchung von mit Teerfarbstoffen gefärbten Brauselimonaden auf Saponin gelangen diese Farbstoffe auch in die nach dem Brunner'schen Verfahren in der von mir angegebenen Ausführungsart²⁾ erhaltenen saponinhaltigen Rückstände. Solange diese Farbstoffe bei der Prüfung der Rückstände auf hämolytische Wirksamkeit nicht durch Erzeugung von Niederschlägen oder Beeinträchtigung der Erkennung des Lackfarbenwerdens der Blutkörperchenaufschwemmung hinderlich werden, kann ihre Gegenwart in den fraglichen Rückständen für den Nachweis des Saponins in diesen als belanglos bezeichnet werden, sofern feststeht, daß sie selbst keine Hämolyse auszulösen vermögen.

Die Frage nach der hämolytischen Wirksamkeit der zum Färben von Brauselimonaden gebräuchlichen Teerfarbstoffe erscheint mir nicht müßig, jedenfalls halte ich eine Verneinung von vornherein keineswegs für zulässig. Da mir aus der mir zugänglichen Literatur keine hierauf bezüglichen Versuche bekannt sind, habe ich selbst einige solche Farbstoffe auf hämolytische Wirksamkeit geprüft. Hierüber sowie über die Prüfung einiger Grundstoffe zur Herstellung von Brauselimonaden auf Gehalt an Saponin soll zunächst kurz berichtet werden. Es schließt sich daran die Besprechung einiger neuerer Arbeiten sowie eine Untersuchung einiger Sapogenine und des Guajacerindensaponins auf hämolytische Wirksamkeit.

I. Prüfung von Brauselimonadenfarbstoffen auf hämolytische Wirksamkeit.

Es wurden Proben von 8 Farbstoffen, die sämtlich zur Herstellung von Brauselimonaden dienen, untersucht. Die Proben No. 1—6 waren geruchlose Farbstofflösungen, die Proben No. 7 und 8 waren fest. Die untersuchten Proben waren bezeichnet als:

- | | |
|--------------------------|------------------------|
| 1. Himbeerrot | 5. Erdbeerrot, flüssig |
| 2. Zitronengelb, flüssig | 6. Mairün, flüssig |
| 3. Himbeerrot, flüssig | 7. Himbeerrot |
| 4. Smaragdgrün, flüssig | 8. Zitronengelb. |

Zur Prüfung auf hämolytische Wirksamkeit wurden Teile der Proben No. 1—6 zur Entfernung etwa vorhandenen Alkohols, der selbst hämolytisch wirkt, wiederholt eingedampft; der erhaltene geringe, trockene Rückstand wurde mit physiologischer Kochsalzlösung gelöst und zum ursprünglichen Raumteil aufgefüllt. Von den Proben No. 7 und 8 wurden je 0,2 g in 5 ccm physiologischer Kochsalzlösung gelöst, wobei Lösungen von etwa der Farbstärke der Proben No. 1, 2 und 3 erhalten wurden. Von diesen 8 Farbstofflösungen wurden je 0,3 ccm mit physiologischer Kochsalzlösung

¹⁾ Bei der Redaktion eingegangen am 1. Oktober 1913.

²⁾ Diese Zeitschrift 1908, 16, 165 u. 1912, 23, 566.

auf 25 ccm verdünnt. Die erhaltenen Lösungen besaßen etwa die Farbstärke von Brauselimonaden. Sie wurden unmittelbar in der von mir früher angegebenen Art und Weise auf hämolytische Wirksamkeit geprüft.

Weder im Reagensglase noch unter dem Mikroskope ließ sich eine solche Wirksamkeit nachweisen.

Darnach ist also die Gegenwart von Teerfarbstoffen in den fraglichen Rückständen, da sie darin nach meinen Erfahrungen niemals zu Störungen beim Nachweise von Saponin mittels Hämolyse geführt haben und auch selbst nicht hämolytisch wirken, wohl nicht als ein Nachteil oder eine Erschwerung anzusehen. Da nach Kobert¹⁾ Saponine die Eigenschaft haben, Farbstoffe anzuziehen und in Lösung aufzuspeichern, so erschienen Versuche einer Trennung des Saponins von den Farbstoffen in diesen Rückständen, etwa durch Dialyse — da Saponine sehr schwer oder gar nicht dialysieren — von vornherein als aussichtslos; es war somit notwendig, wie geschehen, sich Gewißheit darüber zu verschaffen, ob diese Farbstoffe für sich hämolytisch zu wirken vermögen oder nicht.

Sechs gleichzeitig mit obigen Farbstoffen untersuchte Grundstoffe zur Herstellung von Brauselimonaden waren tiefgefärbte (grün, gelb, rot) Flüssigkeiten von, namentlich nach entsprechender Verdünnung, ausgesprochenem Fruchtgeruch. Je 2 g wurden in 100 ccm Wasser gelöst und weiter nach dem Brunner'schen Verfahren in der von mir angegebenen Ausführungsart behandelt. Die erhaltenen Rückstände wurden in je 25 ccm physiologischer Kochsalzlösung gelöst und der Prüfung auf Hämolyse, wie früher angegeben, unterzogen.

Sämtliche 6 Grundstoffe waren saponinhaltig; sie ließen sich nach dem Ausfalle der Prüfung in 2 Gruppen von je einem grünen, gelben und roten Stoffe teilen. Die erste Gruppe wirkte stark hämolytisch; bereits in längstens 10 Minuten war völlige Hämolyse eingetreten. Die zweite Gruppe wirkte nur schwach hämolytisch, da erst nach 24 Stunden völlige Hämolyse herbeigeführt war. Da die erste Gruppe außerdem stark, die zweite nur schwach schäumende wässrige Verdünnungen gab, so ist dieser Unterschied wohl weniger in der Art als in der Menge des vorhandenen Saponins begründet, denn auch hämolytisch nur wenig wirksame Saponine, wie z. B. das neutrale Guajacirindensaponin (vergl. nachstehend), bewirken starkes Schäumen. Jedenfalls zeigt die Untersuchung dieser 6 Grundstoffe, die von verschiedenen Firmen stammten, daß die Verwendung von Saponin bei der Herstellung von Brauselimonaden anscheinend in weitem Umfange stattfindet. Über die Beurteilung dieser Verwendung soll am Schlusse dieser Besprechung noch einiges erwähnt werden.

Bevor auf weiteres über den Nachweis des Saponins und die Beurteilung eines Saponinzusatzes zu Brauselimonaden eingegangen werden kann, sind einige neuere Arbeiten hierüber kurz zu besprechen.

II. Neuere Arbeiten über den Nachweis des Saponins.

Gleichzeitig mit meiner zweiten Mitteilung²⁾ erschien die Arbeit Sormani's³⁾ über den gleichen Gegenstand, in der im wesentlichen einige bis ins Jahr 1910 zu-

¹⁾ Kobert, Beiträge zur Kenntnis der Saponinsubstanzen. Stuttgart. Ferd. Enke. 1904, S. 38.

²⁾ Diese Zeitschrift 1912, 23, 566.

³⁾ Diese Zeitschrift 1912, 23, 561.

rückreichende Arbeiten Rusconi's besprochen werden, die in einigen italienischen Zeitschriften erschienen sind und über die auch in verschiedenen deutschen Zeitschriften referiert worden ist; mir wurden sie erst durch die Veröffentlichungen Sormani's bekannt. Ferner erschien etwa kurz vor oder nach meiner II. Mitteilung eine sehr lesenswerte Abhandlung von Halberkann¹⁾, leider an etwas entlegener Stelle, sodaß sie mir erst Anfang des Jahres 1913 bekannt wurde. Darin wird unter anderem der Nachweis und die Unterscheidung giftiger und entgifteter Saponine durch Hämolyse eingehend behandelt, und dabei werden die Verfahren zum Nachweise und zur Isolierung von Saponinen aus Nahrungsmitteln eingehend kritisch durchgesprochen. Dabei gelangt auch Halberkann zu dem Ergebnisse, daß allein das Brunner'sche Verfahren hierbei brauchbare Ergebnisse liefert. Insbesondere wird mit Recht davor gewarnt, die Untersuchungsflüssigkeit im Laufe der Untersuchung zu erwärmen und wenn dies, wie bei dextrinhaltigen Flüssigkeiten, nicht zu vermeiden ist, vorgeschrieben, vorher sorgfältig zu neutralisieren. In der Tat würde, worauf Halberkann auch hinweist, beim Erhitzen in saurer Flüssigkeit mit der Bildung von Sapogenin durch Abspaltung von Zucker aus dem Saponin zu rechnen sein; Sapogenin ist aber bedeutend löslicher in Äther als Saponin und würde somit, zumal in Anbetracht seiner Unlöslichkeit in Wasser, beim nachherigen Behandeln der Phenollösung mit Äther und Wasser in ersteren übergehen und sich dem Nachweise entziehen.

Ich habe, um über diese Verhältnisse einige sichere Unterlagen zu gewinnen, verschiedene angenäherte Löslichkeitsbestimmungen in der üblichen Weise ausgeführt, indem ich gewogene Mengen der Substanz mit gleichen Raumteilen Äther (des Deutschen Arzneibuches, spezifisches Gewicht 0,720) etwa 24 Stunden unter wiederholtem Umschütteln bei Zimmertemperatur stehen ließ und dann den in Lösung gegangenen Anteil feststellte. Darnach ergaben sich folgende Löslichkeiten, bezogen auf 1000 ccm Äther:

No. 1.	Saponin Riedel	aus Seifenwurzel (Sap. puriss.)	0,16:1000
„ 2.	„ Merck	„ levantinischer Seifenwurzel (Sap. puriss.)	0,30:1000
„ 3.	„ Sthamer	„ Quillajarinde (Sap. depurat.)	0,25:1000
„ 4.	„ Merck	„ Guajacrinde	0,18:1000
„ 5.	Sapogenin aus Saponin 1	1,63:1000
„ 6.	„ „ „ 3	1,00:1000.

Das Sapogenin No. 5 ist demnach 10-mal, das Sapogenin No. 6 etwa 4-mal so löslich wie das Saponin, aus dem es entstanden ist.

Bemerken möchte ich an dieser Stelle, um Mißdeutungen aus dem Wege zu gehen, daß es mir fernliegt, Prioritätsansprüche²⁾ auf die Verwendung der Hämolyse zum Nachweise von Saponin zu erheben; bereits in meiner II. Mitteilung habe ich darauf hingewiesen, daß Gadamer in seinem 1909 erschienenen „Lehrbuche der chemischen Toxikologie“ ein Verfahren dazu angibt; in der Tat bespricht er darin auf S. 446ff. den Nachweis des Saponins mittels Hämolyse in schäumenden Getränken und Mehl. Also spätestens von dem Jahre 1909 ab kann nicht wohl mehr von der Neuheit des Gedankens, Saponin unter Verwendung seiner hämolytischen Wirksamkeit zu erkennen, gesprochen werden; es kann sich vielmehr von da ab nur noch um die Durcharbeitung dieses Nachweises des Saponins handeln und um eine nur sehr

¹⁾ Deutsche Mineralwasserfabrikanten-Zeitung 1912, No. 25—30; Chemisches Zentralblatt, 1913, I. 852.

²⁾ Vergl. Berichtigung der Redaktion in dieser Zeitschrift 1913, 26, 44.

erwünschte Nachprüfung von den verschiedensten Seiten. Es sei nur nebenbei erwähnt, daß die Saponinhämolysen an sich bereits im Jahre 1884 von Kobert entdeckt und seitdem von diesem und seinen Schülern in vielfacher Weise erprobt und angewandt wurde.

Als dritte von neueren Arbeiten ist zu erwähnen diejenige von Rosenthaler (Mitbearbeiter Schellhaas)¹⁾; sie sucht und findet den Nachweis von Saponin in der Überführung in Sapogenin durch Hydrolyse in saurer Lösung in der Hitze (vergl. vorstehend) und in der Feststellung des Vorliegens von Sapogenin durch Anstellung der Reaktion mit Schwefelsäure. Dieses Verfahren ist nach meinen Erfahrungen damit gut zum Nachweise von Saponin, auch sehr kleiner Mengen davon, zu verwenden; daß es den auf Sapogenin zu prüfenden Rückstand fast frei von Farbstoffen darbietet und somit den Nachweis durch die Farbenreaktion mit Schwefelsäure gestattet, ist ein zweifelloser Vorteil des Verfahrens²⁾. Daß man mit dem Verfahren allerdings je in die Lage kommen wird, beim Versagen des Nachweises mittels Hämolysen doch Vorliegen von Saponin nachweisen zu können, erscheint mir nach meinen bisherigen Erfahrungen nicht möglich. Denn von den von mir bisher untersuchten Saponinen ist keines, auch nicht das neutrale Guajacinden-Saponin völlig frei von hämolytischer Wirksamkeit (vergl. später) und eine auch noch so geringe Hämolysen kann bei Betrachtung unter dem Mikroskope dem Beobachter nicht wohl entgehen; allerdings gehören Hartnäckigkeit und Geduld dazu.

Da Rosenthaler die Sapogenine zum Nachweise von Saponin heranzieht, wurde ich veranlaßt, einige selbst hergestellte Sapogenine auf hämolytische Wirksamkeit zu prüfen. Nach Halberkann sind Sapogenine in kleiner Menge ebenfalls alle hämolytisch wirksam.

III. Prüfung von Sapogeninen auf hämolytische Wirksamkeit.

Zur Darstellung von Sapogenin wurden verwendet Saponin Riedel und Sthamer und das von Merck stammende Guajacinden-Saponin. Die Darstellung geschah, indem je 10 g Saponin in 250 ccm Wasser gelöst, 250 ccm 5%ige Salzsäure zugefügt wurden und die Lösung auf dem siedendem Wasserbade erhitzt wurde. Die Hydrolyse trat ziemlich plötzlich unter Abscheidung des Sapogenins als flockiger Niederschlag ein. Nach dem Erkalten wurde zweimal mit je 250 ccm Essigester ausgeschüttelt, die Lösung des Sapogenins in Essigester mit kleinen Mengen Wassers bis zum Aufhören der Chlorreaktion gewaschen, durch ein trockenes Filter filtriert, eingedampft und der Rückstand im Vakuum getrocknet.

Das hiernach aus Saponin Riedel erhaltene Sapogenin (2,7 g) war eine weiße, in Wasser unlösliche, in Sodalösung leicht lösliche, darin Schaum erregende Masse. Das aus Saponin Sthamer erhaltene Sapogenin erstarrte erst nach etwa 14-tägigem Stehen im Vakuum zu einer gelben festen Masse; sie wurde nach dem Pulvern schnell mit Äther gewaschen, dann in wenig Essigester gelöst und daraus auf Zusatz von wenig Äther wieder gefällt. Das schließlich erhaltene weiße Sapogenin wog etwa 0,3 g und zeigte die gleichen Eigenschaften wie das erstgenannte Sapogenin. Die schlechte Ausbeute ist auf die Unreinheit des verwandten Saponins zurückzuführen.

¹⁾ Diese Zeitschrift 1913, 25, 154.

²⁾ Vergl. auch A. Beythien, C. Hartwich und M. Klimmer, Handbuch der Nahrungsmitteluntersuchung. Leipzig 1913. S. 536.

Bei der Verarbeitung des Guajacrinden-Saponins auf Sapogenin ergaben sich Schwierigkeiten insofern, als sich auf Zusatz der 5%igen Salzsäure ein starker Niederschlag abschied, der sich beim Erwärmen in eine schmierige, sich zusammenballende Masse verwandelte. Die Abscheidung des Sapogenins war daneben wahrzunehmen. Nach etwa einstündigem Erhitzen auf dem Wasserbade wurde erkalten gelassen, die das Sapogenin enthaltende Flüssigkeit von dem zusammengeballten Niederschlage abgossen und weiter wie angegeben behandelt. Das erhaltene Sapogenin war eine hellbräunliche, leicht stäubende und zum Husten reizende, in Wasser unlösliche Masse; es wog 1,25 g und war offenbar noch sehr unrein. Eine Reinigung durch Lösen in Natronlauge und Ansäuern gelang nicht. Seine Lösung in Sodalösung schäumt stark.

Es sei an dieser Stelle bemerkt, daß unter der Bezeichnung „Sapogenin“ lediglich die Substanzen kurz bezeichnet werden sollen, die aus Saponin durch hydrolytische Spaltung mit 2,5%-iger Salzsäure in der Wärme entstehen, ohne damit ein Urteil über den Umfang der Hydrolyse abgeben zu wollen.

Die drei erhaltenen Sapogenine wurden nun zur Prüfung auf hämolytische Wirksamkeit in Wasser aufgeschwemmt, tropfenweise Sodalösung (1:10) bis zur Lösung zugefügt; dann wurde eingedampft nach dem Vorschlage von Rosenthaler, der Rückstand mit 70% Alkohol ausgezogen, die alkoholische Lösung zur Trockene gebracht und der Rückstand in Wasser im Verhältnisse 0,5:1000 gelöst. Die Reaktion stärkerer Sapogeninnatriumlösungen war neutral oder ganz schwach alkalisch.

Mit diesen Lösungen 0,5:1000 wurde die Prüfung auf hämolytische Wirksamkeit, genau wie in meiner II. Mitteilung angegeben, ausgeführt. Von der Wiedergabe der Einzelheiten der Versuche wird daher abgesehen. Als Ergebnis der Versuche sei mitgeteilt, daß bei den drei geprüften Sapogeninen sowohl im Glase als auch unter dem Mikroskope eine wenn auch schwache, so doch deutliche hämolytische Wirksamkeit festzustellen war. Es kann somit das Verfahren nach Rosenthaler auch noch durch Anstellung der Probe auf Hämolyse ergänzt werden. In einem Falle, in dem eine selbst durch Verdünnen mit Wasser von je 10 ccm Himbeerlimonadenessenz und saponinhaltiger Schaumessenz (beide aus dem Handel entnommen) auf 200 ccm erhaltene Limonade (Extrakt, wie bei Wein bestimmt: 0,581 g in 100 ccm) nach Rosenthaler auf Saponin geprüft wurde, gelang der Nachweis einwandfrei sowohl mittels der Reaktion mit Schwefelsäure wie auch mittels Prüfung auf hämolytische Wirksamkeit.

Infolge der Unreinheit des Guajacrinden-Sapogenins ist der Nachweis seiner hämolytischen Wirksamkeit nicht ganz schlüssig, indes dürfte an dem Ergebnisse doch wohl nicht zu zweifeln sein, da auch das Saponin selbst eine wenn auch schwache hämolytische Wirksamkeit zeigte. Unter diesen Umständen und weil Kobert¹⁾ das neutrale Guajacrinden-Saponin wegen seiner fast völligen Ungiftigkeit als Ersatz für die giftigen Saponine der Quillaja und der roten Seifenwurzel der Brauselimonadenindustrie vorschlägt, erschien es mir zweckmäßig, in eine eingehende Prüfung des von mir zu meinen Versuchen benutzten Guajacrinden-Saponins (von Merck, e cortice guajaci) einzutreten.

¹⁾ Kobert, Beiträge zur Kenntnis der Saponinsubstanzen. Stuttgart. Ferd. Enke. 1904, S. 100.

IV. Untersuchung des Guajacrinden-Saponins auf hämolytische Wirksamkeit.

1. Herstellung der beiden Guajacrindensaponine.

Die wenn auch schwache, aber doch im Glas und unter dem Mikroskope deutliche Hämolyse konnte durch einen Gehalt meines Präparates an Guajacrinden-Saponinsäure bedingt sein. Es mußte deswegen zu dessen Abscheidung geschritten werden, um einwandfrei entscheiden zu können, ob und in welchem Maße dem neutralen Guajacrinden-Saponine hämolytische Wirksamkeit zukommt.

Zu dem Zwecke wurde die Trennung beider Saponine nach Kobert (l. c. S. 7) vorgenommen, die auf der Fällung des sauren Anteiles durch neutrales Bleiacetat, des neutralen durch basisches Bleiacetat beruht.

a) Es wurden 10 g des Guajacrinden-Saponins in etwa 300 g Wasser gelöst (Reaktion der Lösung gegen blaues Lackmuspapier: schwache Rötung; Kongorot blieb unverändert) und diese Lösung nach und nach mit 10%-iger Bleiacetatlösung durch 4-maligen Zusatz von je 10 ccm davon gefällt. Der nach dem ersten Zusatze erhaltene geringe Niederschlag, von dem die überstehende Flüssigkeit einfach durch Abgießen getrennt werden konnte, wurde auf einem Tonteller getrocknet; er besaß dann eine grünlich-graue Färbung, wog 0,45 g und wurde verworfen, da er hauptsächlich aus verunreinigenden Stoffen bestand. Die starken Niederschläge nach dem zweiten und dritten Zusatze waren rein; sie wurden auch auf Tontellern, darauf im Vakuumexsikkator getrocknet und miteinander vereinigt. Der vierte Zusatz erzeugte keinen Niederschlag mehr.

Zur Darstellung der Guajacrinden-Saponinsäure aus ihrer Bleiverbindung wurde diese in etwa 300 ccm Wasser aufgeschwemmt und $\frac{3}{4}$ Stunden lang Schwefelwasserstoff eingeleitet. Es trat Braunschwarzfärbung der Lösung aber keine Fällung ein, auch nicht auf Zusatz eines gleichen Raumteils Alkohol. Es wurde deshalb die Lösung eingeeengt, worauf bald Fällung des Schwefelbleies eintrat. Das klare, farblose Filtrat davon wurde weiter zum Sirup eingeeengt, dieser mit 95%-igem Alkohol (etwa 100 ccm) aufgenommen und nach und nach mit Äther wieder gefällt. Im ganzen wurden zur völligen Ausfällung etwa 500 ccm Äther gebraucht. Von den erzielten drei einzelnen, rein weißen Fällungen konnte die überstehende Flüssigkeit stets klar abgossen werden. Die Fällungen wurden im Vakuumexsikkator getrocknet und darauf miteinander vereinigt. Ihr Gewicht betrug 1,51 g.

b) Die nach der Fällung mit Bleiacetatlösung verbleibende Flüssigkeit gab mit basischem Bleiacetat (Lösung des Deutschen Arzneibuches) einen rein weißen Niederschlag; sie wurde deshalb sofort mit 40 ccm davon versetzt. Der entstandene Niederschlag war wegen seiner schleimigen Beschaffenheit nicht unmittelbar filtrierbar; die Flüssigkeit wurde deshalb mit einer reichlichen Menge Papierpülpe versetzt und dann auf großer Nutsche scharf abgesaugt, mit wenig Wasser gedeckt und wieder abgesaugt. Das Filtrat war klar und farblos und gab mit Bleiessig keinen Niederschlag mehr. Mit dem Filtrerrückstande wurde weiter, wie bei a) angegeben, verfahren, mit dem Unterschiede, daß nach dem Einleiten des Schwefelwasserstoffes nach etwa 4-stündigem Stehen auf der Nutsche scharf abgesaugt und das braunschwarze Filtrat zur Abscheidung des Schwefelbleies eingeeengt wurde. Der Nutschenrückstand wurde mehrmals mit Alkohol ausgekocht und die nach dem Filtrieren klaren alkoholischen Auskochungen zusammen mit dem Filtrate vom Schwefelblei-Niederschlage zum Sirup eingeeengt. Die durch Äther erhaltenen rein weißen Fällungen (im ganzen dienten

zum Ausfällen etwa 1000 ccm Äther auf etwa 150 ccm alkoholische Lösung des Sirups) wurden gemischt, auf Tontellern und dann im Vakuumexsikkator getrocknet. Ihr Gewicht betrug 4,81 g.

Die bei a) und b) schließlich erhaltenen alkoholisch-ätherischen Lösungen wurden abdestilliert; der gemeinsame braune Rückstand, der nicht weiter untersucht wurde, betrug 0,54 g. Es wurden also im ganzen von den 10 g angewandten Saponins 6,86 g wiedergewonnen, abgesehen von den anfänglich erhaltenen 0,45 g Substanz. Der Rest war durch neutrales und basisches Bleiacetat nicht fällbar.

Die hiernach erhaltenen beiden Guajacrinden-Saponine waren weiße, pulverige, zum Husten reizende Substanzen. Ihre wässrigen Lösungen schäumten stark und reagierten bei dem sauren Anteile gegen blaues Lackmuspapier ganz schwach sauer, bei dem neutralen Anteil neutral.

2. Prüfung der beiden Guajacrinden-Saponine auf hämolytische Wirksamkeit.

Es war in üblicher Weise leicht, hämolytische Wirksamkeit bei beiden Saponinen festzustellen, und es war deshalb notwendig, zu erproben, ob hierin gradweise Unterschiede zwischen beiden bestanden.

Zu dem Zwecke wurde eine Versuchsanstellung benutzt, wie sie auch von Halberkann verwendet worden ist. Es wurde eine Blutkörperchenaufschwemmung — selbstverständlich hier wie in allen anderen Fällen stets mit 0,9 % iger Kochsalzlösung — hergestellt, die einer Verdünnung von 1,25 ccm defibrinierten Blutes auf 100 ccm entsprach. Von den beiden Saponinen wurden je 2 Stammlösungen, A₁ und A₂ (saurer Anteil) und B₁ und B₂ (neutraler Anteil) hergestellt, die 1 g, bzw. 0,5 g davon in 100 ccm enthielten.

Von den 4 Stammlösungen wurden folgende Verdünnungen hergestellt:

Tabelle I.

Bezeichnung der Verdünnungen.	g Saponin zugegen in 2 ccm davon	Verdünnung in 10 ccm der Mischung 8 + 2
a) 2 ccm Stammlösung A ₁ bzw. B ₁ unverdünnt	0,02	1 : 500
b) 2 „ „ A ₂ „ B ₂ „ „	0,01	1 : 1000
c) 1 „ „ A ₂ „ B ₂ + 1 ccm 0,9 % ige NaCl-Lösung	0,005	1 : 2000
d) 4 „ „ A ₂ „ B ₂ + 16 „ „ „	0,002	1 : 5000
e) 2 „ „ A ₂ „ B ₂ + 18 „ „ „	0,001	1 : 10000
f) 1 „ „ A ₂ „ B ₂ + 19 „ „ „	0,0005	1 : 20000
g) 1 „ „ A ₂ „ B ₂ + 49 „ „ „	0,0002	1 : 50000

Die Vermischung der Blutkörperchenaufschwemmung mit den saponinhaltigen Lösungen geschah stets im Verhältnisse:

8 ccm Aufschwemmung + 2 ccm Saponinlösung, sodaß die Blutkörperchenaufschwemmung bei jedem Versuche 1 % ige war.

Von den mehrfach wiederholten Versuchsreihen, die stets miteinander übereinstimmten, seien folgende beiden hier mitgeteilt (vergl. Tabelle II); die Bedeutung der Buchstaben a—g ist aus Tabelle I zu entnehmen.

Tabelle II.

Saponin- lösung	Ver- dünnung bei dem Versuche	Versuchs- beginn	Die Hämolyse war eingetreten bei	
			Guajacridinen-Saponinsäure	neutralem Guajacridinen-Saponin
a	1:500	25. Sep- tember, vor mittags 9 ¹ / ₂ Uhr	vollkommene Hämolyse nachmittags 3 ¹ / ₂ Uhr	vollkommene Hämolyse nachmittags 6 Uhr
b	1:1000		vollkommene Hämolyse nachmittags 6 Uhr	vollkommene Hämolyse am 26. September vormittags 9 Uhr
c	1:2000		teilweise Hämolyse am 26. September vormittags	teilweise Hämolyse am 26. September vormittags
d	1:5000		9 Uhr	9 Uhr
e	1:10000		keine Hämolyse bemerkbar; die Lösung blieb über den abgesetzten Blutkörperchen	keine Hämolyse bemerkbar; die Lösung blieb über den abgesetzten Blutkörperchen
f	1:20000		klar und farblos	klar und farblos
g	1:50000			

Es vermögen darnach beide Saponine noch in Verdünnungen 1:1000 vollkommene und in Verdünnungen 1:5000 teilweise Hämolyse auszuüben und zwar das saure Saponin in etwas stärkerem Maße als das neutrale. Alle, auch die verdünntesten Lösungen beider Saponine, bei denen nach vorstehenden Versuchen Hämolyse nicht mehr erkennbar war (e, f und g) gaben beim Schütteln einen allerdings schwachen Schaum.

Die Ergebnisse vorstehender Versuche stehen etwas im Widerspruche mit der herrschenden Annahme der fast völligen Wirkungslosigkeit der beiden Guajacridinen-Saponine; so gibt Frieboes an (nach Gadamer, S. 444), daß das neutrale Guajacridinen-Saponin selbst bei einer Verdünnung 1:10 kaum löse und auch Kobert (S. 100) empfiehlt dieses unter gewissen Einschränkungen zur Verwendung bei Herstellung von Brauselimonaden, eben infolge der von ihm beobachteten fast völligen Wirkungslosigkeit dieses Saponins. Vielleicht sind diese Unterschiede darauf zurückzuführen, daß bei meinen Versuchen keine Blutaufschwemmung, sondern eine Blutkörperchenaufschwemmung benutzt wurde. Allerdings führt Halberkann¹⁾ an, daß auch L. und P. v. Liebermann²⁾ dem neutralen Guajacridinen-Saponin stark hämolytische Eigenschaften zuschreiben und führt dies auf die Verschiedenartigkeit der Präparate zurück.

V. Beurteilung eines Zusatzes von Saponin zu schäumenden Getränken.

Die „Freie Vereinigung Deutscher Nahrungsmittelchemiker“ hat im Jahre 1906³⁾ beschlossen, die Verwendung von Saponin bei Herstellung von Brauselimonaden als unstatthaft zu bezeichnen, ausgehend von der Erwägung, daß eine Unterscheidung giftiger von weniger oder gar nicht giftigen nicht möglich sei. Hieran hat sich im Laufe der Jahre nichts geändert, sodaß die damalige Stellungnahme noch heute ihre Berechtigung hat.

Denn die vorstehend besprochenen Versuche zeigen, daß auch das neutrale Guajacridinen-Saponin noch hämolytisch wirksam ist, wenn auch gegenüber anderen

¹⁾ Biochem. Zeitschrift 1909, 19, 310.

²⁾ Arch. f. Hygiene 1907, 62, 299.

³⁾ Diese Zeitschrift 1906, 12, 49.

Saponinen in geringerem Grade. Trotzdem würde eine solche geringe hämolytische Wirksamkeit unter dem Mikroskope, wenn nicht mehr im Glase, bei einiger Mühe und Sorgfalt wohl erkannt werden können. Ich sehe dann aber nicht ein, wie eine Entscheidung gefällt werden sollte, ob in einem besonderen Falle die bisher gebrauchten Saponine oder das neutrale Guajacirinden-Saponin gebraucht worden ist. Denn eine sehr geringe hämolytische Wirksamkeit kann meines Erachtens ebenso wie auf die Art des verwendeten Saponins, so auch auf die Menge, in der es zur Verwendung gelangte, zurückgeführt werden.

Es ist also der Nachweis der stattgehabten Verwendung giftiger und weniger giftiger Saponine zurzeit nicht zu erbringen, und es muß deßhalb, meines Erachtens, bei der Verwerfung eines Zusatzes von Saponin zu schäumenden Getränken, wie Brauselimonaden, sein Bewenden haben. Ein etwa aufzustellender Vorschlag, Verwendung von Saponin bis zu einer gewissen Höchstmenge zu gestatten, könnte aus dem Grunde keine Berücksichtigung finden, als eine genaue Mengenbestimmung wegen der nicht nur von Saponin zu Saponin, sondern wahrscheinlich auch von Präparat zu Präparat schwankenden hämolytischen Wirksamkeit nicht ausführbar ist. Und diese würde doch wahrscheinlich den Maßstab zur Bestimmung abgeben müssen.

Ich kann im übrigen in der Verwerfung eines solchen Zusatzes von Saponin kein besonderes Unglück erblicken, am wenigsten für den Verbraucher. Denn Selterwasser und sonstige Mineralwasser trinkt er auch gern und häufig, ohne daß sie einen stehenden Schaum geben, und ich für mein Teil vermag nicht zu sagen, daß mir der steife gelbe, rote oder grüne Schaum der heutigen Brauselimonaden sonderlich appetitlich und einladend zum Genuß vorkäme. Es ist sicher, daß der Verbraucher, wie er erst an diesen steifen Schaum, wie an so manches andere gewöhnt worden ist, auch wieder an Brauselimonaden ohne solchen wird gewöhnt werden können. Allerdings wird es dann nötig sein, diese Brauselimonaden mit mehr Kohlensäure zu versehen, als es bei Verwendung von Saponin geschieht.

Zusammenfassung der Ergebnisse.

1. Acht zum Färben von Brauselimonaden benutzte Farbstoffe entfalteten keine hämolytische Wirksamkeit, konnten somit den Nachweis des Saponins in Brauselimonaden nicht beeinträchtigen.

2. Zwei aus Seifenwurzel- und aus Quillajarinden-Saponin gewonnene Sapogenine erwiesen sich als 10-, bzw. 4-mal so löslich in Äther als das Saponin, aus dem sie entstanden.

3. Dieselben beiden Sapogenine sowie das aus Guajacirinden-Saponin dargestellte Sapogenin zeigten schwache, aber deutliche hämolytische Wirksamkeit.

4. Die beiden aus dem vorgenannten Guajacirinden-Saponin dargestellten Saponine, die Guajacirinden-Saponinsäure und das neutrale Guajacirinden-Saponin, erwiesen sich noch in Verdünnungen 1:5000 hämolytisch wirksam, erstere in stärkerem Maße als letzteres.

5. Ein Zusatz von Saponin zu schäumenden Getränken ist nach wie vor als unstatthaft zu bezeichnen.