

Universitäts- und Landesbibliothek Tirol

Über den Nachweis von Saponinen in Arzneimitteln, Nahrungsmitteln und Pflanzen

Newesely, Herta

[1930]

Fr. Herta Newesely:

Dis. 13

ex 1929/30

Newesely



DISSERTATION :

Über den Nachweis von Saponinen in Arzneimitteln, Nahrungsmitteln
und Pflanzen.

von

Mr. Herta Newesely.

UB INNSBRUCK



+C196958203

Über den Nachweis von Saponinen in Arzneimitteln und Nahrungsmitteln.

Der Nachweis kleiner Mengen Saponin in Arzneimitteln und Nahrungsmitteln lässt sich mit Hilfe der bisherigen Methoden nur schwierig und nicht eindeutig durchführen. Das bekannteste Verfahren ist das von Brunner-Rühle, das in mehrere Lebensmittelbücher Eingang fand. Es beruht auf der Löslichkeit der Saponine in Phenol, wodurch eine Ausschüttelung aus der Untersuchungsflüssigkeit möglich ist.

Im Folgenden soll ein neues eindeutiges Verfahren zum Nachweis kleiner Saponinmengen beschrieben werden, das sich in vielen Fällen besser bewährte als die bisherigen Methoden.

Hängt man einen Filtrierpapierstreifen in ein Schälchen mit 5-20 ccm wässriger Saponinlösung und lässt die Flüssigkeit aufsaugen, so häuft sich das Saponin im oberen Teil des Streifens an. Man kann hier das Saponin in verschiedener Weise nachweisen, am besten durch Einlegen des Filtrierpapierstreifens in Blutgelatine.

Zur Herstellung der Blutgelatine lässt man feinste Gold-Gelatine zu 6 - 10 % einige Stunden in 0,85 %iger Kochsalzlösung quellen. Dann erhitzt man auf etwa 40° bis vollständige Lösung erfolgt ist, fügt zur Klärung Hühnereiweiss hinzu (für 650 g etwa ein Drittel eines Eies) und erhitzt zum Kochen. Nach halbstündigem Kochen wird die heisse Gelatine durch Watte filtriert und mit Natriumbicarbonatlösung gegen Lackmus neutralisiert, wobei für 10 g feste Gelatine 1 ccm einer 5 %igen Lösung gebraucht wird. Nun wird auf 35° abgekühlt und mit ca. 3 % defibriertem Rinderblut versetzt.

Will man sich für wiederholtes Arbeiten einen Vorrat herstellen, so empfiehlt es sich, die noch heisse Gelatine nach dem Filtrieren in Eprouvetten abzufüllen, mit Watte zu verschliessen und eine halbe Stunde im strömenden Wasserdampf zu sterilisieren. Vor dem Versuch bringt man eine solche Epruvette in ein Wasserbad von 35° , bis die Gelatine verflüssigt ist und versetzt mit 3 % defibriertem Rinderblut.

Für manche wissenschaftliche Zwecke ist es ratsam, eine bestimmte Wasserstoffionenkonzentration einzuhalten und gepufferte Blutgelatine zu verwenden. In diesem Falle verwendet man für die Herstellung der Gelatine eine 0,7%ige Kochsalzlösung, die mol/30 Phosphatpuffergemisch enthält. Der Einfluss der Wasserstoffionenkonzentration und die Herstellung der Pufferlösungen wird in einem späteren Abschnitt ausführlicher besprochen. Bei allen in dieser Arbeit mitgeteilten Versuchen benutzte ich, wenn nicht anders erwähnt, eine mol/30 Phosphatpuffer enthaltene Blutgelatine von $p_H = 7,4$.

An Stelle von Rinderblut lassen sich auch andere Blutarten verwenden. Es ist nur zu berücksichtigen, dass die Blutarten gegen die einzelnen Saponine verschieden empfindlich sind. Will man unter einander vergleichbare Werte erhalten, so empfiehlt es sich, stets mit derselben Blutart zu arbeiten. Für alle in dieser Arbeit beschriebenen Versuche verwendete ich Rinderblut.

Die Untersuchung des Filtrierpapierstreifens in Blutgelatine geschieht in folgender Weise. Der getrocknete Streifen wird auf eine Glasplatte von etwa 6/10 cm aufgelegt und mit der im Wasserbad auf 35° erwärmten Blutgelatine übergossen. Das Präparat

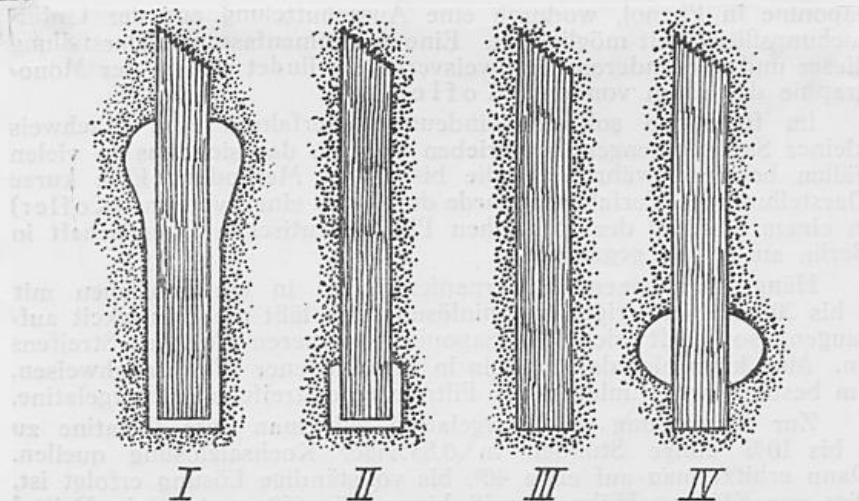
wird mit einer zweiten Glasplatte bedeckt und auf eine kühle Unterlage gelegt, um die Gelatine rascher zum Erstarren zu bringen. Eine zweite Arbeitsweise ist folgende: Man giesst die flüssige Blutgelatine auf eine Glasplatte, lässt erstarren, legt den Filtrierpapierstreifen auf die Blutgelatine und bedeckt unter leichtem Drucke mit einer zweiten Glasplatte, die ebenfalls mit erstarrter Blutgelatine überzogen ist. Dieser zweite Weg verhindert bei reichlichen Saponinmengen das Verschleppen des Saponins und ermöglicht eine schärfere Lokalisation.

Im Laufe der nächsten Minuten oder Stunden bildet sich um die saponinhaltigen Stellen des Filtrierpapierstreifens ein haemolytischer Hof, der sich als durchsichtige Stelle von der übrigen undurchsichtigen Blutgelatine sehr deutlich abhebt.

Beim Kapillarisieren von Arzneimitteln, Brauselimonaden u.s.w. häufen sich aber nicht nur die Saponine im oberen Teile des Filtrierpapierstreifens an, sondern auch Zucker, Säuren, Glyzerin und verschiedene andere Stoffe, die den haemolytischen Saponinnachweis stören oder seine Eindeutigkeit beeinträchtigen. Ich stellte daher Versuche an, das Saponin im Streifen von den übrigen Substanzen möglichst zu trennen. Unter anderem wurden Streifen mit $Al(OH)_3$ Sol behandelt, in der Erwartung, dass in dem nun positiv geladenen Filtrierpapierstreifen, die negativ geladenen Saponine nicht mehr bis nach oben steigen werden. Alle diesbezüglichen Versuche waren vergebens. Erst ein neuer Kunstgriff führte zum Ziel.

Durch eine Cholest^{er}inschranke im unteren Teile des Kapillarstreifens lässt sich das Saponin abfangen. Man tropft vor der

Kapillarisation auf den Filtrierpapierstreifen etwa 3 cm vom unteren Ende entfernt eine 1%ige Lösung von Cholesterin in 96% Alkohol so, dass nach dem Verdunsten des Alkohols der Filtrierpapierstreifen an dieser Stelle mit Cholesterin imprägniert ist. Bei der Kapillarisation mit Hilfe eines derartig vorbereiteten Streifens wird das in der aufsteigenden Flüssigkeit gelöste Saponin an das Cholesterin gebunden und zurückgehalten, während die anderen Stoffe ungehindert aufsteigen. Nach beendeter Kapillarisation wird der noch feuchte Filtrierpapierstreifen mit Wasser gewaschen. Dabei werden alle in der ursprünglichen Flüssigkeit vorhandenen wasserlöslichen Stoffe entfernt, nur das Saponin bleibt als wasserunlösliche Cholesterinverbindung zurück. Der untere Teil des Filtrierpapierstreifens der die Cholesterinschranke enthält, wird getrocknet und zusammengerollt in einem Reagensglas mit aufgesetzter Steigröhre mit wenigen ccm Xylol zwei Stunden gekocht, wobei das Saponincholesterid gespalten und das Cholesterin aus dem Streifen herausgelöst wird. Nach gründlichem Waschen mit Äther und Trocknen legt man den Streifen in der oben bezeichneten Weise in Blutgelatine ein und beobachtet nun an der Stelle der ursprünglichen Cholesterinschranke einen haemolytischen Hof, während die übrigen Teile des Streifens keine Haemolyse hervorrufen.



Die beigegefügte schematische Zeichnung veranschaulicht vielleicht am einfachsten die Wirkungsweise der Cholesterinschranke und des Auswaschens. Bild I. zeigt einen Kapillarstreifen der keine Cholesterinschranke besitzt. Das Saponin konnte ungehindert aufsteigen und häuft sich im oberen Teile des Streifens an. Die Bilder II.--IV. zeigen Streifen mit Cholesterinschranke, unterscheiden sich aber durch ihre weitere Behandlung. Bei II. wurde der Streifen nur getrocknet und in Blutgelatine eingelegt. Nur der Teil unterhalb der Cholesterinschranke wirkt haemolytisch, über der Schranke ist kein Saponin, doch wirkt es infolge der Bindung an das Cholesterin nicht haemolytisch. Streifen III, der nirgends Haemolyse zeigt, wurde mit Wasser gewaschen und dadurch auch das Saponin unterhalb der Schranke entfernt. Streifen IV wurde nach dem Waschen mit Wasser noch mit Xylol gekocht, daher tritt Haemolyse im Bereiche der Schranke auf.

Durch den positiven Ausfall des Versuches wurde Folgendes nachgewiesen : Eine wasserlösliche Substanz, die in Xylol und Äther unlöslich ist, stark haemolytisch wirkt und mit Cholesterin eine Verbindung eingeht. Die Cholesterinverbindung ist in Wasser unlöslich, wird durch Xylol gespalten und wirkt selbst nicht haemolytisch. Dadurch ist der Nachweis eines Saponins eindeutig.

Die Gestalt des haemolytischen Hofes entspricht nicht immer genau der Zeichnung III. Dies ist zwar für den Saponinnachweis als solchen ohne Bedeutung, beansprucht aber doch einiges Interesse. Nach dem bisher Gesagten könnte es scheinen, als ob der im Bild IV bezeichnete haemolytische Hof genau dem Umfang der ursprünglichen Cholesterinschranke entspräche. Dies trifft in den meisten Fällen

nicht zu und hängt mit der Form der Cholesterinschranke zusammen. Tropft man nämlich wie oben angegeben einige Tropfen der alkoholischen Cholesterinlösung nacheinander auf dieselbe Stelle des Filtrierpapierstreifens, so verteilt sich das Cholesterin nicht gleichmässig auf die vom Alkohol befeuchtete Stelle, sondern häuft sich an den Rändern der benetzten Stelle an. Davon kann man sich z.B. beim Betrachten des getrockneten Streifens unter der Analysenquarzlampe überzeugen. Eine Anhäufung von Cholesterin findet sich insbesondere am oberen und unteren Rande der von der alkoholischen Flüssigkeit benetzten Stelle, aber auch an den beiden Längsseiten des Streifens. Die ungleichmässige Verteilung des Cholesterins lässt sich auch an der Form des haemolytischen Hofes in der Blutgelatine erkennen. Wenn man einen Streifen, der in eine sehr verdünnte Saponinlösung eintauchte, nach der Xylolbehandlung der Länge nach halbiert und in Blutgelatine einlegt, so tritt nur am ursprünglichen Rand ein haemolytischer Hof auf. An dem neuen, durch das nachträgliche Entzweischneiden entstandenen Rande bildet sich ein kleinerer oder überhaupt kein haemolytischer Hof, weil hier weniger Cholesterin zum Abfangen des Saponins vorhanden war als am äusseren Rande. Beim Einlegen eines ganzen Streifens tritt oft nur am unteren Rande der Cholesterinschranke Haemolyse auf, weil das hier aufgehäufte Cholesterin ausreichte, um das ganze Saponin abzufangen. War verhältnismässig viel Saponin in der Untersuchungsflüssigkeit, so reicht das Cholesterin am unteren Rande der Schranke zur Bindung nicht aus. Es steigt ein Teil des Saponins weiter nach oben und wird dann an das am oberen Rande der Schranke angehäuften Cholesterin gebunden.

In solchen Fällen sieht man dann am unteren Rande der Schranke einen grossen, am oberen einen kleinen haemolytischen Hof, dazwischen tritt nur ein schmaler oder kein haemolytischer Hof auf. Diese ungleiche Verteilung des Cholesterins in der Schranke ist, wie erwähnt, ohne Einfluss auf die Eindeutigkeit und Empfindlichkeit des Saponinnachweises, sie musste aber erwähnt werden zum Verständnis der in der Blutgelatine auftretenden Bilder.

Durchführung der Kapillarisation.

Die Herstellung der Cholesterinschranke wurde schon oben beschrieben. An dieser Stelle soll aber noch ~~auf~~ ^{an} einen Kunstgriff bei der Aufstellung des Kapillarestreifens hingewiesen werden, der sich gut bewährte und der vielleicht auch bei der Kapillarisation für andere Zwecke brauchbar ist.

Für die beschriebene Methode war es erwünscht, dass eine grössere Flüssigkeitsmenge (5 oder womöglich 10 ccm) von dem Filtrierpapierstreifen aufgesaugt wird. Hängt man den in ein Schälchen mit Flüssigkeit eintauchenden Streifen frei auf, so ist die Steighöhe der Flüssigkeit durch die Verdunstung beschränkt, namentlich dann, wenn Zucker, Glyzerin u.s.w. vorhanden sind. Ich versuchte zuerst die von Rapp und Rojahn beschriebene Anordnung, wobei die Filtrierpapierstreifen in 5 cm weiten, 4 cm hohen, oben mit einem Kork verschlossenen Glasröhre aufgehängt werden. Rapp erhält dadurch die für Quarzlampe^{geeigneten} analysen langgezogenen Kapillarbilder. Für meine Zwecke war diese Arbeitsweise nicht brauchbar, weil infolge der verhinderten Verdunstung durch den Filtrierpapierstreifen nicht eine genügende Menge Flüssigkeit aufgesaugt wurde.

Am besten bewährte sich nun folgende Anordnung. Als Behälter für die 5 - 10 ccm Untersuchungsflüssigkeit dient ein etwa 4 cm weites und 10 cm hohes zylindrisches Gefäß, das oben mit einer runden Glasplatte verschlossen ist, in die ein etwa 1 - 2 mm breiter und 2 cm langer Spalt eingeschnitten ist. Durch diesen Spalt lässt man den 1½ - 2 cm breiten Filtrierpapierstreifen, der nach oben noch mindestens 20 cm herausragen soll, in die Flüssigkeit eintauchen. Durch diese Anordnung wird erreicht, dass die Flüssigkeit über die Cholesterinschranke aufsteigt, da eine Verdunstung in stärkerem Ausmasse erst in dem über die Glasplatte hinausragenden Teil stattfindet. An Stelle der Glasplatte mit dem Spalt kann das Zylindrische Gefäß auch mit zwei Objektträgern zugedeckt werden. Bei dieser Versuchsanordnung sind zum Aufsaugen von 5 - 10 ccm Untersuchungsflüssigkeit durchschnittlich 2 Tage erforderlich.

Wenn bei sehr salz- oder zuckerreichen Untersuchungsflüssigkeiten auch bei dieser Versuchsanordnung das Aufsteigen der Flüssigkeit zu früh zum Stillstand kommt, empfiehlt es sich, für die Kapillarisation zuerst ein Gefäß von 15 - 20 ccm Höhe zu verwenden, das man mit der oben erwähnten Glasplatte bedeckt. Sobald das Aufsteigen der Flüssigkeit zum Stillstand kommt, wird der Rest der Flüssigkeit in das übliche, 10 cm hohe und später in ein noch niedrigeres Gefäß umgefüllt und die Kapillarisation mit demselben Streifen fortgesetzt. Noch zweckmässiger ist es aber, salz- und zuckerreiche Flüssigkeiten vor der Kapillarisation der Elektrodialyse zu unterziehen. Salze, Zucker u.s.w. werden dadurch aus der Flüssigkeit entfernt, während der Verlust an Saponinen nur ein

sehr geringfügiger ist. (Kofler und Wolkenberg) Nach dem Entfernen von Salzen und Zucker kann die Flüssigkeit eingeeengt werden, wodurch bei Vorhandensein sehr geringer Saponinmengen die Empfindlichkeit der Methode noch erhöht wird.

Als Kapillarstreifen lässt sich das in den Laboratorien gebräuchliche Filtrierpapier verwenden. Noch besser verwendet sich das von Schleicher und Schüll eigens für die Kapillaranalyse hergestellte Filtrierpapier Nr. 598 dick.

Ein Alkoholgehalt ^{der Untersuchungsflüssigkeit} wirkt störend, weil durch den Alkohol die Cholesterinschranke gelöst und nach oben geschwemmt wird. Ich verglich Lösungen von Quillajasaponin in einer Verdünnung 1:50.000, die mit Alkohol verschiedener Konzentration hergestellt waren und zwar 20,30,40 und 50%ig. Alle verwendeten Alkoholkonzentrationen zeigen Hämolyse an der Cholesterinschranke und zwar absteigend vom 20 % zum 50 %. Oberhalb der Cholesterinschranke zeigten aber nur die Versuche mit 30,40 und 50 % Alkohol Hämolyse. Beim 20 % war das ganze Saponin in der Cholesterinschranke gebunden und nicht durchgegangen. Weiters wurde Saponin Merck in 20, 40, 60 und 80 % Alkohol in der gleichen Konzentration (1:50.000) untersucht. Beim 20- und 40%igem Alkohol liess sich an der Cholesterinschranke noch deutliche Hämolyse erkennen, beim 20 % war die Reaktion wesentlich stärker als beim 40 %igem Alkohol. Beim 60 und 80%igen Alkohol war die Reaktion bei der Cholesterinschranke negativ. Dementsprechend trat in allen Fällen oberhalb der Cholesterinschranke, insbesondere im obersten Teile der benetzten Partie des Streifens, Hämolyse ein, die beim 20 %igen am schwächsten war und beim 80%igen am stärksten.

Dabei ist allerdings zu berücksichtigen, dass beim Saponin pur.albis Merck auch in sehr wässrigen Lösungen eine kleine Menge Saponin die Cholesterinschranke durchbricht, worauf ich weiter unten noch zurückkommen werde. Mit Digitonin machte ich entsprechende Versuche in einer Verdünnung von 1:300.000 mit 20,20 und 35%igem Alkoh. In allen drei Fällen war die Hämolyse in der Cholesterinschranke positiv, über der Schranke negativ.

Aus diesen Versuchen folgt, dass vor der Durchführung des Saponinnachweises ein eventueller höherer Alkoholgehalt durch entsprechende Verdünnung mit Wasser oder Verjagen des Alkohols auf etwa 20 % erniedrigt werden muss.

Empfindlichkeit des Nachweises.

Bei mehreren Handelssaponinen und einigen im Institut dargestellten Saponinen stellte ich die äussersten Verdünnungen der Untersuchungsflüssigkeit fest, bei denen der Nachweis noch positiv auftritt. Von den wässrigen Lösungen der Saponine wurden jedesmal 10 - 20 ccm zur Kapillarisation verwendet. Die folgenden Verdünnungen geben die Grenze der Nachweisbarkeit an:

	Verdünnung
Digitonin Merck	1:500.000
Primularsäure	1:200.000
Saponin pur.-albiss. Merck	1:100.000
Saponin aus Quillajarinde	1:100.000
Saponin depur. ^m Schittmann	1:100.000
Elatior-Saponin	1:100.000

Spumatelin	1:100.000
Saponin gereinigt Kahlbaum	1:70.000
Saponin-Sthamer	1:70.000
Rosskastaniensaponin Merck	1:30.000
Hederin	1:30.000

Die Empfindlichkeit kann aber wie erwähnt noch wesentlich erhöht werden durch Eindampfen der Flüssigkeiten, gegebenenfalls durch Elektrodialyse.

Bei einigen weiteren Saponinen gingen wir mit der Verdünnung nicht bis zur Grenze der Nachweisbarkeit, sondern begnügten uns mit der Feststellung, dass der Nachweis in einer Verdünnung von 1:50.000 mit Sicherheit durchführbar ist und zwar bei Sapotoxin Merck, Sapindus-Saponin Merck, Solanin Merck und Rübensaponin.

Beim Quajac - Saponin, das bekanntlich ein Saponin mit schwachen physiologischen Wirkungen und sehr geringer Haemolysenkraft ist, war für den positiven Ausfall der Reaktion eine Lösung im Verhältnis 1:500 erforderlich.

Für praktische Zwecke am wichtigsten ist die Empfindlichkeit des Nachweises bei Saponinen, die aus weisser (Levantinischer) Seifenwurzel und aus der Quillajarinde gewonnen sind, weil die billigen Handelssaponine vorwiegend aus diesen Drogen und daneben vielleicht auch aus Seifennüssen hergestellt werden. Das "Saponin aus Quillajarinde" wurde im Institut aus der Droge selbst dargestellt. Das billige Saponin Sthamer besteht nach den Angaben Koberts aus den Saponinen der Quillajarinde. Beide Präparate liessen sich noch in grosser Verdünnung nachweisen. Das Saponin pur-albiss. Merck

ist ein Vertreter eines Saponins aus Levantinischer Seifenwurzel. Woraus das Saponin gereinigt Kahlbaum besteht konnte, nicht in Erfahrung gebracht werden. Das Verhalten bei der Haemolyse (Kofler und Lazar) spricht gegen Seifenwurzel oder Quillajarindensaponin und deutet auf Sapindus (Seifennuss) Saponin. Das Sapindussaponin Merck liess sich nach meiner Methode gut nachweisen. Die Herkunft des Saponin depur. Schmittmann und Sphmatelin ist mir nicht bekannt.

Das Verhalten der einzelnen Saponine gegen
Cholesterin.

Die Fällbarkeit durch Cholesterin wird als allgemeine charakteristische Eigenschaft der Saponine betrachtet. Genauer untersucht sind in dieser Richtung aber nur einige wenige Saponine. Gelegentlich anderer Versuche wurde im Institut festgestellt, dass Roskastaniensaponin, Primulasäure und Hederin durch Cholesterin nicht gefällt werden. Es gelang weder in Alkohol verschiedener Konzentration noch in anderen Lösungsmitteln diese Saponine durch Cholesterin oder andere Sterine zu fällen. Man kann demnach die Fällbarkeit durch Cholesterin nicht als eine Eigenschaft aller Saponine betrachten

Für den in Frage kommenden Nachweis war lediglich das Verhalten der Saponine in der Cholesterinschranke des Filtrierpapierstreifens von Bedeutung. Dies liess sich durch vergleichende Betrachtung des ganzen Streifens in Blutgelatine feststellen. Zu diesem Zwecke wurde der untere Teil des Streifens mit der Cholesterinschranke in der üblichen Weise mit Wassergewaschen und mit Xylol gekocht.

Der obere Teil des Streifens wurde ohne irgendwelche Vorbereitung in Blutgelatine eingelegt.

Von den im vorigen Abschnitt genannten Saponine werden einige bei Vorhandensein geringer Mengen quantitativ in der Cholesterinschranke zurückgehalten, und zwar Digitonin, Quillajasaponin, Saponin Sthamer, Saponin gereinigt Kahlbaum, Saponin depur. Schmittmann und Spumatelin. Beim Saponin pur. albiss. Merck, beim Sapotoxin und beim Rübensaponin wird zwar der weitaus grösste Teil des Saponins an das Cholesterin der Schranke gebunden, ein kleiner Teil durchbricht aber die Schranke und gelangt in den oberen Teil des Streifens.

Von der Primulasäure, dem Rosskastaniensaponin und dem Hederin wird in der Cholesterinschranke nur ein kleiner Teil zurückgehalten; da die Primulasäure als saures Saponin in Wasser unlöslich ist, stellte ich unter Zusatz von etwas Natronlauge eine wässrige Lösung in einer Verdünnung von 1:200.000 her. Für einen 2. Versuch verdünnte ich eine 0.2%ige Lösung von Primulasäure in 70 %igem Alkohol mit Wasser bis zu einer Verdünnung von 1:150.000. Das Ergebnis war in beiden Versuchen dasselbe. Es zeigte sich in der Blutgelatine an der Cholesterinschranke ein eben sichtbarer haemolytischer Hof, während am Ende des Kapillarstreifens sehr starke Haemolyse auftrat. Das Cholesterin hatte demnach nur einen ganz kleinen Teil der Primulasäure zurückgehalten. Ähnliche Ergebnisse erhielt ich beim Rosskastaniensaponin und beim Hederin; dieses Verhalten steht offenbar im Zusammenhang mit dem geringen Bindungsvermögen dieser Saponine für Cholesterin. Nach den oben er-

wähnten Versuchen, wonach diese 3 Saponine aus Lösungen durch Cholesterin nicht fällbar waren, hätte man eigentlich erwarten müssen, dass diese Saponine die Cholesterinschranke ganz ungehindert passieren. Ein ganz geringes Bindungsvermögen scheint aber doch zu bestehen.

Für das teilweise Überschreiten der Cholesterinschranke wäre bei einzelnen Saponinen allerdings auch noch eine zweite Erklärungsmöglichkeit denkbar. Die meisten Handelssaponine stellen keine chemisch einheitlichen Substanzen dar; es könnte nun ein derartiges Präparat 2 Saponine enthalten, von denen das eine durch Cholesterin gebunden wird, das andere nicht. Auf diese Möglichkeit sollte hier nur hingewiesen werden. Beweise dafür liegen vorläufig nicht vor.

Bemerkenswert ist das Verhalten des Solanins. Ein Solanin-Cholesterid wurde schon von Windaus dargestellt. Beim Kapillarisieren einer Lösung des freien Solanins, die mit Hilfe von wenig Alkohol in Wasser in einer Verdünnung von 1:50.000 hergestellt war, wurde das gesamte Solanin in der Cholesterinschranke festgehalten. Bei Verwendung einer wässrigen Lösung von salzsaurem Solanin in einer Verdünnung von 1:50.000 passierte das Solanin die Cholesterinschranke ungehindert und sammelte sich im oberen Teil des Streifens an. Dies steht in Übereinstimmung mit der gefundenen Eigenschaft des Solanin-Hydrochlorids, mit Cholesterin keine Verbindung einzugehen.

Aus der geringen Bindungsfähigkeit für Cholesterin erklärt sich der Umstand, dass für einzelne Saponine unser Nachweisverfahren weniger empfindlich ist, als man beim Vergleich mit anderen erwarten

sollte. Dies gilt vor allem für das Rosskastaniensaponin, aber auch das Hederin und die Primulasäure müssten in Hinblick auf ihre starke Haemolysekraft noch in viel grösseren Verdünnungen nachweisbar sein, wenn nicht der grösste Teil infolge der geringen Cholesterinbindungsfähigkeit verloren ginge. Die für praktische Zwecke am meisten verwendeten Saponine aus Seifenwurzeln und Quillajarinde werden wie erwähnt vor der Cholesterinschranke quantitativ oder nahezu quantitativ zurückgehalten. Durch die in diesem Abschnitte wiedergegebenen Versuche und Überlegungen wird die im vorigen Abschnitt für die einzelnen Saponine festgestellte Empfindlichkeit des Nachweises naturgemäss nicht verändert.

Einfluss der Wasserstoffionenkonzentration.

Eingangs wurde erwähnt, dass es für manche praktische Zwecke genügt, die Blutgelatine mit 0.85%iger Kochsalzlösung herzustellen, dass aber für einzelne Zwecke eine auf eine bestimmte Wasserstoffionenkonzentration eingestellte Gelatine vorzuziehen ist. Die Einhaltung einer bestimmten Wasserstoffionenkonzentration ist namentlich dann von Wichtigkeit, wenn man untereinander vergleichbare Werte erhalten will. Die Haemolysenwirkung aller Saponine ist nämlich von der Wasserstoffionenkonzentration abhängig. Diese Abhängigkeit ist aber nicht bei allen Saponinen gleich. Es liessen sich bisher zwei Typen feststellen (Kofler und Lazar) Beim Typus I ist die Haemolysenwirkung zwischen $p_H = 8.7$ und 9.6 , am schwächsten und steigt bei Verschiebung der Reaktion nach der sauren oder alkalischen Seite an und zwar durchschnittlich auf das Doppelte. Beim Typus II ist die

Haemolysenwirkung etwa bei $p_H = 10.5$, also unmittelbar vor Beginn der Laugenhaemolyse, sehr gering oder überhaupt verschwunden und zeigt einen starken Anstieg nach der sauren Seite, so dass die Haemolysenwirkung bei etwa $p_H = 5.6$ einen 100 fachen oder noch höheren Wert erreichen kann. Zum Typus I gehören die Saponine aus der weissen und roten Seifenwurzel und der Quillajarinde, also die meisten Handelssaponine. Ferner Digitonin, Cyclamin, Primul säure, Elatiersaponin, Rosskastaniensaponin. Zum Typus II gehören Sapindussaponin, Saponin gereinigt Kahlbaum, die Saponine aus Senega, Spinat, und Futterrüben, Hederin.

Durch Verwendung saurer neutral und alkalisch gepufferter Blutgelatine (etwa $p_H = 6.2, 7.4, 8.4, 10.2$) lässt sich feststellen, ob ein Saponin von Typus I oder II vorliegt. Man achtet hierbei, in welcher Gelatine der haemolytische Hof zuerst auftritt und wo er am grössten ist. Beim Typus I sind die Unterschiede gering, aber doch in manchen Fällen feststellbar. Beim Typus II sind die Unterschiede so gross, dass bei entsprechenden Konzentrationen in der alkalischen Gelatine keine Haemolyse auftritt, während sie in der sauren Gelatine sehr stark ist.

Das Solanin nimmt eine Sonderstellung ein und verhält sich gerade umgekehrt wie Typus II (Fischer), Man kann demnach das Solanin von dem eigentlichen Saponin unterscheiden.

Bei der Herstellung einer Gelatine von einer bestimmten Wasserstoffionenkonzentration ist zu beachten, dass die Gelatine selbst schwach sauer reagiert, so dass man Gemische wählen muss, die etwas mehr alkalisch sind als die gewünschte Gelatine sein soll.

Zur Herstellung einer Blutgelatine von $p_H = 7.4$ mische ich 6 ccm mol/30 primäre und 94 ccm mol/30 sekundäre Natriumphosphatlösung und löse in dieser Mischung 0.7 g Kochsalz auf. In dieser Mischung löst man in der eingangs beschriebenen Weise 6 - 10 g Gelatine, klärt mit Eiweiss und filtriert heiss. In der noch flüssigen Gelatine bestimmt man die Wasserstoffionenkonzentration (wozu z.B. das Foliencolorimeter von Wulff genügt.) und bringt unter Zusatz einiger Tropfen etwa norm. Natronlauge oder norm. Phosphorsäure auf die gewünschte p_H von 7.4. Zur Herstellung einer Gelatine von $p_H = 6.2$ verwendet man eine Mischung von je 50 ccm mol/30 primär und mol/30 sekundär Natriumphosphatlösung; für eine Gelatine von $p_H = 8.4$ eine Mischung von 9.7 ccm mol/30 sekundäres und 3 ccm mol/60 tertiäres Natriumphosphatlösung und endlich für eine Gelatine von $p_H = 10.0$ 90.5 ccm mol/30 sekundäre und 9.5 ccm mol/30 tertiäre Natriumphosphatlösung. Die genaue Einstellung erfolgt wie oben nach Prüfung der Wasserstoffionenkonzentration durch Zusatz einiger Tropfen von normaler Natronlauge oder Phosphorsäure.

Bei wiederholten Arbeiten mit Blutgelatine ist es zweckmässig, Gelatine auf Vorrat herzustellen. Die fertige, noch flüssige Gelatine wird in Eprouvetten abgefüllt, mit Watta verschlossen und in strömenden Wasserdampf etwa eine $1\frac{1}{2}$ Stunde sterilisiert.

Arzneimittel.

Mit Hilfe der beschriebenen Methode untersuchte ich nun eine grössere Anzahl von Arzneimitteln, bei denen das Vorhandensein oder Fehlen von Saponinen von Interesse ist.

Bei den Arzneispezialitäten aus Digitalis und ähnlichen Herzdrogen wird als einer der wichtigsten Vorteile gegenüber der Droge, das Befreitsein von Ballaststoffen angegeben. Und unter den Ballaststoffen werden insbesondere die Saponine hervorgehoben: dabei wird vorausgesetzt, dass die Saponine besonders schädliche Ballaststoffe sind. Ob die Angabe über das Befreitsein einer Spezialität von Saponinen wirklich zutrifft, konnte leider aus Mangel an einer geeigneten Methode nicht nachgeprüft werden. Mit meinem neuen Verfahren gelingt nun diese Untersuchung ohne jede Schwierigkeit.

In einem 0.5%igem Infusum Digitalis, in Tinctura Digitalis. Tinctura Strophanti, Extr. convallariae fand ich Saponine und in folgenden Spezialitäten :

Digipurat. liquid.: verwendet 5 ccm: bei p_H 7.4 nach 10 Minuten Auftreten der Hämolyse am Beginn der Cholesterin-Zone. Es wurden drei Versuche mit demselben Ergebnis ausgeführt.

Digipurat. Inj. zu 5ccm für Tiere Nr. 2862.

für Intramusk., Intraven. und subkut Inj. verwendet 2.5 ccm.

Am Anfang und Ende der Cholesterinzone wurde ein Festhalten des Farbstoffes bemerkt, der durch Auswaschen mit Wasser wieder aus dem Streifen entfernt werden konnte. Bei p_H 7.4 nach 15 Minuten am Beginn der Cholesterin-Zone Auftreten der Hämolyse; 1 Versuch.

Liquitalis (Liqu. digit. titr. "Gehe" - Verwendet 5 ccm Dresden).

Am Beginn der Cholesterin-Zone wird ein grüner Farbstoff festgehalten, der durch das Auswaschen mit Wasser wieder entfernt wird.

Bei p_H ^{7.4} nach 15 Minuten am Beg. der Cholesterin -Zone Auftreten der Hämolyse, wenn die Gelatine beim Auflegen des Streifens dickflüssig

war, bei Verwendung dünnflüssiger Gelatine wird das Saponin verschleppt und der hämolytische Hof tritt nicht scharf begrenzt auf.

2 Versuche,

Digital Golaz, Digitalis Dialysat. Verwendet 5 ccm Nr. 228092. Bei p_H 6.2 nach 5 Minuten Auftreten der Hämolyse.

Bei p_H 7.4 etwas später. 2 Versuche.

Digitalisat Bürger 260531 A.

p_H 6.2 sofort am Beginn und Ende der Cholesterinzone, Hämolyse sichtbar.

p_H 7.4. etwas später " " " " " "

2 Versuche, verwendet 5 ccm.

Cardiotonin, Dr. Degen u. Kuth, Rhld. Verwendet 3 ccm

p_H 6.2 } nach 10 Minuten eben sichtbare Hämolyse

p_H 7.4 }

In dickflüssige Gelatine eingelegt, 3 Versuche.

Diginorgin Nr. 85.

Chem. Fabrik Norgine, Dr. Viktor Stein, Aussig, Prag.

p_H 7.4 Nach 5 Minuten Hämolyse am Beginn der Cholesterinzone sichtbar. 1 Versuch, verwendet 5 ccm.

Adigan - Lösung. Nr. 163.

Chem. Fabrik. G. Richter, Budapest. Verwendet 5 ccm.

p_H 7.4 Nach 10 Minuten gut sichtbare Hämolyse am äusseren Rand des Streifens, eben sichtbar am inneren Rand (dort wurde der Streifen nach dem Aufsaugen auseinander geschnitten.) 1 Versuch.

Digiclarin liqu. Sanabo Nr. 335. Verwendet 5 ccm, 2 2 Versuche

p_H 6.2 } nach 5 Minuten Hämolyse sichtbar

p_H 7.4 } am Beginn der Cholesterin Zone

Digiclarin Inj. 20-2-411 Sanabo verwendet 3 Amp. zu 1.1 ccm

p_H 6.2 nach 10. Minuten Hämolyse am Beginn der Cholesterinzone sichtbar. 2 Versuche

Digitura Chemosan A.G.Wien) verwendet 5 ccm, 1 Versuch

p_H 7.4 sofort Hämolyse in der Cholesterinzone sichtbar.

Symor "Syngala" liqu. Nr.13 Verwendet 5 ccm, 2 Versuche

p_H 6.2) nach 16 Stunden deutliche Hofbildung am Beginn der

p_H 7.4) Cholesterinzone und zwar in p_H 6.2 stärker als in p_H 7.4.

Scillikardin, Dr. Degen und Kuth Nr. 22, Düren, Rheinland. Verwendet 5 ccm, 2 Versuche, Ein Teil des Farbstoffes sammelt sich unterhalb der Cholesterinzone an.

p_H 6.2) in dickflüssiger Gelatine nach 35 Minuten Hämolyse am

p_H 7.4) Beginn der Cholesterinzone sichtbar, in dünnflüssiger Gelatine tritt die Hämolyse sofort nach dem Einlegen auf, die Hofbildung ist jedoch wegen Verschleppung des Saponins undeutlich.

Adonis vernalis, Dialysata Golaz Titr. verwendet 5 ccm, 1 Versuch

p_H 6.2) Hämolyse fast bis zum Ende des Streifens, jedoch Anhäufung

p_H 7.4) des Saponins in der Cholesterinzone. Es muss ebenfalls dickflüssiges Gelatine verwendet werden.

Convallaria majalis, Dialys.Golaz Nr. 102, verwendet 5 ccm

p_H 6.2) sofort Auftreten der Hämolyse

p_H 7.4) 2 Versuche

Tabloid Digitalis Tincture.

3 Körner wurden in 5 ccm Wasser gelöst und die Lösung zur Kapillarsation verwendet.

p_H 6.2) nach 12 Stunden am Beginn der Cholesterinzone eben sicht-
 p_H 7.4) barer hämolytischer Hof, der auch nach längerer Zeit nicht
mehr grösser wird. 1 Versuch.

Digotin, Gehe & Co. verwendet 5 ccm

p_H 6.2) nach 15. Minuten hämolytischer Hof am Beginn der Cholesterin-
 p_H 7.4) zone sichtbar. 1 Versuch.

Digotin - Injekt. Gehe & Co.

Verwendet 3 Amp.

p_H 7.4 nach 10 Minuten am Beginn der Cholesterinzone Hämolyse sicht-
bar., 1 Versuch.

Digitalis Dispert Tabl. 81162 3 Tabletten wurden in 5 ccm Wasser ge-
löst.

p_H 7.4 nach 10 Minuten am Beginn der Cholesterinzone eben sichtbare
Hämolyse, 2 Versuche.

Diginorm Nr. 85. verwendet 5 ccm

p_H 6.2 nach 3 Minuten Auftreten der Hämolyse am Beginn der Cholesterin-
zone bei Verwendung von fester Gelatine. 2 Versuche.

Von Digipuratum, Diginorgin, Adigan und Digiclarin wird in
der Literatur ausdrücklich angegeben, dass die Saponine entfernt
sind. Diese Angabe ist nach meinen Untersuchungen nicht richtig.
Überrascht hat besonders beim Adigan das Vorhandensein von Saponinen
weil angegeben wird, dass dem Präparat durch Ausfällen mit Cholesterin
das Digitonin und saponinartige Stoffe entzogen werden. Es sind aber
wahrscheinlich doch nicht alle saponinartigen Stoffe mit Cholesterin
herausgefällt worden.

In den folgenden Präparaten könnte ich keine Saponine nachwei-
sen.

Digalen,
Pandigal
Digipan
Digifolin
Digitaline nativele liquid.
" " Injektionen
Verodigen
Cardin

Andere Arzneimittel.

In den folgenden Präparaten konnte ich nach meinem Verfahren Saponine nachweisen:

Polygalysat Bürger 260525 B, ein Ysat aus Rad. Senegae

p_H 6.2 nach 5 Minuten Hämolyse am Beginn und Ende der Cholesterinzone sichtbar

p_H 7.4 Auftreten der Hämolyse etwas später, verwendet 5 ccm, 1 Versuch

Diuretysat Bürger Nr. 1748, ein Ysat aus Bulbus Scillae Fol. Betulae

und Fruct. Juniperi. Das Saponin stammt in erster Linie aus Fol.

Betulae, event. aus Bulbus Scillae.

Verwendet 5 ccm

p_H 6.2) nach 10 Minuten wird Hämolyse sichtbar.

p_H 7.4) 1 Versuch.

+

Comprimés de Proveinase Midy 2 Tabletten wurden in 5 ccm Wasser ge-

löst, die Lösung filtriert und dann zur Capillaranalyse verwendet.

+ ein französisches Präparat gegen Krampfadern, Unterschenkelgeschwüren etc., das laut Angabe des Herstellers neben anderen pflanz-

lichen und tierischen Drogen Extrakt aus Rosskastanien enthält, worauf offenbar der Saponingehalt zurückzuführen ist.

p_H 6.2 } nach 5 Minuten wird am Beginn der Cholesterinzone
 p_H 7.4 } Hämolyse sichtbar. Ein geringer Teil des vorhandenen Saponins wird nicht in der Cholesterinzone gebunden und lässt sich am oberen Ende des Streifens durch Hämolyse nachweisen. 2 Versuche.

Kolynos, Dental Cream, eine englische stark schäumende Zahncrème.

Kein Saponin fand ich in Tussamag.

Es wurden 2 Versuche durchgeführt und der Syrup hiezu mit Wasser verdünnt, und zwar zu einem Versuch 1 Teil Syrup mit 4 Teilen Wasser, zum zweiten Versuch 1 Teil Syrup mit 5 Teilen Wasser. Zu beiden Versuchen wurden 10 ccm Lösung verwendet.

Angiolymphe zur intramusk. Inj. verwendet 2 Amp. zu 2 ccm 1 Versuch.

Otreon. 2 Tabletten wurden in 5 ccm gelöst und die Lösung zur Kapillarisation verwendet. Die Otreontabletten untersuchte ich deshalb, weil ich in dem Schaumkörper dieses inwässriger Lösung stark schäumenden Präparates Saponin vermutete. Dies scheint aber nicht zutreffen, 2 Versuche.

Pandigal Beiersdorf. Nr. 326. verwendet 5 ccm, 2 Versuche.

Digalen Roche Nr. 207238 verwendet 5 ccm, 3 Versuche.

Digitaline nativelle verwendet 5 ccm, 2 Versuche,

Digitaline nativelle Injektionen verwendet 3 Amp. zu 1 ccm, 1 Versuch.

Digipuratum Tabletten

1) 3 Tabletten wurden in 5 ccm Wasser gelöst und die Lösung zur Kapillarisation verwendet.

2) 6 Tabletten in 10 ccm Wasser gelöst.

Adovern Roche.

3 Körner wurden in 5 ccm Wasser gelöst. 1 Versuch.

Viscysat 261004_A, verwendet 5 ccm, 2 Versuche.

Scillokrine Inj.

verwendet 1 Amp. zu 5 ccm, 1 Versuch

Symor Inj. Syngala

verwendet 2 Amp. zu 1.1 ccm, 1 Versuch.

Digifolin Tabletten.

verwendet eine Lösung von 3 Tabletten in 5 ccm Wasser. 1 Versuch.

Digifolin Amp. A 374544

Verwendet 3 Amp., 1 Versuch

Cardin

Verwendet 5 ccm, 1 Versuch

Baui et Herba Visci Dialysata Golaz 229057, verwendet 5 ccm, 1 Versuch.

Folgende Präparate wurden in Pulverform direkt in Blutgelatine untersucht und zeigten keine Hämolyse.

Digipan Tabletten

Verodigen Milchzucker.

Lebensmittel.

In manchen Ländern z.B. Österreich ist der Zusatz von Saponin zu Limonaden vollständig verboten. In Deutschland ist der Zusatz von Saponin in einem Quantum von 30 mg pro Liter Limonade erlaubt,

In „Die Fabrikation der moussierenden Getränke, praktische Anleitung zur Fabrikation aller moussierenden Getränke, Limonaden etc.“

von Lukmann, V. Auflage 1922, wird die Verwendung und Gewinnung von Saponin zur Erzielung eines haltbaren Schaumes besprochen.

Über die tatsächliche Verbreitung des Saponinzusatzes zu Limonaden lässt sich aus der Literatur schwer ein klares Bild gewinnen. Utz teilte im Jahre 1909 mit, dass es fast nicht mehr möglich sei, eine Limonade ohne Saponinzusatz zu finden; ähnlich lautet ein Bericht von Langer.

Nach meiner Methode musste es leicht möglich sein, Limonaden auf das Vorhandensein von Saponin zu prüfen. Die üblichen Handels-saponine sind wie oben angegeben noch in einer Verdünnung von 1:70.000 bis 1:100000 nachweisbar, der unmittelbare Nachweis gelingt also auch noch dann, wenn die Hälfte oder ein Drittel ~~des~~ der in Deutschland erlaubten Saponinmenge vorhanden ist. Eine kleinere Menge ist in der Praxis aber deshalb nicht zu erwarten, weil schon bei einer Verdünnung von 1:70.000 kaum mehr eine Schaumwirkung der Saponine wahrnehmbar ist, der Zusatz einer kleinen ^{re} Menge also keinen Zweck hätte.

~~Man~~ Will ^{man} trotzdem ^{den} ~~nach~~ Nachweis noch empfindlicher gestalten, so muss man die Limonaden einengen. Dabei wird allerdings die Zuckerkonzentration erhöht, das Aufsteigen der Flüssigkeit im Kapillarstreifen erschwert. Ferner besteht beim Eindampfen der ursprünglichen Limonade die Gefahr, dass die Säuren eine hydrolytische Spaltung der Saponine herbeiführen. Diese Schwierigkeiten lassen sich, wie schon oben erwähnt, durch vorausgehende Dialyse oder besser Elektrodialyse umgehen. Man unterwirft die zu untersuchenden Limonaden 12 - 14 Stunden der Elektrodialyse, engt dann ein und kapillariert in der üblichen Weise. Diese Vorbehandlung ist aber, wie er-

wähnt, für praktische Fälle nicht notwendig.

Im Folgenden untersuchte ich eine grössere Anzahl von Limonaden in der üblichen Weise, also ohne Einengung der Flüssigkeit.

In keiner einzigen Probe liess sich Saponin nachweisen.

Chabeso, Polarperle, Kracherl, Kiechl, Perle Wechselberger, Sinalco, alle aus Innsbruck, Kracherl Eder, Natursole Windsheim aus Kiefersfelden (Bayern), Limonade von Nebgen, Köln; ferner Limonaden aus Worms von den Firmen Lamp & Co., Holzhäuser, Bauner und Tronser.

Zur Kontrolle versetzte ich Sinalco mit Saponin purum albiss. Merck 1:70.000 und konnte das Saponin nachweisen.

Bei der Untersuchung von Brauselimonadenpulver löste ich das Pulver in Wasser; in Brauselimonadenpulver Clio, Steeb und Frigeo liess sich kein Saponin nachweisen. Im brausenden Limonadenpulver F. Wolff, Nürnberg, fand ich dagegen Saponin. Dieses letztere war also das einzige saponinhaltige Erzeugnis, unter allen untersuchten Limonaden und Pulvern.

Türkischer Honig.

Halwa, der sogenannte türkische Honig, wird im Orient und auch auf dem Balkan mit Auszügen aus Seifenwurzeln hergestellt. In Österreich und in manchen anderen Ländern ist der Zusatz von saponinhaltigen Stoffen zu Halwa und anderen orientalischen Zuckerwaren z.B. Sutschuk, Sultansbrot) verboten.

Für den Nachweis von Saponin in der Halwa und ähnlichen Erzeugnissen lässt sich mein Verfahren sehr gut anwenden. Man löst die Halwa 1:50 in Wasser und untersucht diese Flüssigkeit in der bei

Limonaden angegebenen Weise; die im Orient üblichen Mengen von Saponin kann man dabei mit Sicherheit nachweisen. Für den Nachweis wesentlich kleinerer Mengen müssten konzentrierte Lösungen hergestellt werden, die man vor der Kapillarisation dialysiert.

Zusammenfassung.

Es wird ein neues Verfahren zum Nachweis von Saponin in Arzneimitteln und Nahrungsmitteln beschrieben. Die Isolierung des Saponin erfolgt durch Kapillarisation mit Hilfe eines präparierten Filterpapierstreifens, der Nachweis mit Hilfe von Blutgelatine. Vor der Kapillarisation wird auf den Filtrierpapierstreifen etwa 3 cm vom unteren Ende eine alkoholische Cholesterinlösung aufgetropft, sodass nach dem Verdunsten des Alkohols der Streifen an dieser Stelle mit Cholesterin imprägniert ist. Bei der Kapillarisation mit Hilfe eines derartig vorbereiteten Streifens wird das in der aufsteigenden Untersuchungsflüssigkeit vorhandene Saponin an das Cholesterin gebunden und zurückgehalten, während die anderen Stoffe ungehindert aufsteigen. Nach beendeter Kapillarisation wird der untere Teil des Filtrierpapierstreifens mit Wasser gewaschen, getrocknet und dann 2 Stunden mit Xylol gekocht, wobei das Saponincholesterid gespalten und das Cholesterin weggelöst wird. Nach dem Waschen mit Äther und Trocknen legt man den Streifen in Blutgelatine ein und beachtet nun an der Stelle der ursprünglichen Cholesterinschranke einen hämolytischen Hof, während die übrigen Teile des Streifens keine Hämolyse hervorrufen.

Durch den positiven Ausfall des Versuches wird folgendes nachgewiesen:

Eine wasserlösliche Substanz, die in Xylol und Äther unlöslich ist, stark hämolytisch wirkt und mit Cholesterin eine Verbindung eingeht. Die Cholesterinverbindung ist im Wasser unlöslich, wird durch kochendes Xylol^{gespalten} und wirkt, wie man sich an einem zweiten Streifen überzeugen kann, selbst nicht hämolytisch. Der Nachweis eines Saponins ist demnach unzweideutig.

Die Empfindlichkeit der Methode ist eine beträchtliche. Sie lässt sich durch Einengung der Untersuchungsflüssigkeit nötigenfalls nach vorausgehender Dialyse oder Elektro-Dialyse noch weiter erhöhen.

Mit Hilfe des neuen Verfahrens wurde eine grössere Anzahl von Digitalispräparaten und ähnlichen Herzmitteln geprüft. Mehr als die Hälfte davon enthielten Saponin, darunter auch solche, bei denen in den Reklameschriften das Befreitsein von Saponinen als einer der wichtigsten Vorteile gegenüber der Digitalisdroge hervorgehoben wird.

Es wurden auch einige andere galenische Präparate, Arzney-spezialitäten und eine Zahncreme auf das Vorhandensein von Saponin geprüft.

Alle untersuchten Limonaden waren frei von Saponin. Absichtlich von uns zugesetztes Saponin konnte leicht nachgewiesen werden. Unter 4 untersuchten Brauselimonadenpulverⁿ; bzw. Tabletten fanden wir ein saponinhaltiges.

Die Methode eignet sich auch zum Nachweis von Saponin in orientalischen Zuckerwaren (Halwa).

Über den Saponinnachweis in Pflanzen.

Im Folgenden wurden anschliessend an die Arbeit von Dr. Fischer "Über den mikroskopischen Saponinnachweis durch Blutgelatine", einige Gattungen aus den Familien der Caryophyllaceae und Chenopodiaceae mit Hilfe von Blutgelatine auf das Vorhandensein von Saponin untersucht.

Die Stärke der verwendeten Gelatine betrug, je nach der Jahreszeit 6 % - 10 %, als Lösungsmittel diente, ein $\frac{m}{30}$ Phosphat-
mit einem Gehalt von 0.15% NaCl.
puffergemisch, dessen Wasserstoffionenkonzentration nach Bedarf auf p_H 6.4, 7.4 oder 8.4 eingestellt war. Zu allen Versuchen wurde defibriniertes Rinderblut verwendet, das der Gelatine zu ca. 3 % zugesetzt wurde. Bei der Arbeit richtete sich das Interesse

1. auf die Lokalisation des Saponin in den einzelnen Pflanzenteilen.
2. auf die Feststellung des Typus des in der Pflanze vorhandenen Saponins.

Um eine genaue Lokalisation zu erzielen wurden die einzelnen Gewebestücke möglichst sorgfältig herauspräpariert. Soz.B. beim Stengel, Rinde, Holz und Mark, beim Bamen, Schale, Nährgewebe und Keimling getrennt untersucht. Nur bei einigen, sehr kleinen Caryophyllaceen-Samen war ein solches Vorgehen nicht möglich. Zur Feststellung des Saponintypus wurde das Verhalten der Pflanzenschnitte in 2 oder mehreren Blutgelatinen von verschiedener p_H beobachtet und daraus auf den Typus des vorhandenen Saponins geschlossen.

Es wäre weiters noch vor auszuschicken, dass sämtliche untersuchten Pflanzen in frischem, die Samen, wenn nicht anders angegeben, in reifem Zustande untersucht wurden.

Erklärung der in der Tabelle verwendeten Bezeichnungen.

Die jeweilige Intensität der Hämolyse in dem betreffenden Pflanzen=teil wurde in der entsprechenden Rubrik mit vertikalen Strichen bezeichnet und zwar: 4 Striche = sehr starke Hämolyse

3 " = starke "

2 " = mittelstarke "

1 Strich = schwache "

kein " = sehr schwache " .

Die Wasserstoffionenkonzentration der verwendeten Gelatine wurde durch die angeschriebenen Zahlen ausgedrückt.

Ein Gleichheitszeichen ^s zwischen den beiden Zahlen drückt gleiche Hämolysewirkung in beiden Gelatinen aus. Ein Pfeil den Abfall der Hämolyse in der Richtung des Pfeiles.

Pam. Caryophyllaceae:	Wurzel			Stamm			Blatt			Same			Blüte			
	Rinde	Holz	Mark	Rinde	Holz	Mark	ob.Sp.	u.Sp.	Mes.	Schale	Nährg.	Keiml.	Kelch	Blkr.	Frkm.	Staubg.
<i>Agrostemma coronaria</i>												6.1 → 8.4 III				
" <i>coeli-rosa</i>												6.1 → 8.4 II				
" <i>Flos-Jovis</i>												5.6 = 7.1 I				
<i>Arenaria caespitosa</i>												6.1 = 8.4 III				
" <i>graminifolia</i>																
" <i>grandiflora</i>																
" <i>lanceolata</i>				6.1 = 8.4 III	6.1 = 8.4 III	6.1 = 8.4 III							6.1 = 8.4 III	6.1 = 8.4 III	6.1 = 8.4 III	6.1 = 8.4 III
" <i>pungens</i>												6.1 = 8.4 III				
" <i>purpurea</i>				6.1 = 8.4 III	6.1 = 8.4 III	6.1 = 8.4 III	6.1 = 8.4 III	6.1 = 8.4 III	6.1 = 8.4 III				6.1 = 8.4 III	6.1 = 8.4 III	6.1 = 8.4 III	6.1 = 8.4 III
" <i>serpyllifolia</i>	6.1 = 8.4 III			6.1 = 8.4 III	6.1 = 8.4 III	6.1 = 8.4 III					6.1 = 8.4 III		6.1 = 8.4 III	6.1 = 8.4 III	6.1 = 8.4 III	6.1 = 8.4 III
" <i>tetraquetra</i>																
<i>Alsine liniflora</i>																
" <i>pinifolia</i>																
" <i>verna</i>																
<i>Bufonia tenuifolia</i>																
<i>Carastium alpin. lanat.</i>																
" <i>Biebersteinii</i>																
" <i>Boissierie</i>																
" <i>caespitosum</i>																
" <i>glomeratum</i>																
" <i>glutinos. var. obscur.</i>																
" <i>Lerchenfeldianum</i>																
" <i>ovatum</i>																
" <i>pennsylvanic.</i>																
" <i>semidecandr.</i>																
" <i>tomentosum</i>																
" <i>villosum</i>																
<i>Cucubalus baccifer.</i>																
<i>Dianthus alpestris</i>																
" <i>arenarius</i>	6.1 = 8.4 III	6.1 = 8.4 III		6.1 = 8.4 II	6.1 = 8.4 III		6.1 = 8.4 II	6.1 = 8.4 II	6.1 = 8.4 III			6.1 = 8.4 III				
" <i>atrococcineus</i>																
" <i>banaticus</i>																
" <i>barbatus</i>				6.1 → 8.4 I	6.1 → 8.4 I							6.1 = 7.4 III	6.1 = 8.4 III	6.1 = 8.4 III	6.1 = 8.4 III	6.1 = 8.4 III
" <i>barb. chinensis</i>	6.1 = 8.4 III	6.1 = 8.4 III		6.1 = 8.4 II			6.1 = 8.4 I	6.1 = 8.4 I	6.1 = 8.4 II			6.1 = 7.4 III				
" <i>callionus</i>																
" <i>carthusianorum</i>	6.1 = 8.4 I	6.1 = 8.4 I		6.1 = 8.4 I								5.6 → 7.4 III	6.1 = 8.4 III	6.1 = 8.4 III	6.1 = 8.4 III	6.1 = 8.4 III
" <i>Caryophyllus</i>																
" <i>chiensis</i>	6.0 → 7.4 III	6.0 → 7.4 III		6.1 → 7.4 III	6.1 → 7.4 III		6.0 → 7.4 III	6.0 → 7.4 III	6.0 → 7.4 III			5.6 → 7.4 III				

	Wurzel			Stamm			Blatt			Same			Blüte			
	Rinde	Holz	Mark	Rinde	Holz	Mark	ob. Ep.	u. Ep.	Mes.	Schale	Nährg.	Keiml.	Kelch	Blkr.	Frkn.	Staubg.
<i>Dianthus deltoides</i>												61 = 7.4				
" <i>giganteus</i>												61 → 7.4				
" <i>granaticus</i>												61 → 7.4				
" <i>hybridus atrop.</i>												61 → 7.4				
" <i>Knappii</i>												61 = 7.4				
" <i>neglectus</i>												61 = 7.4				
" <i>peloiformis</i>												61 = 7.4				
" <i>petraeus</i>												61 = 7.4				
<i>Dianthus plumarius</i>	61 → 7.4	61 → 7.4		61 → 7.4	61 → 7.4		61 → 7.4	61 → 7.4	61 → 7.4			61 → 7.4				
" <i>Sternbergii</i>												61 → 7.4				
" <i>susavis</i>												61 → 7.4				
" <i>subacaulis</i>												61 = 8.4				
" <i>silvestris</i>												61 = 8.4				
<i>Gypsophila cerastoides</i>	61 = 8.4	61 = 8.4		61 = 8.4	61 = 8.4	61 = 8.4	61 = 8.4	61 = 8.4	61 = 8.4			61 = 8.4				
" <i>elegans</i>												61 = 8.4				
" <i>muralis</i>												61 = 8.4				
" <i>paniculata</i>												61 = 8.4				
" <i>repens</i>	61 = 7.4 = 8.4	61 = 7.4 = 8.4										61 = 8.4				
" <i>scorinerifolia</i>												61 = 8.4				
" <i>Stevenii</i>												61 = 8.4				
" <i>transsylvanica</i>	61 = 8.4	61 = 8.4										61 = 8.4				
<i>Heliospermum alpestre</i>												61 = 7.4				
<i>Herniaria cinerea</i>												61 = 7.4				
<i>Lychnis alpina</i>	61 = 8.4	61 = 8.4		61 = 8.4	61 = 8.4	61 = 8.4						61 = 8.4				
" <i>chalconica</i>												61 = 8.4				
" <i>coronaria</i>	61 = 8.4	61 = 8.4		61 = 8.4	61 = 8.4	61 = 8.4						61 = 8.4				
" <i>Flos cuculi</i>												61 = 8.4				
" <i>Flos Jovis</i>												61 = 8.4				
" <i>fulgens</i>												61 = 8.4				
" <i>grandifloragigantea</i>												61 = 8.4				
" <i>Haageana</i>												61 = 8.4				
" <i>Sieboldii</i>	61 = 8.4	61 = 8.4		61 = 8.4	61 = 8.4	61 = 8.4						61 = 8.4				
" <i>Viscaria</i>												61 = 8.4				
<i>Malechium aquaticum</i>	61 = 8.4	61 = 8.4										61 = 8.4				
<i>Melandrium Album</i>	61 = 7.4	61 = 7.4		61 = 7.4	61 = 7.4	61 = 7.4						61 = 7.4				
" <i>rubrum</i>												61 = 8.4				
<i>Moehringia muscosa</i>	61 = 8.4	61 = 8.4		61 = 8.4	61 = 8.4		61 = 8.4	61 = 8.4	61 = 8.4			61 = 8.4				
" <i>trinerva</i>												61 = 8.4				
<i>Paronychia serpyllifolia</i>												61 = 8.4				

Triffel
61 = 8.4

Das Bsp.
hat im Papst
Stärke Häm.
als in d.
Fluss

Stärke
Häm.

	Wurzel			Stamm			Blatt	Same			Blüte			
	Rinde	Holz	Mark	Rinde	Holz	Mark		Schale	Nährg.	Keiml.	Kelch	Blkr.	Frkn.	Staubg.
<i>Sagina nodosa</i>	61=74 III	-					61=74 II	61=74 III			61=74 III	-	unverf. Sa. 61=74	61=84 III
" <i>procumbens</i>								61=74 III						
<i>Saponaria bellidifolia</i>				61 → 84	61 → 84	61 → 84		61 → 84	61 → 84	61 → 84	61 → 84	61 → 84	Griffel 61 → 84	61 → 84 unverf. Sa.
" <i>multiflora alba</i>	61 → 84	61 → 84		61 → 84	61 → 84	61 → 84	61 → 84	61 → 84	61 → 84	61 → 84	61 → 84	61 → 84	61 → 84	61 → 84
" <i>ocymoides</i>	III	III	II	III	III	III	III	III	III	III	III	III	III	III
" <i>officinalis</i>				61=74	61=74	61=74								
" <i>Vaccaria</i>														
<i>Silene acaulis</i>	61=84	61=84		61=84	61=84		61=84	61=84	61=84	61=84	61=84	x		III
" <i>Armeria</i>	III	II		II	II		II	II	II	II	II			III
" <i>alpestris</i>														
" <i>Asterias grandifl.</i>														
" <i>Bergeri</i>	61=74			61=74	61=74		61=74				61=74	61=74	61=74	Gr. 61=74
" <i>dichotoma</i>	III	-		II	II		III				II	I	III	unverf. Sa.
" <i>Fortunei</i>														
" <i>inflata</i>	61=74	61=74		61=74	61=74		61=74				61=74	61=74	61=74	61=74
" <i>maritima</i>	61 → 74	III		61 → 74	61 → 74		61 → 74				61 → 74	61 → 74	61 → 74	
" <i>nutans</i>	III	II	I	III	II	II	II				II	I	III	III
" <i>orientalis</i>														
" <i>pendula</i>	61=74			Grundgewebe	61=74		61=74	61=74	61=74	61=74	61=74	61=74	61=74	61=74
" <i>Pseudo-Aitoeon</i>	III	-		Spine.			III	III	III	III	III	III	III	III
" <i>Reichenbachii</i>														
" <i>reticulata</i>	61=74													
" <i>rupestris</i>	61=74	61=74		61=84			61=74				61=84	61=84	61=84	61=84
" <i>Saponaria</i>	III	II		61=84	61=84		61=84	61=84	61=84	61=84	61=84	61=84	61=84	61=84
" <i>Schafta</i>														
" <i>Tatarica</i>														
" <i>Zawadskii</i>														
<i>Spergula pilifera</i>														
<i>Spergularia azoroides</i>	61 → 84			61 → 84	61=84		61=74	61=74	61=74	61=74				
" <i>arvensis</i>	III	II	-	III	III		III	III	III	III				
<i>Stellaria media</i>														
" <i>uliginosa</i>														
<i>Tunica saxifraga</i>	61=84	61=84		61=84			61=84				61=84	61=84	61=84	61=84
<i>Viscaria candida</i>	III	III												
" <i>cardinalis</i>														
" <i>coerulea</i>														
" <i>Dunettii</i>														
" <i>elegans picta</i>														

knapp unterd.
Samenschale

Aus der vorstehenden Übersicht ist folgendes deutlich zu erkennen.

1. Die untersuchten Gattungen zeigten in ihren Arten entweder durchgehend das Vorhandensein von Saponin oder deren Abwesenheit, sodass es für praktische Zwecke mehr Wert haben dürfte, möglichst viele Gattungen einer Familie, als viele Arten derselben Gattung hinsichtlich des Saponingehaltes zu untersuchen.
2. Es ist auffallend, dass im Samen sich hauptsächlich der Keimling durch Hämplysenwirkung auszeichnet. Wenn sich im Nährgewebe aber dennoch Saponin nachweisen lässt, so doch gewöhnlich nur in geringerer Menge als im Keimling. Fast nie konnte ~~W~~ich Saponin in der Samenschale finden. (Caryophyll; Cucubalus baccifer Chenop: Atriplex semibaccata)
3. Es kann eine Einteilung der verschiedenen Gattungen ⁱⁿ die zwei bekannten Saponintypen vorgenommen werden:

Vorherrschend Typus I zeigten die Gattungen:

Caryophyllaceae: Silene (ausser S. nutans), Spergularia, Tunica, Viscaria, Arenaria, Cucubalus, Gypsophila, Herniaria, Melandrium.

Chenopodiaceae: Atriplex ~~Vorherrschend Typus II.~~

Vorherrschend Typus II:

Caryophyllaceae: Saponaria (ausser Sap. officin.).

Chenopodiaceae: Beta, Blitum.