

Ein einfacher Saponin-Nachweis

Autor(en): **Müller-Hössly, E. / Meister**

Objektyp: **Article**

Zeitschrift: **Mitteilungen aus dem Gebiete der Lebensmitteluntersuchung und Hygiene = Travaux de chimie alimentaire et d'hygiène**

Band (Jahr): **8 (1917)**

Heft 3-4

PDF erstellt am: **09.08.2024**

Persistenter Link: <https://doi.org/10.5169/seals-984302>

Nutzungsbedingungen

Die ETH-Bibliothek ist Anbieterin der digitalisierten Zeitschriften. Sie besitzt keine Urheberrechte an den Inhalten der Zeitschriften. Die Rechte liegen in der Regel bei den Herausgebern.

Die auf der Plattform e-periodica veröffentlichten Dokumente stehen für nicht-kommerzielle Zwecke in Lehre und Forschung sowie für die private Nutzung frei zur Verfügung. Einzelne Dateien oder Ausdrucke aus diesem Angebot können zusammen mit diesen Nutzungsbedingungen und den korrekten Herkunftsbezeichnungen weitergegeben werden.

Das Veröffentlichen von Bildern in Print- und Online-Publikationen ist nur mit vorheriger Genehmigung der Rechteinhaber erlaubt. Die systematische Speicherung von Teilen des elektronischen Angebots auf anderen Servern bedarf ebenfalls des schriftlichen Einverständnisses der Rechteinhaber.

Haftungsausschluss

Alle Angaben erfolgen ohne Gewähr für Vollständigkeit oder Richtigkeit. Es wird keine Haftung übernommen für Schäden durch die Verwendung von Informationen aus diesem Online-Angebot oder durch das Fehlen von Informationen. Dies gilt auch für Inhalte Dritter, die über dieses Angebot zugänglich sind.

MITTEILUNGEN

AUS DEM GEBIETE DER

LEBENSMITTELUNTERSUCHUNG UND HYGIENE

VERÖFFENTLICHT VOM SCHWEIZ. GESUNDHEITSAMT

TRAVAUX DE CHIMIE ALIMENTAIRE ET D'HYGIÈNE

PUBLIÉS PAR LE SERVICE SUISSE DE L'HYGIÈNE PUBLIQUE

ABONNEMENT: Schweiz Fr. 8.20 per Jahrg. — Ausland Fr. 10. — oder M. 8. —.
Suisse fr. 8.20 par année. — Etranger fr. 10. — ou M. 8. —.
Preis einzelner Hefte Fr. 1.50 (Ausland M. 1.50).
Prix des fascicules fr. 1.50 (étranger M. 1.50).

BAND VIII

1917

HEFT 3/4

Ein einfacher Saponin-Nachweis.

Von E. MÜLLER-HÖSSLY.

(Mitteilung aus dem Kantonalen Laboratorium Schaffhausen,
Vorstand: Prof. Meister).

Bei der Untersuchung einer Limonade, die wegen der Bildung von schwachem aber bleibendem Schaume eines geringen Saponinzusatzes verdächtig war, versagte das rein chemische Verfahren von Brunner,¹⁾ zum Nachweis desselben vollständig. Beim Studium der Literatur erscheint dies auch wohl begreiflich; denn bei allen Arbeiten, die sich mit diesem Nachweis beschäftigen, betrug die Menge des zugesetzten und dann wieder aufgefundenen Saponins 200 und mehr mg per L. Mit solchen Mengen wird man aber in der Praxis nicht oft zu rechnen haben, denn die Schaumkraft des Saponins ist eine so grosse, dass sich schon wenige mg im L. deutlich bemerkbar machen, und der Fabrikant es gar nicht nötig hat, derartig grosse Mengen zuzusetzen, um seiner Limonade die gewünschten Eigenschaften zu verleihen. Zudem wird der Nachweis nach Brunner, wie schon *Sormani*²⁾ bemerkt hat, durch die Anwesenheit von Farbstoffen auf das empfindlichste gestört. Diese Farbstoffe lassen sich mit Tierkohle, Bleiessig oder ähnlichen Mitteln vom Saponin nicht trennen und können die Farbreaktion geradezu verunmöglichen.

Zuverlässiger und auch empfindlicher scheint das Verfahren von Rosenthaler³⁾ zu sein. Die Saponine werden dabei durch Hydrolyse in Sapogenine übergeführt, diese lassen sich leichter ausziehen, und die Farbstoffe bleiben

¹⁾ Z. U. N. G. 5, S. 1197.

²⁾ Ebendasselbst, 23, S. 561.

³⁾ Ebendasselbst, 25, S. 154.

dabei fast ganz in der wässrigen Lösung zurück. Rosenthaler hat auf diese Weise noch 100 mg im L. nachgewiesen; die Auffindung von sehr geringen Mengen dürfte aber auch hier auf grosse Schwierigkeiten stossen.

Neben den rein chemischen Verfahren sind deshalb auch die hämolytischen Eigenschaften der Saponine von verschiedenen Seiten zu deren Nachweis herangezogen worden. Rühle¹⁾ verwendet dabei die nach Brunner erhaltenen Rückstände. Die Farbstoffe stören die Reaktion nicht, und die Empfindlichkeit dürfte nichts zu wünschen übrig lassen; aber das Verfahren bleibt sehr umständlich und zeitraubend. Rusconi²⁾ dagegen verzichtet auf die Isolierung der Saponine, er verwendet die Flüssigkeiten direkt, und durch Anwendung aller Vorsichtsmassregeln gelingt es ihm, im Selterswasser noch 25, im Bier noch 100 mg per L. nachzuweisen. Die hämolytische Wirkung derartiger Verdünnungen ist aber ausserordentlich gering und es ist stundenlange Einwirkung im Thermostaten notwendig, um dieselbe sichtbar zu machen.

Auch mir schien die Hämolyse das einfachste und sicherste Mittel zum Nachweis der Saponine zu sein, aber nicht in den nach Brunner oder eventuell nach Rosenthaler isolierten Rückständen, sondern in einer auf ausserordentlich einfachem Wege zu erhaltenden konzentrierteren Lösung.

Die Eigenschaft von manchen schaubildenden Körpern, an die Oberfläche zu gehen, sich im Schaume anzureichern, soll zwar schon früher an Seifenblasen beobachtet worden sein³⁾, sie scheint aber keine grosse Beachtung gefunden zu haben und in der Literatur dürfte kaum etwas darüber zu finden sein.

Beim Arbeiten mit Saponinlösungen glaubte ich nun die Beobachtung zu machen, dass das Saponin diese Eigenschaft in ganz besonderem Masse besitzt und begann systematische Untersuchungen darüber anzustellen. Die Versuche wurden in folgender Weise durchgeführt:

Je 500 cm³ Saponinlösung wurden in einen 1000 cm³ Cylinder gebracht, der Cylinder wurde in einen grossen Trichter gestellt und durch ein bis fast an den Boden desselben reichendes Glasrohr ein Luftstrom eingeblasen. Der dabei gebildete Schaum füllt zunächst den Cylinder, schäumt über, sammelt sich im Trichter, zerfliesst allmählich und tropft in das darunter stehende Messgefäss ab.

Es sollte nun zunächst festgestellt werden, in welchem Masse dabei eine Anreicherung stattfindet, wie sich die Konzentration des übergehenden Schaumes bei fortschreitendem Abschäumen und bei verschiedenen Konzentrationen ändert, und ob das Ueberschäumen ähnlich einer fraktionierten Destillation durchgeführt werden kann. Natürlich lassen sich bei dieser Versuchsanordnung die einzelnen Fraktionen nicht scharf trennen, da schon im Trichter eine teilweise Mischung derselben eintritt; aber immerhin war

¹⁾ Z. U. N. G. 23, S. 566.

²⁾ Ebendasselbst, 25, S. 154.

³⁾ Persönliche Mitteilung von Physiker P. Habicht.

zu erwarten, dass auf diese Art ein ungefähres Bild vom Verlauf des Prozesses zu erhalten sei. In der folgenden Tabelle finden sich die erhaltenen Resultate zusammengestellt.

	Versuch	Nr.	1	2	3	4	5	6	7	
Gehalt der urspr. Lösg. mg p. L.			900	450	225	90	45	9	90	
Gehalt der 1. Fraktion	»	»	»	—	804	490	264	760	370	990
»	»	2.	»	»	»	»	»	»	»	»
			1224	680	500	296	—	—	—	—
»	»	3.	»	»	»	»	»	»	»	»
			—	760	510	388	—	—	—	—
»	»	4.	»	»	»	»	»	»	»	»
			—	804	576	—	—	—	—	—
»	»	5.	»	»	»	»	»	»	»	»
			—	776	784	—	—	—	—	—
»	»	6.	»	»	»	»	»	»	»	»
			1056	744	—	—	—	—	—	—
»	»	7.	»	»	»	»	»	»	»	»
			—	680	—	—	—	—	—	—
»	»	8.	»	»	»	»	»	»	»	»
			—	640	—	—	—	—	—	—
»	»	9.	»	»	»	»	»	»	»	»
			909	768	—	—	—	—	—	—
Total sind übergegangen cm ³ .			435	270	165	80	25	13	30	
Der Rückstand betrug cm ³ .			65	230	335	420	475	987	470	
Gehalt des Rückstandes mg p. L.			184	116	72	20	8	—	—	

Das verwendete Saponin enthielt 10% Feuchtigkeit. Die Zahlen der Tabelle beziehen sich auf Trockensubstanz. Die Gehalte der einzelnen Fraktionen wurden festgestellt durch Eindampfen eines bestimmten Anteils derselben. Der erhaltene Rückstand wurde getrocknet und gewogen. Die Versuche 1—5 sind ungefähr unter denselben Bedingungen durchgeführt worden. Bei Versuch 6 wurden 1000 cm³ Flüssigkeit angewendet, da von nur 500 cm³ nichts mehr überzutreiben war. Bei solchen Verdünnungen wird das Abschäumen zweckmässig durch Abheben des Schaumes mit einem Glasstab unterstützt. Bei Versuch 7 wurde mit viel schwächerem Luftstrom abgeschäumt.

Aus den Zahlen der Tabelle ergibt sich nun, dass der übergehende Schaum von Anfang bis zu Ende ungefähr dieselbe Konzentration besitzt, und dass die eigentliche Anreicherung unabhängig ist von der Konzentration der ursprünglichen Lösung. Bei Versuch 1 und 2 sind die höheren Konzentrationen des Abgeschäumten lediglich bedingt durch den höheren Gehalt der mechanisch mitgerissenen Flüssigkeit, der sich namentlich bei den ersten Fraktionen von Versuch 1 stark bemerkbar macht. Bei Versuch 3 und 4 beobachten wir ein allmähliches Ansteigen der Konzentrationen. Es rührt das davon her, dass sich im Trichter im Verlaufe der Operation immer mehr gut abgetropfter, von mechanisch mitgerissener Flüssigkeit befreiter Schaum ansammelt, der beim Zerfliessen eine entsprechend konzentriertere Lösung gibt. Bei diesen Versuchen tritt demgegenüber der Gehalt der mechanisch mitgerissenen Flüssigkeit zurück. Dass der gut abgetropfte Schaum tatsächlich eine viel höhere Konzentration aufweist, bestätigten einige Versuche, bei denen Gehalte von 1000 und mehr mg p. L. gefunden wurden, unabhängig von der Konzentration der ursprünglichen Lösung. Auf diese Erscheinung ist auch der verhältnismässig hohe Gehalt des Uebergegangenen von Versuch 5 zurückzuführen.

Dass es durch Abschäumen gelingt, alles Saponin aus der Lösung auszutreiben, zeigt die Untersuchung des aus der zurückgebliebenen Flüssigkeit durch Abdampfen erhaltenen Rückstandes. Derselbe hat keine Schaumkraft mehr, er hämolysiert auch nicht und besteht demnach aus Verunreinigungen des verwendeten Saponins.

Wenn man bei den Versuchen 1—6 die Menge des Abschäumbaren mit den Saponingehalten der ursprünglichen Flüssigkeiten vergleicht, so zeigt sich, dass die Werte ungefähr proportional sind. Man kann also aus der Menge des Uebergegangenen schon einen Schluss ziehen auf den Saponingehalt der Lösung. Wie der Versuch 7 zeigt, sind die Zahlen aber ausserordentlich von den Versuchsbedingungen abhängig. Je schwächer der Luftstrom, desto weniger Flüssigkeit wird natürlich mechanisch mitgerissen, um so konzentrierter ist der übergegangene Schaum. Immerhin wäre es wohl denkbar, bei Anwendung einer konstanten Apparatur das Saponin auf diese Weise mit genügender Genauigkeit zu bestimmen.

Für den Saponinnachweis wertvoll erscheint nun die ausserordentlich starke Anreicherung, die namentlich bei sehr kleinen Gehalten durch Abschäumen zu erreichen ist. Selbst aus den verdünntesten Lösungen erhält man damit Gehalte von über 300 mg per L., und bei diesen Konzentrationen ist der Nachweis durch Hämolysen mit Leichtigkeit zu erbringen, wie die nachstehenden Versuche beweisen. Die Hämolysen wurde dabei stets wie folgt ausgeführt:

1 cm³ der zu untersuchenden Flüssigkeit wurde in einem kleinen Reagensgläschen mit 1 cm³ Blutlösung I (1 cm³ defibriniertes Blut + 99 cm³ physiologische Kochsalzlösung) gemischt und die Zeit bis zur vollständigen Klärung der Mischung gemessen. (Am besten verwendet man die kleinen Reagensgläschen, wie sie zum serologischen Nachweis von Pferdefleisch dienen und hängt sie zur Beobachtung in das zugehörige Reagensglasgestell).

Ueber die Empfindlichkeit der Reaktion bei dieser einfachen Ausführung gibt uns die folgende Tabelle Aufschluss.

	Gehalt an Saponin	Zur Klärung gebraucht
1.	50 mg per L.	mehr als 2 Stunden
2.	100 » » »	70 Minuten
3.	200 » » »	11 »
4.	300 » » »	4 1/2 »
5.	400 » » »	3 »
6.	500 » » »	2 »

Die verschiedenen Verdünnungen wurden mit physiologischer Kochsalzlösung hergestellt. Die Angaben über den Saponingehalt beziehen sich hier wie auch bei allen späteren Versuchen auf das wasserhaltige Produkt.

Gehalte von über 100 mg per L. zeigen demnach eine starke, in kurzer Zeit erkennbare Hämolysen. Nun ist allerdings die hämolysierende Wirkung von Saponinen verschiedener Herkunft eine sehr ungleiche. Bei sehr schwach wirkenden Präparaten wird man durch langsames Abschäumen einen mög-

lichst konzentrierten Schaum erzeugen; man wird die empfindlichere Blutlösung II (S. 118) anwenden und vielleicht auch die Beobachtungszeiten verlängern müssen. Derartige Präparate, wie sie z. B. in den Guajacrinden-Saponinen vorliegen¹⁾, waren zur Zeit leider nicht erhältlich, so dass das Verfahren nicht auf dieselben angewendet werden konnte.

Einfluss des Zuckergehaltes der Limonaden.

Alle Lösungen, mit denen hämolytische Versuche angestellt werden, sollten eigentlich vorher auf den gleichen osmotischen Druck wie das Blut gebracht werden, da namentlich Lösungen mit zu kleinen Drucken selbst hämolytisch wirken können. Der folgende Versuch zeigt aber, dass der Zuckergehalt innerhalb weiter Grenzen schwanken kann. Erst wenn er unter ein gewisses Minimum herabsinkt, tritt Hämolyse ein.

Zuckergehalt	Zur Hämolyse gebraucht
10 g per L.	$\frac{3}{4}$ Minuten
20 » » »	9 »
25 » » »	30 »
30 » » »	nach 3 Stunden unverändert
40 » » »	» 3 » »
100 » » »	» 3 » »

Da der Gehalt normaler Limonaden etwa 90 g per L. beträgt, so ist eine hämolytische Wirkung von ihnen nicht zu befürchten. Es fragt sich nur, ob ein allzu hoher Zuckergehalt die Hämolyse nicht zu stark verzögert. Die folgenden Versuche mit Saponinlösungen von verschiedenem Zuckergehalt geben darüber Aufschluss.

Zuckergehalt	Saponingehalt	Zur Hämolyse gebraucht
20 g per L.	500 mg per L.	1 Minute
30 » » »	500 » » »	2 $\frac{1}{2}$ Minuten
40 » » »	500 » » »	2 $\frac{1}{2}$ »
80 » » »	500 » » »	2 »
120 » » »	500 » » »	2 $\frac{1}{2}$ »
160 » » »	500 » » »	2 »
200 » » »	500 » » »	2 »

Innerhalb weiter Grenzen übt demnach der Zuckergehalt keinen Einfluss aus auf den Gang der Hämolyse.

Einfluss des Cholesteingehaltes des Blutserums.

Bekanntlich kann man die Blutlösung empfindlicher machen, wenn man die Blutkörperchen durch Zentrifugieren vom Serum abtrennt und damit das für Saponin antihämolytisch wirkende Cholesterin entfernt, (100 cm³ Blutlösung I werden zentrifugiert; die klare Lösung wird von den Blutkörperchen abgegossen und durch physiologische Kochsalzlösung ersetzt). Ueber die Empfindlichkeit dieser beiden Blutlösungen gegen Limonaden mit verschiedenen Saponingehalten gibt uns folgende Tabelle Aufschluss.

¹⁾ Rühle, Z. U. N. G. 27, S. 192.

Saponingehalt der Limonade	Zur Hämolyse gebraucht mit	
	Blutlösung I	Blutlösung II
50 mg per L.	nach 3 Stunden unverändert	2 ¹ / ₂ Stunden
100 » » »	140 Minuten	37 Minuten
150 » » »	30 »	21 »
200 » » »	16 »	5 ¹ / ₂ »
250 » » »	9 »	5 »
300 » » »	7 »	3 ¹ / ₂ »
400 » » »	4 »	2 ¹ / ₂ »

Der Unterschied ist ein ziemlich beträchtlicher, und da die Empfindlichkeit der Blutlösung II nur gegen Saponine eine erhöhte ist, nicht aber gegen andere hämolytisch wirkende Faktoren, so ist es prinzipiell richtiger, die Blutlösung II zu verwenden. Der Saponinnachweis ist mir indessen auch mit Blutlösung I immer geglückt, so dass man sich die Entfernung des Cholesterins in den meisten Fällen wird ersparen können.

Versuche mit Limonaden.

Zur Prüfung des Verfahrens wurden nun eine Reihe von Limonaden mit wechselnden Saponinmengen versetzt. Dieselben wurden zunächst neutralisiert und dann wurden je 500 cm³ davon nach der angegebenen Methode abgeschäumt. Sowohl die ursprünglichen Limonaden als auch die Rückstände und die übergetriebenen Flüssigkeiten wurden daraufhin mit Blutlösung I hämolytisch geprüft. Die Resultate finden sich in der folgenden Tabelle zusammengestellt.

Nr.	Saponin- gehalt	Menge des Ueber- gegangen	Zur Hämolyse gebraucht		
			Limonade	Rückstand	Ueberge- triebenes
1	336 mg per L.	270 cm ³	5 Min.	Nach 2 St. unverändert	2 ¹ / ₂ Min.
2	174 » » »	130 »	9 »	»	1 ¹ / ₂ »
3	108 » » »	119 »	17 »	»	5 ¹ / ₂ »
4	24 » » »	15 »	Nach 2 St. unverändert	»	4 ¹ / ₂ »
5	24 » » »	8 »	»	»	2 »
6	16 » » »	12 »	»	»	8 »
7	10 » » »	23 »	»	»	2 »
8	5 » » »	20 »	»	»	20 »

Bei den Proben 7 und 8 wurde von 1000 cm³ ausgegangen und das Ueberschäumen wurde durch Abschöpfen des Schaumes unterstützt. Selbst 5 mg per L. lassen sich auf diese Weise noch scharf nachweisen. Die übergetriebene Flüssigkeit dieser Probe ist allerdings schon ziemlich verdünnt, man kann aber selbstverständlich mit dem Uebergegangenem das Abschäumen in entsprechend kleineren Gefäßen wiederholen, wenn das erstemal zuviel Flüssigkeit mechanisch mitgerissen wurde.

Dadurch dass man die Rückstände selber ebenfalls prüft, ist man vor einer Täuschung durch andere hämolytisch wirkende Faktoren sicher. Tritt

auch im Rückstand Hämolyse ein, so haben wir dieselbe in andern Ursachen zu suchen (zu kleiner osmotischer Druck, Anwesenheit von andern hämolytisch wirkenden Stoffen). Tritt aber im Rückstand keine Hämolyse ein, während das Uebertriebene hämolysiert, so ist Saponin mit Sicherheit nachgewiesen. Natürlich kann man auch hier zur weiteren Bekräftigung die Entgiftung mit Cholesterin vornehmen.

Versuche mit Bier.

Nachdem sich das Verfahren bei Limonaden als brauchbar und äusserst empfindlich erwiesen hatte, war es naheliegend, dasselbe auch auf den Saponinnachweis im Bier auszudehnen.

Zunächst wurde durch Versuche festgestellt, dass durch das neutralisierte Bier eine hämolytische Wirkung nicht zu beobachten ist. Der Extraktgehalt desselben kann innerhalb weiter Grenzen nach oben und unten schwanken, ohne dass die Hämolyse beeinträchtigt wird. Auch der Alkohol des Bieres stört nicht; selbst bedeutend höhere Gehalte wirken noch nicht hämolytisch. Auch beim Bier ist somit als einzige Vorbereitung die Neutralisation erforderlich. Es genügt aber nicht, das Bier gegen Lakmuspapier eben neutral zu machen; da die Blutlösungen gegen Säuren empfindlicher sind als gegen Basen, setzt man Natronlauge zu bis zur deutlichen Blaufärbung. Die Flüssigkeit soll aber Phenolphthalein nicht röten.

Nun hat aber das Bier selber die Eigenschaft, sehr stark zu schäumen. Auch beim saponinfreien Bier kann man durch Einblasen von Luft grosse Mengen Schaum übertreiben, so dass es fraglich erschien, ob die Methode trotzdem auch hier anwendbar sei. Der Versuch zeigte indessen, dass durch die natürlichen Schaumstoffe des Bieres die Anreicherung des Saponins nicht verhindert wird. Man findet dasselbe vielmehr in der ersten Fraktion stets in ebenso hoher Konzentration wie bei den Limonaden und kann es dementsprechend auch nachweisen. Ueber die Menge des verwendeten Saponins dagegen gibt uns hier das Abschäumen natürlich keine Anhaltspunkte. Die Hämolytische Wirkung des Saponins im Bier ist zwar an sich etwas weniger gross als in der Limonade, aber das Verfahren lässt trotzdem an Empfindlichkeit nichts zu wünschen übrig. Die folgende Tabelle, in der einige Versuche enthalten sind, zeigt uns dies. Es wurde stets die Blutlösung I verwendet und bei allen Versuchen von 500 cm³ ausgegangen.

Zur Hämolyse gebraucht

Saponingehalt	im Bier	im Rückstand	im Uebergetriebenen
400 mg per L.	5 Minuten	—	—
300 » » »	11 »	—	—
250 » » »	17 »	—	—
200 » » »	32 »	nach 5 Stunden unverändert	2 ¹ / ₂ Minuten
100 » » »	nach 5 Stunden fast klar	»	3 »
60 » » »	nach 5 Stunden bedeutend heller	»	2 »

Zur Hämolyse gebraucht

Saponingehalt	im Bier	im Rückstand	im Uebergetriebenen
20 mg per L.	nach 5 Stunden unverändert	nach 5 Stunden unverändert	5 Minuten
10 » » »	» 5 » »	»	40 »
5 » » »	» 5 » »	»	2 Stunden
0 » » »	» 5 » »	»	nach 5 Stunden unverändert

Auch hier sind 5 mg per L. noch deutlich nachzuweisen, und damit ist die untere Grenze der Empfindlichkeit offenbar noch nicht einmal erreicht.

Dass auch andere Schaumkörper in ähnlicher Weise wie das Saponin sich anreichern lassen, ergaben einige Versuche mit Süssholzextrakt. Vielleicht kann dieses Prinzip noch auf andern Gebieten Anwendung finden, etwa zur Gehaltsbestimmung von Präparaten oder zur Reinigung derselben, event. auch in der Technik, um derartige Schaumstoffe aus verdünnten Mutterlaugen oder Abwässern wieder zu gewinnen.

Zum Schlusse sei das Verfahren noch zusammenfassend wiedergegeben:

I. Für Limonaden.

500 cm³ (bei Proben mit sehr schwacher Schaumbildung 1000 cm³) werden neutralisiert (Phenolphthalein) in einen 1000 cm³ Cylinder gebracht und durch Einblasen von Luft möglichst langsam abgeschäumt. 1 cm³ des Uebergetriebenen mischt man mit 1 cm³ Blutlösung (1 cm³ defibriniertes Blut + 99 cm³ physiologische Kochsalzlösung) und prüft auf hämolytische Wirksamkeit. Zur Kontrolle prüft man in gleicher Weise je 1 cm³ des Rückstandes und der ursprünglichen Limonade. Der Rückstand darf keine Hämolyse mehr zeigen. Die Prüfung der Limonade gibt uns einen Anhaltspunkt über die vorhandene Menge.

II. Für Bier.

Man verwendet stets 500 cm³, die man bis zur deutlichen Blaufärbung von Lakmuspapier neutralisiert. Zur Prüfung des Uebergetriebenen verwendet man nur die ersten 5 cm³. Im übrigen verfährt man wie bei I angegeben.