

Fällung mit Bleiacetat. Die Intensität der Grünfärbung mit Eisenchlorid ließ auch bei Einhaltung vollkommen gleicher Versuchsbedingungen eine beiläufige Beurteilung der Stärke der erfolgten Äskulinspaltung zu, indem sich die Lösung bei gleicher Menge und gleicher Konzentration der einwirkenden Stoffe je nach der Intensität der erfolgten Äskulinspaltung gelblichgrün, rein hellgrün, grasgrün bis intensiv dunkelgrün färbte. Durch wiederholtes Umkrystallisieren konnten aus der äskuletinhaltigen Lösung feine, glänzende Nadeln dargestellt werden, deren Identität mit Äskuletin durch die oben genannten Reaktionen festgestellt werden konnte, außerdem wurde auch zur Kontrolle die Bestimmung des Schmelzpunktes herangezogen.

Das zuerst erhaltene Filtrat wurde auf dem Wasserbade verdunstet, der Rückstand mit heißem Alkohol behandelt, wobei das Enzym ungelöst blieb, während die eventuellen Spaltungsprodukte des Äskulins, das Äskuletin und die Glukose, in Lösung gingen; ein Teil der Glukose blieb, da in Alkohol schwer löslich, im Rückstande und wurde daraus durch Wasser extrahiert. Nach dem Filtrieren wurde das Filtrat abermals auf dem Wasserbad verdunstet und der Rückstand mit wenig kaltem Wasser behandelt, wodurch eine wenn auch unvollständige Trennung des Äskuletins von der Glukose bewirkt wurde, indem neben der Glukose auch ein geringer Teil des Äskuletins in Lösung ging, der größere Teil blieb aber auf dem Filter zurück; dieser wurde mit Alkohol behandelt und die Lösung auf Äskuletin untersucht.

Im Filtrat wurde nach den gebräuchlichen Methoden, wobei insbesondere die Trommer'sche in Anwendung kam, auf Glukose geprüft. Bei einer stattgefundenen Äskulinspaltung färbte sich die Flüssigkeit auf Zusatz von Natronlauge intensiv gelb infolge des in der Lösung gleichzeitig enthaltenen Äskuletins; bei dem Kontrollversuch mit dem gekochten Enzym trat diese intensive Gelbfärbung nicht auf, die betreffende Flüssigkeit färbte sich nur hell strohgelb, bedingt durch das unzersetzte Äskulin; auch die anderen Reaktionen auf Äskuletin ergaben bei den Versuchen mit dem gekochten Enzym ein negatives Resultat. Auch die Reaktion auf Glukose lieferte bei den Ver-