50 cc Methylalkohol versetzt werden; als Vorlage dienen ein Gefäss mit 25—50 cc $\frac{n}{10}$ Säure und ein zweites, 10 cc enthaltendes. Zur Vermeidung des Mitreissens von Flüssigkeit soll die Säure nur mit wenig Wasser verdünnt werden. Nach Zusatz von 1 g trockener Soda wird der Destillationskolben auf 50° erhitzt und die Destillation 15 Minuten lang fortgesetzt. Als Indicator dient für die Titration eine wässrige Lösung von Alizarinroth. Die Fehlergrenzen dieser Methode betragen weniger als 10 mg pro Liter. In einigen Fällen liefert diese Vacuumdestillation im Harn etwas grössere Werthe als die Folin'sche Methode, was auf der Zersetzung einer in ganz geringer Menge vorkommenden, nicht genauer bekannten stickstoffhaltigen Substanz beruht.

Zur Bestimmung der Hippursäure im Harn haben Th. Pfeiffer, C. Bloch und R. Riecke¹⁾ eine neue Methode ausgearbeitet, die folgendermaassen verläuft: Von dem zu untersuchenden Harn wird ein aliquoter Theil (am besten circa 1 g Hippursäure an Gehalt entsprechend) abgemessen und nach Zusatz von 45 cc concentrirter Schwefelsäure destillirt. Die Destillation erfolgt am besten in einem Rose'schen Metallbade unter Verwendung eines circa 700 cc fassenden Kolbens, der durch Kugelaufsatz mit einem Kühler verbunden ist und ausserdem eine Hahnpipette trägt, die bei 30 cc eine Marke führt. Das andere Ende des Kühlers ist zur Vermeidung des Verspritzens fester Benzoësäure bei der oft stossweise vor sich gehenden Destillation mit einem gebogenen Glasstutzen versehen, der in den vorgelegten graduirten, circa 500 cc fassenden Messcylinder hineinragt. — Zunächst wird ohne Ersatz des verdampfenden Wassers stets so viel abdestillirt, dass im Kolben 95 cc zurückbleiben, also bei Verwendung von 100 cc Harn 50 cc ($100 + 45 - 95$), bei 200 cc Harn 150 cc ($200 + 45 - 95$). Dann hat nämlich das Destillationsgemisch die zur leichten Verflüchtigung der Benzoësäure nöthige Concentration erreicht, und nun werden immer je 30 cc Wasser durch die Hahnpipette zugelassen und die gleiche Menge Flüssigkeit wieder abdestillirt. Diese Operation wird 10 mal wiederholt, so dass man also bei 100 cc Harn im ganzen 350 cc Destillat erhält, bei 150 cc Harn 400 cc etc. Hierauf wird zur Reinigung des Kühlerrohres, in dem sich feste Benzoësäure abgesetzt hat, der Destillationskolben gegen einen anderen, mit Alkohol beschickten ausgetauscht,

¹⁾ Mittheilungen der landwirthschaftlichen Institute der Universität Breslau 2, 273.

aus dem circa 60—70 cc Alkohol überdestillirt werden. Darauf wird durch das Destillat eine halbe Stunde lang ein Wasserstoffstrom geschickt (dies hat zur Folge, dass nur minimale Mengen Carbonat entstehen, die sich nach dem Eindampfen des Destillats leicht durch einige Tropfen sehr stark verdünnter Salzsäure zerstören lassen), unter Verwendung von Phenolphthalein als Indicator neutralisirt, soweit wie nöthig eingedampft und der Rückstand in ein gekröpftcs, circa 80 cc fassendes Messkölbchen mit einer Marke bei 50 cc übergespült. Die schwach roth gefärbte Lösung wird darauf mit einigen Tropfen einer sehr stark verdünnten Salzsäure neutralisirt und zur Austreibung der Kohlensäure im Wasserbade erwärmt. Tritt dabei durch Zerlegung des Mononatriumcarbonats wieder Rothfärbung auf, so muss erneut Salzsäure zugesetzt werden, bis bleibende Entfärbung eingetreten ist, welcher Punkt sich leicht und sicher erkennen lässt. Nach dem Erkalten der Flüssigkeit wird bis zur Marke aufgefüllt, und dann werden aus einer gut geaichten Pipette mit 2 Marken 10, respective beim Vorhandensein grösserer Hippursäuremengen 20 cc, einer titrirten Schwefelsäure zugefügt, von der 10 cc 1,5—2,0 g Hippursäure entsprechen. Das Kölbchen bleibt sodann 48 Stunden im Eisschrank, worauf sein Inhalt im Eisschrank nach Ablesen der daselbst herrschenden Temperatur (zur Correctur!) durch ein trockenes Filter filtrirt wird. Vom Filtrat wird, nachdem es Zimmertemperatur angenommen, ein aliquoter Theil titirt.

Die Berechnung gestaltet sich dann zum Beispiel folgendermaassen: 100 cc Harn. Eingedampftcs Filtrat = 50 cc versetzt mit 10 cc titrirter Schwefelsäure, welche entsprechen zum Beispiel 47,04 cc Titirlauge. 1 cc Titirlauge entspricht zum Beispiel 0,0410 g Hippursäure. Temperatur im Eisschrank 8,5°. Vom Filtrat 40 cc titirt, verbraucht zum Beispiel 18,09 cc Titirlauge, folglich für das Gesamtfiltrat (60 cc) 27,13 cc. Vorgelegt 47,04 cc, also entsprechen $47,04 - 27,13 = 19,91$ cc Titirlauge der ausgeschiedenen Benzoësäure, woraus sich durch Multiplication mit dem Factor $0,0410 = 0,8163$ g Hippursäure berechnen. Nach einer im Original gegebenen Correcturtablelle über den Lösungscoëfficienten der Benzoësäure, die in halben Graden von 4,5 bis 17,5° reicht, bleibt in 60 cc Flüssigkeit bei der beobachteten Temperatur von 8,5° eine 0,1806 g Hippursäure entsprechende Menge Benzoësäure gelöst, so dass sich im gegebenen Beispiel in Summa ein Gehalt von $0,8163 + 0,1806 = 0,9969$ g Hippursäure in 100 cc Harn ergibt. Sollte wesentlich mehr als 1 g Hippursäure gefunden werden, so ist nach den

Versuchen der Verfasser eine zweite Correctur einzuführen, die daher stammt, dass die 360 cc Destillat nicht vollkommen zum Uebertreiben aller Benzoëssäure genügten. Das Original enthält auch für diese Correctur eine Tabelle von 1,25—2,25 g Hippursäure in Viertelgrammen.

Mit der Methode, die gut mit einander übereinstimmende Resultate liefert, wurden von den Verfassern verglichen die beiden vorhandenen älteren Methoden von Henneberg¹⁾ (Ausfällung der Hippursäure mit Salzsäure und Wägung unter Anbringung einer Correctur entsprechend dem Lösungscoëfficienten 1,6666:1000 für das Filtrat und eiskalte Waschwasser) und Bunge und Schmiedeberg²⁾ (der Rückstand des Alkoholauszugs vom alkalisch zum Syrup eingedampften Harn wird mit Essigäther ausgeschüttelt und dessen Rückstand vor der Krystallisation und Wägung wiederum mit Petroläther erschöpft). Beide Methoden liefern nach den Verfassern unreine Hippursäure und trotzdem zu niedrige Zahlen. An reiner Hippursäure ergab die Prüfung der Methode

von Henneberg 58,6 %

von Bunge-Schmiedeberg . . . 47,4 «.

Um Hippursäure neben Benzoëssäure zu bestimmen, verfahren die Verfasser zunächst so, dass sie zuerst den Harn nach Henneberg mit Salzsäure ausfällen, den Niederschlag abfiltriren und trocknen, und dann aliquote Theile dieser unreinen Hippursäure einerseits direct (Hippursäure + Benzoëssäure) andererseits nach Ausschüttelung mit Petroläther (Hippursäure) nach ihrer Methode auf Benzoëssäure untersuchen. Die Differenz beider Bestimmungen ergibt dann die Menge der nicht an Glykocoll gebundenen Benzoëssäure. Die Verfasser selbst bezeichnen aber diese Methode nur als vorläufigen Nothbehelf.

Zur Ausführung einer quantitativen Bestimmung des Glykogens gibt E. Pflüger³⁾ folgende Vorschriften.

I. Aufschliessung des Glykogens: 100 g Fleischbrei + 100 cc 60 procentige Kalilauge (Ia Merck) werden in einem 200 cc fassenden Kölbchen nach wiederholter möglichster Vertheilung des Breies unter Verschluss des Kölbchens mit einem Gummistöpsel 2 Stunden lang im Wasserbade erwärmt. Die trübe, rothe Organlösung wird dann

1) Beiträge zur Begründung einer rationellen Fütterung der Wiederkäuer, Heft 2, 32—34; vergl. diese Zeitschrift 2, 87.

2) Archiv f. exp. Pathol. u. Pharmakol. 6 (1877), 233; vergl. diese Zeitschrift 17, 380.

3) Pflüger's Archiv 93, 163—185. Physiol. Inst. Bonn.