

geglichen sind (13, 14). Weiterhin werden — im Gegensatz zum reifen Organismus — thermo-regulatorische Belastungen des Stoffwechsels des Neugeborenen mit einem Lactatanstieg beantwortet (15). Auch erbrachte intravenöse Lactatbelastung den Beweis, daß die Lactatutilisation bei Frühgeburten mit dem Lebensalter zunimmt (16).

Schließlich findet sich Exzeßlactat auch bei reifen, durch primäre Sectio caesarea, d. h. ohne Wehentätigkeit entbundenen Kindern (17).

Diese Indizien für eine verringerte Lactatumsatzrate beim Neugeborenen werden gestützt durch Befunde an der Ratte, die eine Steigerung der Enzymaktivität des Krebszyklus in der Postnatalperiode beweisen (18, 19). Die klinische Verwertbarkeit der Lactat-Pyruvatbestimmung beim Neugeborenen sei an der Wirkung des Präparates Perphyllon-A, welches bei der Behandlung der Neugeborenen-Asphyxie Verwendung findet, de-

monstriert: Unter Perphyllon-A (0,15 ml/kg i. m.)²⁾ steigt die periphere Durchblutung, wie die erhöhte Hauttemperatur des Oberschenkels (T_H) anzeigt (vgl. Tab. 2). In allen drei Fällen ist eine Abnahme des Blutlactates und eine Annäherung des L/P-Quotienten an normale Werte zu verzeichnen, d. h. der Reduktionszustand der Gewebe verringert sich. Das Standardbicarbonat hingegen schwankt in allen Versuchen relativ stark, so daß im Einzelfall die zu fordernde negative Korrelation des Standardbicarbonats zum Blutlactat nicht nachzuweisen ist.

Für die Überlassung von Versuchsmengen von Perphyllon A danken wir dem Chemiewerk Homburg, Frankfurt/Main.

²⁾ 1 ml Perphyllon 873-A/XIII enthält:
21,25 mg 7-(β Hydroxyäthyl)-Theophyllin
6,25 mg Theophyllin
15,00 mg Papaverin-HCl
0,15 mg Atropinmethylnitrat (Eumydrin BAYER)

Literatur

1. SALING, E., Das Kind im Bereich der Geburtshilfe. Georg Thieme, Stuttgart (1967). — 2. ENGSTRÖM, L., P. KARLBERG, G. ROTH und R. TUNELL, The onset of respiration. Association for the aid of crippled children, New York, N. Y. 10017 (1966). — 3. HOHORST, H. J., F. H. KREUTZ und TH. BÜCHER, Biochem. Z. 332, 18 (1959). — 4. HOHORST, H. J., P. ARESE, H. BARTELS, D. STRATMANN und H. TALKE, Ann. N. Y. Acad. Sc. 119, 974 (1965). — 5. HUCKABEE, W. E., J. clin. Invest. 37, 264 (1958). — 6. BRÜCK, K. und M. BRÜCK, Pflügers Arch. Physiol. 272, 27 (1960). — 7. KINTZEL, H. W., Mschr. Kinderhk. 114, 544 (1966). — 8. GERCKEN, G., Hoppe-Seylers Z. physiol. Chem. 320, 180 (1960). — 9. BÜCHER, TH., R. CZOK, W. LAMPRECHT u. E. LATZKO, in: H. W. Bergmeyer, Grundlagen der enzymatischen Analyse, S. 253, Verlag Chemie, Weinheim, Bergstraße (1962). — 10. BETKE, K., Der menschliche rote Blutfarbstoff, Springer-Verlag, Berlin (1954). — 11. ROTH, G., Acta paediatr. 52, 22 (1963). — 12. VEDRA, B., Acta paediatr. 48, 60 (1959). — 13. MARGARIA, R., P. CERRETELLI, P. E. DI PRAMPERO, C. MASSARI und G. TORELLI, J. appl. Physiol. 18, 371 (1963). — 14. HANSEN, J. E., G. P. STELTER und J. A. VOGEL, J. appl. Physiol. 23, 523 (1967). — 15. PRIBYLOVA, H. und K. ZNAMENÁČEK, Pediatrics Springfield 37, 743 (1966). — 16. CIAMPOLINI, M. und F. FRANCHINI, Ann. paediatr. Basel 207, 335 (1966). — 17. ZNAMENÁČEK, K. und H. PRIBYLOVA, Symp. on intrauterine dangers to the foetus, Prague, Oct 11th—14th 1966. Excerpta Medica Monograph, S. 578. — 18. POTTER, V. R., W. C. SCHNEIDER und G. J. LIEBL, Cancer Res. 5, 21 (1943). — 19. DAWKINS, M. J. R., Proc. Roy. Soc. Med. London 150, 284 (1959).

Dr. D. Kaiser
1 Berlin 65
Reinickendorfer Str. 61

Spektrum der zirkulierenden Schilddrüsenhormone und ihrer Jodderivate im menschlichen Blut

Zur Problematik ihrer Darstellung und Identifikation

Von E. ZAPPI, G. HOPPE, M. SCHMIDT und F. PRANGE

Aus der 1. Med. Abteilung (Chefarzt: Prof. Dr. K. H. Pfeffer) des Städt. Auguste-Viktoria Krankenhauses Berlin-Schöneberg und der Landeslehranstalt für med-techn. Assistenten Berlin (Leiter: Dr. J. Krepfen)

(Eingegangen am 3. April 1968)

Herrn Prof. Dr. Dr. Ernst Schütte zum 60. Geburtstag gewidmet

Es werden die Ergebnisse einer dünn-schichtchromatographischen Untersuchung der zirkulierenden Schilddrüsenhormone und ihrer Jodderivate bei einem Kollektiv normaler Probanden besprochen. Durch chemischen Nachweis gelang es, Thyroxin in 71% der Fälle darzustellen. Monojodytyrosin kommt in 62% und Dijodytyrosin in 100% der Fälle vor. Tyrosin und Thyronin, die fälschlicherweise vom Jodnachweisreagenz erfaßt werden, kommen bei den meisten Probanden vor. Durch ihr chromatographisches Verhalten lassen sich gelegentlich auftretende unbekannte Flecken in zwei Gruppen einordnen. Auf die mögliche Bedeutung der zirkulierenden Jodytyrosine wird hingewiesen. Die Rolle der nicht jodierten Tyrosine und Thyronine als Fehlerquelle bei der dünn-schichtchromatographischen Identifikation ihrer halogenierten Derivate wird erklärt.

The circulating thyroid hormone and related iodo-compounds were studied by thin layer chromatography in a group of normal probands. Using chemical detection methods, thyroxin was found in 71%, monoiodotyrosine in 62%, and diiodotyrosine in 100% of the probands. Tyrosine and thyronine, which also react with the iodine-locating reagent, were present in most of the probands. Some unknown spots, which occasionally occur, can be classified into two groups according to their chromatographic behaviour. The possible significance of the circulating iodotyrosine is discussed. The error caused by the reaction of non-iodinated tyrosine and thyronine in the thin layer chromatographic identification of the halogenated derivatives is explained.

Die Identifikation zirkulierender Jodphenole gelingt am besten durch dünn-schichtchromatographische Trennung (1). Voraussetzungen dafür sind eine effektive Extraktion dieser Substanzen aus dem Serum, wobei keine Änderungen der chemischen Struktur auftreten dürfen, und eine ausreichende Reinigung des Extraktes vor der Chromatographie. Aus diesen Überlegungen heraus wurde eine Methode zur Extraktion und dünn-schichtchromatographischen Identifikation zirkulierender Schilddrüsenhormone und ihrer Jodderivate entwickelt (2—5). Die vergleichende Anwendung chemischer Methoden und der Isotopen-Technik zum Nachweis der isolierten Verbindungen führt zu unterschiedlichen Ergebnissen, besonders, was den Nachweis von Jodtyrosinen betrifft. Jodtyrosine treten nämlich bei der Anwendung von Farbreagenzien fast ständig auf, während sie mit Isotopen-Verfahren auf denselben Chromatogrammen nicht erfaßbar sind (6). Bei der chemischen Nachweismethode tauchen außerdem an verschiedenen Stellen der Chromatogramme unbekannte Flecken auf. Diese Flecken, die manchmal nicht deutlich voneinander zu trennen sind, weisen ebenfalls keine Zeichen von Radioaktivität auf. Das Erscheinen von Jodtyrosinen und das Auftreten von unbekannt Substanzen mit hohen R_F -Werten sind charakteristische Merkmale der chemisch entwickelten Chromatogramme, die grundsätzlich eine größere Anzahl von Flecken aufweisen, als die durch Isotopen-Nachweis untersuchten Chromatogramme.

Der chemische Nachweis von Jodtyrosinen auf den Chromatogrammen steht im Einklang mit den Ergebnissen anderer Autoren, die im Blut von Menschen (7—13) und Tieren (14, 15) die Anwesenheit dieser Substanzen endgültig nachwiesen. Die unbekannt Substanzen lassen sich mit Hilfe einer vollständigen Reihe von Vergleichssubstanzen teilweise identifizieren. So wurden zwei Substanzen, die mit höherer Geschwindigkeit als die Monojodtyrosine liefen, als nicht jodiertes Tyrosin und Thyronin klassifiziert. Die chemischen Nachweisreagenzien, wie das klassische Kolthoff-Sandell-Reagenz und das hier angewandte Reagenz von GMELIN und VIRTANEN, sind für Jodverbindungen keineswegs spezifisch (16—20). Aus diesem Grund ergibt sich die Notwendigkeit, bei der dünn-schichtchromatographischen Identifikation von Schilddrüsenhormonen und ihren Derivaten unbekannt Flecke nur durch genauere Trennungsv erfahren und mit Hilfe geeigneter Vergleichssubstanzen zu identifizieren. In wie weit das möglich ist, wird in dieser Arbeit an Hand einer Untersuchung über das Spektrum der zirkulierenden Jodphenole bei einem Kollektiv von Probanden gezeigt.

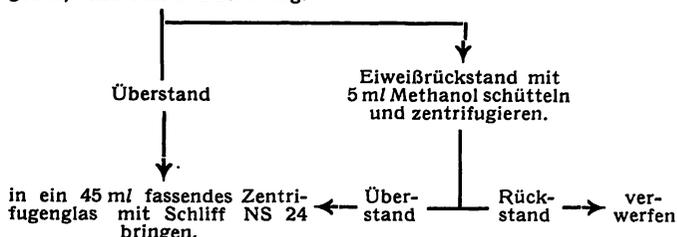
Material und Methode

Es wurde eine Gruppe von 26 Männern und 24 Frauen im Alter von 21 bis 68 Jahren untersucht. Die Patienten, die in den letzten Monaten keine jodhaltigen Medikamente oder Jodkontrastmittel zu sich genommen hatten, wurden einer klinischen Untersuchung, einer Bestimmung des eiweißgebundenen Jods und einem Radiojodtest zur Bestätigung der Euthyreose unterworfen.

Zur nachfolgend beschriebenen Serumextraktion (Abb. 1) wurde bei jedem Patienten Nüchternblut abgenommen. Der erhaltene Extrakt wurde auf Celluloseschichten aufgetragen und mit dem Fließmittel Aceton, 0,5N Essigsäure 2:8 (v/v) chromatographiert. Die erhaltenen Chromatogramme wurden mit dem Ferri-Ferricyanid-arsenige Säure-Reagenz von GMELIN und VIRTANEN (21, 22) entwickelt. Weitere Einzelheiten der angewandten Methode sind in vorangegangenen Arbeiten (2,3,5,6) ausführlich besprochen worden.

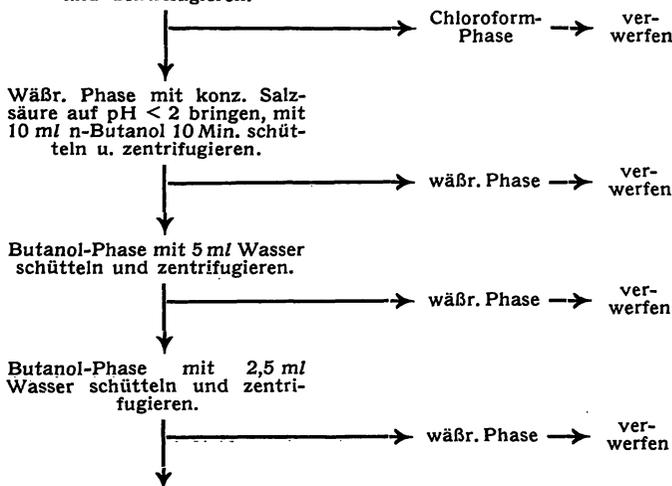
5 ml Serum in ein 65 ml fassendes Zentrifugenglas mit Schliff NS 24 bringen. Mit 0,5 ml 0,1M Propylthiouracil-Lösung versetzen und mit konz. Essigsäure auf pH < 5 einstellen. Mit 15 ml Methanol 5 Min. am Rückflußkühler im Wasserbad kochen.

1 Spatelspitze Aktivkohle zugeben, schütteln und zentrifugieren.



Rohen methanolischen Extrakt am Rotationsverdampfer bei Unterdruck und nicht über 60° zur Trockne einengen.

Trockenen Rückstand mit 10 ml 0,1N NaOH lösen (pH > 10) und mit 10 ml Chloroform schütteln und zentrifugieren.



Butanol-Extrakt Kapillaraufsatz mit Schliff NS 24 aufsetzen, Butanol-Extrakt bei Unterdruck und nicht über 60° zur Trockne einengen. Trockenem Extrakt mit 0,2 ml ammoniakalischem Methanol lösen und auftragen.

Abb. 1

Schematische Darstellung der Serumextraktion und des Reinigungsverfahrens. Wenn bei „Schütteln und Zentrifugieren“ nicht anders angegeben, so ist 5 Min. in der Schüttelapparatur zu schütteln und 3 Min. bei 3500 U./Min. zu zentrifugieren

Ergebnisse

Die chemisch entwickelten Chromatogramme zeigen unterschiedliche Zusammensetzung von Flecken, die im allgemeinen gut begrenzt und homogen gefärbt

sind (Abb. 2). Die Farbintensität der dargestellten Thyroxinflecken ist stets schwächer als die der Jodtyrosine. Da die Farbbildung von halogenierten Substanzen in Anwesenheit des Gmelin-Virtanen-Reagenzes nicht dem Jodgehalt proportional ist, sind quantitative Aussagen nicht möglich. Darüber hinaus erfolgt die Pigmentbildung nach Besprühen der Chromatogramme vorwiegend an der Schichtoberfläche, so daß unbestimmbare Anteile der Substanzschicht überhaupt nicht reagieren.

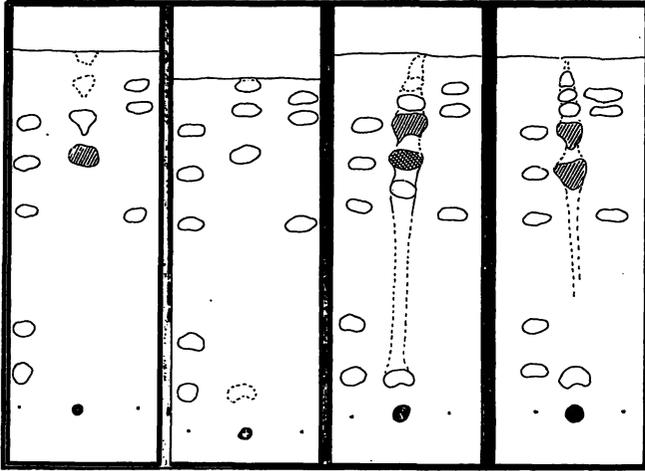


Abb. 2

Skizze von 4 Chromatogrammen, vom Original durchgepaust. In der Mitte jedes Chromatogramms die aus dem Extrakt (schwarz) wandernden Substanzen. An den Seiten die Standardsubstanzen. Links, von oben nach unten: Mono- und Di-jodtyrosin, Di-, Tri-, Tetra-jodthyronin. Rechts, von oben nach unten: Tyrosin, Thyronin und Dijodthyronin. Die unterbrochene Linie, die durchgezogene Linie, die Schraffierung und die Doppelschraffierung der Oberfläche entsprechen der zunehmenden Farbintensität der Flecken

Ihren Laufstrecken entsprechend ließen sich die meisten Substanzen an Hand der mitgelaufenen Standardverbindungen identifizieren. Da die Auftragsflecken der Extrakte nicht punktförmig wie die der Standardsubstanzen gehalten werden konnten, traten ständig leichte Unterschiede in den Laufstrecken auf. Diese Unterschiede, die bei den Substanzen mit höheren R_F -Werten mehr bemerkbar waren, wurden bei der Bewertung der Ergebnisse berücksichtigt. In Tabelle 1 sind die auf den Chromatogrammen auftretenden Flecken zusammengestellt.

Diskussion

An Hand der hier angewandten Kriterien lassen sich die auf den Chromatogrammen vorkommenden Flecken als Jodthyronine, Jodtyrosine, ihre nicht halogenierten Vorstufen und als freies anorganisches Jod klassifizieren. Die Identität von zwei Gruppen von Flecken, deren R_F -Werte mit denen der Standardsubstanzen nicht übereinstimmen, bleibt allerdings ungeklärt. Die Zusammensetzung der chemisch entwickelten Chromatogramme war unterschiedlich: So trat Tetrajodthyronin in 71% der Fälle auf, Dijodtyrosin in 100%, Monojodtyrosin in 62%, Thyronin in 52%, Tyrosin in 80% und Jodid in 28% der Fälle. Die eine unbekannte Substanz, die zwischen Jodid und Tyrosin auftaucht, kommt in 32% der Fälle vor und die zweite, die zwischen

Tab. 1

Ergebnisse der chemischen Darstellung von Flecken des gesamten Kollektivs. Die Flecken aller Chromatogramme wurden ihrer Wanderungsgeschwindigkeit entsprechend in Gruppen zusammengefaßt. Die Identifikation und das Auftragen auf der Tabelle erfolgten an Hand ihrer R_F -Werte.

Linke Säule: Auftretende Flecke mit zugehörigen R_F -Werten.

Mittlere Säule: Absolute Anzahl von Flecken mit gemeinsamem R_F -Wert im Kollektiv (50 Chromatogramme).

Rechte Säule: Relative Häufigkeit von Flecken mit gemeinsamen R_F -Werten.

Es wurden folgende Abkürzungen benutzt: Thy, T₂, T₃ und T₄ für Thyronin, Di-, Tri- und Tetra-jodthyronin; Tyr, MIT und DIT für Tyrosin, Mono- und Di-jodtyrosin. U₁ und U₂ bedeuten: erste bzw. zweite unbekannte Substanz

	Jodid (0,99)	14	28%	← Fließmittelfront
	U ₁ (0,95)	16	32%	
	Tyr (0,90)	40	80%	
	Thy (0,85)	26	52%	
	MIT (0,79)	31	62%	
	DIT (0,67)	50	100%	
	U ₂ (0,60)	6	12%	
	T ₂ (0,56)	0	0%	
	T ₃ (0,25)	0	0%	
	T ₄ (0,12)	35	71%	← Auftragslinie

Länge der Platte = 20 cm
3 cm

Dijodtyrosin und Dijodthyronin erscheint, in 12% der Fälle. Diese Zahlen sind nur ein relatives Kriterium für die Anwesenheit der Substanzen im Blut. Das Fehlen von Flecken auf den Chromatogrammen schließt daher das Vorhandensein dieser Verbindungen im Blut nicht aus. Die Anwendung der Isotopen-Technik gestattet ebenfalls keinen höheren Nachweis, insbesondere von Tyrosin (23). Die auffällige Häufigkeit, in der Jodtyrosine in der untersuchten Gruppe von euthyreoten Probanden auftreten, ähnelt der, die bei einem Kollektiv von nierenkranken Hypothyreoten gefunden wurde (24). Auch nach Stimulation der Schilddrüse mit Thyreotropin bei einer Gruppe von euthyreoten Patienten änderte sich diese Zusammensetzung nicht (25). Das ist ein Hinweis für die Unabhängigkeit des Jodtyrosinspiegels von der Schilddrüsenaktivität. Auch die Tatsache, daß nach Aufnahme von radioaktivem Jod in die Schilddrüse sehr wenig markiertes Jodtyrosin im Blut erscheint (26, 27), deutet darauf hin. Eine Erklärung dafür wurde in der Größe des extrathyreoidalen Jodtyrosin-Pools gesucht (28).

Der Nachweis der nicht jodierten Tyrosine und Thyronine mittels Ferri-Ferricyanid-arsenige Säure-Reagenz hat eine besondere Bedeutung. Das chromatographische

Verhalten dieser Verbindungen bleibt bei den meisten Systemen zur Trennung von Jodphenolen unbeachtet, weil die Ansicht besteht, daß diese Substanzen mit chemischen Farbreagenzien keine Reaktion eingehen. Da sie mit Jodreagenzien aber doch darstellbar sind, und da sie ein ähnliches chromatographisches Verhalten haben wie einige ihrer Jodderivate, kann das zu Fehlinterpretationen führen.

Die Farbreaktion beider nicht jodierter phenolischer Aminosäuren mit der Ferri-Ferricyanid-arsenige Säure-

Lösung ist nicht katalytisch. Die Pigmentbildung erfolgt auf Grund der reduzierenden Eigenschaften der phenolischen Gruppe dieser Substanzen und bei Thyronin vor allem durch die Anwesenheit des Äthersauerstoffs (29). Da der Mechanismus der Gmelin-Virtanen-Reaktion ähnlich dem der Kolthoff-Sandell-Reaktion ist (30), kann man vermuten, daß Thyronin und Tyrosin mit letzterem ebenfalls falsch positiv reagieren.

Literatur

- ZAPPI, E., Inaugural-Dissertation, Freie Universität Berlin, (1967). — 2. HOPPE, G., E. ZAPPI und G. GRIES, Nucl.-Med. (Stuttgart) 6, 44 (1967). — 3. ZAPPI, E., J. Chromatog. 30, 611 (1967). — 4. ZAPPI, E. und G. HOPPE, Nucl.-Med. (Stuttgart) 6, 420 (1967). — 5. ZAPPI, E. und G. HOPPE, diese Z. 6, 105 (1968). — 6. ZAPPI, E. und G. HOPPE, diese Z. 5, 209 (1967). — 7. BEALE, D. und J. K. WHITEHEAD, Clin. chim. Acta (Amsterdam) 5, 150 (1960). — 8. WELBY M. L. und B. S. HETZEL, Nature (London) 193, 752 (1962). — 9. DIMITRIADOU, A., R. FRASER und P. C. R. TURNER, Nature (London) 201, 575 (1964). — 10. SHALOM, E. S., J. Endocr. 36, 1 (1966). — 11. COENEGRACHT, J. und TH. POSTMES, Clin. chim. Acta (Amsterdam) 16, 432 (1967). — 12. FÖLDES J., G. GYERTYÁNFY, G. TAMÁS, E. GESZTESI und I. TAKÁCS, Nucl.-Med. (Stuttgart) 6, 400 (1967). — 13. WEINERT, H., H. MASUI, I. RADICHEVICH und S. C. WERNER, J. Clin. Invest. 46, 1264 (1967). 14. RHODES, B. A. und H. N. WAGNER jun., Nature (London) 210, 647 (1966). — 15. ANDRADA, J. A. und E. ZAPPI, z. veröff. — 16. BOWDEN, C. H., N. F. MACLAGAN und J. H. WILKINSON, Biochem. J. 59, 93 (1955). — 17. KONO, T., L. VAN MIDDLESWORTH und E. B. ASTWOOD, Endocrinology 66, 844 (1960). — 18. BJÖRKSTEN, F., R. GRÄSBECK und B. A. LAMBERG, Acta chem. Scand. 15, 1165 (1961). — 19. BARKER, S. B., Biochem. J. 90, 214 (1964). — 20. ROW, V. V., R. VOLPE und C. EZRIN, Clin. chim. Acta (Amsterdam) 13, 666 (1966). — 21. GMELIN R. und A. I. VIRTANEN, Acta chem. Scand. 13, 1469 (1959). — 22. ZAPPI, E., J. Chromatog. 31, 241 (1967). — 23. Klein, E., Die Krankheiten der Schilddrüse, S. 73. Hrsg. von K. Oberdisse und E. Klein. Georg Thieme-Verlag, Stuttgart (1967). — 24. SCHMIDT M. und E. ZAPPI, z. veröff. — 25. PRANGE, F. und E. ZAPPI, z. veröff. 26. BLOCK, R. J., S. C. WERNER, R. H. MANDL, V. V. ROW und I. RADICHEVICH, Arch. Biochem. Biophysics 88, 98 (1960). — 27. WIENER, J. D., Acta endocr., K'hnv, 48, 199 (1965). — 28. EMRICH, D., in Radioisotope in der Endokrinologie, S. 145, Hrsg. von H. Hoffmann, F. K. Schattauer-Verlag, Stuttgart (1965). — 29. ZAPPI, E., z. veröff. — 30. POSTMES TH., Acta endocr., K'hnv, 42, 153 (1963).

Dr. E. Zappi

Gegenwärtige Anschrift: New York Medical College,
Dep. of Microbiology & Immunology 5th Av. at 106
Street, New York 29, New York, USA

Über die photometrische Titration von Thiazolidinen mit *p*-Mercuribenzoat¹⁾ und die Anwendung zur enzymatisch-photometrischen Penicillinbestimmung

Von F. KÖRBER, DAGMAR MODERSOHN und P. SIEGMUND

Aus dem Physiologisch-Chemischen Institut der Freien Universität Berlin

(Eingegangen am 4. April 1968)

Herrn Professor Dr. Dr. Ernst Schütte zum 60. Geburtstag gewidmet

- Thiazolidine reagieren rasch mit *p*-Mercuribenzoat, wobei die Extinktion bei 250 nm zunimmt. Diese Reaktion kann zur photometrischen Titration der Thiazolidine benutzt werden.
- Benzylpenicillin reagiert trotz seines Thiazolidinringes nur außerordentlich langsam mit *p*-Mercuribenzoat. Nach Spaltung mit Penicillinase erfolgt aber eine rasche und quantitative Reaktion mit *p*-Mercuribenzoat. Diese Reaktionsfolge kann zu einer spezifischen Penicillinbestimmung benutzt werden.
- Bei Zugabe von Mercaptalen — es wurde Djenkolsäure und zwei ihrer Derivate untersucht — zu *p*-Mercuribenzoat tritt keine oder nur eine sehr langsame Erhöhung der Extinktion bei 250 nm ein.
- Für die Herstellung der Thiazolidine aus L-Glycerinaldehyd und L-Cystein bzw. D-Penicillamin wird eine vereinfachte Vorschrift angegeben.

- Thiazolidines react rapidly with *p*-mercuribenzoate with an increase in optical density at 250 nm. This reaction can be used for the photometric titration of thiazolidines.
- Benzylpenicillin, despite its thiazolidine ring, reacts extremely slowly with *p*-mercuribenzoate. After cleavage with penicillinase, however, there is a rapid and quantitative reaction with *p*-mercuribenzoate. This sequence of reactions can be used for the specific determination of penicillin.
- The addition of mercaptals (djenkolic acid and two of its derivatives were tried) to *p*-mercuribenzoate gives no or a very slow increase in extinction at 250 nm.
- A simplified procedure is reported for the preparation of thiazolidines from the reaction of L-glyceraldehyde with L-cysteine or D-penicillamine.

¹⁾ In der aus *p*-Chlormercuribenzoat und Acetatpuffer bereiteten Reagenzlösung richtet sich der Grad der Assoziation des Quecksilbers im Mercuribenzoat mit Anionen nach den Konzentrations-

verhältnissen. Unter der Bezeichnung *p*-Mercuribenzoat werden sämtliche Assoziationsprodukte verstanden. (2).