

fest, dass der Aromat unter Aufspaltung des Ringes bis zu Phthalsäure oxydiert wird. Gleichzeitig wird hierbei die Phosphatgruppe abgespalten. Die Reaktion verläuft über mehrere Zwischenstufen (eine eingehendere Beschreibung unserer Untersuchung hinsichtlich dieser Reaktion erfolgt demnächst in einem anderen Zusammenhang). Möglicherweise kann als eine der ersten Stufen der Reaktion eine Hydroxylierung angenommen werden. Die aromatischen *p*- und *o*-Hydroxyphosphatester werden relativ leicht unter Abspaltung der Phosphatgruppe weiteroxydiert, wie PATTERMANN UND WIELAND⁵ am Beispiel des Naphthohydrochinonphosphates zeigen konnten. Unsere Versuche ergaben, dass sich die Reaktion der Phosphatester mit FENTON'S Reagenz auch auf dem Papier durchführen lässt. Wir haben zu diesem Zweck die Chromatogramme zunächst mit einer 5 %igen FeSO₄-Lösung und anschliessend mit einer 5 M H₂O₂-Lösung besprüht. Bei dieser Behandlung wird das Phosphat abgespalten, kann aber nicht unmittelbar darauf nach einem der üblichen Verfahren nachgewiesen werden, da H₂O₂ oder eines der Reaktionsprodukte, möglicherweise Peroxyde, die Molybdänreaktion stören. Diese Produkte werden völlig beseitigt, wenn man die trockenen Chromatogramme über Nacht in einer Ammoniakatmosphäre hängen lässt.

Zum Vergleich unserer Entwicklungsmethode mit der von HANES UND ISHERWOOD haben wir je zwei Chromatogramme von Äthanolamin-N-phosphatmonobenzylester, Naphthylphosphat und Phenylphosphat laufen lassen und das eine Mal das Phosphat nach Vorbehandlung mit FENTON'S Reagenz, das andere Mal ohne dieses nach HANES UND ISHERWOOD nachzuweisen versucht. Nur im ersten Falle erhielten wir positive Ergebnisse.

Das Verfahren wurde mit Erfolg bei einer Reihe von Monobenzylphosphoryl-estern und -amiden angewendet, bei denen die üblichen Nachweismethoden versagten. Die Methode versagte jedoch bisher bei den aromatischen Triestern der Phosphorsäure.

*Institut für angewandte Isotopenforschung**
*der Institute für Medizin und Biologie***
 der Deutschen Akademie der Wissenschaften zu Berlin,
 Berlin-Buch (Deutschland)

PETER VENKER
 GERHARD SCHMIDT

¹ C. S. HANES UND F. A. ISHERWOOD, *Nature*, 164 (1949) 1107.

² F. HABER UND R. WILLSTÄTTER, *Ber.*, 64 (1931) 2844.

³ F. HABER UND J. WEISS, *Proc. Roy. Soc. (London)*, A 147 (1934) 332.

⁴ TH. WIELAND UND F. PATTERMANN, *Ber.*, 92 (1959) 2917.

Eingegangen den 6. Februar 1962

* Direktor, Dr. G. VORMUM.

** Präsident, Prof. Dr. Dr. h.c. W. FRIEDRICH.

J. Chromatog., 9 (1962) 121-122

Gas chromatography of the amino acid esters in ammonia

The voltages and temperatures used with the hydrogen flame ionization detector¹ are such that the water vapor formed in the combustion and introduced with the sample contributes little to the signal of the detector. Similarly, ammonia gas (commercial anhydrous) added to nitrogen as the carrier gas in gas chromatography increases the de-

J. Chromatog., 9 (1962) 122-123

tector current of the hydrogen flame by an amount small enough for the maintenance of a satisfactory baseline. This addition of ammonia makes possible the analysis of amino acid esters injected directly into the column as solutions of their hydrochloride salts.

The hydrochloride salt of an amino acid ester (dissolved in alcohol) when injected onto a short (1/4 in. × 6 in.) polyethylene glycol adipate column (22 % on Chromosorb W, 50 to 100 mesh*) with nitrogen alone (50 cc/min) as a carrier gas, yielded

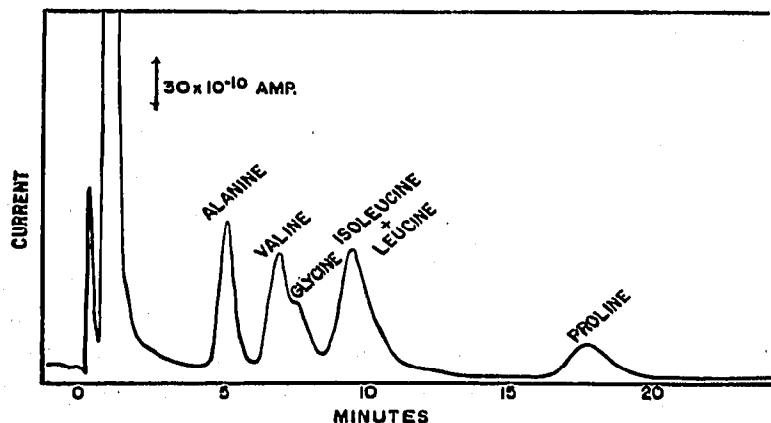


Fig. 1. Gas chromatogram of a mixture of alanine, valine, glycine, isoleucine, leucine and proline converted into the *n*-butyl ester hydrochlorides with butyl alcohol and dry HCl. Temp. of the column was 131°; N₂ carrier gas flow was 50 cc/min; NH₃ gas flow was 8 cc/min; detector was H₂ flame ionization*. The amount of each amino acid injected onto the column was 1.1 · 10⁻⁴ g.

only the alcohol peak and a steady base line of 50 · 10⁻¹⁰ A for a period of one hour. Upon the addition of ammonia (6 cc/min) to the carrier gas stream, the base line rose to 100 · 10⁻¹⁰ A and a well defined peak of the amino acid ester emerged. The pure ester hydrochlorides (some ethyl and some *n*-butyl) of the following amino acids have been successfully chromatographed in the ammonia–nitrogen carrier gas system on a short (1/4 in. × 6 in.) polyethyleneglycol adipate column: alanine, valine, glycine, isoleucine, leucine, proline, aspartic acid, threonine, methionine, serine, glutamic acid, phenylalanine, lysine and hydroxyproline. A long column (1/4 in. × 6 ft.) of the adipate polyester proved satisfactory only for the analysis of mixtures of the lower boiling esters. The extent of amide formation (if any) and its relationship to column length, temperature and the column packing has not yet been determined.

Fig. 1 illustrates the gas chromatogram of a mixture of the hydrochlorides of the *n*-butyl esters of alanine, valine, glycine, leucine, isoleucine and proline obtained from a long (1/4 in. × 6 ft.) polyethyleneglycol adipate column at 131°.

*National Institute of Arthritis and Metabolic Diseases
and National Heart Institute, National Institutes of Health,
Public Health Service,
U. S. Department of Health, Education, and Welfare,
Bethesda, Md. (U.S.A.)*

H. A. SAROFF
ARTHUR KARMEN
J. W. HEALY

* J. D. LOVELOCK, *J. Chromatog.*, 1 (1958) 35.

Received January 29th, 1962

* Purchased from Applied Science Laboratories, Inc., State College, Pennsylvania.