

failed to resolve mixtures of 2-acetamido-2-deoxy-D-galactitol and 2-acetamido-2-deoxy-D-glucitol, but these columns did resolve mixtures of 2-acetamido-2-deoxy-D-glucitol and 2-acetamido-2-deoxy-D-mannitol; the retention time on SE-30 (relative

TABLE I  
RETENTION TIMES\* ON BDS COLUMN

Sugar	Retention time (min)
L-Fucose	6.08
L-Fucitol	8.33
D-Galactose	10.90
D-Galactitol	12.47
2-Acetamido-2-deoxy-D-glucitol	17.47
2-Acetamido-2-deoxy-D-mannitol	17.77
2-Acetamido-2-deoxy-D-galactitol	17.97
2-Acetamido-2-deoxy-D-galactose	21.00
2-Acetamido-2-deoxy-D-glucose	21.63

\* Expressed relative to the first solvent (pyridine) peak.

to the first solvent peak) of the former was 14.37 and of the latter 14.92. 2-Acetamido-deoxy-D-mannose, though a constituent of sialic acid, usually does not occur as the amino sugar in mucins, and accordingly, the mannosaminitol derivative would not be expected to occur in hydrolysates of cleavage products of mucins.

This research was supported by a grant from the U.S. Public Health Service, National Institutes of Health AM-05819-4.

Department of Biochemistry, New York Medical College,  
New York, N.Y. (U.S.A.)

MARTIN I. HOROWITZ  
MICHAEL R. DELMAN

- 1 B. ANDERSON, P. HOFFMAN AND K. MEYER, *Biochim. Biophys. Acta*, 74 (1963) 309.
- 2 G. SCHIFFMAN, E. A. KABAT AND W. THOMPSON, *Biochemistry*, 3 (1964) 113.
- 3 K. TANAKA, M. BERTOLINI AND W. FIGMAN, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 16 (1964) 404.
- 4 M. B. PERRY, *Can. J. Biochem. Physiol.*, 42 (1964) 451.
- 5 C. C. SWEeley, R. BENTLEY, M. MAHITA AND W. W. WELLS, *J. Am. Chem. Soc.*, 85 (1963) 2497.
- 6 W. R. C. CRIMMINS, *J. Chem. Soc.*, (1957) 2838.
- 7 T. WHITE, *J. Chem. Soc.*, (1940) 428.

Received August 26th, 1965

*J. Chromatog.*, 21 (1966) 300-302

## Zur gaschromatographischen Trennung von Aminen an Kapillarsäulen

Das ausgeprägte "tailing" der Peaks stark basischer aliphatischer und aromatischer Amine bereitet auch heute noch Schwierigkeiten bei der gaschromatographischen Trennung. An gepackten Säulen konnte durch Verwendung geeigneter stationä-

*J. Chromatog.*, 21 (1966) 302-304

rer Phasen und besonders inaktiver Träger wie Teflon-Pulver — oder durch Vorbehandlung mit KOH — das "tailing" weitgehend unterdrückt und eine befriedigende Trennung erreicht werden. Da die Anzahl der möglichen Isomeren bei primären, sekundären und tertiären Aminen besonders gross ist, sind für eine möglichst vollständige Trennung Kapillarsäulen mit hohen Trennstufenzahlen erforderlich.

GROB<sup>1</sup> konnte mit Polyäthylen- und Polypropylen-Iminen als stationärer Phase erstmals 17 Pyridinbasen auf einer Kapillarsäule trennen. Die Polyimine sind jedoch bisher nicht im Handel erhältlich und müssen jeweils aus den Monomeren hergestellt werden. Für Arbeitstemperaturen unter 100° sind sie wegen ihrer hohen Viskosität nicht zu verwenden. Als geeignete stationäre Phase bot sich auf Grund seiner Eigenschaften das N,N-Bis-hydroxyäthyl-trimethyldiamin der Chemischen Werke Hüls an<sup>2</sup>. Der glycerinartige, in Wasser und Methanol lösliche Aminoalkohol lässt sich leicht auf Kapillarsäulen auftragen und hat sich für die Trennung von Pyridinen und alkylierten Hydrazinen ausgezeichnet bewährt. Das Gaschromatogramm einer Trennung von 26 Pyridinbasen zeigt Fig. 1. Für das 2,4-Lutidin beträgt die Zahl der theoretischen Böden 30,000 bei einer Trenntemperatur von 100°. Hydrazine ergeben vollkommen symmetrische Peaks ohne jedes "tailing", so dass sich für das N,N'-Dibutylhydrazin bei 120° eine Bodenzahl von 50,000 ergibt.

Die Temperaturabhängigkeit der Trennungen ist beträchtlich, so dass sich für bestimmte Trennprobleme noch bessere Auftrennungen erreichen lassen. Von den in diesem Gaschromatogramm nicht getrennten Substanzpaaren <sup>7</sup>/<sub>8</sub>, <sup>11</sup>/<sub>12</sub> und <sup>14</sup>/<sub>15</sub> werden bei isothermer Arbeitsweise die Paare <sup>7</sup>/<sub>8</sub> und <sup>11</sup>/<sub>12</sub> bei einer Säulentemperatur von 100° und das Paar <sup>14</sup>/<sub>15</sub> bei 80° vollständig getrennt.

Kapillarsäulen mit N,N-Bis-hydroxyäthyl-trimethyldiamin als stationärer Phase altern auch bei längerer Benutzung und Arbeitstemperaturen unter 120° nicht.

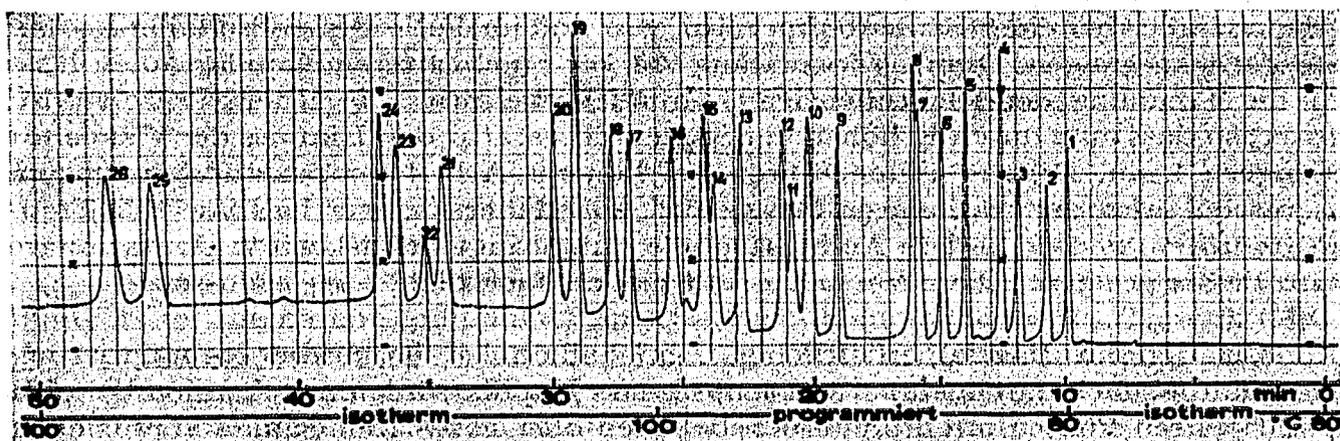


Fig. 1. Gerät: Fraktometer F6/4F Perkin-Elmer; Säule: 50 m × 0.25 mm i.D., belegt mit N,N-Bis-hydroxyäthyl-trimethyldiamin; 5%ige methanolische Lösung in 3-4 Std. mit N<sub>2</sub> hindurchgedrückt, erhaltene mittlere Filmdicke 0.25 μ. Säulentemperatur: 10 min 80° isotherm, dann programmiert auf 100° mit 1.25°/min. Trägergas: Stickstoff 0.8 ml/min. Teilungsverhältnis 1:100. Probenmenge: 0.6 μl Testgemisch Pyridinbasen. 1 = 2-Methylpiperidin; 2 = Piperidin; 3 = 3-Methylpiperidin; 4 = Pyridin; 5 = 2-Methylpyridin; 6 = 2,6-Lutidin; 7 = 2-Methyl-6-äthylpyridin; 8 = 2-Äthylpyridin; 9 = 3-Methylpyridin; 10 = 4-Methylpyridin; 11 = 2-n-Propylpyridin; 12 = 2,5-Lutidin; 13 = 2,4-Lutidin; 14 = 2,3-Lutidin; 15 = 2,4,6-Trimethylpyridin; 16 = 4-Methyl-2-äthylpyridin; 17 = 4-Äthylpyridin; 18 = 2-Methyl-5-äthylpyridin; 19 = 3,5-Lutidin; 20 = 2-Methyl-3-äthylpyridin; 21 = 4-n-Propylpyridin; 22 = 2,3,5-Trimethylpyridin; 23 = Pyrrol; 24 = 3,4-Lutidin; 25 = 4-Methyl-3-äthylpyridin; 26 = 3-Methyl-4-äthylpyridin.

Häufiges Erhitzen auf 150° führt aber bereits nach einer Woche zu einer deutlichen Abnahme der Trennstufenzahl. Die günstigsten Arbeitstemperaturen liegen daher zwischen 70° und 120°. Bei Säulentemperaturen unter 70° stört die hohe Viskosität des Aminoalkohols, wie Fig. 2 am Beispiel einer Trennung der aliphatischen Methyl-,

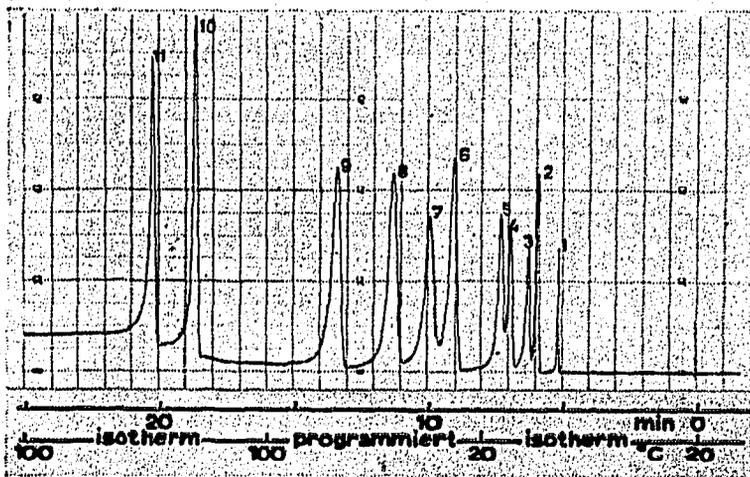


Fig. 2. Säule: 50 m × 0.25 mm i.D., belegt mit N,N-Bis-hydroxyäthyl-trimethylendiamin; 0.15  $\mu$  mittlere Filmdicke. Säulentemperatur: 8 min 20° isotherm; dann mit 10°/min erhitzt auf 100°. Trägergas: Stickstoff 0.9 ml/min. Teilungsverhältnis 1:90. Probenmenge: 0.5  $\mu$ l Testgemisch Amine in Wasser. 1 = Trimethylamin; 2 = Dimethylamin; 3 = Methylamin; 4 = Äthylamin; 5 = Diäthylamin; 6 = *n*-Propylamin; 7 = Tri-*n*-propylamin; 8 = Di-*n*-propylamin; 9 = *n*-Butylamin; 10 = Tri-*n*-butylamin; 11 = Di-*n*-butylamin.

Äthyl-, Propyl- und Butylamine zeigt. Die Auftrennung ist zwar vollständig und das "tailing" für eine Kapillarsäule bemerkenswert gering, die Zahl der theoretischen Böden ist aber bei einer Säulentemperatur von 40° im Falle des *n*-Propylamins auf 5000 zurückgegangen. Durch Verwendung stärker beschichteter Kapillarsäulen lässt sich die Trennung der leichtflüchtigen Amine verbessern. Die Rückhaltezeit wird grösser, so dass man durch Erhöhen der Säulentemperatur den Einfluss der Viskosität verringern kann. Dickere Filme führen bei höherer Arbeitstemperatur häufig zum Zusammenlaufen der stationären Phase und sind daher weniger haltbar. Für Trennungen unter 70° sind andere Aminoalkohole mit geringerer Viskosität als stationäre Phase besser geeignet. Diese Versuche sind jedoch noch nicht abgeschlossen.

Mit den im Handel erhältlichen Aminoalkoholen kann die Imprägnierung schnell und einfach durchgeführt werden, so dass Kapillarsäulen mit Aminoalkoholen als stationären Phasen mit Polyiminien belegten oder gepackten Säulen vorzuziehen sind.

Chemisches Staatsinstitut, Institut für Organische Chemie  
der Universität Hamburg, Hamburg (Deutschland)

K. HEYNS  
R. STUTE  
J. WINKLER

1. K. GROB, *J. Gaschromatog.*, 2, No. 2 (1964) 80.  
2. *Neues aus Hüls*, 46. Folge, Okt. 1964.

Eingegangen den 2. August 1965

*J. Chromatog.*, 21 (1966) 302-304