УДК 543.544

ГАЗОХРОМАТОГРАФИЧЕСКОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ АСКАРИДОЛА – ПРОДУКТА ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ СИНГЛЕТНОГО КИСЛОРОДА С α-ТЕРПИНЕНОМ

А.С. Овечкин[1,2], М.Д. Рейнгеверц[2], Л.А. Карцова[1]

[1]Санкт-Петербургский государственный университет, химический факультет
Российская Федерация, 198504, Санкт-Петербург, Старый Петергоф,
Университетский просп., 26
[2]ФГУП «РНЦ «Прикладная химия»
Российская Федерация, 193232, Санкт-Петербург, ул. Крыленко, 26А
Lackser@gmail.com

Поступила в редакцию 12 октября 2013г.,
после доработки – 1 ноября 2013 г.

Продукт взаимодействия синглетного кислорода с α-терпиненом, аскаридол, может быть использован при косвенном газохроматографическом определении массовой концентрации синглетного кислорода в воздухе. Однако аскаридол – термически нестабильное соединение, способное изомеризоваться под действием температуры в ходе анализа.

Методом хромато-масс-спектрометрии идентифицированы продукты термического разложения аскаридола: изоаскаридол, 1,2-этокси-*п*-ментан-3-он и 3,4-этокси-*п*-ментан-2-он. Установлено несоответствие масс-спектра аскаридола, полученного в настоящей работе, масс-спектрам, приведенным в базах данных NIST. Исследованы и оптимизированы условия газохроматографического определения аскаридола: температуры испарителя и детектора, необходимость кондиционирования хроматографической колонки и параметры его проведения.

***Ключевые слова*:** аскаридол, синглетный кислород, газовая хроматография, хромато-масс-спектрометрия.

Овечкин Андрей Сергеевич – аспирант химического факультета Санкт-Петербургского государственного университета, инженер 1 категории ФГУП «РНЦ «Прикладная химия».

Область научных интересов: методы контроля загрязнения окружающей среды.

Автор трех публикаций.

Рейнгеверц Михаил Давидович – кандидат химических наук, начальник Аналитического центра ФГУП «РНЦ «Прикладная химия».

Область научных интересов: газовая и жидкостная хроматография, хромато-масс-спектрометрия, методы и средства аналитического контроля.

Автор более 160 публикаций.

Карцова Людмила Алексеевна – доктор химических наук, профессор кафедры органической химии химического факультета Санкт-Петербургского государственного университета.

Область научных интересов: хроматографические и электрофоретические методы определения биологически активных соединений в сложных матрицах; *on- и off-line* концентрирование; организованные среды: мицеллы, краун-соединения, циклодекстрины, микроэмульсии.

Общее число публикаций – 540.

Введение

Аскаридол – стабильная природная эндоперекись, представляющая собой маслянистую жидкость с характерным резким запахом и температурой замерзания 2.5 °С. Нагревание аскаридола при атмосферном давлении до 130-150 °С приводит к быстрому его разложению, сопровождающемуся саморазогревом до 250 °С [1]. Газохроматографическое определение аскаридола в экстрактах с полимерного сорбента с нанесенным на него α-терпиненом может быть использовано для определения содержания синглетного кислорода в воздухе.

Синглетный кислород – это два возбужденных метастабильных состояния молекулярного кислорода, обладающих энергией большей, чем у кислорода в основном триплетном состоянии. Он образуется фотохимически из триплетного кислорода

при действии света на полициклические ароматические углеводороды, которые выбрасываются в атмосферу природными (вулканы, лесные пожары) и антропогенными (автомобильные выхлопы, ТЭС, мусоросжигающие заводы) источниками. В результате взаимодействия синглетного кислорода с ненасыщенными углеводородами образуются аллильные и эндо-перекиси, распад которых приводит к ряду процессов, генерирующих диоксид азота [2]. Образующиеся перекиси и непосредственно синглетный кислород способны наносить вред живым организмам. С этим связана необходимость контроля содержания синглетного кислорода в атмосфере.

Существуют прямые методы определения содержания синглетного кислорода в газовой фазе [3-6]. Все они обладают теми или иными ограничениями.

Так, например, не требующий стандартов метод изотермического калориметра – малоселективен, поскольку регистрирует все частицы, находящиеся в возбужденном состоянии [3]. Метод фотоионизации обладает высокой чувствительностью, однако наличие в анализируемом образце примесей, имеющих потенциал ионизации ниже 11 эВ, делает его неселективным [4]. Метод ЭПР-спектроскопии позволяет количественно измерять концентрацию синглетного кислорода в газовой фазе, используя молекулярный кислород в основном состоянии в качестве стандарта, однако метод применим только для систем с пониженным давлением [5, 6].

Синглетный кислород может быть определен и косвенными методами по продуктам его взаимодействия с различными соединениями. Для определения синглетного кислорода в воздухе может быть использован α-терпинен [7, 8]. Это жидкость с температурой кипения 173 ºС. При взаимодействии с синглетным кислородом α-терпинен с высоким выходом образует эндоперекись – *аскаридол* [9-13] (рис. 1).

Однако в ходе газохроматографического анализа термически нестабильный аскаридол претерпевает ряд превращений [14], что осложняет его количественное определение и требует оптимизации газохроматографических условий.

Последнее и является целью данной работы.

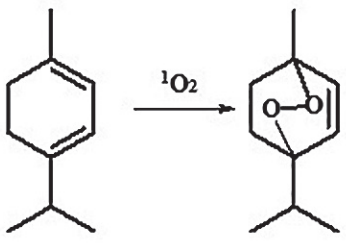

Рис. 1. Схема образования аскаридола при взаимодействии синглетного кислорода с α-терпиненом

Экспериментальная часть

Для проведения экспериментов использовали аскаридол («City Chemical LLC»), массовая доля основного вещества не менее 99 %, в качестве растворителя применяли 1,1,2-трифтор-1,2,2-трихлорэтан (хладон 113).

Газохроматографические исследования проводили на газовом хроматографе HP 6890 производства фирмы Hewlett-Packard (Agilent), снабженным пламенно-ионизационным детектором (ПИД), капиллярной кварцевой колонкой DB-5MS UI (длина 30 м, диаметр 0.32 мм, толщина пленки 0.5 мкм) и программным обеспечением HP GC ChemStation. Разделение проводили в режиме программирования температуры: изотерма 60 °С в течение 1.5 мин, нагрев до 110 °С со скоростью 25 °С/мин, изотерма 5.5 мин, нагрев до 160 °С со скоростью 40 °С/мин, изотерма 5 мин. Температуру испарителя варьировали в диапазоне 90-250 °С, температуру детектора – в диапазоне 230-270 °С. Объемный расход воздуха - 400 см^3/мин, водорода - 35 см^3/мин, поддувочного газа (азот) - 40 см^3/мин. Газ-носитель – азот; поток газа в колонке – 1.7 см^3/мин; режим ввода – Split 1:20; объем вводимой пробы – 10 мм^3.

Хромато-масс-спектрометрическое исследование проводили на хромато-масс-спектрометре GC HP 5890 Series II – MSD HP 5972A, снабженным капиллярной кварцевой колонкой HP-5 (длина 30 м, диаметр 0.25 мм, толщина пленки 0.25 мкм) и программным обеспечением HP ChemStation с базой масс-спектров NIST98.L. Разделение проводили в режиме программирования температуры: изотерма 60 °С в течение 5 мин, нагрев до 160 °С со скоростью 7 °С/мин, изотерма 5 мин. Температура испарителя 250 °С, детектора 160 °С. В качестве газа-носителя использовали гелий. Поток газа в колонке – 0.885 см^3/мин; режим ввода – Split 1:30; объем вводимой пробы – 1 мм^3. Энергия ионизирующих электронов 70 эВ. Диапазон регистрируемых массовых чисел *m/z* = 42-250.

Результаты и обсуждение

При газохроматографическом определении аскаридола на хроматограмме регистрировалось четыре пика. Для идентификации компонентов проведен хромато-масс-спектрометрический анализ раствора этого соединения с массовой концентрацией 100 мкг/см^3. Установлено, что наиболее интенсивный пик отвечает аскаридолу, основной примесью является изоаскаридол, кроме того были идентифицированы 1,2-эпокси-*п*-ментан-3-он и 3,4-эпокси-*п*-ментан-2-он.

Идентификация аскаридола и изоаскаридола была затруднена из-за некорректности имеющихся библиотечных масс-спектров.

Полученный нами масс-спектр аскаридола (рис. 2) в базе данных NIST98.L отсутствует, но при

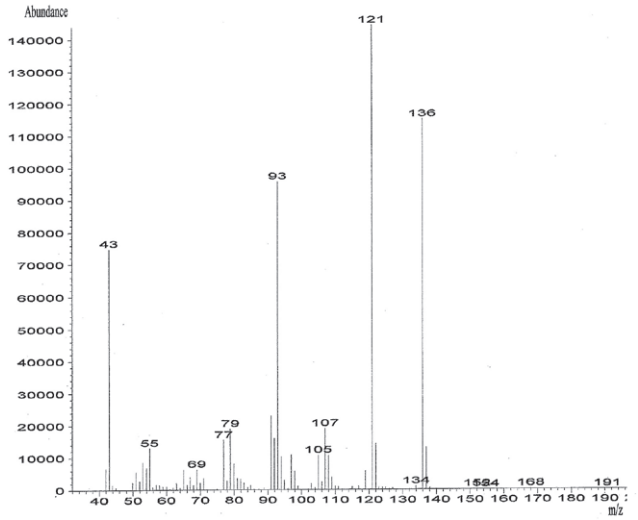

Рис. 2. Масс-спектр аскаридола, полученный экспериментально

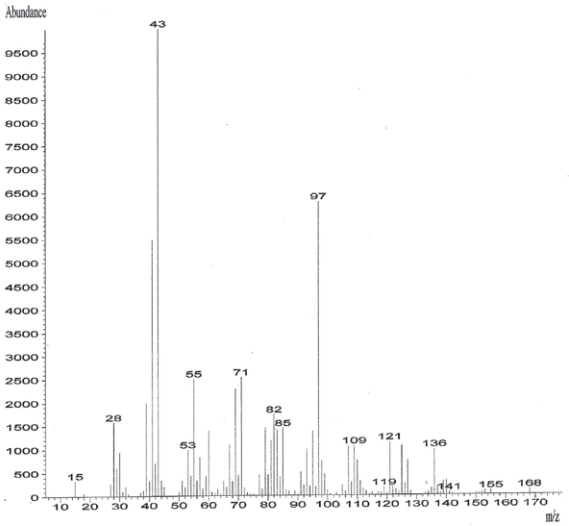

Рис. 3. Масс-спектр аскаридола из библиотеки NIST98.L, MS номер 7498

этом идентичен масс-спектру данного аналита, приведенному в [15, 16].

В базе данных NIST98.L аскаридолу отвечают два масс-спектра (рис. 3 и 4), один из которых (рис. 3) близок полученному нами масс-спектру изоаскаридола (рис. 5).

На сайте электронной базы данных NIST [17] и в базе данных NIST08.L приведен масс-спектр аскаридола, представленный на рис. 6. Он заметно отличается от масс-спектров, представленных в базе NIST98.L и полученного нами.

Для дополнительной идентификации нами рассчитаны индексы удерживания этих аналитов для неполярной фазы (1236 ± 1 и 1304 ± 1 для аскаридола и изоаскаридола, соответственно), значения которых в пределах погрешности согласуются с индексами удерживания, приведенными и в базе данных NIST, а именно: 1242 ± 7 для аскаридола и 1304 ± 8 для изоаскаридола.

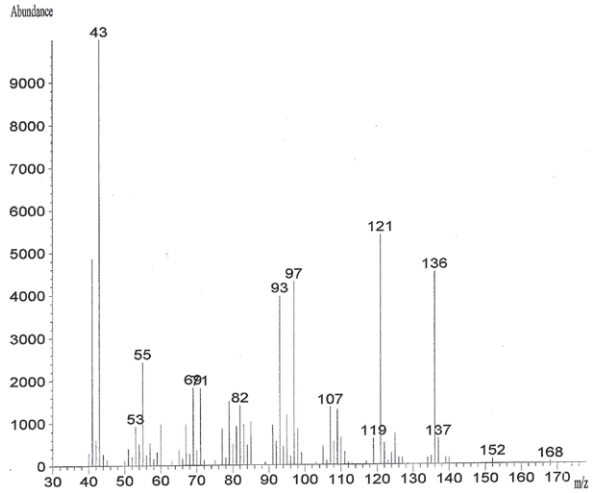

Рис. 4. Масс-спектр аскаридола из библиотеки NIST98.L, MS номер 110292

Таким образом, опираясь на экспериментальные и литературные данные, можно заключить, что опубликованный в базе данных NIST98.L масс-спектр, представленный на рис. 3, должен быть отнесен к изоаскаридолу, а масс-спектр на рис. 4 является комбинацией масс-спектров аскаридола и изоаскаридола.

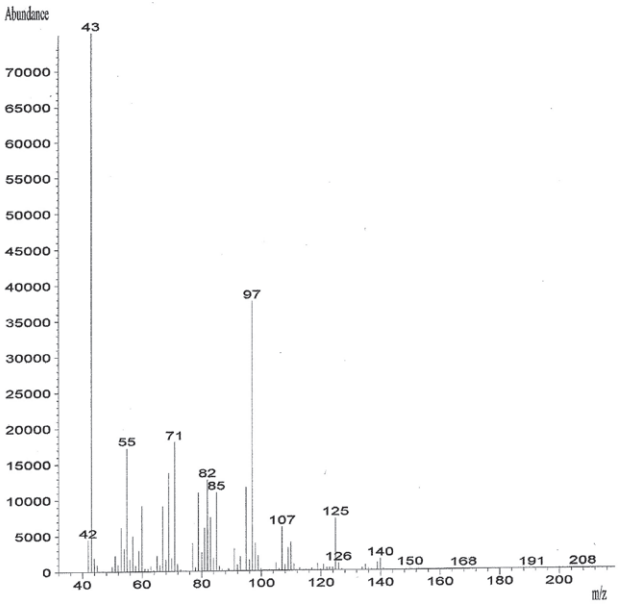

Рис. 5. Масс-спектр изоаскаридола, полученный экспериментально

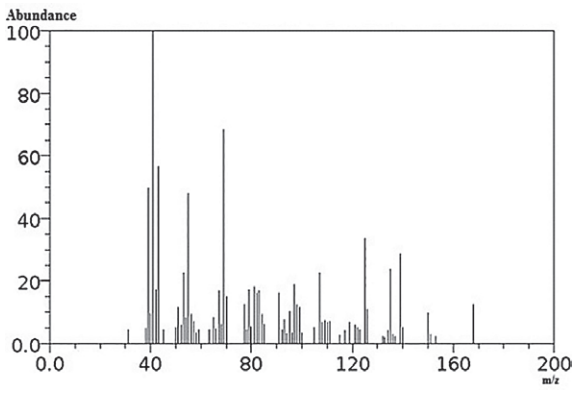

Рис. 6. Масс-спектр аскаридола из базы NIST [17], MS номер 292866

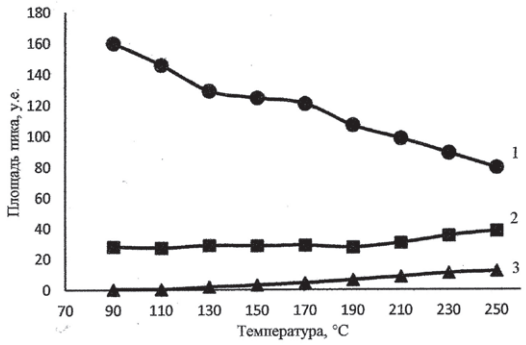

Рис. 7. Зависимость площади пика аскаридола и его изомеров от температуры испарителя при температуре ПИД 250 °С: 1 – аскаридол, 2 – изоаскаридол, 3 – эпоксиментаноны (суммарно)

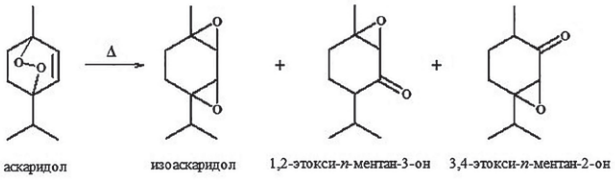

Рис. 9. Продукты термического разложения аскаридола

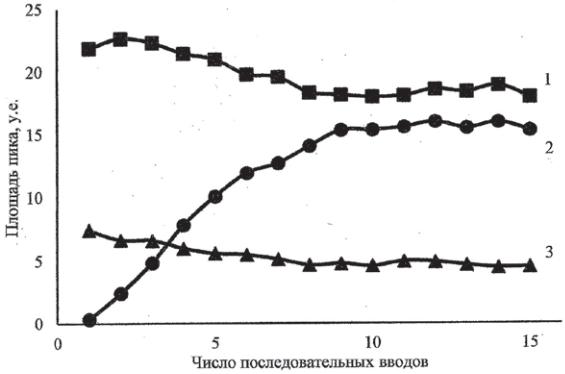

Рис. 10. Зависимость площади пика аскаридола и его изомеров от числа последовательных вводов раствора с массовой концентрацией аскаридола 10 мкг/см^3: 1 – изоаскаридол, 2 – аскаридол, 3 – эпоксиментаноны (суммарно)

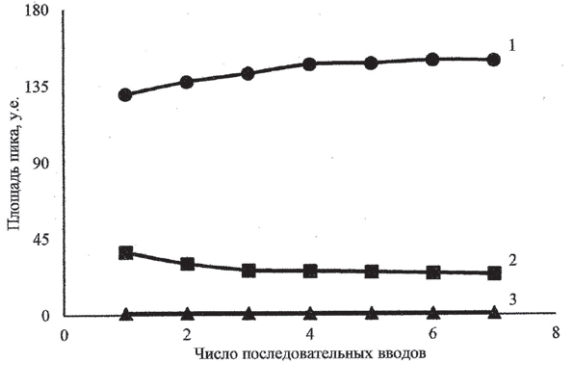

Рис. 11. Зависимость площади пика аскаридола и его изомеров от числа последовательных вводов раствора с массовой концентрацией аскаридола 50 мкг/см^3: 1 – аскаридол, 2 – изоаскаридол, 3 – эпоксиментаноны (суммарно)

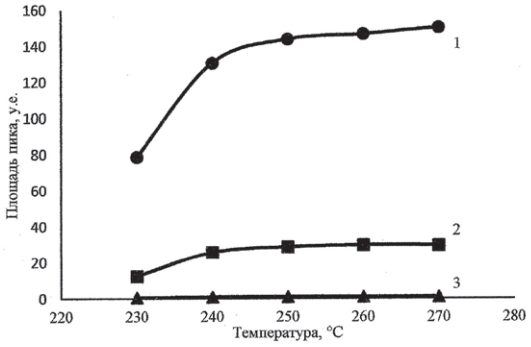

Рис. 8. Зависимость площади пика аскаридола и его изомеров от температуры ПИД при температуре испарителя 120 °С: 1 – аскаридол, 2 – изоаскаридол, 3 – эпоксиментаноны (суммарно)

Для оптимизации условий газохроматографического анализа аскаридола при варьировании температур испарителя и детектора использовали раствор аскаридола с массовой концентрацией 50 мкг/см^3. Предварительно колонка была кондиционирована раствором аскаридола с массовой концентрацией 1000 мкг/см^3.

Установлено, что понижение температуры испарителя приводит к увеличению площади пика аскаридола, при этом площади пиков изоаскаридола и эпоксиментанонов уменьшаются (рис. 7). При температуре испарителя 90 °С получен наиболее интенсивный сигнал для аскаридола.

Однако при температурах испарителя ниже 110 °С наблюдали неполное испарение пробы из инжектора, что может искажать результаты последующих анализов. Поэтому за оптимальную температуру испарителя приняли 120 °С.

Увеличение температуры ПИД приводит к возрастанию чувствительности ко всем компонентам (рис. 8). При температурах детектора выше 240 °С площадь пика аскаридола практически не зависит от температуры. Для дальнейшей работы выбрана температура детектора 250 °С.

Основываясь на изменении соотношения площадей пиков аскаридола, изоаскаридола и эпоксиментанонов с изменениями условий газохромато-

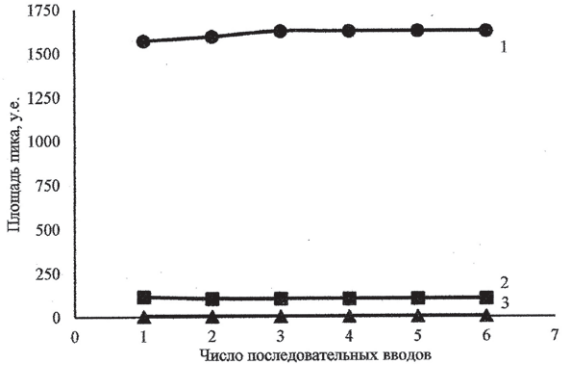

Рис. 12. Зависимость площади пика аскаридола и его изомеров от числа последовательных вводов раствора с массовой концентрацией аскаридола 500 мкг/см^3: 1 – аскаридол, 2 – изоаскаридол, 3 – эпоксиментаноны (суммарно)

графического анализа (рис. 7 и 8), можно заключить, что изомеры аскаридола являются не примесными компонентами, а продуктами термического разложения аскаридола (рис. 9).

Для выявления необходимости кондиционирования колонки и определения условий его проведения в хроматограф последовательно вводили растворы аскаридола с массовой концентрацией 10, 50 и 500 мкг/см^3 при выбранных температурах испарителя (120 °С) и детектора (250 °С) и измеряли площади пиков аскаридола и его изомеров. Согласно полученным данным (рис. 10-12) перед анализом газохроматографическую колонку необходимо кондиционировать путем ввода концентрированных растворов аскаридола (50-500 мкг/см^3) не менее 4 раз.

Найденные газохроматографические условия определения аскаридола будут использованы при решении задачи количественного измерения массовой концентрации синглетного кислорода в газовых потоках по его реакции с α-терпиненом.

Авторы признательны за поддержку и обсуждение работы генеральному директору ЗАО «ОПТЭК» В.П. Челибанову.

ЛИТЕРАТУРА

1. Wirth E. A study of Chenopodium ambrosioides var. anthelminticum and its volatile oil // J. Am. Pharm. Assoc. 1920. V. 9, № 2. P. 127-141.
2. Singlet molecular oxygen and photochemical air pollution / J. Pitts [et al.] // Environ. Sci. Technol. 1969. V. 3, № 3. P. 241-247.
3. Relaxation and reactivity of singlet oxygen / S. Arnold [et al.] // Advances in chemistry / [Ed. by Mayo F.]. Washington DC, ACS. 1968. V. 77. P. 133-142.
4. Clark I., Wayne R. The absolute cross section for photoionization of O2 (1Δg) // Mol. Phys. 1970. V. 18, № 4. P. 523-531.
5. Falick A., Mahan B., Myers R. Paramagnetic resonance spectrum of the 1Δg oxygen molecule // J. Chem. Phys. 1965. V. 42, № 5. P. 1837-1838.
6. Direct measurements of absolute concentration and lifetime of singlet oxygen in the gas phase by electron paramagnetic resonance / K. Hasegawa [et al.]. Chem. Phys. Lett. 2008. V. 457, № 4-6. P. 312-314.
7. Determination method of singlet oxygen in the atmosphere by use of α-terpinene / S. Ogawa [et al.] // Chemosphere. 1991. V. 22, № 12. P. 1211-1225.
8. Diurnal changes of singlet oxygen like oxidants concentration in polluted ambient air / S. Ogawa [et al.] // Chemosphere. 1996. V. 32, № 9. P. 1823-1832.
9. Synthesis and chemistry of 2,3-dioxabicyclo[2.2.2]octane-5,6-diols / P. Valente [et al.] // J. Org. Chem. 2009. V. 74, № 1. P. 274-282.
10. Ribeiro S., Serra A., Gonsalves R. Covalently immobilized porphyrins as photooxidation catalysts // Tetrahedron. 2007. V. 63, № 33. P. 7885-7891.
11. Xu H., Chan W.-K., Ng D. Efficient and recyclable phthalocyanine-based sensitizers for photooxygenation reactions // Synthesis. 2009. № 11. P. 1791-1796.
12. Levesque F., Seeberger P. Highly efficient continuous flow reactions using singlet oxygen as a “green” reagent // Org. Lett. 2011. V. 13, № 19. P. 5008-5011.
13. Efficient photosensitized oxygenations in phase contact enhanced microreactors / C. Park [et al.] // Lab Chip. 2011. V. 11, № 11. P. 1941-1945.
14. Johnson M. A., Croteau R. Biosynthesis of ascaridole: iodide peroxidase-catalyzed synthesis of a monoterpene endoperoxide in soluble extracts of Chenopodium ambrosioides fruit // Arch. Biochem. Biophys. 1984. V. 235, № 1. P. 254-266.
15. Adams R. Identification of essential oil components by gas chromatography/mass spectrometry. 4th ed. Allured. Pub. Corp., 2007. 884 p.
16. Microphotochemistry using 5-mm light-emitting diodes: energy-efficient photooxidations / J. Carney [et al.] // Synthesis. 2012. V. 44, № 16. P. 2560-2566.
17. [Электронный ресурс]: http://webbook.nist.gov/cgi/cbook.cgi?ID=C512856&Units=SI&Mask=200#Mass-Spec / NIST Standard Reference Database Number 69 (дата обращения 29.09.2013).

GAS CHROMATOGRAPHIC DETERMINATION OF ASCARIDOLE – THE PRODUCT OF SINGLET OXYGEN AND α-TERPINENE REACTION

A.S. Ovechkin[1,2], M.D. Reyngeverts[2], L.A. Kartsova[1]

[1]St. Petersburg State University, Department of Chemistry
University Ave 26, Petergof, St. Petersburg, 198504, Russian Federation
[2]FSUE «RSC «Applied Chemistry»
Krylenko str. 26A, St. Petersburg, 193232, Russian Federation
Lacksser@gmail.com

The reaction product of singlet oxygen with α-terpinene, ascaridole, can be used in an indirect gas chromatographic determination of the singlet oxygen mass concentration in the air. However, ascaridole is a thermally unstable compound, which can isomerize due to high temperature exposure during the analysis.

Thermal decomposition products of ascaridole were identified by gas chromatography-mass spectrometry: isoascaridole, 1,2-ethoxy-*p*-menthane-3-one and 3,4-ethoxy-*p*-menthane-2-one. The

discrepancy between obtained mass spectrum of ascaridole and mass spectra shown in NIST databases was found. The dependence of ascaridole signal intensity from temperature of injector and detector and from column conditioning was established. These conditions were investigated and optimized.

***Key words*:** ascaridole, singlet oxygen, gas chromatography, gas chromatography-mass spectrometry.

REFERENCES

1. Wirth E. A study of Chenopodium ambrosioides var. anthelminticum and its volatile oil. *Journal of American Pharmaceutical Association*, 1920, vol. 9, no. 2, pp. 127-141. doi: 10.1002/jps.3080090206.
2. Pitts J., Khan A., Smith B., Wayne R. Singlet molecular oxygen and photochemical air pollution. *Environmental Science & Technology*, 1969, vol. 3, no. 3, pp. 241-247. doi: 10.1021/es60026a004.
3. Arnold S., Kubo M., Ogryzlo E. Relaxation and reactivity of singlet oxygen. *Advances in chemistry*, Washington DC, ACS 1968, vol. 77, pp. 133-142. doi: 10.1021/ba-1968-0077.ch070.
4. Clark I., Wayne R. The absolute cross section for photoionization of O2 (1Δg). *Molecular Physics*, 1970, vol. 18, no. 4, pp. 523-531. doi: 10.1080/00268977000100581.
5. Falick A., Mahan B., Myers R. Paramagnetic resonance spectrum of the 1Δg oxygen molecule. *Journal of Chemical Physics*, 1965, vol. 42, no. 5, pp. 1837-1838. doi: 10.1063/1.1696199.
6. Hasegawa K., Yamada K., Sasase R., Miyazaki R., Kikuchi A., Yagi M. Direct measurements of absolute concentration and lifetime of singlet oxygen in the gas phase by electron paramagnetic resonance. *Chemical Physics Letters*, 2008, vol. 457, no. 4-6, pp. 312-314. doi: 10.1016/j.cplett.2008.04.031.
7. Ogawa S., Fukui S., Hanasaki Y., Asano K., Uegaki H., Sumiko F., Ryosuke S. Determination method of singlet oxygen in the atmosphere by use of α-terpinene. *Chemosphere*, 1991, vol. 22, no. 12, pp. 1211-1225. doi: 10.1016/0045-6535(91)90215-Y.
8. Ogawa S., Shimazaki R., Soejima A., Takamure E., Hanasaki Y., Fukui S. *Chemosphere*, 1996, vol. 32, no. 9, pp. 1823-1832. doi: 10.1016/0045-6535(96)00075-6.
9. Valente P., Avery T., Taylor D., Tiekink E. Synthesis and chemistry of 2,3-dioxabicyclo[2.2.2]octane-5,6-diols. *Journal of Organic Chemistry*, 2009, vol. 74, no. 1, pp. 274-282. doi: 10.1021/jo8020506.
10. Ribeiro S., Serra A., Gonsalves R. Covalently immobilized porphyrins as photooxidation catalysts. *Tetrahedron*, 2007, vol. 63, no. 33, pp. 7885-7891. doi: 10.1016/j.tet.2007.05.084.
11. Xu H., Chan W.-K., Ng D. Efficient and recyclable phthalocyanine-based sensitizers for photooxygenation reactions. *Synthesis*, 2009, no. 11, pp. 1791-1796. doi: 10.1055/s-0028-1088066.
12. Levesque F., Seeberger P. Highly efficient continuous flow reactions using singlet oxygen as a “green” reagent. *Organic Letters*, 2011, vol. 13, no. 19, pp. 5008-5011. doi: 10.1021/ol2017643.
13. Park C., Maurya R., Lee J., Kim D.-P. Efficient photosensitized oxygenations in phase contact enhanced microreactors. *Lab on a Chip*, 2011, vol. 11, no. 11, pp. 1941-1945. doi: 10.1039/C1LC20071B.
14. Johnson M. A., Croteau R. Biosynthesis of ascaridole: iodide peroxidase-catalyzed synthesis of a monoterpene endoperoxide in soluble extracts of Chenopodium ambrosioides fruit. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 1984, vol. 235, no. 1, pp. 254-266. doi: 10.1016/0003-9861(84)90274-1.
15. Adams R. *Identification of essential oil components by gas chromatography/mass spectrometry*, 4th ed., Allured Publishing Corporation, 2007, 884 p.
16. Carney J., Hammer R., Hulce M., Lomas C., Miyashiro D. Microphotochemistry using 5-mm light-emitting diodes: energy-efficient photooxidations. *Synthesis*, 2012, vol. 44, no. 16, pp. 2560-2566. doi: 10.1055/s-0031-1289764.
17. NIST Standard Reference Database Number 69. Available at: http://webbook.nist.gov/cgi/cbook.cgi?ID=C512856&Units=SI&Mask=200#Mass-Spec (accessed 7 September 2013).