



KJE-3900

Mastergradsoppgave i KJEMI

SYNTESE AV KLORETE FETTSYRER TIL BRUK SOM STANDARDER I
MILJØANALYSER

Kristian Lauknes

15. Mai 2007

Det matematisk-naturvitenskapelige fakultet
Institutt for Kjemi
Universitetet i Tromsø

KJE-3900
Mastergradsoppgave i KJEMI

SYNTESE AV KLORETE FETTSYRER TIL BRUK SOM STANDARDER I
MILJØANALYSER

Kristian Lauknes

15. Mai 2007

INNHALDSFORTEGNELSE

1.	Forord	3
2.	Sammendrag	5
3.	Forkortelser	7
4.	Begreper	9
5.	Forbindelser	11
6.	Miljøgifter	13
	6.1. Definisjon av miljøgifter	13
	6.2. Bioakkumulering av miljøgifter	13
	6.3. Transport av miljøgifter til polare områder	14
7.	Polare områder	15
	7.1. De siste uberørte villmarksområdene	15
	7.2. Miljøgifter i de polare områdene	17
	7.2.1. Tungmetaller	18
	7.2.1.1. Kvikksøl	18
	7.2.1.2. Bly	19
	7.2.1.3. Kadmium	19
	7.2.2. POP	19
	7.3. Klorerte fettsyrer	21
8.	Synteseveier	23
	8.1. Syntesevei for gjenkjennelse av CIFA	23
	8.2. Selektiv syntese	24
9.	Forbindelser	25
	9.1. Mettede CIFA	25
	9.1.1. Mettede C-18 CIFA	25
	9.1.1.1. 9-/10-kloroktadekasyre	26
	9.1.1.2. 9,13-/9,12-/10,13-/10,12-dikloroktadekasyre	27
	9.1.1.3. 9,10-dikloroktadekasyre	27
	9.1.1.4. 9,10,12,13-tetrakloroktadekasyre	28
	9.1.2. C-16 synteser	28
	9.1.2.1. 7-heksadekasyre	29
	9.1.2.1.1. Metode 1	29
	9.1.2.1.2. Metode 2	31
	9.1.2.2. <i>Cis</i> -7-heksadekasyre	32
	9.1.2.3. 7-/8-klorheksadekasyre	32
	9.1.2.4. 7,8-diklorheksadekasyre	33

10.	Framtidige analyse standarder	35
10.1.	Umettede CIFA	35
10.1.1.	Syntese	35
10.2.	Klorhydriner	35
10.2.1.	Syntese	35
11.	Eksperimentelt	37
11.1.	Kjemikalier	37
11.2.	Analyseutstyr	37
11.3.	Forbindelse	37
11.3.1.	9-/10-kloroktadekasyre	37
11.3.1.1.	Forsøk 1	37
11.3.1.2.	Forsøk 2	38
11.3.2.	9,13-/9,12-/10,13-/10,12-dikloroktadekansyre	38
11.3.3.	9,10-dikloroktadekansyre	38
11.3.3.1.	Forsøk 1	38
11.3.3.2.	Forsøk 2	38
11.3.4.	9,10,12,13-tetrakloroktadekansyre	39
11.3.5.	7-heksadekansyre	39
11.3.5.1	Metode 1	39
11.3.5.1.1.	Forsøk 1	39
11.3.5.1.2.	Forsøk 2	39
11.3.5.1.3.	Forsøk 3	39
11.3.5.1.4.	Forsøk 4	39
11.3.5.2.	Metode 2	40
11.3.5.2.1.	Forsøk 1	40
11.3.5.2.2.	Forsøk 2	40
11.3.6.	<i>Cis</i> -7-heksadekansyre	40
11.3.6.1	Forsøk 1	40
11.3.6.2	Forsøk 2	41
11.3.7.	7-/8-klorheksadekansyre	41
11.3.8.	7,8-diklorheksadekansyre	41
12.	Referanser	43
13.	Appendiks	47

1. Forord

Jeg vil benytte anledningen til å takke Chiron AS og spesielt Jon E. Johansen for at jeg fikk anledning til å jobbe med masteroppgaven min på laben hos dem. Sender samtidig en hilsen til alle andre på Chiron, og takker for et hyggelig opphold i Trondheim.

Må selvfølgelig takke veilederen min Tore Lejon, for alle hjelpa jeg fikk underveis i skrivinga av oppgaven. Takk☺

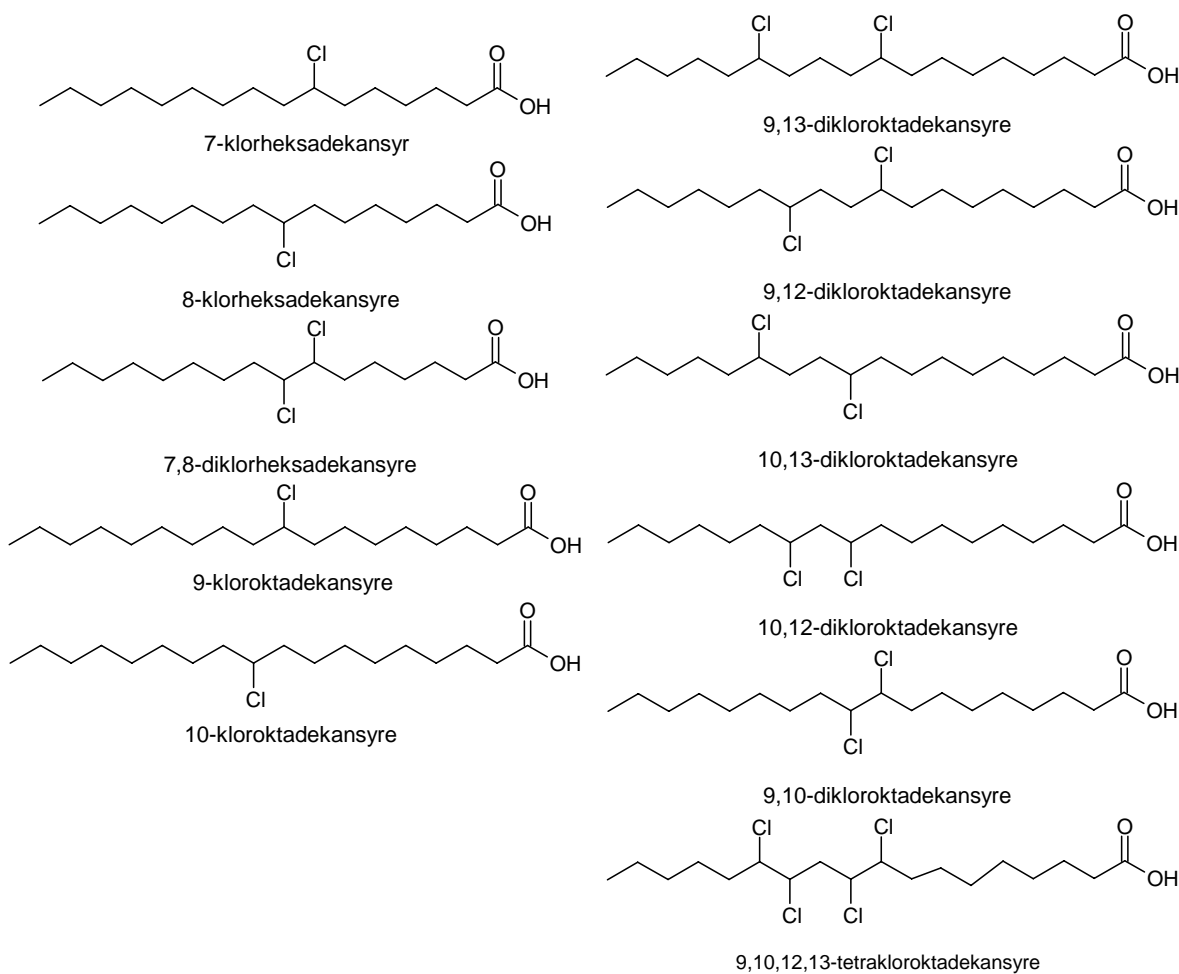
Takker også alle på kjemi for all hjelp under studietiden.

2. Sammendrag

Mettede C-16 og C-18 klorerte fettsyrer ble syntetisert til bruk som miljøstandarder. De mettede klorerte fettsyrer hører sammen med en ny type miljøgift nemlig klorerte fettsyrer (CIFA). Dette er en type miljøgift som man per dags dato ikke har så mye kunnskap om, men som er blitt påvist i en rekke forskjellige fiskearter. Hvilken effekt de vil ha på mennesker eller andre pattedyr på toppen av marine næringskjeder er ikke klarlagt. Arktis og andre polare områdene fungerer som en miljøindikator og det er trolig at man her vil se skadevirkningene først.

Man har en mistanke om at det er utslipp av blekemidler som er skyld i dannelsen av disse forbindelsene, selv om man vet at syntese av mange klorerte forbindelser finner stede i naturlige prosesser.

Det ble derfor som et første ledd i prosessen om å skaffe seg kunnskap om disse forbindelsene besluttet å syntetisere regioisomerene av enkelte mettede C-16 og C-18 klorerte fettsyrer. Dette ble gjort ved å addere HCl og Cl₂(g) over dobbelt bindingene til henholdsvis *cis*-9-oktadekensäure, *cis,cis*-9,12-oktadekdiensäure samt 7-heksadekensäure.



3. Forkortelser

BCF = biokonsentreringsfaktor

POP = persistente organiske miljøgifter

PAH = polyaromatiske hydrokarboner

WHO = Verdens Helseorganisasjon

PCDD = polyklordibenzodioksin

PCDF = polyklordibenzofuran

DDT = *p,p'*-diklordifenyltrikloretan

PCB = polyklorert bifenyl

HCB = heksaklorbenzen

EOCl = ekstraherbart organisk bundet klor

CIFA = klorert fettsyre

GC = gasskromatografi

TLC = tyynsjiktkromatografi

DDE = *p,p'*-diklordifenyldikloretan

DDD = *p,p'*-diklordifenyl dietan

NILU = Norsk institutt for luftforskning

4. Begreper

Kjemisk persistens = motstandsdyktig mot konsentrert svovelsyre

Biokonsentrering = en direkte anrikning av forbindelser fra omgivelsene til organismen

Biomagnifisering = anrikning skjer kun via mat

Bioakkumulering = anrikning gjennom mat og omgivelser

Toksisitet = giftighet

Kongenere = forbindelser med samme grunnstruktur, men med ulikt antall kloratomer

Synergisme = enkeltvirkningen av to forbindelser øker sterkt ved en kombinert eksponering

Antagonisme = Enkeltvirkning av to forbindelser svekkes betydelig når begge er tilstede

Biokonsetreringsfaktor, BCF = beskriver anrikningsgraden i en akvatisk organisme

likevektskons. i organismen

BCF = gjennomsnittskons. i vann

Oktanol/vann-fordelingskoeffisienten, K_{OW}

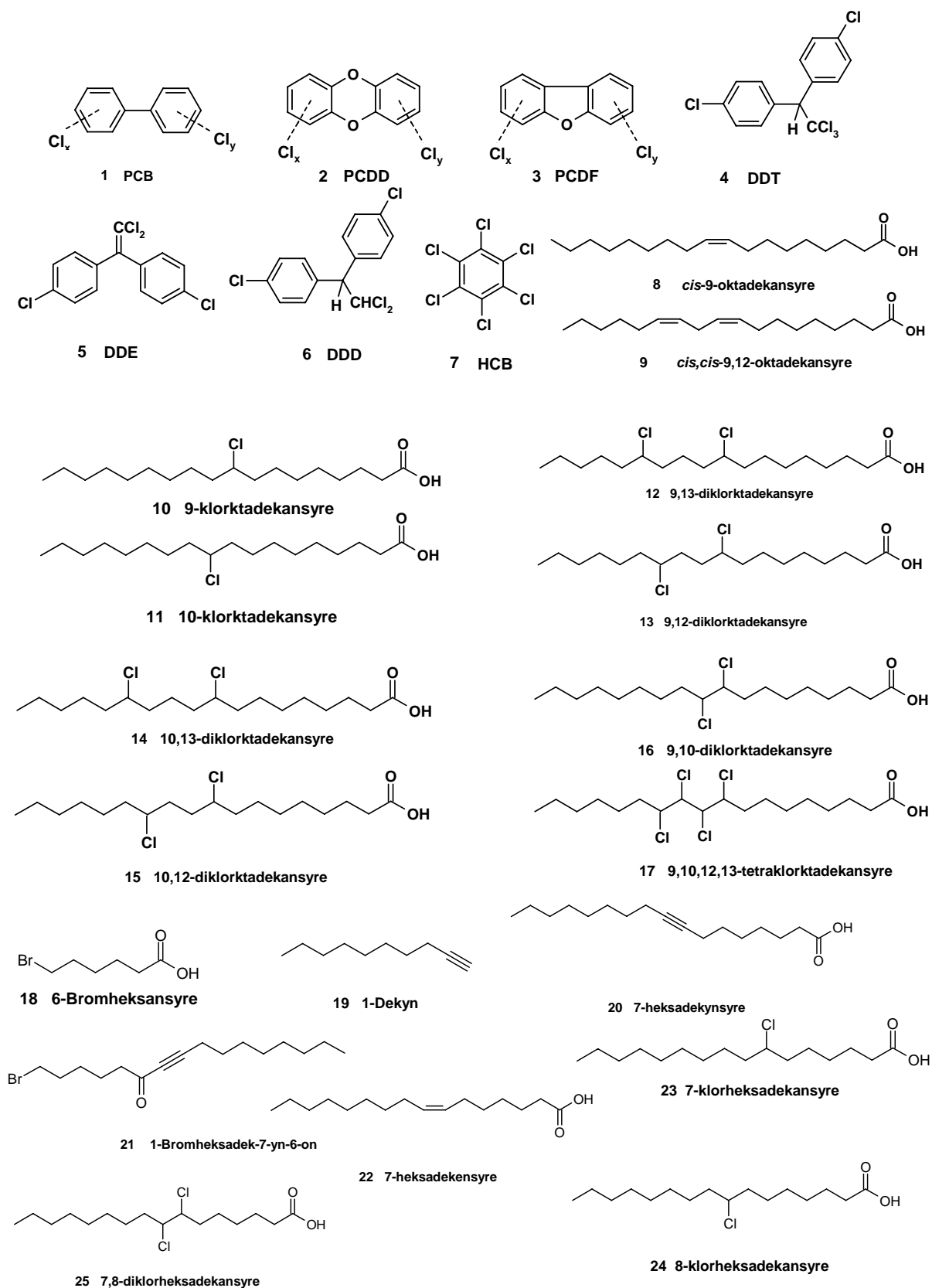
K_{OW} uttrykker fordelingsevnen av en forbindelse mellom en lipofil organisk fase og en vandig fase.

kons. i oktanolfasen

K_{OW} = kons. i vannfasen

En komponent regnes som hydrofil dersom $\log K_{OW} < 1$, og lipofil dersom $\log K_{OW} > 4$.

5. Forbindelser



6. Miljøgifter

6.1. Definisjon av miljøgifter

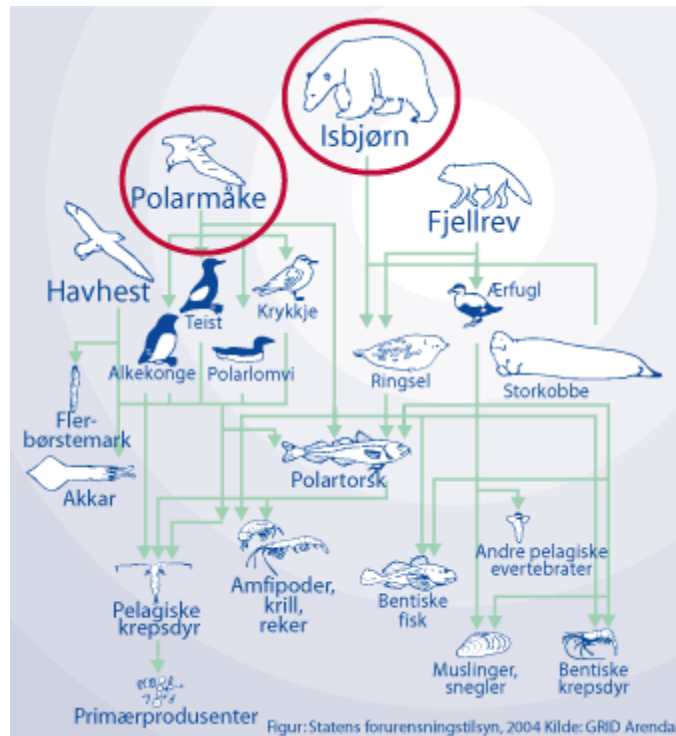
Statens forurensningstilsyn definerer miljøgifter som kjemikalier som er lite nedbrytbare (persistente), kan hoppe seg opp i levende organismer (bioakkumulere) og er giftige¹. Persistent blir som regel brukt om forbindelser som er motstadsdyktig ovenfor behandling med konsentrert svovelsyre².

6.2. Bioakkumulering av miljøgifter

Det som avgjør om et stoff akkumulerer i en organisme er forholdet mellom opptak og lagring samt omdanning, nedbrytning og eliminering. Ved lagring over lengre tid i lipider er det fare for at stoffet akkumulerer i næringskjeden eller blir overført til neste generasjon³.

Biokonsentreringsfaktoren, BCF brukes ofte for å beskrive bioakkumuleringen^{4,5}. Den beskriver anrikningsgraden av en miljøgift i en akvatisk organisme i forhold til konsentrasjonen i vann. Organismens lipidinnhold har en stor innflytelse på BCF fordi mange miljøgifter anrikes i lipidene. BCF kan dermed forenklet gi en rett linje ved plott mot lipidinnhold. K_{OW} ⁴ (Oktanolvann-fordelingskoeffisienten) beskriver fordelingssevnen av en miljøgift mellom en lipofil fase og en vandig fase, og $\log K_{OW}$ er et mål på hvor lett en forbindelse blir tatt opp av lipider. Forbindelser blir regnet som lipofile dersom $\log K_{OW} > 4$. BCF korrelerer også mot $\log K_{OW}$ og et plott mot den vil gi en tilnærmet rett linje.

Dersom et stoff blir akkumulert i en næringskjede kan hele kjeden være eksponert før effekten merkes og det kan ta lang tid før miljøet blir rent igjen. Før forbindelsen er ute av næringskjeden kan hele balansen i økosystemet ha rukket å bli forstyrret⁶. De forbindelsene som bioakkumuleres har normalt høyest konsentrasjon øverst i næringskjedene. Dette kan komme av at miljøgiftene som regel er fettløselige og lite nedbrytbare og at de kan lagres i fettvev hos organismer. Siden de er vanskelige å skille ut vil det oppstå en bioakkumulering av miljøgifter i organismen. Dyr lengre opp i næringskjeden risikerer dermed å få et større innhold av miljøgifter enn det byttedyret hadde og man ser at konsentrasjon av miljøgiftene som regel øker jo høyere opp i næringskjeden man kommer. Næringskjeder med tilknytning til marine miljøer har vist seg å ha størst konsentrasjon av miljøgifter. Dette tror man kommer av at disse næringskjedene her har flere ledd enn kjeder i andre økosystemer og man får dermed en større biomagnifisering i marine miljøer⁷. Hvor i næringskjeden skadevirkningene inntreffer er avhengig av hvilke toleransegrenser de forskjellige artene i næringskjedene har for den aktuelle miljøgiften. (Mulige skadevirkninger er også avhengig av om miljøgiften kan metaboliseres). Skadeeffekter forekommer normalt hos arter som kan metabolisere forbindelsene³. Selv de som i utgangspunktet er relativt ufarlige, kan metaboliseres til giftige eller mer persistente forbindelser. Det kan også oppstå synergistiske eller antagonistiske effekter mellom miljøgifter. Selv stoffer som har en positiv effekt på enkelte organismer kan være til skade fordi balansen i økosystemet blir forstyrret. Skader ved miljøgifter kan være akutt forgiftning eller av mer langvarig effekt som for eksempel kan føre til kreft⁷. Forgiftning kan også føre til biologiske forstyrrelse hos organismer. Disse forstyrrelsene kan være adferdsendring eller nedsatt forplantningsevne.



Figur 1: Bilde av mulige næringskjeder for miljøgifter i polare strøk. Hvor isbjørn og polarmåke er viktige miljøindikatorer for hvilke miljøgifter som er tilstede.

6.3. Transport av miljøgifter til polare områder

Miljøgiftene kan brytes ned men dette kan ta svært lang tid. Ekstra lang tid tar det som regel dersom de befinner seg i vann⁷. Dette fører til at de kan transporteres langt vekk fra der utslippet fant sted. For uberørte område som de polare områdene finnes det flere mulige transportveier av POP (persistente organiske miljøgifter). Disse kan være transport via atmosfæren, havstrømmer, trans polare isfjell samt via organismer fra andre klimasoner⁸. Viktigheten til de forskjellige transportrutene er avhengig av kjemikaliet selv, dets kjemiske egenskaper samt utslippsmengden i opphavområdet. Ved favoriserbare metrologiske forhold kan transport fra utslippspunktene og til Arktis skje på bare noen få dager og atmosfærisk transport til de polare områdene er trolig den viktigste transportveien. For transport i atmosfæren spiller lysforholdene en viktig rolle. Dette kommer av at man kan ha en fotokjemisk nedbrytning i atmosfæren så lenge det er lys, men denne nedbrytningen vil ikke finne sted i den delen av året sollyset ikke kommer fram. Denne sesongmessige variasjon av lysforholdene er av stor betydning for den fotokjemisk nedbrytning man observerer. Mangel på fotokjemisk nedbrytning er trolig årsaken til at flyktige og middels flyktige organiske forbindelser som 2- og 3 ringer av PAH (polyaromatiske hydrokarboner) hovedsakelig er observert på vinteren i Arktis⁸.

7. Polare områder

7.1. De siste uberørte villmarksområdene

De polare områdene er i utgangspunktet rene og karakteriseres ved lave temperaturer, store sesongmessige svingninger i temperatur, lav innfallsvinkel på sollyset, lite nedbør, permafrost og både permanent og sesongmessige tilfeller av is og snø. Det som blir regnet som de polare områdene er Arktis, Antarktis, Svalbard og Barentshavet⁷. Arktis er navnet på hav og landområdene rundt jordas Nordpol. Det finnes ingen absolutt grense for Arktis mot sør, men det er vanlig å bruke "10 °C isoterme" som grense. Dette er grensen der middeltemperaturen for juli er 10 °C, og den faller stort sett sammen med tregrensen mot nord. Der lavlandet dermed ikke har skog vil landskapet og klimaet få karakterer som kan betegnes som arktiske⁹. Øygruppen Svalbard og Jan Mayen tilhører den norske delen av Arktis⁷.



Figur 2: Landskapsbilde av Svalbard

Svalbard er en del av Norge etter Svalbardtraktaten, som ble undertegnet i Paris 9. februar 1920 men som ikke trådte i kraft før 14. august 1925, og gir Norge full og uinnskrenket suverenitet over Svalbard. Traktaten gir likevel andre stater omfattende rettigheter.

Til Svalbard som er en del av det norske Arktis hører Spitsbergen, Nordaustlandet, Barentsøya, Edgeøya, Kong Karls Land, Prins Karls Forland, Bjørnøya og alle de andre øyene man finner mellom 74° og 81° nordlig breddegrad og 10° og 35° østlig lengdegrad. Dette utgjør et landareal på omtrent 61.020 Km², som er omtrent like stort som Troms og Nordland til sammen⁷.



Figur 3: Bilde av Polarlomvi som hekker i stort antall ved Baretshavet

Det er i dag bare tillatt med miljøforsvarlig bosetting, forskning og næringsdrift på Svalbard grunnet svalbardmiljøloven som trådte i kraft 1.juli 2002. Loven har som mål å bevare Svalbard som et av de siste store villmarksområdene i Europa⁷.

Barentshavets dekker et område fra det dype norske havet i vest til Novaja Semlja i øst, og i sør fra kysten av Norge og Russland til ca. 80° nordlig breddegrad. Tilførselen av atlantisk vann fra sør er med på å gjøre dette område spesielt i forhold til de andre arktiske områder på samme breddegrad. Barentshavet er et de av rikeste havområdene når de gjelder hekkende sjøfugler. Så mange som 20 millioner sjøfugler har tilholdssted i Barentshavet ved sommertid⁸.



Figur 4: Kart over de øyene som hører til under øygruppen Svalbard

For de hav og landområdene man finner rundt jordas sydpol blir Antarktis brukt som en felles betegnelse. Dette er det kaldeste og mest forblåste kontinentet man kan finne på jorda. Største

delen av kontinentet finner man sør for 70° sørlig breddegrad, men det er vanskelig å finne en klar grense for Antarktis mot nord. En av de mest egnede grenselinjene synes å være ”den arktiske konvergens”, som er skille i havoverflaten mellom det kalde polarvannet og varmere vann fra lavere breddegrader. Rundt kontinentet ligger Sørishavet og isolerer Antarktis fra de øvrige kontinentene. Den gjennomsnittlige høyden til kontinentet er 2500 meter over havet og 99 % av kontinentet er dekket med is.

Den lave solstrålingen om vinteren, evnen isen har til å reflektere solstrålingen samt kjøle-effekten av langbølgestråling fra kontinentet og høyden er årsaker til den lave temperaturen på Antarktis. I 1983 på den sovjetiske stasjon Vostok i vest-Antarktisk ble temperaturen målt til -89,6 °C, som er den laveste temperaturen som noen gang er målt på jorda^{8,10}.



Figur 5: Bilde fra jords kaldeste kontinent Antarktis

7.2. Miljøgifter i de polare områdene

Det blir brukt, lagret og produsert lite miljøgifter i disse områdene, og det generelle nivået av miljøgifter her er fortsatt lavere enn det man finner i Østersjøen og i Nordsjøen. Så disse miljøene er fortsatt av de reneste man finner på jorda, men de polare områdene er ikke like uberørt som det de en gang var. Det er nå funnet spor av miljøgifter i alle de polare miljøene og økosystemene, både i luften, i jord og sedimenter, i snø og is, i sjøvann og ferskvann, i fugler, i dyr og i mennesker⁸. I noen arter, økosystemer og befolkningsgrupper har det blitt funnet såpass høye konsentrasjoner av visse typer miljøgifter at det har skapt bekymring hos forskere. Årsaken til dette skyldes enten fysiske egenskaper i de polare miljøene eller spesielle trekk hos polare organismer og økosystemer. Viktige nedbrytningsmekanismer av klor organiske forbindelser er kjemisk oksidasjon, mikrobielle nedbrytningsmekanismer (den mikrobielle aktiviteten øker med økende temperatur og fuktighet i klima) og lys-induserte transformasjoner, og¹¹. Dette kan dermed være en årsak til at forbindelser som brytes ned mikrobielt i tempererte strøk ikke brytes ned eller brytes ned sakte i polare områder, da disse områdene er både kaldere og mørkere enn mange andre miljøer på jorda.

Man kan generelt dele miljøgiftene i de polare områder inn i to grupper:

Disse to gruppene er tungmetaller og persistente organiske miljøgifter (POP)⁸.

Det er POP som skal diskuteres nærmere videre i oppgaven, men først bare kort om tungmetallene som har vært mest studert i disse områdene.

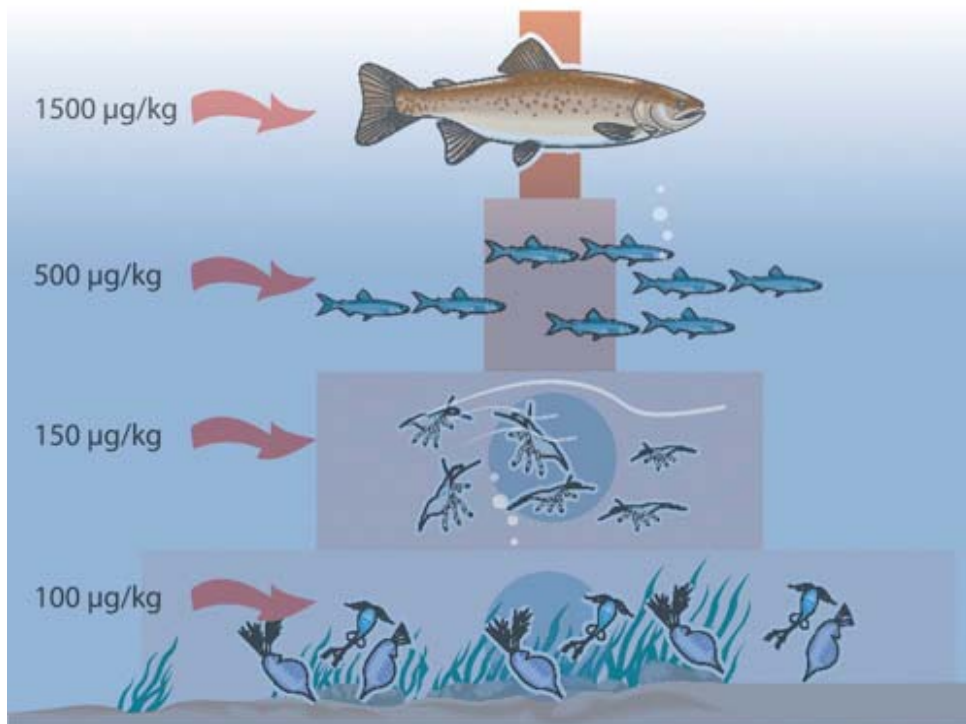
7.2.1. Tungmetaller

Tungmetaller finnes naturlig i naturen men blir også tilført i store mengder gjennom menneskelig aktivitet. De er metalliske grunnstoffer som inngår i flere kjemiske forbindelser og kan ha negative virkninger på dyr og mennesker. I de polare miljøene har særlig kvikksølv, bly og kadmium vært studert.^{1,12}

7.2.1.1. Kvikksølv

Kvikksølv er fortsatt i bruk hos tannleger til amalgamfyllinger men forbruket er sterkt synkende. Det blir også brukt i enkelte måleinstrumenter som blodtrykksmålere, barometre, noen termometre, lysstoffrør og sparepærer.

I naturen finner man kvikksølv som regel sterkt bundet til sedimenter og organiske materialer. Der det for eksempel kan bli omdannet til giftig fettløselig metylkvikksølv, som kan tas opp av planter og dyr. Disse forbindelsene kan selv i meget små konsentrasjoner gi kroniske giftvirkninger. De vil akkumulere og oppkonsentreres oppover i næringskjeder og av den grunn derfor være mest skadelig for organismer på toppen av disse. De vil de kunne forårsake skader på nervesystem, nyreskader og kontaktallergi, og Foster kan også få skader som følge høye av nivåer i mors blod av forbindelsene. Giftvirkningene av tungmetallet vil være til stede i næringskjeden lenge etter at det har blitt tatt opp grunnet den lange biologiske halveringstiden^{1,12}.



Figur 6: Illustrasjon av kvikksølv oppkonsentrering i et ferskvann med ørret på toppen av næringskjeden.

I Arktis er kvikksølvnivået spesielt høyt grunnet langtransport med hav- og luftstrømmer. Mye av forurensningen kommer via luftstrømmer fra Asia, Nord-Amerika og Europa. Inuitbefolkningen som lever av fet fisk, sel og hval på Grønland og nordvest Canada har muligens derfor et høyere inntak av metylkvikksølv enn det WHO

(Verdens Helseorganisasjon) anbefaler. Dette tror man kan forklare hvorfor det fødes flere barn enn normalt med lærevansker i disse områdene¹.

7.2.1.2. Bly

Overgangen til bensin med mindre mengder eller uten bly er en stor årsak til at utslippene har blitt drastisk redusert siden 80-tallet. I dag finner man bly mest i batterier og akkumulatorer, men disse medfører ikke et vesentlig utslipp til naturen grunnet gjenvinningen av disse. I 2003 kom største parten av utslippet til naturen fra ammunisjon. Det kom dermed fra 1. januar 2005 en lov som gjorde all produksjon, import, eksport, omsetning og bruk av blyhagel forbudt.

Mennesker og dyr i polare strøk blir hovedsakelig eksponert for bly gjennom forurenset luft ført med luftstrømmene. Der det kan akkumulere i pattedyr og fisk ved langvarig eksponering. For mange organismer vil selv små konsentrasjoner gi en kronisk giftvirkning mens det for vannlevende organismer og pattedyr har en akutt giftig effekt. Kroniske skadevirkninger forårsaket av forgiftning kan være nevrotoksiske og immunologiske virkninger samt mulige skader på det bloddannende systemet hos varmblodige dyr. Bly kan også føre til redusert forplantningsevnen og skader på foster. Man har også en mistanke om at barn som blir eksponert ovenfor bly kan få sin intellektuelle utvikling hemmet^{1,12}.

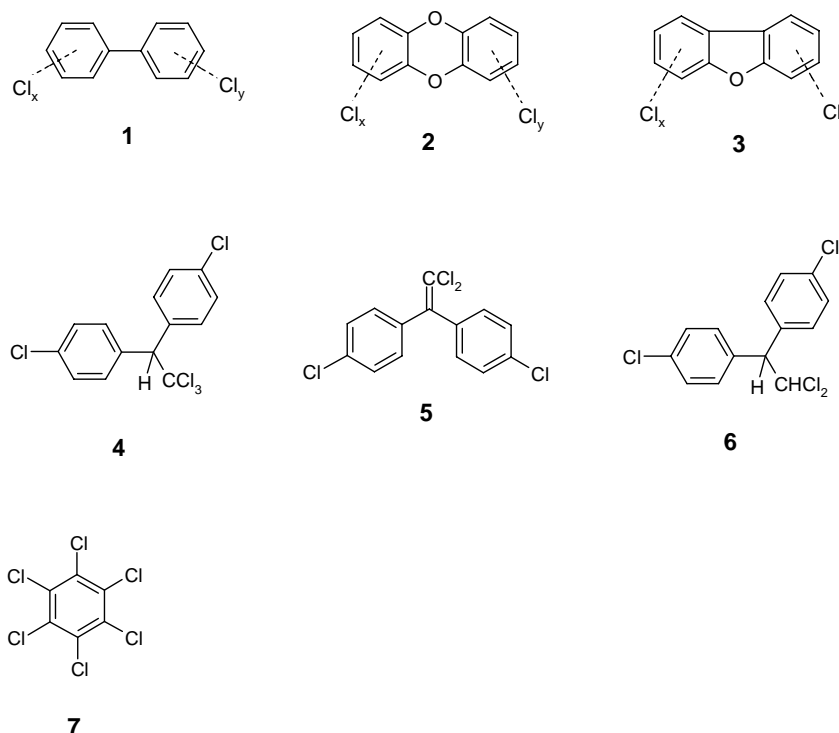
7.2.1.3. Kadmium

I 2003 var det største bruksområdet for kadmium oppladbare nikkel-kadmium batterier. Denne type batterier fant man i mobiltelefoner og i mange andre elektriske artikler med oppladbare batterier. Man er nå gått mer over til nikkel-metall hydrid (NiMH) batterier i mange elektriske artikler. Kadmium er også mye brukt til overflatebehandling av enkelte produkttyper, men finnes også som naturlig forurensing i mineralgjødsel, fossile brensler og enkelte sinkprodukter.

For vannlevende organismer vil kadmiumforbindelser være sterkt akutt giftige, (dette gjelder spesielt i ferskvann), samt akutt giftige for pattedyr. Miljøet er spesielt sårbart ovenfor kadmium ved lav pH og lav hardhet i vassdrag. Forbindelsene vil kunne forårsake skader i fisk og pattedyr lenge etter at det har blitt tatt opp i næringskjeden, hvilket Dette kommer av at de kan bioakkumulere og har lang halveringstid. Selv i små konsentrasjoner kan de forårsake kroniske giftvirkninger for mange organismer. Et høyt nivå av kadmium kan føre til deformasjon av skjelletet grunnet konkurranse med kalsium i kroppen. Hos pattedyr kan det hope seg opp i nyrene og forårsake kroniske nyreskader. Lungene kan også bli skadet ved innånding og mange av kadmiumforbindelsene er også kreftfremkallende^{1,12}.

7.2.2. POP

Disse forbindelsene har vanligvis en eller flere ringer, enten aromatiske (PAH) eller alifatiske, mangler ofte en polar funksjonell gruppe, og har et varierende antall halogensubstituenten (mest vanlig er klor). Molekylvekten er vanligvis i området 200-500 g/mol. Disse kriteriene er ikke oppfylt for alle POP, men de beskriver en typisk POP¹.



Figur 7: strukturen til noen POP. **1:** PCB, Polyklorert bifenylyl $x=0-5, y=0-5$. **2:** PCDD, Polykloridibenzodioksin, $x=0-4, y=0-4$. **3:** PCDF, Polykloridibenzofuran, $x=0-4, y=0-4$. **4:** DDT, p,p'-diklordifenyiltrikloretan. **5:** DDE, p,p'-diklordifenyldikloretan. **6:** DDD, p,p'-diklordifenyldietan. **7:** HCB, Heksaklorbezen.

Persistente organiske miljøgifter kjennetegnes ved at de er giftige og/eller lite nedbrytbare samt at de bioakkumulerer i organismer¹. Persistens er så definerende for POP at det derfor en del av navnet til denne type forbindelser. Mange har en halveringstid i atmosfæren på flere dager eller uker, som fører til at denne typen forbindelser kan transporteres langt av vekk fra der selve forurensingen/utslippet fant sted¹³. Man tror de er en årsak til svekking av immunforsvaret hos dyr i polare strøk.

Som man ser av **figur 7** finnes det mange forskjellige POP, og det blir brukt som en samlebetegnelse for mange ulike miljøgifter, som blant annet klorerte organiske forbindelser, insektmidler, industrielle kjemikalier, og visse biprodukter av forbrenning. De polare områdene fungerer på mange måter som en indikator for miljøgiftene. Dette kommer av at finner man dem her er det er det en indikasjon på at stoffet er lite nedbrytbart samt at det kan transporteres langt. Vannløseligheten, damptrykket og fordeling av forbindelsen i jord/luft/vann/snø og is er med på å avgjøre spredningen. Stabiliteten, levetiden i miljøet samt toksisiteten til forbindelsene er blant annet avhengig av substitusjonsmønsteret og kloreringsgraden. Strukturen vil også være med på å påvirke graden av opptak, metabolisering, eliminering og nedbrytning. I tillegg kan man få synergistiske og antagonistiske effekter, både mellom kongenerer (som er forbindelser med samme struktur men med ulikt antall kloratomer) og mellom andre miljøgifter. Siden ulike arter har forskjellige evner til å omdanne kongenerer vil den sammensetningen man finner i organismer avvike fra sammensetningen man finner i tekniske blandinger.

Noen av de POP man finner i fettvevet til organismer i polare strøk er DDT **4**, PCB **1**, HCB **7**, PCDD **2**, PCDF **3** og toksafen. DDT **4** og HCB **7** ble produsert for bekjempelse av insekter³. DDT **4** ble introdusert for verden under den 2. verdenskrigen, og der ble det brukt til å beskytte de militære og sivile mot spredning av malaria¹⁴. Etter krigen ble det tatt i bruk som insektmiddel siden det drepte insekter effektivt men var lite toksiske for mennesker. Siden

den gang har det blitt brukt atskillelige tonn med forbindelsen på verdensbasis. I miljøet blir det brutt ned til metabolittene DDE **5** og DDD **6**, som også er tilstede i de polare miljøene, og er mer persistente enn selve utgangstoffet^{14,15}. Både DDT **4** og metabolittene har høy fettløselighet, og dette fører til at de kan lagres i fettvevet hos fisk, fugler og pattedyr. Oppsamling av **4** over tid i organismer kan forårsake forstyrrelser av reproduksjonssystemet. Man har blant annet bevist at metabolitten **5** var årsaken til tynning av fugleegg på 1970- og 1980 tallet¹⁵.

HCB **7** er et biprodukt man får ved produksjon av karbon tetraklorid, perkloretylen, trikloretylen og pentakloretylen. Det er som mange andre miljøgifter uløselig i vann, men løselig i organiske løsemidler og er en forbindelse som er veldig motstandsdyktig mot nedbrytning, kan føre til at det biokonsentrerer seg i fett til levende organismer.

Toksafen består av en kompleks blanding av kjemikalier hvor blant annet polyklorerte kamfener inngår^{14,16}. Det har aldri vært benyttet i Norge, og ble forbudt i USA fra 1982, men brukes fortsatt den dag i dag i mellom-Amerika, øst-Europa samt det tidligere Sovjetunion, og er nå spredd over hele kloden. Det er først og fremst en miljøgift som påvirker nervesystemet, men det er også blitt påvist at det kan påvirke lever, nyrer, immunforsvaret samt utviklingen til avkom¹⁵.

Både **2** og **3** er biprodukter man får ved mange kjemiske industrielle prosesser. Polyklorert dibenzo-p-dioxin (dioxin, PCDD) og polyklorert dibenzofuran (furan, PCDF) er plane trisykliske etere som har opptil 8 klor atomer festet til karbon 1-4 og 6-9. Dette gjør at det finnes 75 mulige kongenerer av **2** og 135 mulige kongenerer av **3**, som vil si at det tilsammen finnes 210 mulige kongenerer av disse. Begge er uønskede biprodukter ved mange kjemiske industrielle prosesser. De er funnet i alle miljøene på kloden som en følge av langtransport og at de er kjemisk og biologisk stabile. De vil derfor kunne akkumulere i fettvevet til organismer¹⁴.

Polyklorerte bifenyler **1** er en klasse som består av 209 forskjellige kongenerer, som har fra 1-10 klor bundet til seg¹⁴. Den toksiske effekten er blant annet avhengig av kloreringsgraden samt i hvilke posisjoner kloratomene sitter. Non-orto og mono-orto substituerte bifenyler er blant de mest toksiske kongenerene¹¹. Det er fram til i dag blitt påvist ca.100 kongenerer i biologisk materiale¹⁵. Disse kan bioakkumulere i fettvev da de brytes sakte ned i organismer. Man kan dermed få en oppkonsentrering oppover i næringskjeden av disse. De har en høy toksisk effekt ovenfor marine organismer, og i organismer kan de føre til reproduksjons problemer samt nedsettelse av immunforsvaret. Lavklorerte kongenerer kan gi mutagene effekter og DNA skader^{6,11}.

7.3. Klorerte fettsyrer

Klorerte fettsyrer står for mesteparten av det ekstraherbare organisk bundne klor (EOCl) i fisk og andre miljøprøver. Så mye som 90 % av EOCl i fisk er i form av CIFA (klorerte fettsyrer)¹⁷. De kan forekomme naturlig, men høye forekomster av disse er forbundet direkte med utslipp av blekemidler, eller indirekte gjennom det at de kan bli dannet gjennom metabolisme fra andre klorerte organiske forbindelser. Selv om de kan forekomme naturlig er det antatt at en økt forekomst i nærheten av industriområder er relatert til forurensing fra klorerte forbindelser^{17,18,19}. En sterk indikator på dette er at antall identifiserte CIFA og konsentrasjon av disse i samme fiskearter på forskjellige plasser^{17,20,21}. De er ikke persistente mot sterke oksiderende forbindelser slik som for eksempel de klorerte forbindelsene **1** og **4**.

Klorerte fettsyrer er dermed ikke persistente slik som ”tradisjonelle” miljøgifter, men de kan likevel bli sett på som biologiske stabile i og med at de kan bli inkorporert i fettvev og membranlipider, hvor de kan dermed bli akkumulert i en organisme og overført fra byttedyr til byttedyr oppover i næringskjeden. Evnen de har til å bli ”overført” fra ledd til ledd i næringskjeder gjør at man kan beskrive de som ”biologisk stabile” og det kan være like viktig for oppholdstiden i økosystemet som kjemisk stabilitet er for **1** og **4**.

Behandlingen av drikkevann med ClO_2 eller HOCl er eksempler på menneskeskapt opphav til CIFA²². Det er blitt påvist at det blir dannet klorhydriner av umettede fettsyrer, som en følge av at drikkevann blir behandlet med HOCl ^{22,28,29}. Umettede fettsyrer blir raskt klorert under slike forhold og opptaket av klor vil være proporsjonalt med antall dobbeltbindinger i molekylet²³. Den største identifiserte kilden til klorerte forbindelser er papirindustrien²⁴. Selv om blekemidler fra papirindustrien vil føre til CIFA er det ikke sannsynlig at blekemidler vil bli tatt opp av akvatiske organismer direkte. Dette kommer av at biokonsentrasjon er så lav²⁵. Viktigere er da virkningen mengden av alle klorerte forbindelser som fører til forurensinger i økosystemet. Forurensingene av klorerte forbindelser kan være basisen for dannelsen av CIFA ved at klorerte forbindelser blir brutt ned i høyerestående organismer²⁶. Nedbrytningen av **4** ved hjelp av ultra-violet lys i nærvær av fettsyrer kan resultere i dannelsen av klorerte fettsyrer ved at klor fra **4** binder seg til fettsyrene²⁷. Veien om bakterier og inn i den akvatiske næringskjeden kan i tillegg til dannelse i organismer være en mulig vei inn i næringskjeder, fordi det har blitt vist at bakterier kan metabolisere klorerte alkaner over til klorerte fettsyrer. Man bør derfor ta med den bakterielle dannelsen av disse i fiske mager og tarmer ved betraktning av bakteriell dannelse av klorerte fettsyrer fra klorerte alkaner eller andre forbindelser^{30,31}.

Klorerte fettsyrer ser ikke ut til å påvirke organismer på samme måte som ”tradisjonelle” organiske miljøgifter gjør. Dette siden det ser ut til at de akkumuleres i organismen på samme måte som uklorerte analoge gjør. Visse mikroorganismer kan inkorporere disse inn i cellulære fosfolipider^{36,37}. Det er også gjort observasjoner som tyder på at fisk kan inkorporere dem inn i både triacylglyserol og fosfolipider³⁸. Membranfunksjoner kan bli forstyrret når de er inkorporert i membran istedenfor ordinære fettsyrer. Dette kan komme av at de klorerte fettsyrene ikke har samme konformasjon som disse. Det er blitt observert at de i membranlipider kan øke membranpermeabiliteten. Dette kommer trolig av størrelsen til kloratomet og intraksjoner mellom CIFA og andre membranlipider³⁹. Forstyrrelsene de forårsaker i membransystemet ser ut til å være spesielt tydelige ved reproduksjonsrelaterte prosesser⁴⁰. De er trolig harmløst så lenge det er inkorporert i fettvev og blir trolig først skadelig når fettsyrene trengs for energi i organismen, og den klorerte delen blir frigjort. På grunn av det store kloratomet kan en fullstendig enzymatisk kløyving ved β -oksidasjon, som er før den energi utvinnende Krebs syklusen bli hindret¹⁹. Fisk viser en akkumulering av klorert myristinsyre. Dette kan komme som en følge av at en videre fragmentering er forhindret av kloratomet^{32,33}. Dermed vil disse fettsyrene antageligvis gi mindre energi til en organisme enn uklorerte fettsyrer vil. I veldig forurensede område kan så mye som 1 % av den totale mengden fettsyrer i organismen være klorert³⁴. Dersom det stemmer at klorerte fettsyrer gir mindre energi enn uklorert fettsyrer så vil dette påvirke formen til organismen gjennom at energien som er lagret i fettvevet vil være mindre³⁵. Noen av de klorerte fettsyrene man har funnet i fisk er allerede blitt identifisert⁴¹, men man trenger standarder for å være i stand til å kunne identifisere ytterligere klorerte fettsyrer og studere eventuelle skadevirkninger av disse.

8. Synteseveier

Man kan i grove trekk syntetisere standardene etter to formål. Det to formålene man kan lage standardene etter er om man ønsker kvalitativ eller kvantitativ bestemmelse av de klorerte fettsyrene. Ønsker man å bestemme mengden (kvantitativ) av de forskjellige syrene bør man ha standarder med bare en forbindelse og med en høy renhet. Er dette er målet med standardene bør man ikke velge en syntesevei som fører fram til en blanding av ClFA. Dersom det er vanskelig å separere de forskjellige syrene fra hverandre eller dersom det er vanskelig å rense dem opp til ønsket renhet. Skal standardene derimot brukes til identifikasjon trenger de ikke ha den samme renheten. Dette på grunn av at man da bare er interessert i å få kromatogram med forbindelser, som kan brukes til avkreftelse eller bekreftelse på at et stoff befinner seg i prøven. Dette betyr at man da kan velge en syntese vei som fører til en blanding av produkter, og man vil dermed raskere kunne si noe om hvilke type forbindelser prøven inneholder.

8.1. Syntesevei for gjenkjennelse av ClFA

Her vet man at man vil finne igjen noen av disse mettede ClFA forbindelsene i fisk, men man vet ikke nok om hvilke andre mettede ClFA man eventuelt kan regne med å påvise i fisk. Det ble derfor valgt å syntetisere standardene etter en metode som gav en blanding av produkter.

Det gjør ikke noe her at standarden består av en produktblanding så lenge denne er ”ren”, og at man vet hvilke produkter det er man har en blanding av. Slik kan man raskt identifisere hvilke type klorerte fettsyrer man finner igjen og dermed hvilke det vil være aktuelt å lage standarder for mengde bestemmelse til. På denne måten kan man spare mye tid å penger framfor å syntetisere hvert produkt gjennom en selektiv syntesevei.

Det ble her syntetisert standarder bestående av en blanding av forskjellige mettede ClFA. Denne blandingen bestod av 2-4 av de ønskede klorerte fettsyrene. Denne produktblandingen fikk man ved å uselektivt addere HCl over dobbeltbindingene i en umettet fettsyre. Bare for de syntesene der $\text{Cl}_2(\text{g})$ blir tilsatt en umettet fettsyre fikk man en regioisomer av produktet.

For de enumettede fettsyrene fikk man ved reaksjon med HCl to regioisomerer i produktet, og det ville bli dannet rasemat av begge regioisomerene. Ved at kloratomet kunne angripe det sekundære karbokationet fra begge sider **skjema 1** på side 26. Produktblandingen ville inneholde like mye av begge regioisomerene da det er like sannsynlig at klor binder seg til begge karbonatomene. På grunn av at et ”angrep” fra begge sidene på det sekundære karbokationet også er like sannsynlig vil det være like mye av *S* og *R* isomerene tilstede i blandingen.

For den umettede fettsyren **9** med to dobbeltbindinger vil det være akkurat det samme prinsippet. At alle regioisomerene blir dannet i like forhold og at det *R* og *S* isomerer av en regioisomer er begge er like sannsynlig.

For de diklorerte fettsyrene vil so sagt bare få en regioisomer til produkt, men det vil dannes to stereoisomerer som man vil få like mye av i blandingen. Ved klorering av **9** fikk man også bare en regioisomer, men man vil også her få like store mengder av stereoisomerene.

8.2. Selektiv syntese

Det er vanskelig å få inn et klor selektivt i en fettsyre ved å addere det over en dobbeltbinding. Dette kommer av at begge karbonatomene er alt for like der de er på den alifatiske kjeden, og et kloratom har dermed ikke noen grunn til å binde seg til et bestemt karbon.

En måte å syntetisere en bestemt regioisomer på er ved å sørge for å få en funksjonell gruppe i en bestemt posisjon, og deretter omgjøre den til et kloratom. En funksjonell gruppe kan man få i en bestemt posisjon ved å bygge opp molekylet fra flere forskjellige biter ved å danne karbon karbon bindinger mellom dem. Det kan man gjøre ved å la et nuklofilt karbon på et molekyl reagere med et elektrofilt karbon på et annet molekyl slik at man tilslutt får den funksjonelle gruppen i den ønskede posisjon, og deretter gjøre den om til et kloratom.

Men man kan fremdels få rasemat av en bestemt regioisomer. Så dersom man er ute etter bare en bestemt stereoisomer så må man i tillegg passe på stereokjemi under syntesen å det kan man gjøre ved å bruke rene optisk rene utgangsmolekyler og reagens.

9. Forbindelser

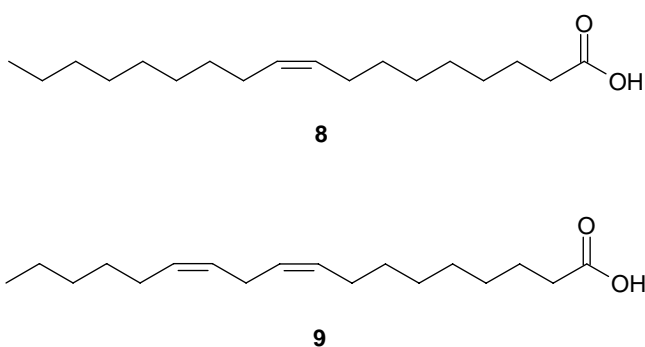
Pattedyr kan ikke biosyntetisere visse umettede fettsyrene på egen hånd, og er dermed avhengig av å få dem inn gjennom maten de inntar. Fisk representerer en viktig og uerstattelig kilde for disse umettede fettsyrene, som er bundet som triacylglyserol (TAG) i fettvev og fosfolipider i membranlipider⁴⁰. Samtidig vet man at opptil 90 % av EOCl i fisk og andre akvatiske organismer finnes i form av CIFA. Siden de er så lik de naturlige forbindelsene vil de taes opp gjennom næringskjeden, men de vil trolig ikke nedbrytes eller metaboliseres på lik linje med de naturlige anlogene². De er det man kan kalle miljøpersistente ved at de ikke nedbrytes eller metaboliseres på vanlig måte, og man vil derfor få en akkumulering av klorerte fettsyrer i organismen. På grunn av dette er mennesker og andre pattedyr på toppen av næringskjeder tilknyttet det marine miljøet veldig utsatt for å få relativt store verdier i seg⁷.

Man vet ikke nok om hvilke klorerte fettsyrer man kan forvente å finne i akvatiske organismer. Våre samarbeidspartnere på NILU kom derfor med forslag til hvilke substanser det ville være av interesse å få standarder av. Dette var i hovedsak C-16 og C-18 fettsyrer med ulik grad av klorering og metning. Vise klorhydroksy fettsyrer ville det også være av interesse å lage standarder av da man vet at de forekommer.

9.1. Mettede CIFA

Det er blitt påvist tilstedeværelsen av enkelte mettede CIFA i fisk. Diklorstearinsyre, diklormyristinsyre og diklorpalmitinsyre er blant annet blitt påvist i fisk. For å kunne påvise tilstedeværelsen til ytterligere CIFA er det dermed et stort behov for å lage flere standarder av ulike mettede CIFA forbindelser. Man forsøkte først å syntetisere de ønskede C-18 klorerte fettsyrene, fordi man kunne få kjøpe de umettede analogene av disse, men ikke de umettede analogene til de klorerte C-16 syrene.

9.1.1. Mettede C-18 CLFA

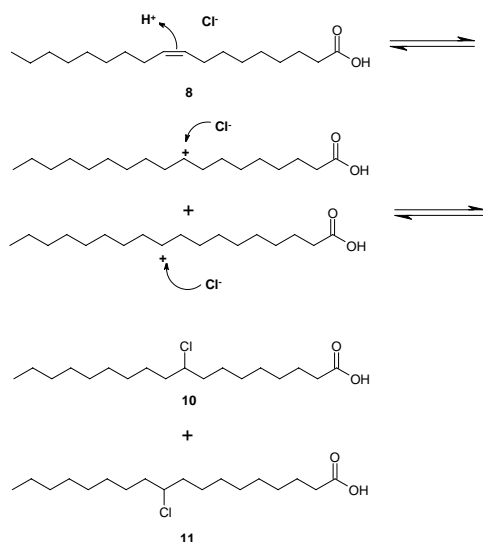


Figur 8: Strukturen til *cis*-9-oktadekensyre **8** og *cis,cis*-9,12-oktadekadiensyre **9**

Samarbeidspartnerne våre på NILU hadde 9-kloroktadekansyre **10**, 10-kloroktadekansyre **11**, 9,10-dikloroktadekansyre **16**, og visse andre diklorerte C-18 syrer samt 9,10,12,13-tetrakloroktadekansyre **17** som forslag til mettede C-18 CLFA. De monoklorerte fettsyrene kunne man syntetisere rasematene av med HCl, dersom man har en MUFA (enumettet fettsyre) med dobbeltbindingen i 9 posisjon. Man ville også kunne syntetisere rasematet av 9,10-dikloroktadekansyre med en slik fettsyre. Det ble derfor undersøkt om man kunne kjøpe den umettede fettsyren, og man fant ut at man kunne få kjøpt

både *cis*- og *trans*-formen. Da samarbeidspartnerne våre ikke var ute etter en bestemt stereokjemi på produktet ble det besluttet å kjøpe inn *cis*-9-oktadekansyre **8** fra Larodan Fine Chemicals. Dette fordi den var betydelig billigere enn *trans*-formen. *Cis,cis*-9,12-oktadekdiensyre **9** fra Larodan Fine Chemicals ble også kjøpt inn da man fra denne flerumettede syren kunne gjøre rasemtene av 9,10,12,13-tetrakloroktadekansyre samt fire forskjellige rasemat produkter ved addering av HCl over dobbeltbindingene.

9.1.1.1. 9/10-kloroktadekansyre

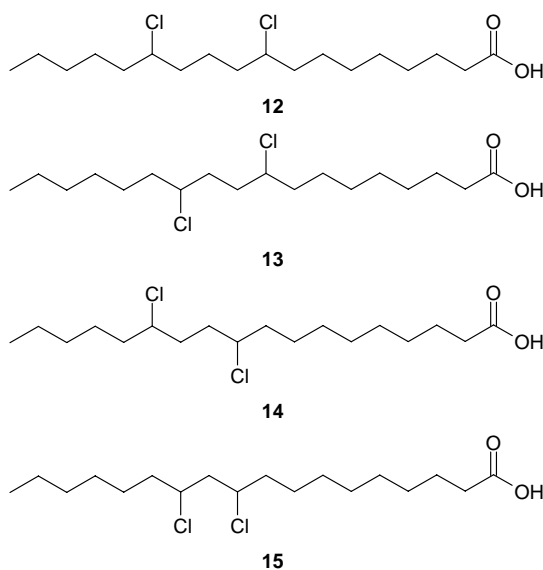


Skjema 1: Reaksjonsmekanismen for dannelse av rasematen til 9-kloroktadekansyre **10** og 10-kloroktadekasyre **11** fra fettsyre **8**. Begge blir rasemat da klor kan angripe fra begge sidene i hvert tilfelle.

I det første syntese forsøket ble det brukt diklormetan mettet med HCl(g). Hvor luft først hadde blitt fjernet ved å boble N₂(g) gjennom løsningen. Deretter mettet med HCl(g) ved å la gassen boble gjennom løsningen. Deretter ble fettsyren **8** tilsatt den mettede diklormetan løsningen, og satt til røring ved romtemperatur i 30 min.. Reaksjon ble fulgt med GC underveis, men man kunne ikke se tegn til reaksjon. Kromatogrammene viste at det bare var startmaterial tilstede. Løsningen derfor satt til reflux i 1 time. GC kromatogrammet viste fortsatt bare startmaterial. Det ble det derfor besluttet å prøve en annen metode for å syntetisere de klorerte fettsyrene **10** og **11**.

Syntesene ble utført etter metoden i en artikkel^{44,45} skrevet av Frøyen og Skramstad, som kunne visse seg å være en god måte å addere HCl over en dobbeltbinding på. Fettsyren **8** ble løst i dietyl eter og HCl(g) ble boblet ned i løsningen ved -78°C. Hvor det ble dannet HCl eterat som fikk reagere med **8**. Reaksjon fikk komme til romtemperatur etter en time ved -78°C. GC kromatogrammet av produktet viste at bare startmaterial var tilstede. Dette ble sjekket ved å tilsette litt av fettsyre **8** til prøven. HCl(g) ble derfor boblet ned i reaksjonskolen ved -78°C pånytt for å danne HCl eterat. Etter dannelsen av HCl eterat fikk reaksjon stå 90 minutter ved -78°C før den sakte fikk komme tilbake til romtemperatur. GC kromatogrammet viste denne gangen at det hadde blitt dannet et nytt stoff. MS kromatogrammet viste topp ved 282,6, som kan indikere M⁺-36 ved tap av HCl gjennom 1,3 eliminasjon. ¹H NMR og ¹³C NMR viste heller ikke tegn til dobbeltbinding lenger.

9.1.1.2. 9,13-/9,12-/10,13-/10,12-dikloroktadekansyre

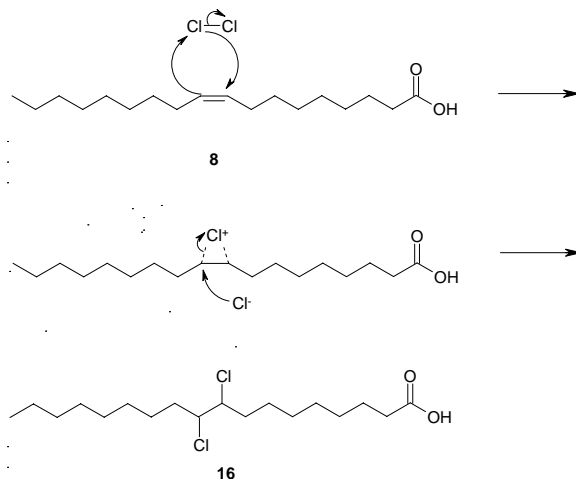


Figur 9: strukturen til de ClFA man får ved addisjon av HCl over dobbeltbindingene til **9**.
9,13-dikloroktadekansyre **12**, 9,12-dikloroktadekansyre **13**, 10,13-dikloroktadekansyre **14** og
10,12-dikloroktadekansyre **15**.

Disse diklorerte fettsyrene har samme reaksjonsmekanisme som dannelsen av fettsyren **10** og **11** fra **8** vist i **Skjema 1**, bare at nå adderes to HCl til fettsyren **9** istedenfor ett HCl.

Samme metoden som for **10** og **11** ble brukt der det først ble dannet HCl eterat, som fikk reagere med **9**. GC viste at det hadde skjedd en reaksjon, men fikk ikke reaksjon til å gå helt ut. Fikk to nye topper i kromatogrammet, og sammenligning av retensjonstiden til fettsyrene **10**, **11** og **9** tydet på at man hadde fått en substans med et kloratom og en substans med to kloratom. MS hadde flere partallstopper, og disse kunne tydet på at det var dobbelt binding tilstede i produktet gjennom McLafferty omlering. Det kunne dermed tyde på at det var blitt dannet en umettet klorert fettsyre og en diklorert fettsyre. Det virket som om addisjon av den andre ekvivalenten av HCl til fettsyren ble hemmet etter den første addisjon. Da reaksjon nå virket til å gå tregere enn addisjon av HCl til fettsyren **8**.

9.1.1.3 9,10-dikloroktadekansyre



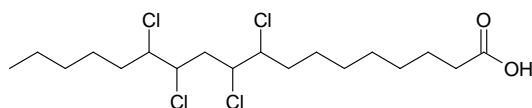
Skjema 2: Reaksjonsmekanisme dannelse av 9,10-dikloroktadekansyre **16** fra addering av Cl_2 (g) til **8**.

Klor blir addert anti over en dobbeltbinding og det kommer av at det først blir dannet et kloronium ion intermediat, og det siste kloratomet må angripe karbonet fra motsatt side av dette kloratomet. Man får derfor en anti addisjon over dobbeltbindingen.

I det første syntese forsøket ble fettsyren **8** løst i diklormetan og $\text{Cl}_2(\text{g})$ ble boblet gjennom løsningen i 30 minutter. H_2O_2 ble brukt til å nøytralisere klogassen, som hadde boblet gjennom reaksjonskolben. Løsningen fikk gul farge, og det ble ikke tolket til at produktet var dannet ut fra GC kromatogrammet. Det viste bare en hel masse topper, og det kunne tyde på at man hadde fått en hel rekke med forskjellige klorerte fettsyrer. Grunn til dette kan være at det hadde blitt dannet klorradikaler ved at lys komme til reaksjonskolben, og man av den grunn muligens hadde fått inn mange klor i molekylet.

Da det ikke ble tolket til at 9,10-dikloroktandekansyre **16** hadde blitt dannet, men at man istedenfor hadde fått mange fettsyrer med ulike kloreringsgrader. Derfor ble det besluttet å prøve en mildere form for klorering. Dette for å minske faren for å få inn flere klor en det man ønsket. Samtidig tok man til neste syntese og pakket slangen fra gassflasken til kolben og selve kolben inn i sølvfolie for å minske sjansen for dannelse av radikaler. Man tok nå og mettet diklormetan med klogass og brukte dette som reagens for klorering av fettsyren **8**. Diklormetan ble dampet vekk etter 5 minutter, og GC viste en ny topp som man antok var produktet. ^1H NMR og ^{13}C NMR viste ikke det ikke lenger var dobbeltbinding tilstedet i produktet, og stor topp i MS kromatogrammet ved 280,0 kan indikere produkt gjennom tap av 2HCl (M^+-72).

9.1.1.4. 9,10,12,13-tetrakloroktadekansyre



17

Figur 10: Strukturen til 9,10,12,13-tetrakloroktadekansyre **17** som man får ved å addere $\text{Cl}_2(\text{g})$ til fettsyren **9**.

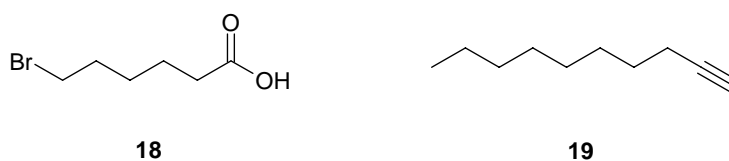
Dette produktet og dets stereoisomerer ble syntetisert etter samme metode som for CIFA **16** ved at diklormetan mettet med klogass ble brukt som reagens ved romtemperatur. Reaksjonsmekanismen for reaksjon er også den samme bare at nå blir to klormolekyl addert til **9** istedenfor ett, og man vil få dannet rasematene av regioisomerer.

GC kromatogrammet viste at det hadde skjedd en reaksjon, og hovedtoppen i kromatogrammet kunne indikere forbindelse med 4 klor ut fra sammenligning av retensjonstider med andre CIFA. MS kromatogrammet viste liten topp ved 422,6, og denne kunne indikere M^+ toppen. ^1H NMR viste topp som kunne være komme fra proton budet til karbon med dobbeltbinding, men ikke noe tegn til dobbeltbinding i ^{13}C NMR.

9.1.2. C-16 synteser

Samarbeidspartnerne våre på NILU kom med 7-klorheksadekansyre **23**, 8-klorheksadekansyre **24** samt 7,8-diklorheksadekansyre **25** som forslag til mettede C-16 fettsyrer. Disse produktene kan man få dersom man adderer HCl eller Cl_2 over en MUFA med dobbeltbindingen i 7 posisjon. Da det ikke gikk å få kjøpt verken *cis*- eller *trans*- av den umettede fettsyren, og NILU ikke hadde antydning at de var ute etter en spesifikk stereokjemiform av produktene, ble det besluttet at man skulle syntetisere *cis*-formen. Da

denne lett lar seg syntetisere fra 6-Bromoheksansyre **18** og 1-Dekyn **19** etterfulgt av hydrogenering med Lindelarkatalysator. Fra *cis*-7-heksadekensäure kan man syntetisere produktene ved hjelp av HCl og Cl₂.

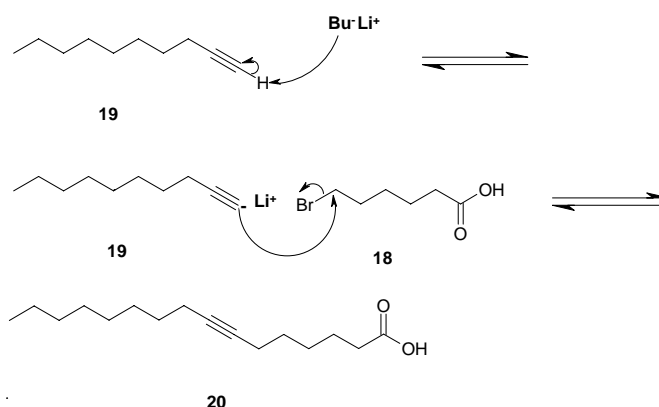


Figur 11: Strukturen til 6-Bromoheksansyre **18** og 1-Dekyn **19**.

9.1.2.1. 7-heksadekensäure

9.1.2.1.1. Metode 1

Disse forsøkene innebar bruk av BuLi som base for å deprotonere **19**.



skjema 3: Reaksjonsmekanisme for dannelsen av 7-heksadekensäure fra **18** og **19**.

Her blir BuLi brukt som base for å deprotonere alkyntet, som gjør et nukleofilt angrep på karbonet til syren.

Alkyntet **19** ble deprotonert av basen, og anionet fikk reagere med syren **18**. Her er utgangsmaterialene og reagenset BuLi alle i 1:1 forhold. **19** ble løst i tørr THF og basen ble tilsatt dråpevis. Etter tilsetningen av basen ble **18** løst i tørr THF tilsatt. Det hele skjedde vannfritt under nitrogen. Reaksjon fikk stå under nitrogen ved 0°C over natten. Reaksjon ble opparbeidet surt og fasene ble skilt. Den organiske fasen ble dampet inn med rotavapor, men ut fra GC kunne man ikke se at det hadde skjedd noen reaksjon. GC kromatogrammet viste bare utgangsstoffene.

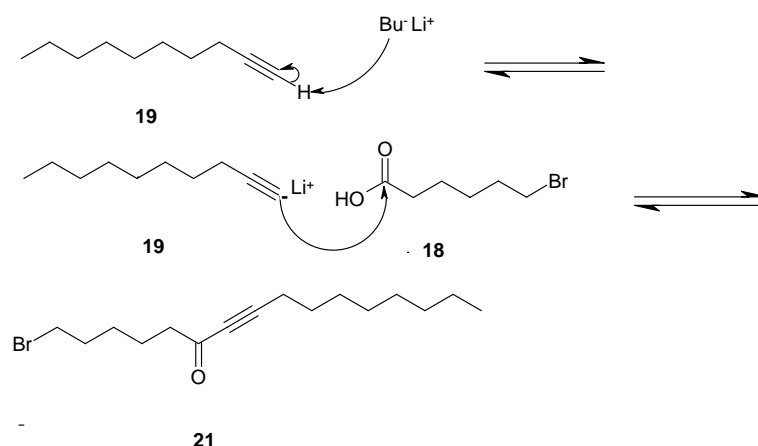
Det ble derfor gjort et nytt forsøk på syntesen. Man hadde fortsatt 1:1 forhold mellom **18** og **19**, men denne gangen prøvde man med 2:1 forhold mellom basen og utgangsstoffene. Dette fordi ved 1:1 forhold mellom **19** og basen ville man bare oppnå en syre-base reaksjon mellom det deprotonerte alkyntet og syren. Med to ekvivalenter av basen ville man få fjernet både det sure alkyntet og syreprotonet, og derfor minske sjansen for syre-base reaksjon mellom disse. Bortsett fra at reaksjon nå ble stoppet etter to timer og det ble brukt mer syre under opparbeidelsen ble reaksjon kjørt under de samme betingelsene som sist. Det ble brukt mer syre for å være sikker på at man hadde fått alt av mulig produktet over på protonert form. Man

var avhengig av å ha produktet på protonert form for å få produktet over i den organiske fasen under opparbeidelsen. Siden man hadde forandret på forholdet mellom utgangstoffene og basen trodde man at det ville korte ned tiden på en mulig syntese. Reaksjonstiden ble kortet ned for å minske mulighetene for sidereaksjoner og dannelsen av biprodukter. Derfor prøvde man nå med bare med to timer, men heller ikke denne gangen ble det dannet noe produkt. En grunn til dette kunne være at det utstyret ikke var tilstrekkelig tørt, og at det fortsatt var vann til stede som kunne reagere med basen, eller at det fortsatt var for lite base i forhold til utgangsmateriale.

Forsøket ble derfor gjentatt, men denne gangen med utstyr som var tørket skikkelig i varmeskap. Dette for å minske sjansen for at det var vann tilstede som kunne reagere med basen istedenfor med utgangsmaterialet. Syntesen ble fortsatt kjørt med 1:1 forhold mellom utgangstoffene og med to ekvivalenter base. Denne gangen ble basen tilsatt over en lengre tidsperiode for å være mest mulig sikker på at alt av **19** var deprotonert før tilsettelsen av **18**. Reaksjon skjedde vannfritt og under nitrogen ved romtemperatur. Temperaturen ble økt til romtemperatur for å øke reaksjonshastigheten. Produktet ble opparbeidet surt etter to timer røring, men analyse viste fortsatt ingen tegn til at det hadde skjedd noen reaksjon. GC kromatogrammet viste at det var mye **19** igjen samt mange mindre toppe. TLC av produktene og utgangstoffene ble tatt, men de viste ingen tegn til produkt. Man fikk fram flekkene på TLC platen ved å dyppe den i en blanding av konsentrert saltsyre og salpetersyre.

En ny syntese ble dermed foretatt men denne gangen med overskudd av **19** i forhold til **18**. Dette fordi det kunne hende det var for lite av **19** i forhold til **18** selv om den ble tilsatt alkynet, og dermed hele tiden burde være i underskudd. Betingelsene for reaksjon ble også forandret, og denne gangen ble også syntesen gjort ved -78°C . Dette fordi man ville minske eventuelle sideraksjoner, som alle de små toppene fra GC kromatogrammet kunne tyde på. Etter tilsetningen av basen fikk reaksjon komme til romtemperatur for den på nytt ble nedkjølt til -78°C , og tilsetningen av **18** fant sted. Etter halvannen time med røring ble produktet opparbeidet surt, men heller ikke denne gangen viste GC noe mer enn utgangstoffene.

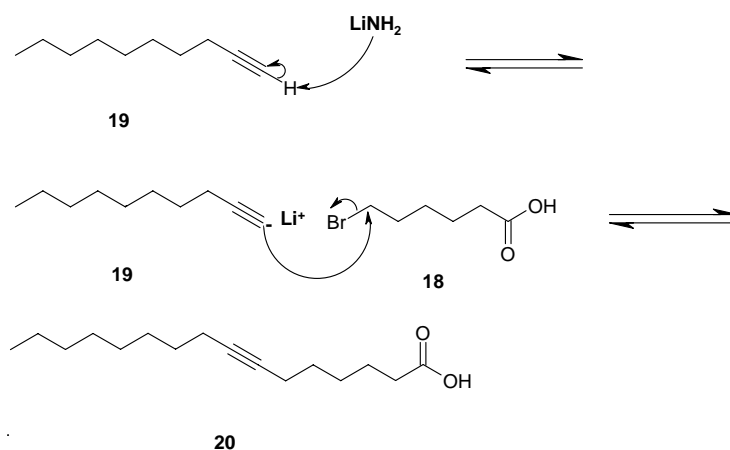
Grunner til at reaksjonene ikke gikk kan være flere, men siden reaksjonene ble kjørt i så små skalaer fikk alle mulige negative virkninger av reaksjonene stor innflytelse på sluttproduktet. Eksempler på faktorer som påvirker sluttresultatet kan være vann tilstede i reaksjonskolben, som vil reagere med BuLi og dermed hindre reaksjon i å skje. Det kan være at forholdene mellom utgangstoffene burde ha vært et annet for at reaksjon skulle gå. Etter en artikkel hvor det var gjort en syntese som liknet hadde de brukt et stort overskudd av alkynet, og da fått et utbytte på 43 %⁴². Det kan dermed tenkes dannelsen av ketonet vil være en betydelig sidereaksjon i denne reaksjonen. Ved at det deprotonerte alkynet gjør et nuklofilt angrep på karbonylkarbonet istedenfor på ω -karbonet i syren, og dermed danner ketonet framfor syren, men ut fra GC kromatogrammene så det ikke slik ut. Da det ikke var noe særlig annet der utgangstoffene i kromatogrammene. Det ble derfor nødvendig å finne fram til en metode med bedre utbytte.



Skjema 4: Reaksjonsmekanisme for mulig dannelse av 1-Bromheksadec-7-yn-6-on **21** en mulig sidereaksjon ved reaksjon mellom **18** og **19**.

9.1.2.1.2. Metode 2

Bruk av Li i flytende ammoniakk for å danne litiumamid for å deprotonere **19**.



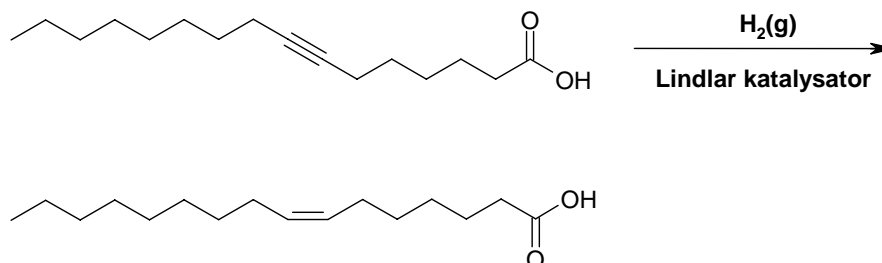
Skjema 5: Reaksjonsmekanismen for dannelse av fettsyren **20** fra **18** og **19** etter metode 2.

Da man trodde at man ikke hadde fått dannet noe av **20** etter den første metoden, som innbar bruk av BuLi som base. Fant man fram til en metode beskrevet i artikkel fra 1963 hvor Ames og Covell hadde fått et utbytte på 92 % av den ønskede syren **20**⁴³. Denne metoden innebar bruk av flytende ammoniakk og Li. Reaksjon ble kjørt vannfritt med N₂ som inert gass. Ammoniakk ble destillert over i en rundkolbe for å fjerne eventuelle metallrester fra beholderen. Li ble tilsatt rundkolben og løsningen fikk en mørk blå farge. **19** ble tilsatt etterpå, og løsningen skiftet da farge fra mørk blå til hvit. Etter tilsetning fikk den stå til røring i 1 time før **18** løst i THF ble tilsatt, og løsningen fikk stå ytterlige 8 timer til røring. Etter at ammoniakken hadde fått fordampe vekk ble produktet opparbeidet surt. GC viste denne gangen at det hadde blitt dannet et nytt stoff, som man gikk ut ifra at var den rette forbindelsen.

Det man antok at man hadde lyktes i å få til syntesen av **20** besluttet man dermed å skalere opp reaksjon 10 ganger. Også etter denne reaksjon ble det man trodde var forbindelsen påvist ved hjelp av GC. Man så også at **18** og **19** begge var tilstede i produktet så det ble rensset med

kolonne, men man greide ikke å få vekk alt av **18**. På tross av dette bestemte man at produktet var tilstrekkelig rent for neste trinn. ^1H NMR og ^{13}C NMR av produktet viste at det var trippel binding tilstede i produktet. MS kromatogrammet viste også liten topp 252,5 som tilsvarer M^+ toppen for fettsyren.

9.1.2.2.. *Cis*-7-heksadekensäure



Figur 12: Strukturen til 7-heksadekensäure og *cis*-7-heksadekensäure

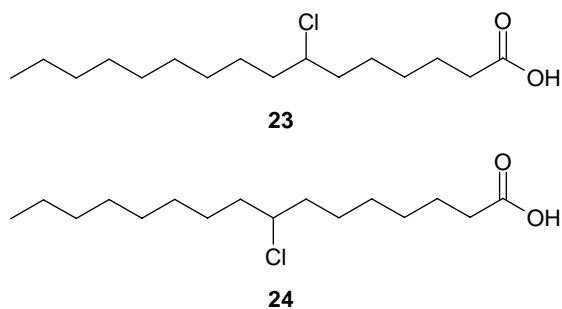
Ved hydrogenring med Lindlarkatalysator vil man få addert begge hydrogenene over dobbeltbindingen fra samme side og dermed danne en *cis*-dobbeltbinding.

Cis-7-heksadekensäuren **22** ble syntetisert fra **20**, og Lindlar katalysatoren som ble brukt i den syntesen skal stoppe hydrogeneringen selektivt ved *cis*-dobbeltbinding.

I det første forsøket på syntesen ble **21** løst i metanol og Lindlarkatalysator ble tilsatt løsningen, og $\text{H}_2(\text{g})$ ble boblet gjennom løsningen. Etter tre timer ble reaksjon stopper og produktet ble opparbeidet. Det ble laget metyl ester derivatet av syren, men det ble ikke tolket til å være produkt. Metyletster derivatene lar seg lettere analysere ved GC/MS enn de analoge fettsyrene. Dette kommer av at de gir tydeligere molekylion topper.

Man gjorde derfor syntesen på nytt men denne gangen lagde man ikke metyl derivatet av fettsyren. Reaksjonen ble kjørt to ganger til på akkurat samme måte. Bare at denne gangen lagde man ikke metyl ester derivatet av **22** etter hydrogeneringene. GC viste at det hadde kommet en ny topp inn på kromatogramene med litt lengre retensjonstid enn utgangstoffet, og man tok det som et bevis på at det hadde skjedd en hydrogenering og at det rette produktet hadde blitt dannet. GC kromatogrammet viste at man ikke hadde fått hydrogenert alt utgangstoffet.

9.1.2.3. 7-/ 8-klorheksadekensäure

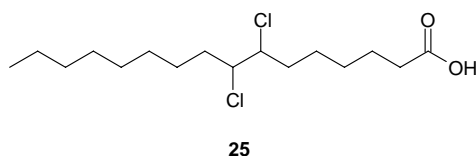


Figur 18: Strukturen til 7-klorheksadekensäure **23** og 8-klorheksadekensäure **24**

Reaksjonsmekanisme for hvordan man får dannet de to regioisomerene ved addering av HCl over dobbeltbindingen er lik den fra **skjema 1**. Begge blir rasemat da klor kan angripe fra begge siden i hvert tilfelle.

Ut fra artikkelen^{40,41} skrevet av Frøyen og Skramstad samt egne erfaringer ved klorering av dobbeltbindinger med HCl. Ble det også her benyttet vannfritt HCl eterat ved -78°C til å addere HCl over dobbeltbindingene. Syntesen ble gjort på akkurat samme måte som for syntesene ved **8** og **9** med HCl. Ut fra GC kromatogrammet kan det se ut til at det har blitt dannet lite av det ønskede stoffet.

9.1.2.4. 7,8-diklorheksadekansyre



Figur 19: Strukturen til 7,8-diklorheksadekansyre

Reaksjonsmekanismen er lik den i **skjema 2** og man får også her en anti addisjon av klor over dobbelt bindingen. Syntesen ble gjennomført på samme måte som kloreringen av **8** og **9**. Hvor diklormetan mettet med klogass ble brukt som reagens for reaksjon. GC beviste at det hadde skjedd noe etter reaksjon, og at det var blitt dannet et stoff med lengre retensjonstid enn utgangstoffet. Retensjonstiden i forhold til utgangstoffet kunne tyde på at det var blitt addert to klor til **22**. Dette ut fra de forandringene man så i retensjonstiden for addering av klor til **8** og **9**, men det ble ikke analysert ved andre metoder og man kan derfor ikke si sikkert at det var **25** som var blitt dannet.

10. Framtidige analyse standarder

10.1. Umettede CIFA

Det er velkjent at det finnes klorerte fettsyrer i fisk^{2,35}. Fisk inneholder også mye umettede fettsyrer. Man trenger derfor standarder for å finne ut hvordan umettede klorerte fettsyrer man eventuelt kan regne med å finne i fisk og eventuelle skadde virkninger av disse.

10.1.1. Syntese

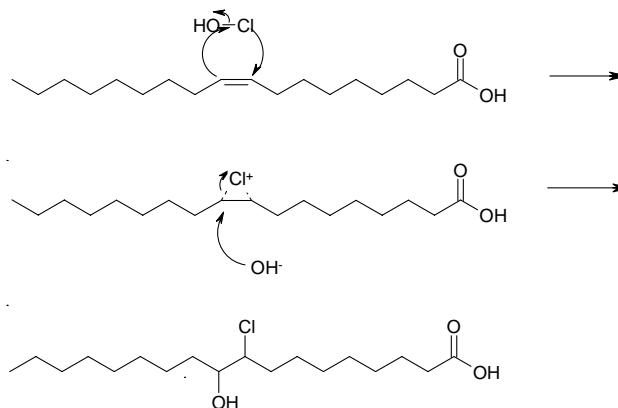
En mulighet for å syntetisere umettede klorerte fettsyrer er ved allylisk klorering, der man bruker NCS som klorkilde samt en katalysator som har til oppgave å danne radikaler. Denne katalysatoren kan enten være arylselenyl klorid (ArSeCl), Aryldiselenid (ArSeSeAr) eller TsNSO.

10.2. Klorhydriner

Det er også av interesse å lage standarder for monoklorhydroky fettsyrer, og da mest sannsynlig klorhydriner. Dette på grunn av studier viser at monoklorhydroky fettsyrer er den største delen av CIFA i Stillehavslaks (*Oncorhynchus Nerka*). Det er også funnet spor av klorhydriner i maneter. Man har påvist at klorhydriner kan dannes ved reaksjon mellom umettede fettsyre og HOCl, som et resultat av at drikkevann blir behandlet med HOCl^{22,28,29,35}. Dette kan dermed være en indirekte kilde og mekanisme for hvordan klor blir inkorporert i fett hos organismer.

10.2.1. Syntese

En mulighet for syntetisere klorhydrin analogene til fettsyrene er ved å la en umettet fettsyre reagere med HOCl. Det kan man danne ved å la Cl_{2(g)} boble ned i vann, og det kan så reagere med den umettede fettsyren. Man vil kunne få begge regioisomerene av produktet, fordi kloratomet og hydroksygruppen begge kan bindes til begge karbonatomene.



Skjema 6: Reaksjonsmekanismen for hvordan et klorhydrin kan bli dannet i vann behandlet med blekemidler.

Ring åpningen av kloronium ionet kan skje ved begge karbon atomene slik at man kan få dannet begge regioisomerene.

11. Eksperimentelt

11.1. Kjemikalier

Kjemikalier av minimum 98 % renhet ble brukt i syntesene bortsett fra Li (Fluka) og Lindlar katalysator (Fluka) som ikke hadde noen angitt renhet. 1-dekyn (Aldrich, 98 %), 6-Bromoheksansyre (Aldrich, 98 %), *Cis*-9-oktadekensäure (Larodan Fine Chemicals, 99+ %), *Cis,cis*-9,12-oktadekdiensäure (Larodan Fine Chemicals, 99+ %), BuLi 1,6 M (Acras). Løsemidlene som ble brukt var av vanlig syntese kvalitet Acetone (Lab-Scan), THF (lab-Scan), Dietyl eter (J. T. Baker Anhydrous), Heksan (Lab-Scan), Diklormetan (Lab-Scan), Methanol (lab-Scan), HCl (J. T. Baker). Stoffene som ble brukt til tørking i opparbeidelsen var av vannfri kvalitet MgSO₄ (SdS). Na₂SO₄ (J. T. Baker). Slica (SdS) som ble brukt til kolona hadde ikke noe angitt kvalitet. Gassen ble brukt som de var fra gassflaskene H_{2(g)}, HCl_(g), Cl_{2(g)} og NH_{3(g)}.

11.2. Analyseutstyr

GC analyse ble gjort hos Chiron AS på en Varian CP-3380 gass kromatograf med en CP-Sil 5 CB (25 m, 0,25mm i.d) kolonne. Massespektrumene ble tatt opp på en Agilent 6890N gass kromatograf knyttet til en Water(Micromass) Quattro Micro GC tandem kvadropol masse spektrometer, ZB-5 (30 m, 0,025 med mer) ved NTNU mens NMR spektrene var tatt opp på en Bruker 300MHz. NMR spektraene i appendiks ble tatt opp på en Varian Mercury 400 plus med CDCl₃ som løsemiddel ved UIT. Gass kromatograf nummer i appendiks ble tatt opp med en Varian 3400 gass kromatograf med en SPB-20 (30m, 0,32mm) kolonne ved UIT.

11.3. Forbindelsene

11.3.1. 9-/ 10-kloroktadekensäure

11.3.1.1. Forsøk 1

100 ml diklormetan tilsatt en tørr rundkolbe ble gjennomboblet av N_{2(g)} i 5-6 minutter. Deretter ble HCl(g) boblet gjennom diklormetan i 20 minutter. Fettsyren **8** (265 mg, 938µmol) tilsatt en tørr rundkolbe og 6 ml av diklormetanløsningen. Dette fikk stå og røre i 30 minutter. GC viste ikke tegn til reaksjon så løsningen ble plassert til reflux i 60 minutter. Diklormetan dampet vekk ved hjelp av redusert trykk. Heller ikke etter reflux var det tegn til produkt på GC.

11.3.1.2. Forsøk 2

Fettsyren **8** (560 mg, 1,98mmol) ble veid ut i en tørr rundkolbe og løst 25 ml dietyl eter. Løsningen ble satt til røring ved -78°C (tørris, 2-propanol). Ved -78°C ble $\text{HCl}(\text{g})$ boblet ned i løsningen i 60 minutter før løsningen sakte fikk komme tilbake til romtemperatur. GC ble ikke tolket til dannelse av produkt. Dermed ble løsningen nedkjølt til -78°C på nytt, og $\text{HCl}(\text{g})$ ble boblet ned i løsningen i 90 minutter før den sakte fikk komme tilbake til romtemperatur. Diklormetan ble dampet vekk ved redusert trykk. Det ble tolket til at produkt var dannet ut fra GC, ^1H NMR, ^{13}C NMR og MS.

Produktet var en masse seig på og hadde en lys gul farge.
(523 mg, utbytte 82,9 % med en rent på 86,6 %)

11.3.2. 9,13-/9,12-/10,13-/10,12-dikloroktadekansyre

Fettsyren **9** (520 mg, 1,85mmol) tilsatt en tørr rundkolbe og løst i 20 ml dietyl eter. Løsningen nedkjølt til -78°C (tørris, 2-propanol). $\text{HCl}(\text{g})$ ble boblet ned i løsningen ved røring i 120 minutter før gassen ble frakoplet, men reaksjon fikk stå ytterlige 60 minutter til røring ved -78°C . Deretter fikk løsningen sakte komme tilbake til romtemperatur, og dietyl eteren ble dampet vekk ved redusert trykk. Det ble tolket til at det var dannet produkt i lag med den klorert enumettede analogen. Produktet var en seig masse og hadde en gul/brun farge.
(487 mg, utbytte 74,6 % og to topper med henholdsvis 51,9 % og 38,9 % renhet)

11.3.3. 9,10-dikloroktadekansyre

11.3.3.1. Forsøk 1

Fettsyren **8** (130 mg, $460\mu\text{mol}$) ble veid ut i en tørr rundkolbe og løst i 13 ml diklormetan. Rundkolbe ble plassert i oppsett for klorgass der H_2O_2 ble brukt til å nøytralisere klorgassen etter reaksjonskolben. $\text{Cl}_2(\text{g})$ ble boblet gjennom løsningen i 30 minutter før diklormetan ble dampet vekk under redusert trykk. GC kromatogrammet viste ikke tegn til produkt.

11.3.3.2. Forsøk 2

$\text{Cl}_2(\text{g})$ ble boblet gjennom en tørr rundkolbe tilsatt 100 ml diklormetan i 30 minutter. Klorgassen ble nøytralisert med H_2O_2 . Fettsyren **8** (500 mg, 1,77mmol) ble veid ut i en tørr rundkolbe og løst i 13 ml av diklormetanløsningen. Dette fikk stå og røre i 5 minutter i før diklormetan ble dampet vekk ved redusert trykk. GC og ^1H NMR, ^{13}C NMR samt MS ble tolket til at produkt var dannet. Produktet var grå/hvit av farge og hadde en seig olje lignede konsistens
(592 mg, utbytte 94,7 % med en renhet på 95 %)

11.3.4. 9,10,12,13-tetrakloroktadekansyre

Cl₂(g) ble boblet gjennom 100 ml diklormetan i 30 minutter. Klorgassen ble nøytralisert ved hjelp av H₂O₂. Fettsyren **9** (522 mg, 1,86mmol) ble tilsatt en tørr rundkolbe og løst i 6 ml av diklormetanløsningen ved romtemperatur. Løsningen fikk stå til røring i 5 minutter før diklormetanløsningen ble dampet vekk ved redusert trykk. Kromatogrammene ble tolket til at man hadde fått produktet. Produktet hadde en seig hvit konsistens (653 mg, utbytte 83,1 % med en renhet på 49,6 %)

11.3.5. 7-heksadekynsyre

11.3.5.1. Metode 1

Bruk av BuLi som base for å deprotonere alkynet.

11.3.5.1.1. Forsøk 1

Alkynet **19** (170µl, 944µmol) ble tilsatt en rundkolbe og løst i 5 ml THF (tørr). 1,3 ml 1,6 M BuLi ble tilsatt løsningen under røring gjennom septum, og med en hastighet på et par dråper i minuttet. Reaksjon skjedde vannfritt med N₂(g) som inert gass. Deretter ble syren **18** (138 mg, 707µmol) løst i 2 ml THF (tørr) tilsatt gjennom septumet. Løsningen fikk stå til røring ved 0°C over natten. Reaksjon skjedde vannfritt under N₂(g) . Produktet ble opparbeidet med tilsetning av 5 ml 0,01 M HCl og 10 ml dietyl eter og skilt med skilletrakt. Den organiske fasen ble tørker med MgSO₄ og dampet inntil produkt ved redusert trykk. GC kromatogrammet viste ikke tegn til produkt, men bare utgangstoff.

11.3.5.1.2. Forsøk 2

Alkynet **19** (170µl, 944µmol) og syren **18** (195 mg, 1,00mmol) ble løst i 5 ml THF (tørr). Deretter ble 2,6 ml 1,6 M BuLi tilsatt gjennom septum før løsningen fikk stå til røring to timer ved romtemperatur. Reaksjon skjedde vannfritt under N₂(g). Etter to timer ble produktet opparbeidet med 10 ml 0,1 M HCl og 10 ml dietyl eter. Fasene ble skilt med skilletrakt og den organiske fasen ble tørket med MgSO₄, og dampet inntil produkt ved redusert trykk. GC viste ikke tegn til produkt, men bare utgangstoff.

11.3.5.1.3. Forsøk 3

Alkynet **19** (180µl, 1,00mmol) tilsatt en tørr rundkolbe og løst i 5 ml THF (tørr). 1,3 ml 1,6 M BuLi tilsatt under røring gjennom septum over en tidsperiode på 30 minutter. Deretter ble syren **18** (196 mg, 1,00mmol) løst i 2 ml THF (tørr) tilsatt under røring gjennom septumet, og det ble skylt etter med 2 ml THF. Reaksjon skjedde vannfritt under N₂(g). Løsningen ble opparbeidet ette 120 minutter til røring med 10 ml 0,1 M HCl og 10 ml dietyl eter før fasene ble skilt med skilletrakt. Den organiske fasen ble tørket med MgSO₄ og dampet inn til produkt. GC kromatogrammet viste ikke tegn til produkt, men bare utgangstoffene.

11.3.5.1.4. Forsøk 4

Alkynet **19** (170µl, 944µmol) ble tilsatt en tørr rundkolbe og løst i 7,5 ml THF (tørr). Løsningen ble kjølt ned til -78°C (tørris, 2-propanol) og 0,63 ml 1,6 M BuLi ble tilsatt

gjennom septumet. Etter tilsetningen fikk løsningen komme tilbake til romtemperatur før den pånytt ble kjølt ned til -78°C og tilsatt syren **18** (197 mg, 1,01mmol) løst i 9 ml THF (tørr) gjennom septumet. Løsningen fikk stå til røring ved -78°C i 120 minutter. Opparbeidet med 10 ml 0,1 M HCl og 10 ml dietyl eter, og fasene ble skilt med skilletrakt. Den organiske fasen ble tørket med MgSO_4 og dampet inn til produkt. GC kromatogrammet viste ikke produkt, men bare utgangstoffene.

11.3.5.2. Metode 2

Bruk av Li i flytende ammoniakk for å danne litiumamid.

11.3.5.2.1. Forsøk 1

Glassutstyret ble tørket i varmeskap og flushed med $\text{N}_2(\text{g})$ etter montering. 15 ml NH_3 ble destillert over i en rundkolbe og Li (70mg, 10,1mmol) ble tilsatt den flytende ammoniakken under røring. Løsningen fikk en mørk blå farge. Alkynet **19** (1,8ml, 10,0mmol) ble tilsatt etter at alt av Li hadde løst seg opp, og løsningen ble satt en time til røring under reflux. Løsningen skiftet nå farge fra mørk blå til hvit. Deretter ble syren (201 mg, 1,03mmol) løst i 7,5 ml THF (tørr) ble tilsatt under røring gjennom septumet. Løsningen fikk deretter stå 8 timer til røring under reflux før NH_3 fikk fordampe vekk fra løsningen. Produktet ble opparbeidet med 20 ml 0,5 M HCl, 20 ml dietyl eter og 5 ml H_2O . Fasene ble skilt med skilletrakt og den organiske fasen ble vasket med H_2O og tørket med Na_2SO_4 før den ble dampet inn til produkt ved redusert trykk. Det ble tolket til at produktet hadde blitt dannet ut fra GC kromatogrammet. Produktet hadde en lys gul farge og var kornet på konsistens. Mye av **19** blir gjenvunnet derfor så mye råprodukt.
(750 mg, 315 % med en renhet på 20 %)

11.3.5.2.2. Forsøk 2

Glassutstyret ble tørket i varmeskap og flused med $\text{N}_2(\text{g})$ etter montering. 150 ml NH_3 ble destillert over i en rundkolbe og Li (702 mg, 101mmol) ble tilsatt den flytende ammoniakken under røring. Løsningen fikk en mørk blå farge. Alkynet **19** (18 ml, 100mmol) ble tilsatt under røring etter at alt Li hadde løst seg opp, og løsningen fikk stå 60 minutter til reflux. Løsningen skiftet farge fra mørk blå til hvit ved tilsetning av **19**. Deretter ble syren **18** (1,960g, 10mmol) løst i 30 ml THF (tørr) tilsatt under røring, og løsningen fikk stå ytterlige 8 timer til røring ved reflux. Før NH_3 fikk fordampe vekk, og produktet ble opparbeidet med 100 ml 0,1 M HCl, 100 ml dietyl eter og 10 ml H_2O . Fasene ble skilt med skilletrakt og den organiske fasen ble vasket med H_2O før den ble tørket med Na_2SO_4 og dampet inn til produkt ved redusert trykk. Produktet ble rensert med silica kolonne. Kolona ble først eluert med heksan 50 ml så 50 ml aceton og tilslutt 50 ml metanol. Produktet kom ut i lag med aceton. Produktet hadde en lys gul farge og var kornet på konsistens, og det ble tolket til rett produkt ut fra kromatogrammene.
(1,020 g, 40,4 % med en renhet på 87,9 %)

11.3.6. *Cis*-7-heksadekensäure

11.3.6.1. Forsøk 1

Syren **21**(30 mg, 119 μmol) ble tilsatt 17 mg Lindlarkatalysator i en tørr rundkolbe og løst i 10 ml metanol. Løsningen ble satt til røring tilkopleet en $\text{H}_2(\text{g})$ ballong i 3 timer.

Lindlarkatalysatoren ble filtrert vekk og løsemidlet ble dampet vekk ved hjelp av redusert trykk. Produkt ble metylert.

Produktet ble tilsatt 5 ml dietyl eter og satt på isbad før 0,3 ml diazometan / dietyl eter løsning ble tilsatt syren **22**. Løsningen fikk en svak gul farge, og fortynnet edikksyre ble brukt til å fjerne overskuddet av diazometan. Produktet ble opparbeidet med 10 ml dietyl eter og den organiske fasen ble tørket med $MgSO_4$, som ble filtrert vekk før løsemidlet ble dampet vekk under redusert trykk. Fikk med noe $MgSO_4$ fra filtreringe.

Produkt nå (57 mg, 190 %, med en renhet på 19%)

11.3.6.2. Forsøk 2

Syren **21**(197 mg, $780\mu\text{mol}$) ble tilsatt 123 mg Lindlarkatalysator og løst i 10 ml metanol. $H_2(g)$ ble boblet fra en ballong og gjennom løsningen. Reaksjon ble stoppet når GC ikke viste tegn til at det ikke skjedde noen reaksjon lenger, og Lindlarkatalysatoren ble filtrert vekk samt løsemidlet ble dampet vekk til produkt. Produktet var lyse gult på farge og en kornet konsistens (143 mg, utbytte 72,2 % med en renhet på 55,4 %)

11.3.7. 7-/ 8-klorheksadekansyre

Fettsyren **22**(143 mg, $562\mu\text{mol}$) ble løst i løst i 10 ml dietyl eter. Løsningen ble satt til røring ved -78°C (tørris, 2-propanol), og $HCl_{(g)}$ ble boblet ned i løsningen i 120 minutter. Før den fikk stå 60 minutter til røring ved -78°C før løsningen sakte fikk komme tilbake til romtemperatur. Dietyl eteren ble dampet vekk ved redusert trykk. Produktet hadde en olje lignende konsistens og var lyse brun på farge.

(108 mg, utbytte 66,3 %, to topper like ved hverandre med 28,7 % og 33, 8 % renhet)

11.3.8. 7,8-diklorheksadekansyre

$Cl_2(g)$ ble boblet gjennom en tørr rundkolbe tilsatt 100 ml diklormetan i 30 minutter. Klorgassen ble nøytralisert med H_2O_2 . Fettsyren **22** (157 mg, $617\mu\text{mol}$) ble veid ut i en tørr rundkolbe og løst i 10 ml av diklormetanløsningen. Løsningen fikk stå og røre i 5 minutter i før diklormetan ble dampet vekk ved redusert trykk.

Produktet hadde en lyse brun farge og var seig/olje lignende på konsistens (130 mg, utbytte 64,7 % med en renhet på 40,6 %)

12. Referanser

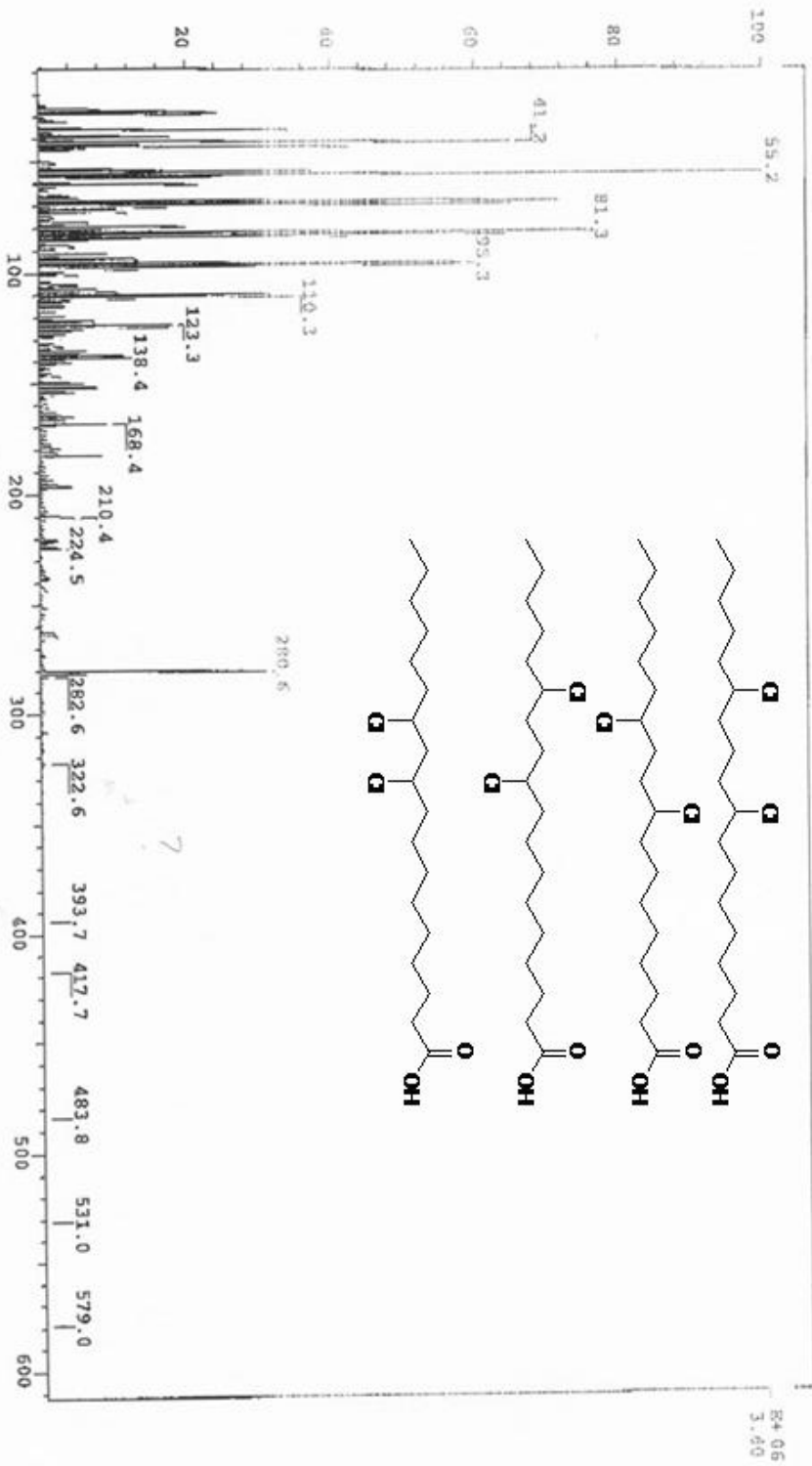
- 1 www.miljostatus.no
- 2 Kvernheim, A. L., Wesèn, C., Sundin, P., Martinsen, K., Ewald, G., Odham, G., Skramstad., Kjemi, 1996, 1
- 3 Foshaug, H., Lipidsammensetningi sjørøye-sesongmessig og miljømessige aspekter, Cand. Scient. Oppgave i organisk kjemi, 1997
- 4 Menzer, R. E, Water and soil pollutants, i Adur, M. O., Doull, J., og Klaassen, C. D., (red.) Casarett and Doull's Toxicology, The Basic Science of Poisons, 4.utg., McGraw-Hill, New York, 1991, kap. 26
- 5 Bremle, G., Okla, L., og Larsson, P., Environ. Sci. Technol., 1996, **29**, 390A
- 6 Dons, C., Beck, P.Å., Miljøgifter I Norge, SFT-rapport, 1993, nr. 93:22
- 7 <http://npweb.npolar.no>
- 8 AMAP Assessment 2002: Persisten Organic Pollutants in the Arctic
- 9 Store Norske Leksikon: Arktis
- 10 Store Norske Leksikon: Antarktis
- 11 Halvorsen, I., Lipidsammensetning I Polarmåke (*Larus Hyperboreus*), Cand. Scient. Oppgave I organisk kjemi 1997
- 12 www.sft.no
- 13 Wania, F., Eur. J. Lipid Sci. Technol, 2000, 54-56
- 14 Fiedler, H., Eur. J. Lipid Technol. 2000, 45-60
- 15 Gabrielsen, G. W., Ottar, 1998, 01
- 16 WHO: WHO toxic equivalency factors (TEFs) for dioxin-like compounds for humans and Wildlife, 15-18 june 1997, Stockholm, (Sweden)
- 17 Wesèn, C., Mu, H., Kvernheim, A. L., Larsson, P., 1992a. Swedish environmental Protection Agency, SNV Report No 4031, 207-219
- 18 Pellinen, J., Ruokolainen, M., Mäkelä, P., Taskinen, J., Chemosphere, 1994, 29, 1515-1526
- 19 Wesèn, C., 1995. Lund University, Sweden. ISBN 91-628-1671-3
- 20 Mu, H., Wesèn, C., Novak, T., Sundin, J., Skramstad, P., Odham, G., J. Chromatogr. 1996, 731, 225-236.
- 21 Vereskuns, G., 1996. Honours thesis, dept. of Biology, Lund University, Sweden.
- 22 Onodera, S., Iriko, S., Suzuki, S., Jpn. J. Toxicol. Environ. Health, 1992, 38, 247-254

- 23 Ghandbari, H.A., Wheeler, W.B., Kirk, J.R., 1983. Reactions of chlorine and chlorine dioxide with free fatty acids esters and triglycerides. In: Jolley, R.L., Brungs, W.A., Cturvo, J.A., Cumming, R.B., Mattice, J.S. and Jacobs, V.A. editors, Water chlorination. Environmental Impact and Effects 4 Ann Arbor Science, Michigan, 1983, 167-175
- 24 Jonsson, P. Uppsala University, Sweden, ISBN 91-554-2997-116, 1992
- 25 Craig, G.R., Orr, P.L., Robertson, J.L. and Vrooman, W.M., Toxicity and bioaccumulation of AOX and EOX. Pulp papercan., 1990, 91. 39-45
- 26 Jernelöv, A., Kemisk tidskrift, 1989, 4, 119-122
- 27 Schwack, W.J., J. Agric Food Chem. 1988, 36. 645-648
- 28 Ghanbari, H.A., Wheeler, W.B., Kirk, J.R., J. Food Sci. 1982, 47, 185-187
- 29 Gibson, T.M., Haley, J., Righton, M. and Watts, C.D., 1986. Environ. Technol. Letters 7, 365-372
- 30 Azam, F., Smith, D.C., Steward, G.F., Hagastrom, A., Microb. Ecol., 1994, 28, 167-179
- 31 Curragh, H., Flynn, O., Larkin, M.J., Stafford, T.M., Hamilton, J.T.G., Harper, D.B., NCIMB 13064. Microbiology, 1994, 140, 1433-1442
- 32 Mu, H. Analysis of halogenated fatty acids in fish lipids by gas chromatography with electrolytic conductivity detection and mass spectrometry. Thesis, Lund University, Sweden, ISBN 91-628-2064-8, 1996,
- 33 Milley, J.E., Boyd, R.K., Curtis, J.M., Musial, C., Uthe, J.F., Environ. Sci. Technol, 1997, 31, 535-541
- 34 Håkansson, H., Sundin, P., Andersson, T., Brunström, B., Dencker, L., Engwall, M., Ewald, G., Gilek, M., Holm, G., Honkasalo, S., Idestam-Almquist, J., Jonsson, P., Kautsky, N., Lundberg, G., Lundkverheim, A., Martinsen, K., Norrgren, L., Pesonen, M., Rundgren, M., Stålberg, M., Tarkpea, M., Wesèn, C., Pharmacol. Toxicol. 1991, 69, 459-471
- 35 G. Ewald., Aquatic Ecosystem Health and Management, 1999, 2, 1, 71-80
- 36 Murpy. G. L., Perry. J. J., J. Bacteriol, 1984, 160, 1171-1174
- 37 Murpy. G.L., Perry. J.J., Appl. Environ. Microbiol., 1986, 53, 10-13
- 38 Ewald. G., Sundin. P., Skramstad. J., Frøyen. P., Aquat Toxicol 1996, 36, 129-139
- 39 Ewald. G., Sundin. P., Pharmacol Toxicol. 1993, 73, 159-162
- 40 Björn. H., Sundin, P., Wesèn, C., Mu, H., Martinsen, K., Kverheim, A. E., Skramstad, J., Odham. G., Naturwissenschaften, 1998, 85, 229-232
- 41 Wesèn, C., Mu, H., Sundin, P., Frøyen, P., Skramstad. J., Odham. G., Journal of Mass Spectrometry, 1995, 30, 959-968
- 42 Mascavage, L. M., Chi, H., La, S., Dalton, R., J. Org. Chem, 1991, 56, 595

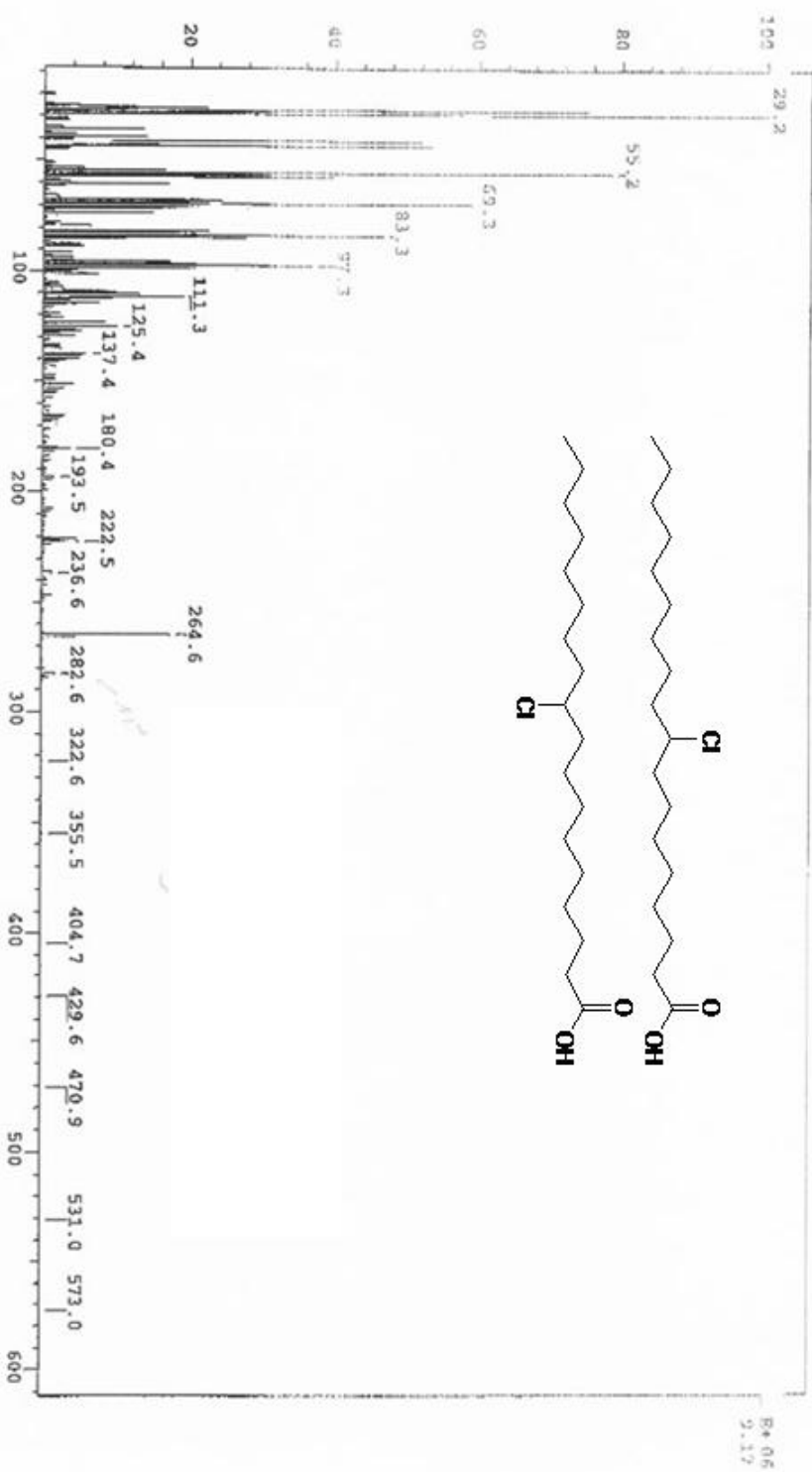
- 43 Ames, D. E., Covell, A. N., J. Am. Chem., 1963, 144, 775-778
- 44 Yosida, H., J. Org. Chem., 1985, 50, 1147-1149
- 45 Frøyen, P., Skramstad, J., Synthetic Communications, 1994, 24(13), 181-1871-1877

13. Appendiks

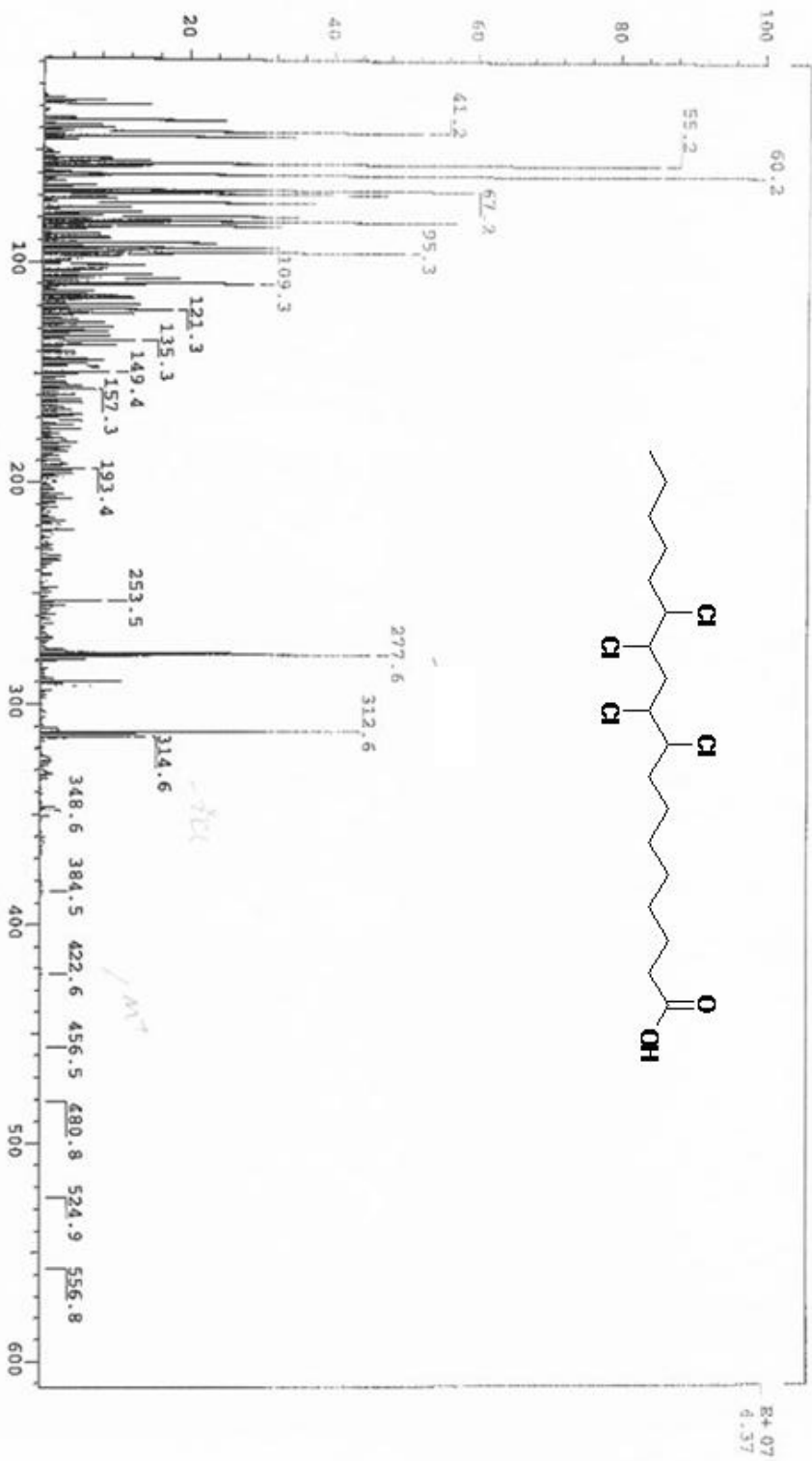
9,13- 9,12- 10,13- 10,12-dikloroktadekansyre TLC-061



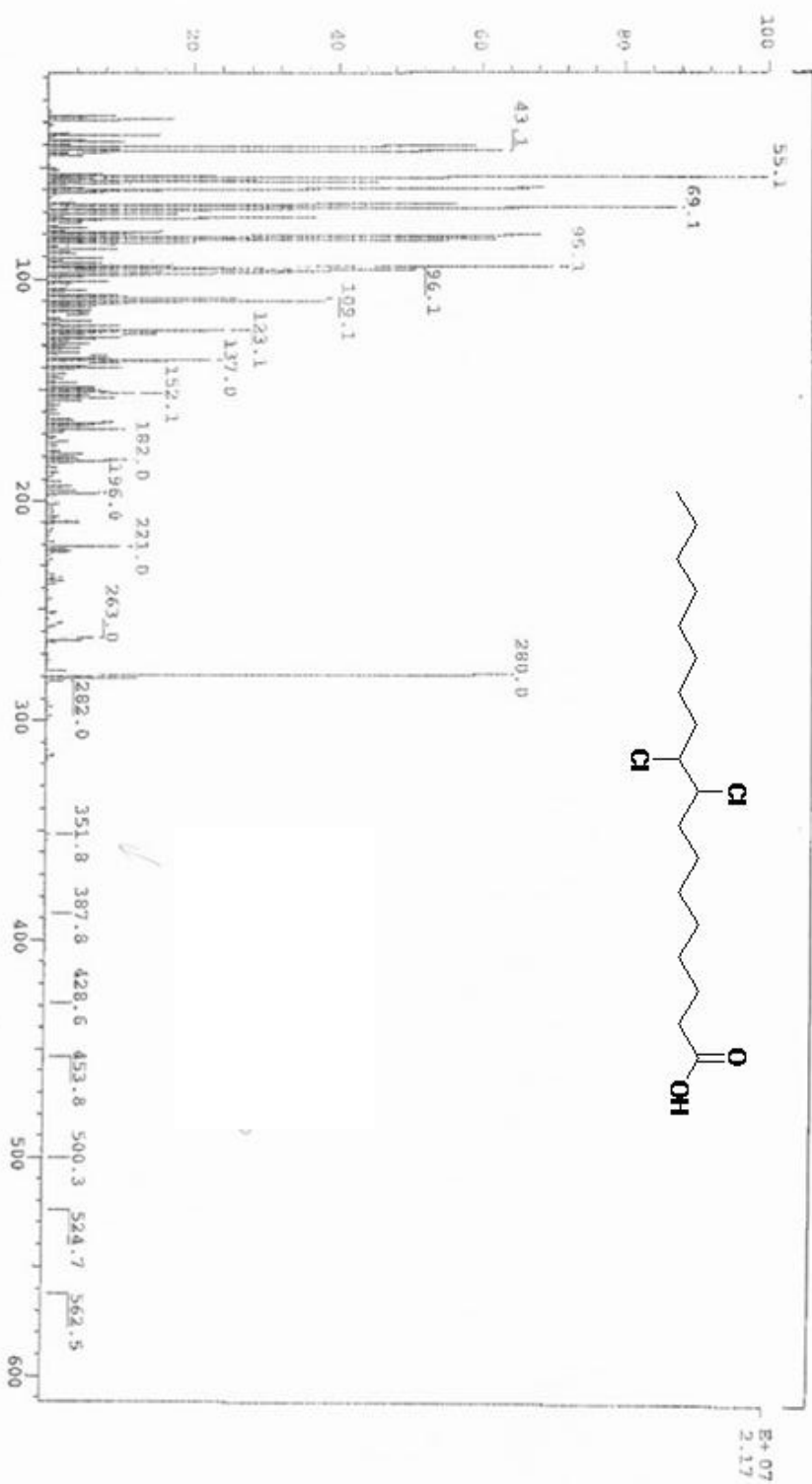
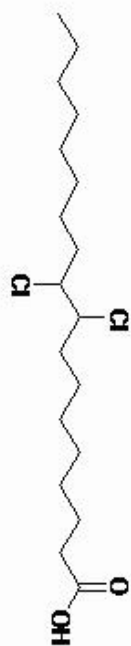
9-, 10-Kloroktadekansyre TLC-059



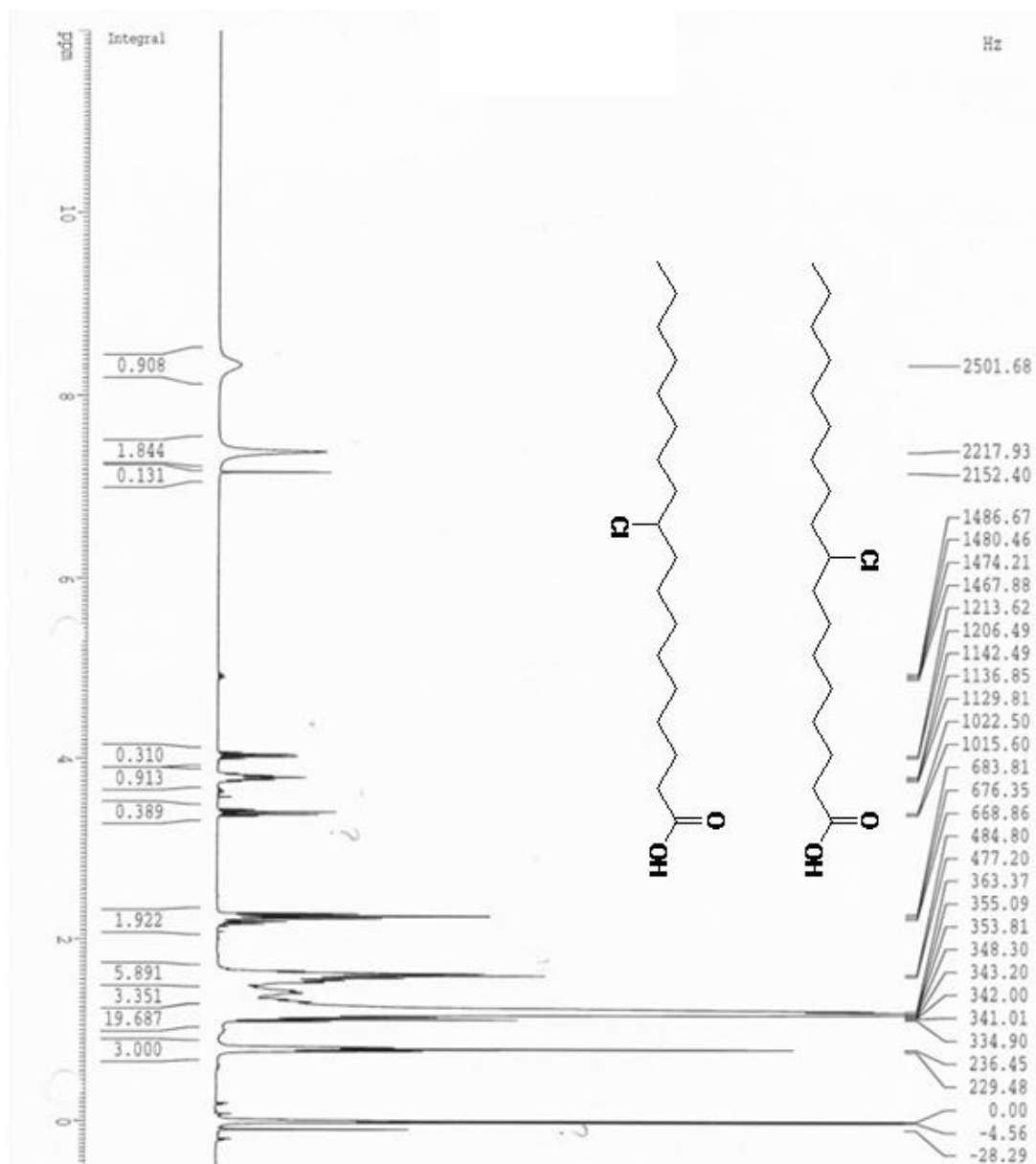
9, 10, 12, 13-tetraklorokatadekansyre TLC-058



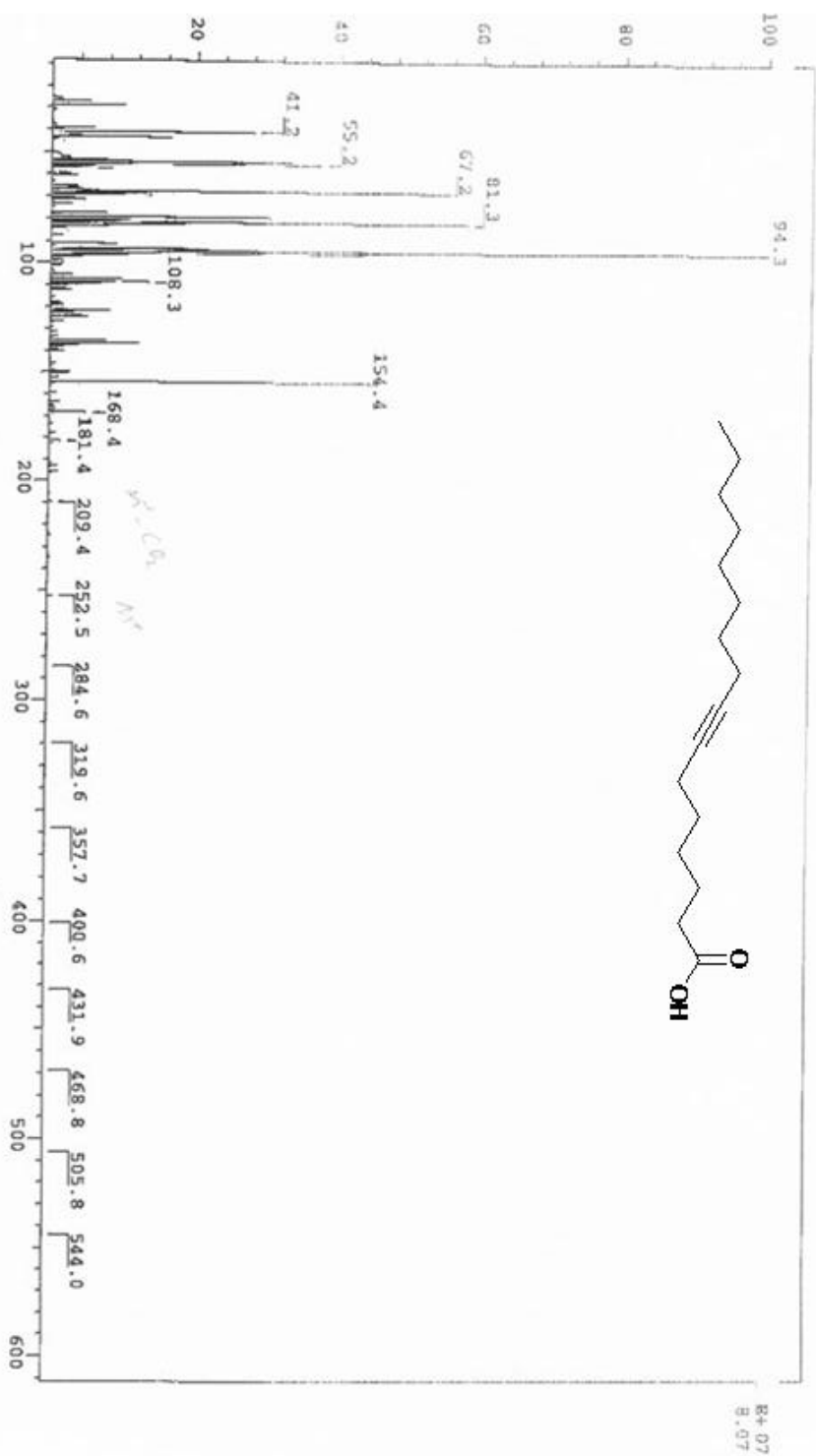
9,10-dikloroktadekansyre TLC-056



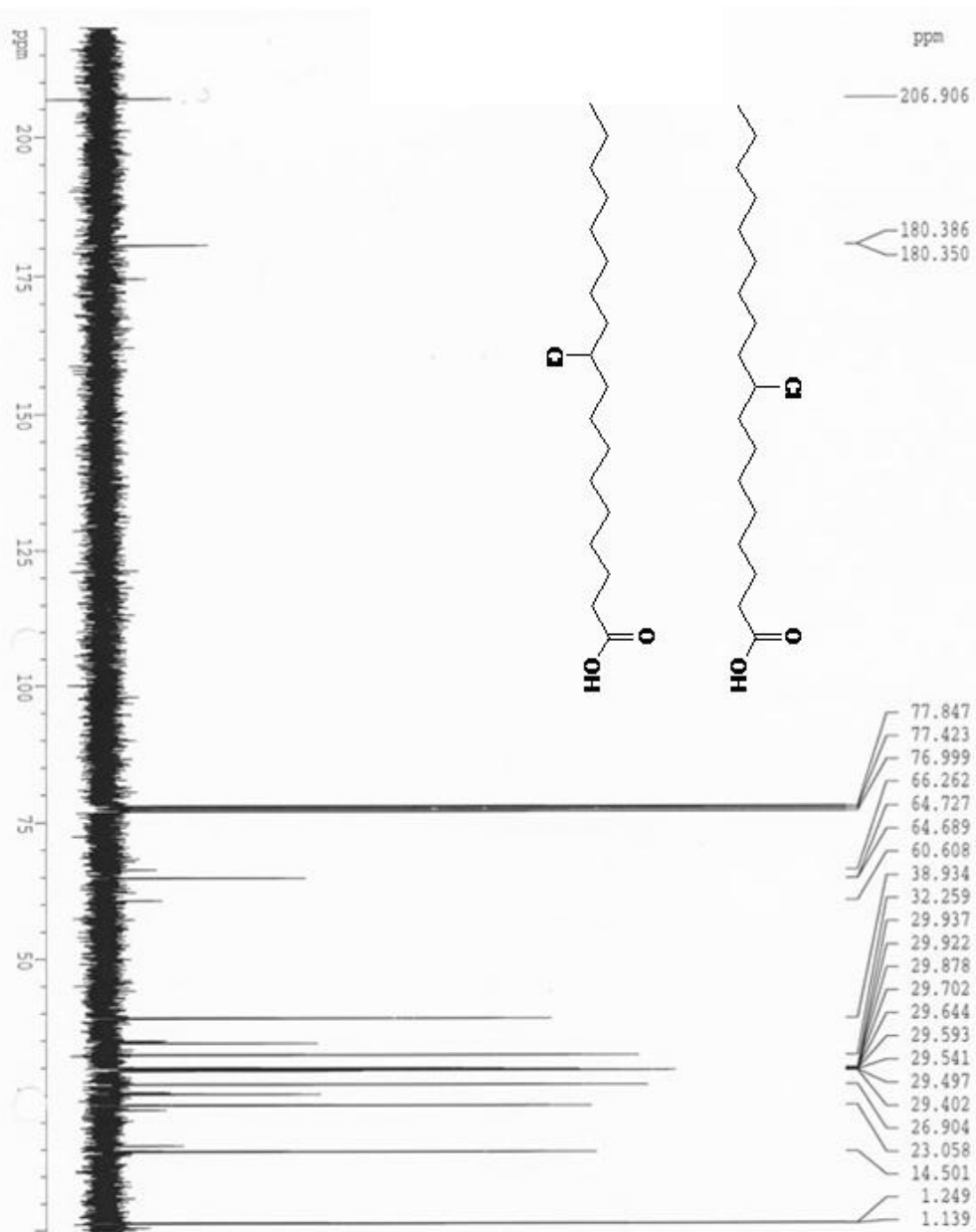
9-, 10-kloroktadekansyre TLC-059



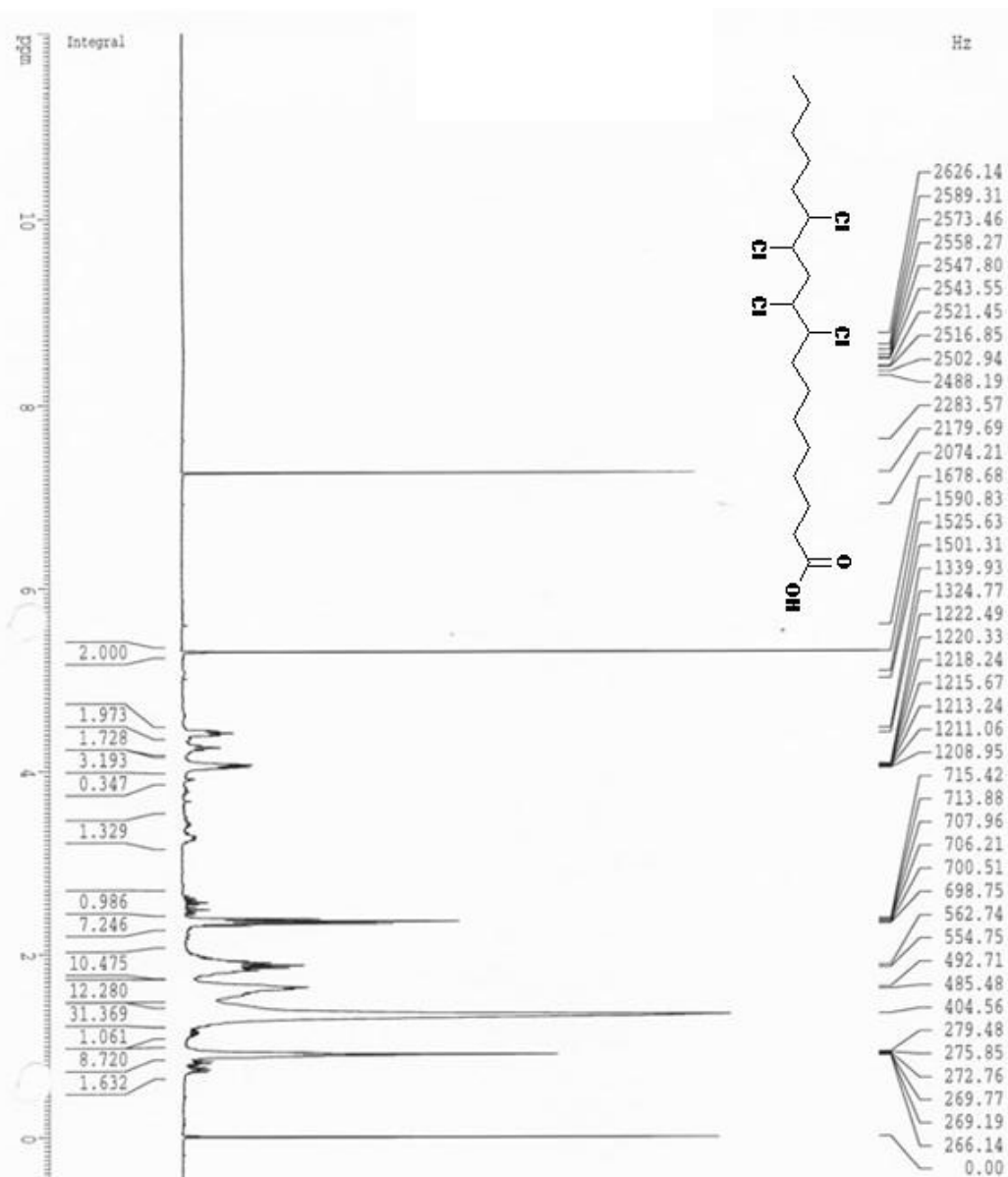
7-heksadekynsyre TLC-055



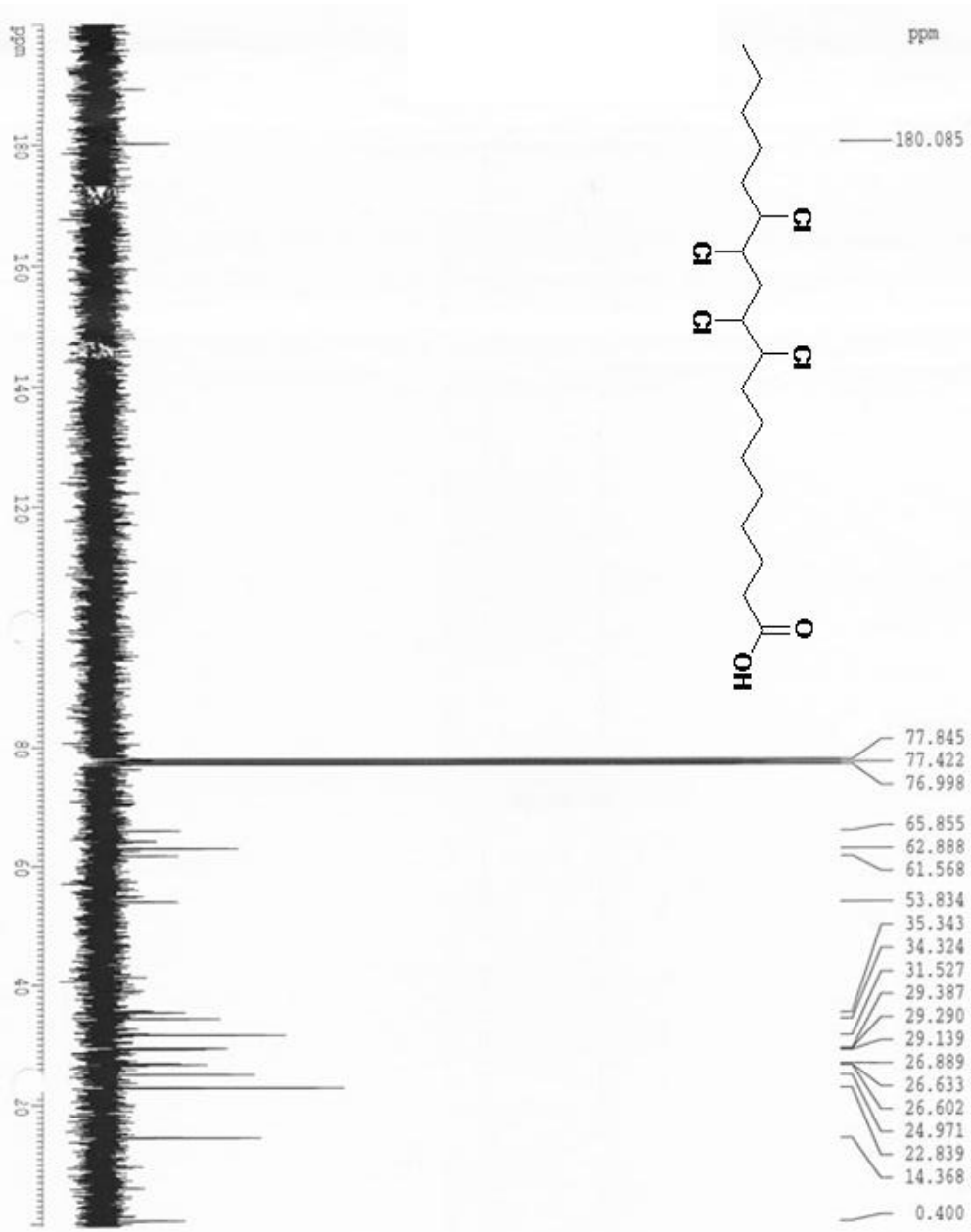
9-, 10-klorotaddekansyre TLC-059



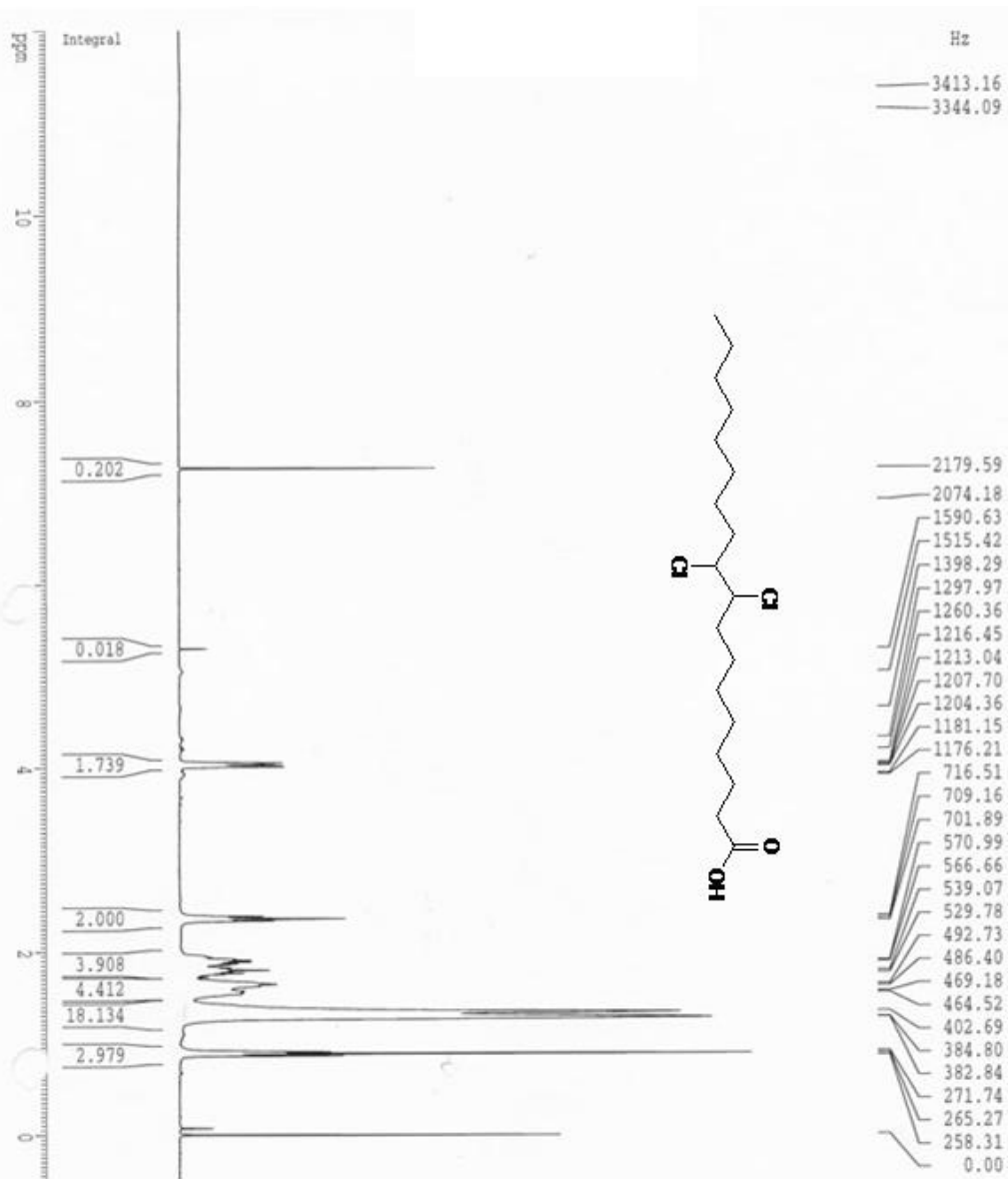
9, 10, 12, 13-tetraklorokatadekansyre TLC-058



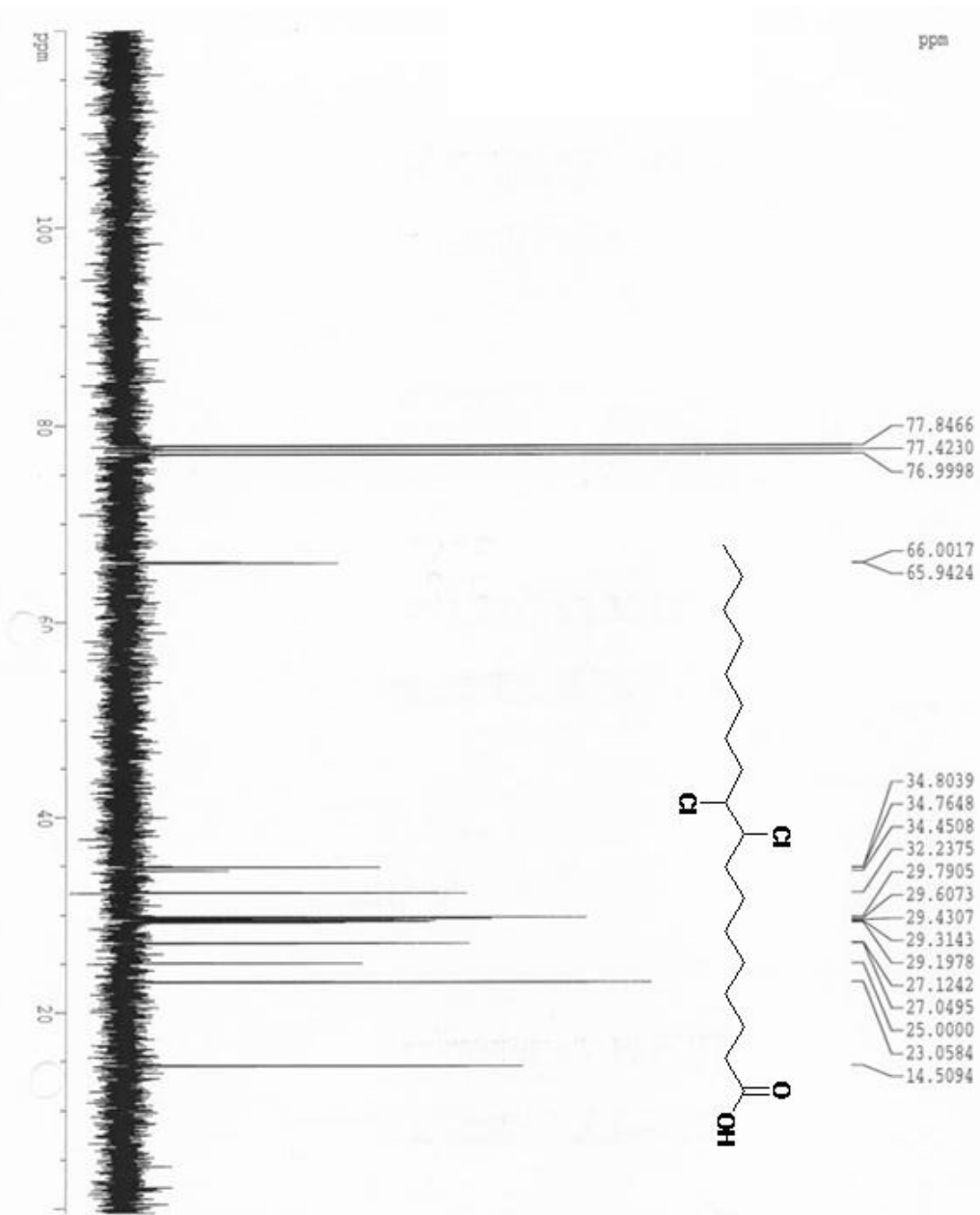
9, 10, 12, 13-tetraklorokadecansyre TLC-058



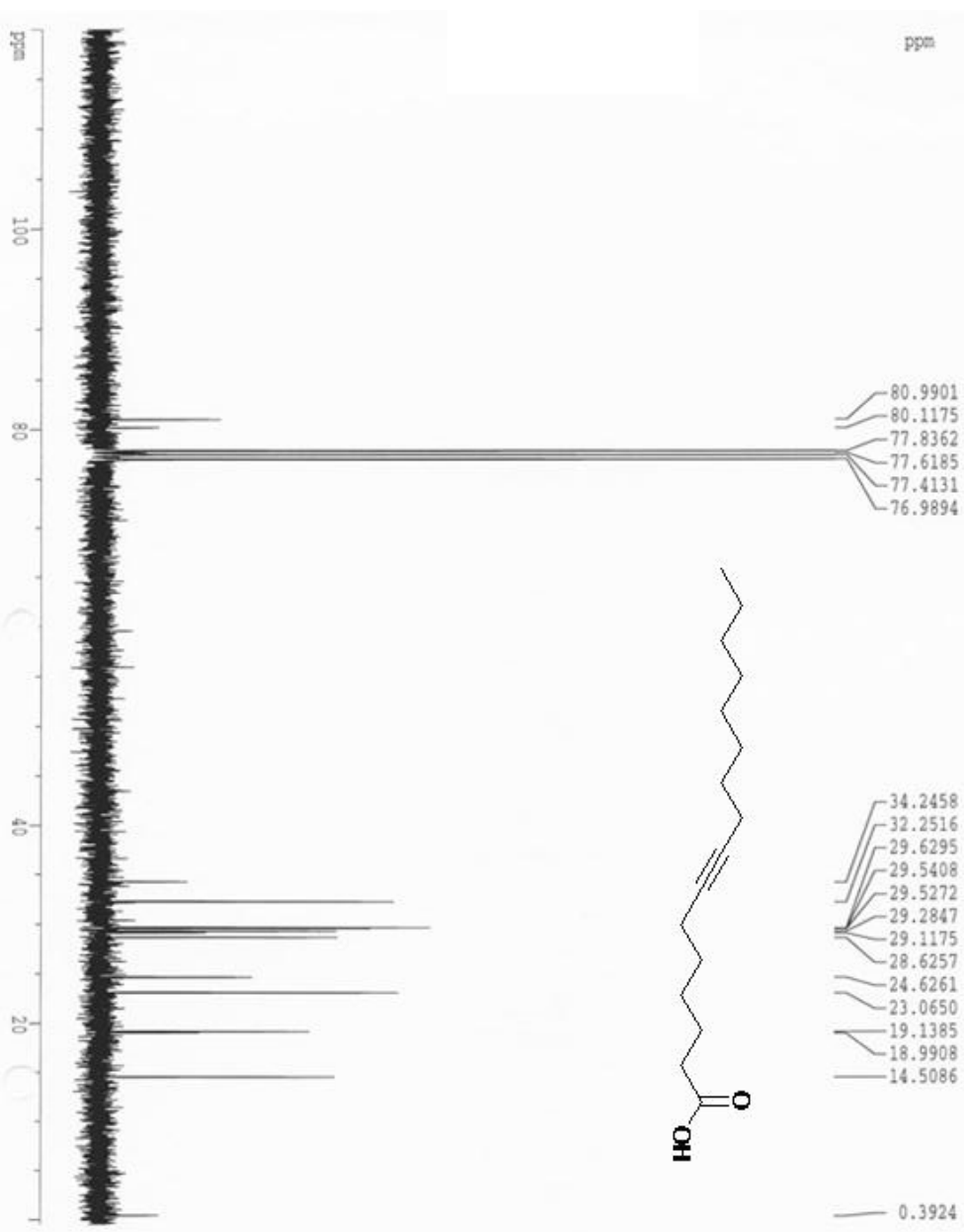
9, - 10 monoklordekan syre TLC-059



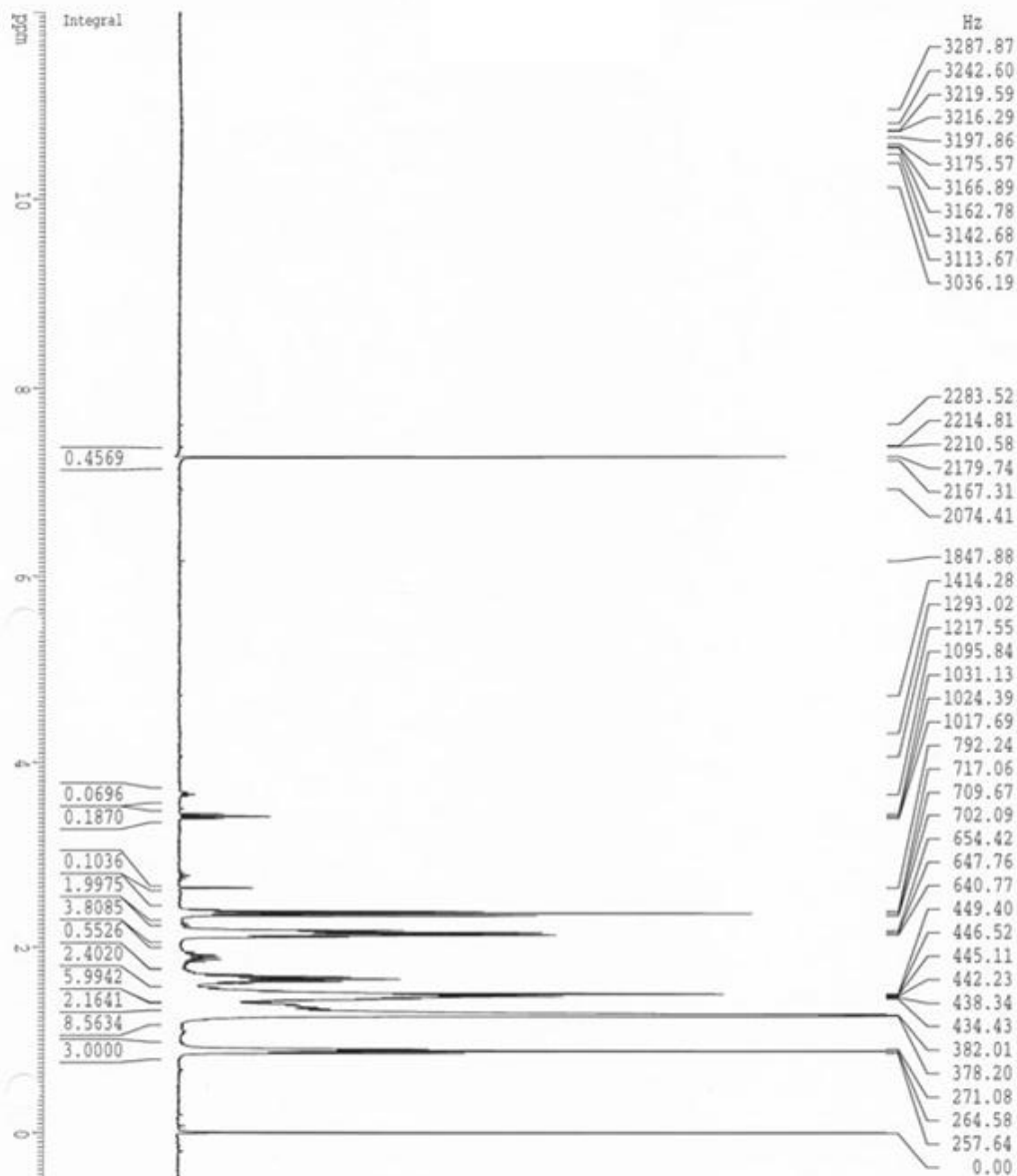
9,10-dikloroktansyre TLC-056



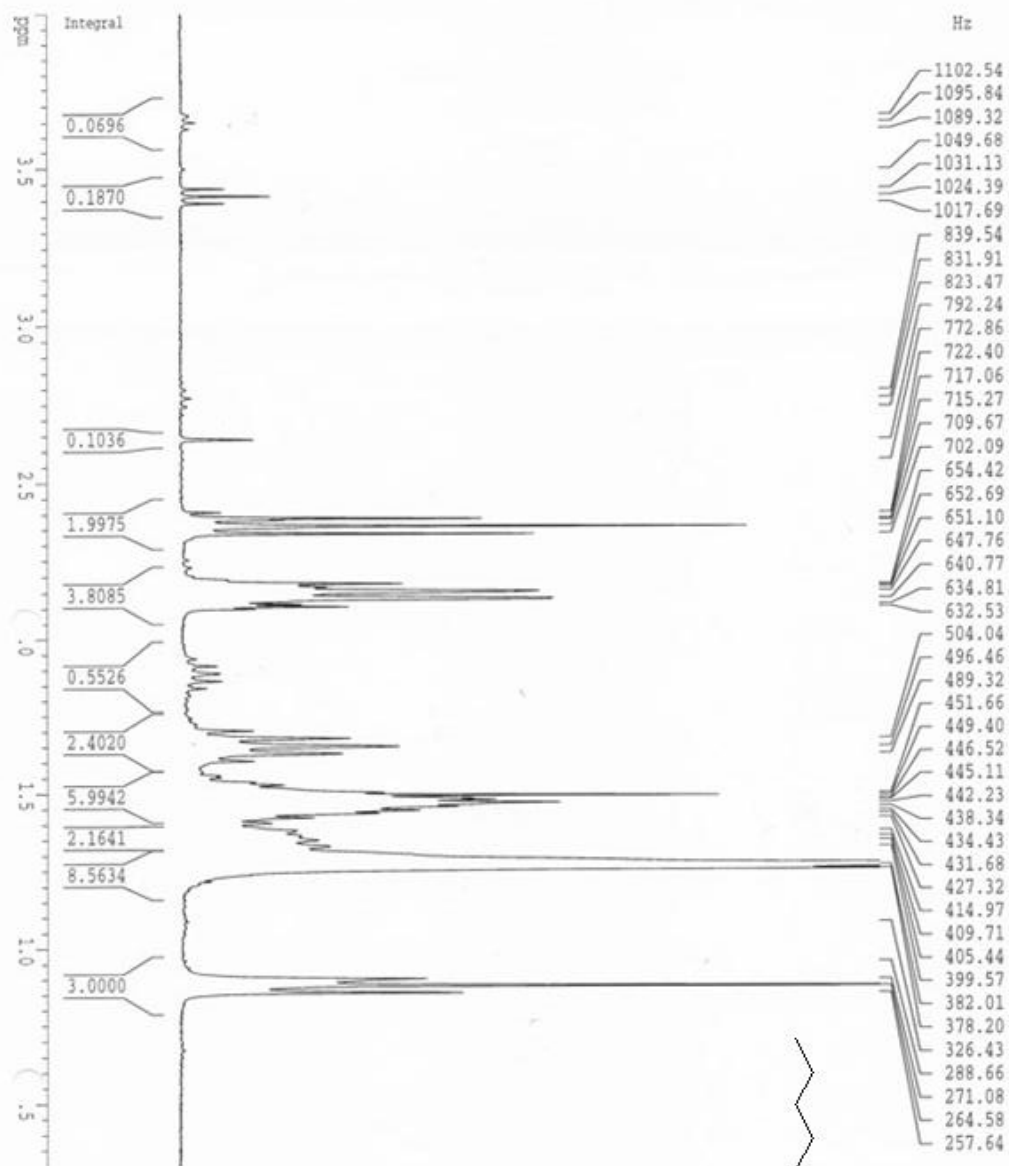
7-heksadekynsyre TLC-055



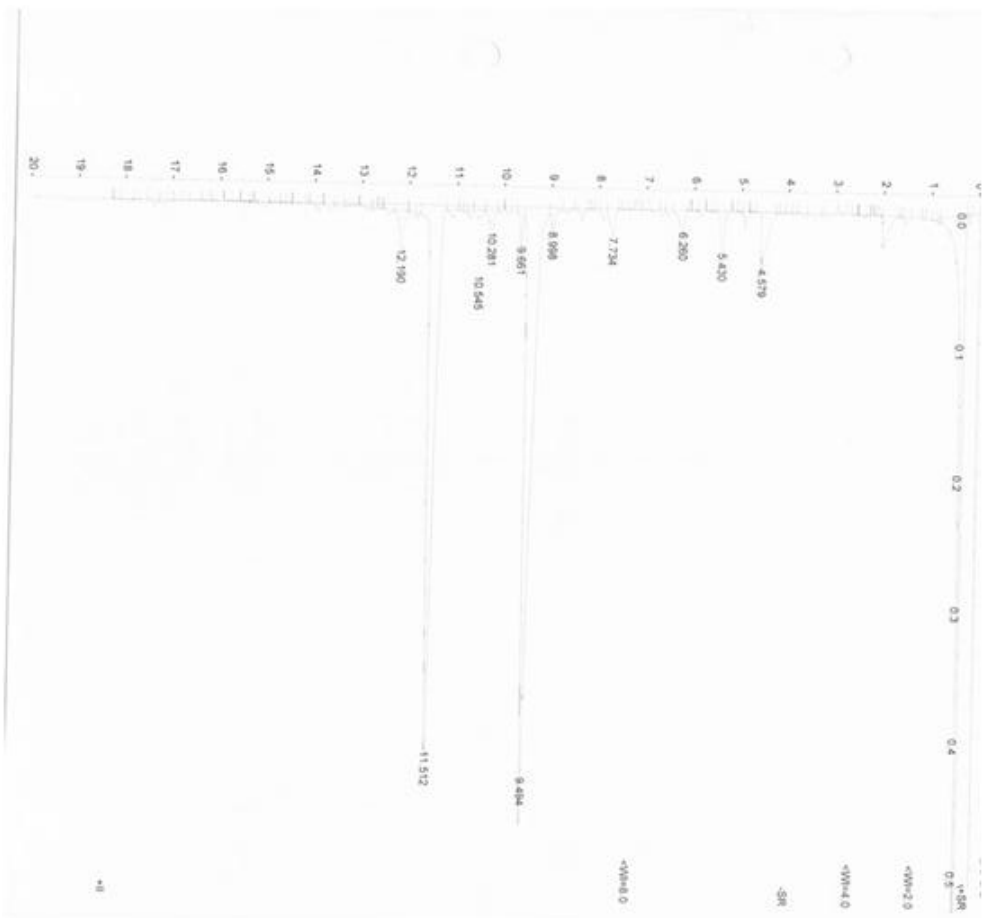
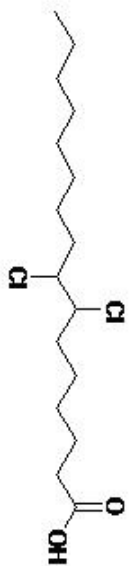
7-heksadekynsyre TLC-055



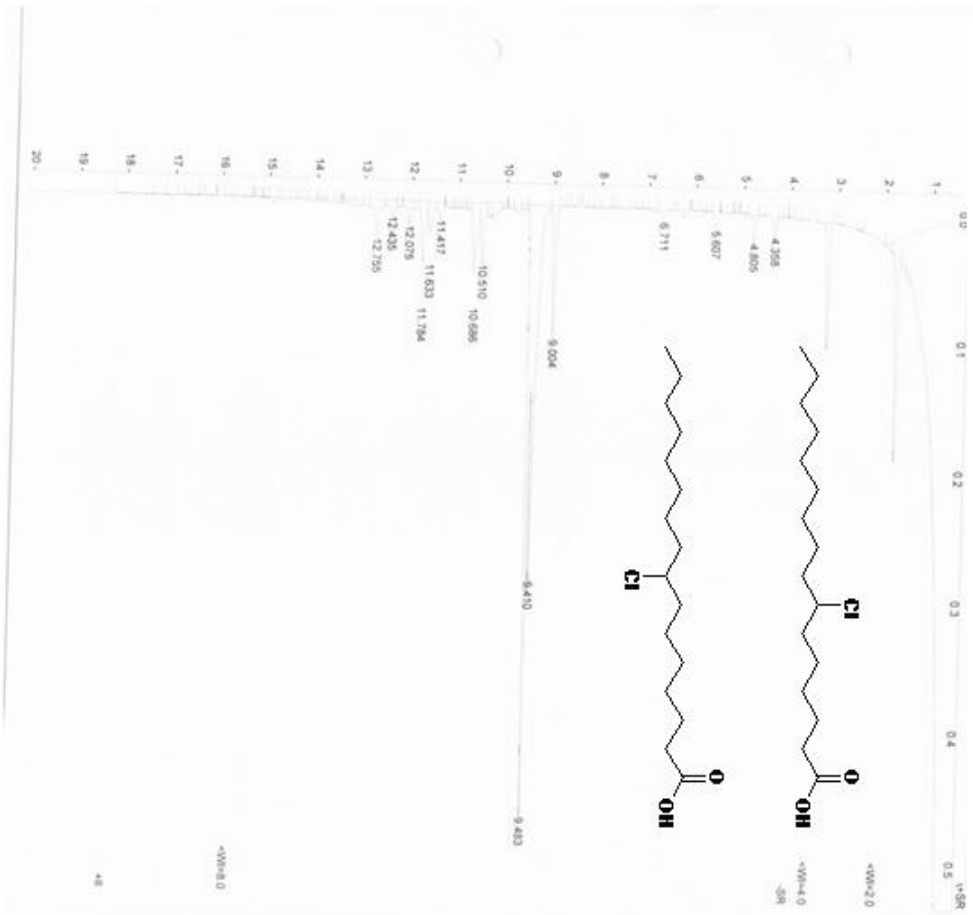
7-heksadekynsyre TLC-055



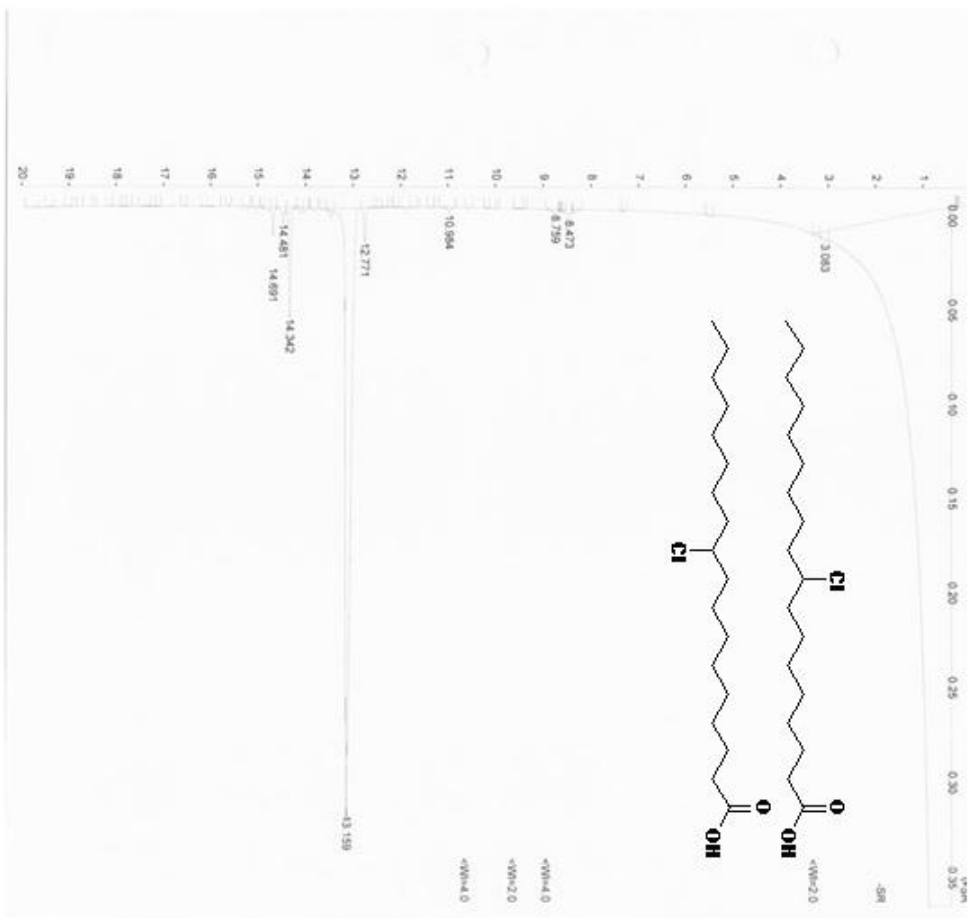
7,8-diklorheksadekansyre TLC-065



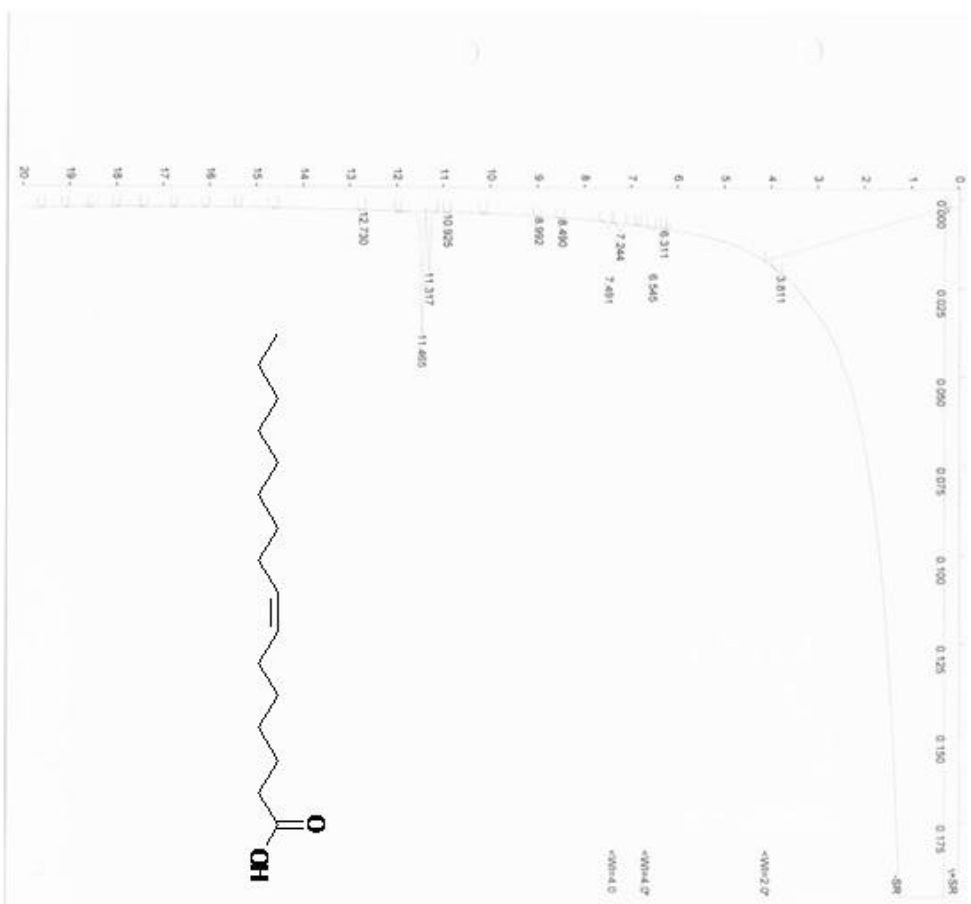
7-, 8-Klorheksadekansyre TLC-066



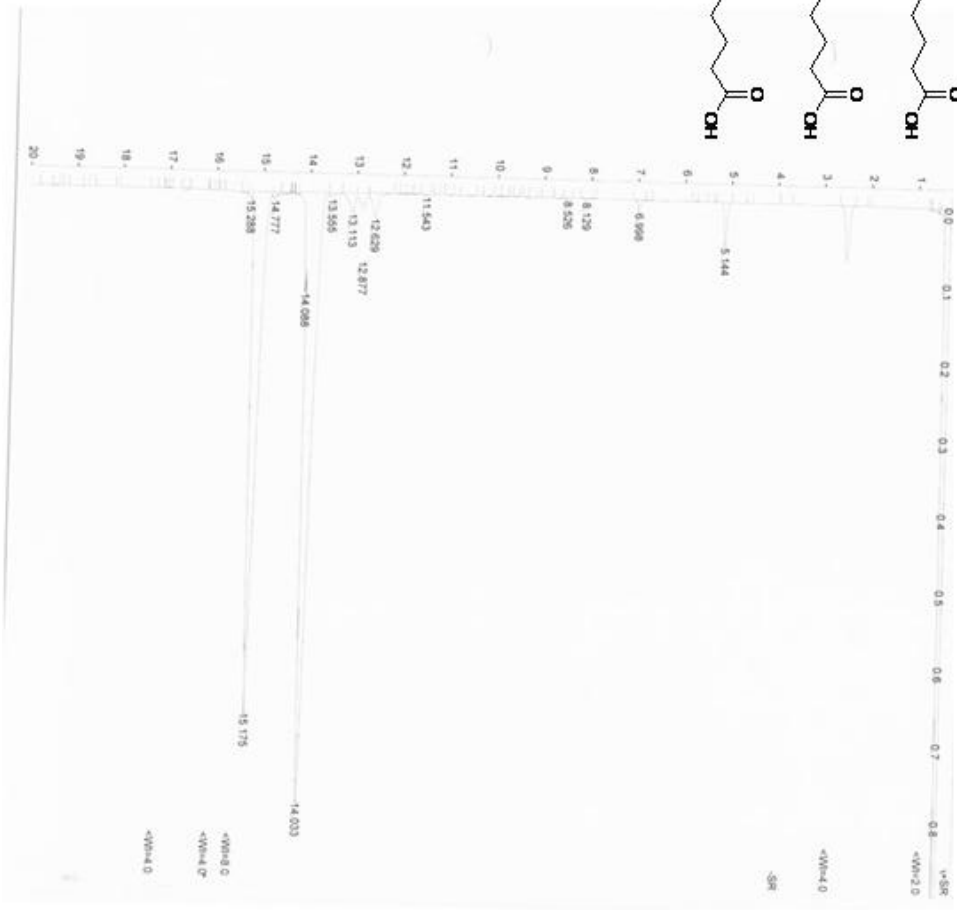
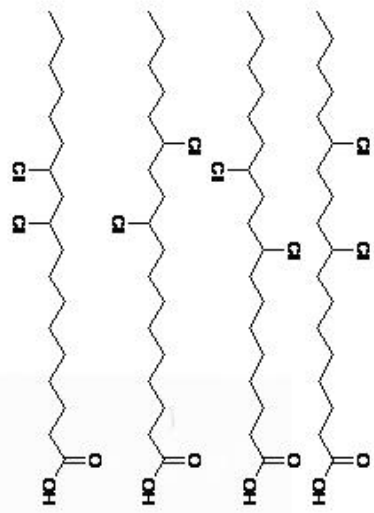
9-, 10-KlorotaddekansyreTLC 059



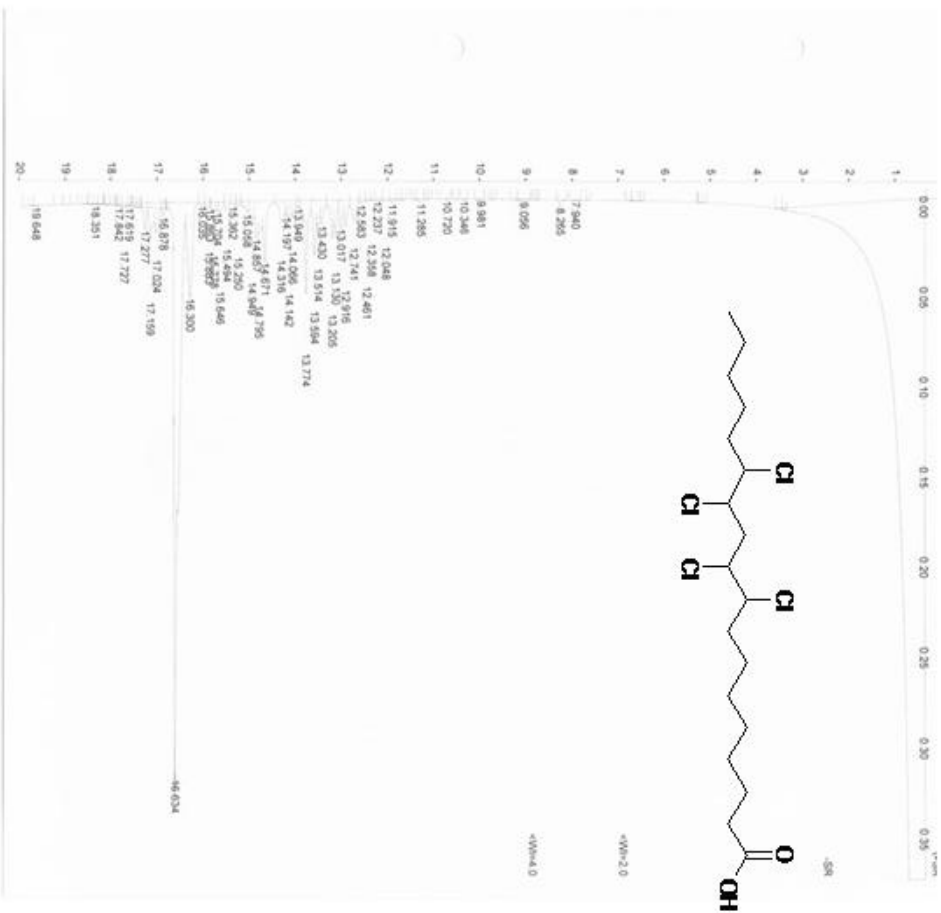
Cis, Cis-9, 12-heksadekensyre TLC-057



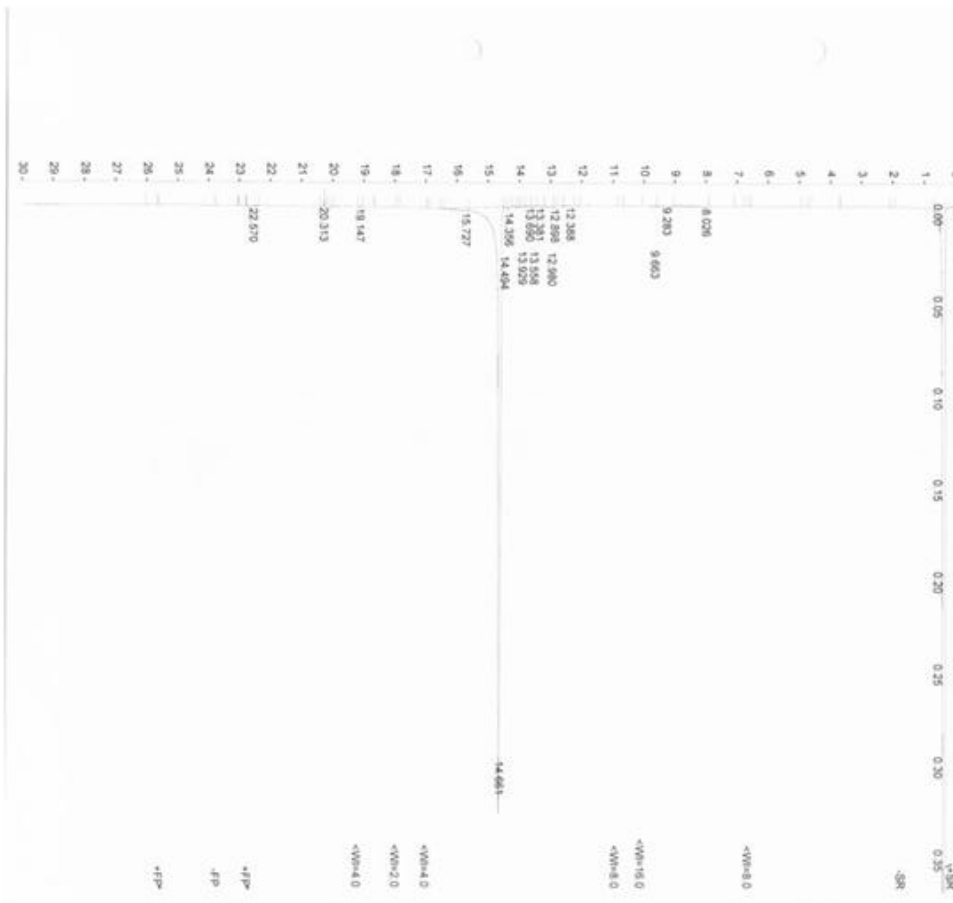
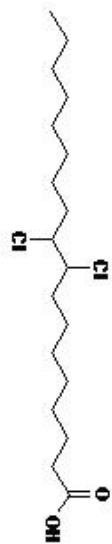
9,13-9,12-10,13-10,12-diklorotadekanansyre TLC-061



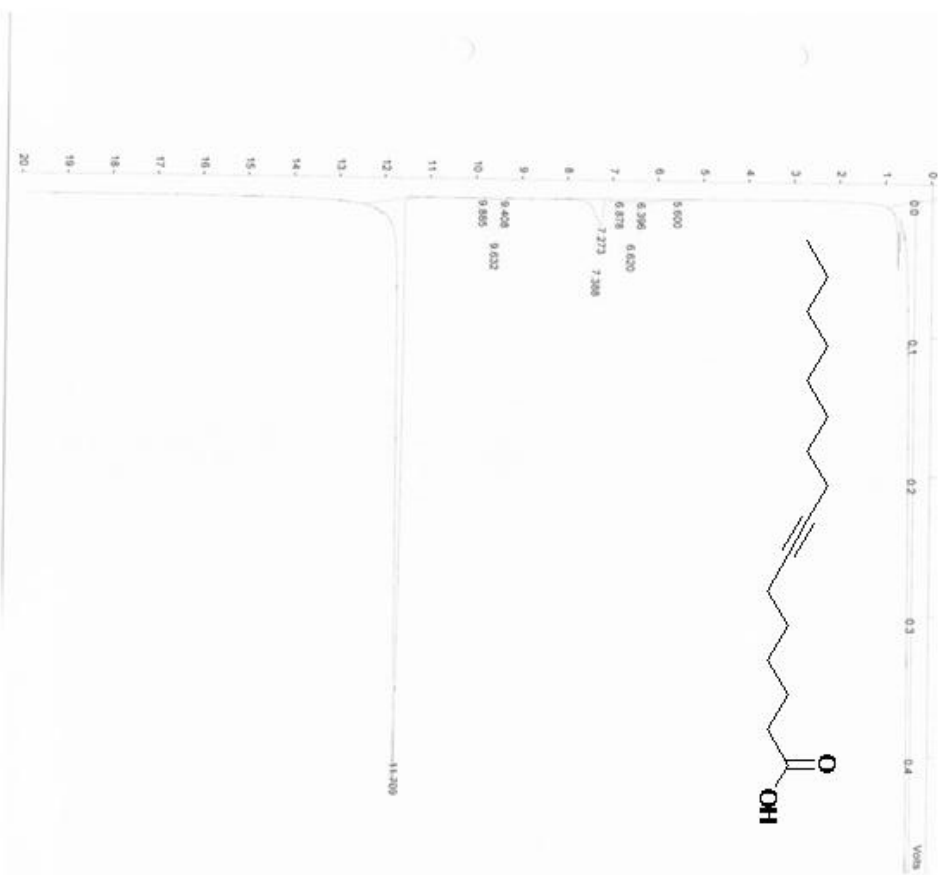
9,10,12,13-tetraklorokatadedkansyre TLC-058



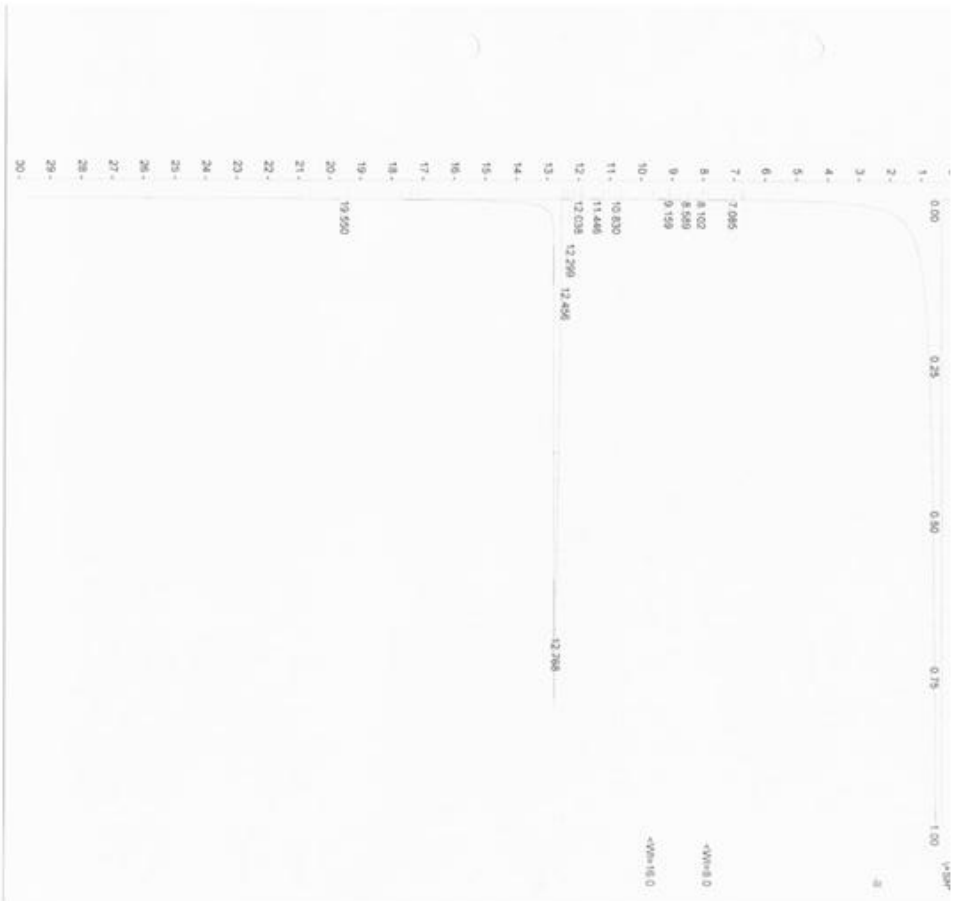
9,10-diklorotaddekansyre TLC-056



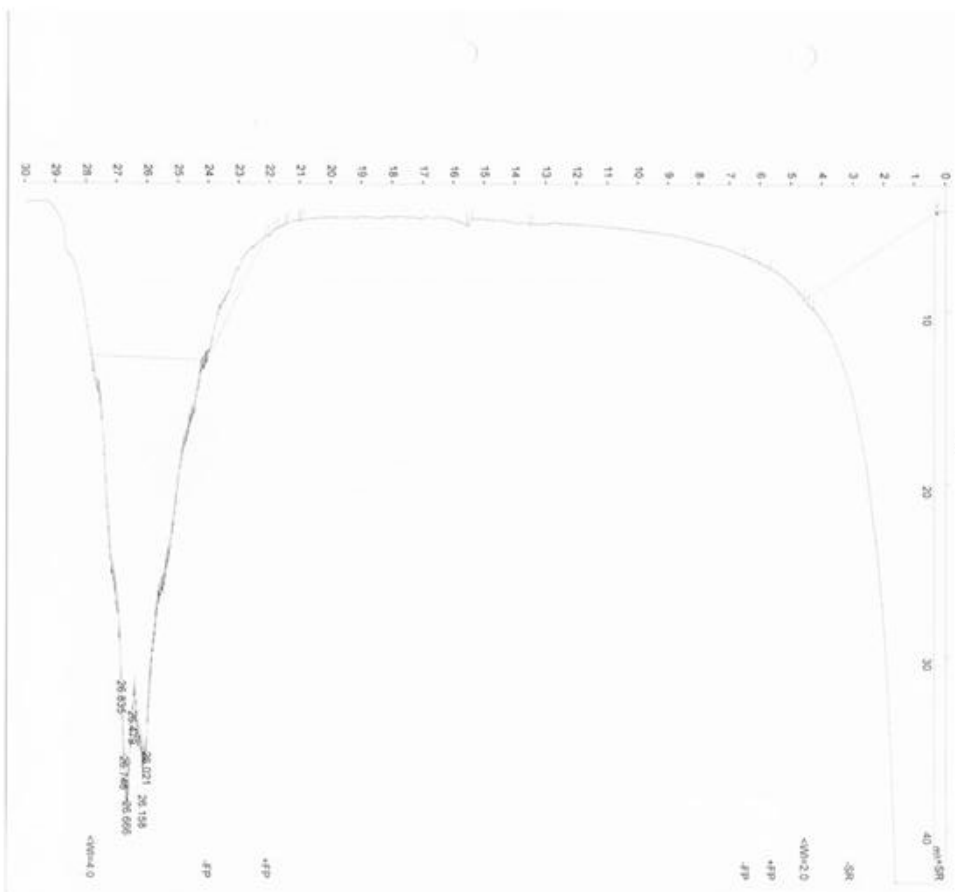
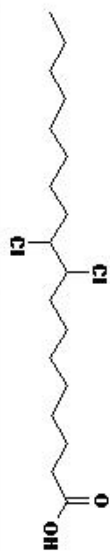
7-heksadekynsyre TLC-055



Cis-9-oktadekensyre



9,10-dikloroktadekansyre TLC-056



9-, 10-kloroktadekansyre TLC-059

