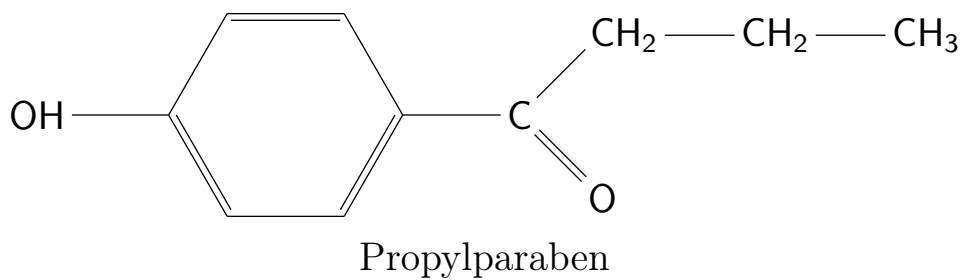
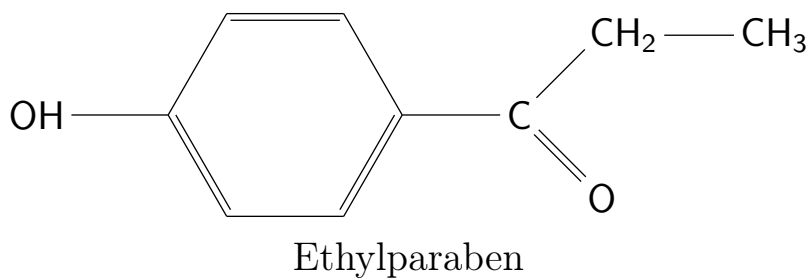


# KEMISK PRODUKTION

## Syntese af parabener

Oliver Nielsen Bager, 3.A, Tradium HTX

26/4-2024



# Indhold

<b>1</b>	<b>Indledning</b>	<b>1</b>
<b>2</b>	<b>Teori</b>	<b>2</b>
2.1	Parabener . . . . .	2
2.1.1	Virkningsmekanisme . . . . .	3
2.1.2	Sundhedsmæssig indvirkning . . . . .	3
2.1.3	Nedbrydning . . . . .	5
2.2	Synteseprocessen . . . . .	6
2.3	Smeltepunktsbestemmelse . . . . .	8
2.4	Tyndtlagschromatografi . . . . .	8
2.5	Spektroskopi . . . . .	9
2.5.1	H-NMR-spektroskopi . . . . .	10
2.5.2	Kemisk skift . . . . .	17
2.5.3	IR-spektroskopi . . . . .	19
<b>3</b>	<b>Metoder</b>	<b>23</b>
3.1	Synteser . . . . .	23
3.1.1	Syntese 1: Ethylparaben . . . . .	23
3.1.2	Syntese 2: Propylparaben . . . . .	27
3.1.3	Syntese 3: Dobbelt syntese . . . . .	27
3.2	Smeltepunktsbestemmelse . . . . .	27
3.3	NMR-spektroskopi . . . . .	27
3.4	IR-spektroskopi . . . . .	27
3.5	Hæmningsforsøg . . . . .	27
3.5.1	Mueller-Hinton . . . . .	27
3.5.2	Fortyndingsrække . . . . .	28
<b>4</b>	<b>Resultatbehandling</b>	<b>29</b>
4.1	Syntese 1 . . . . .	29
4.1.1	Smeltepunktsanalyse . . . . .	29
4.1.2	TLC-analyse . . . . .	29
4.2	Syntese 2 . . . . .	29
4.2.1	Smeltepunktsanalyse . . . . .	29
4.2.2	TLC-analyse . . . . .	30
4.3	Syntese 3 . . . . .	30
4.3.1	Smeltepunktsanalyse . . . . .	30

4.3.2	TLC-analyse . . . . .	31
4.4	H-NMR-spektroskopi . . . . .	31
4.5	IR-spektroskopi . . . . .	34
4.6	Hæmningsforsøg . . . . .	34
<b>5</b>	<b>Diskussion</b>	<b>35</b>
<b>6</b>	<b>Konklusion</b>	<b>36</b>
<b>7</b>	<b>Litteratur</b>	<b>37</b>
<b>A</b>	<b>Gantt-diagram</b>	<b>40</b>
<b>B</b>	<b>Flowchart</b>	<b>40</b>
<b>C</b>	<b>Mængdeberegninger</b>	<b>41</b>
C.1	Ethylparaben . . . . .	41
C.2	Propylparaben . . . . .	41
C.3	Dobbeltsyntese . . . . .	41
<b>H-NMR-Spektre</b>		<b>42</b>
C.4	Ethylparaben . . . . .	43
C.4.1	Peaks . . . . .	44
C.5	Propylparaben . . . . .	45
C.5.1	Peaks . . . . .	46
<b>IR-Spektre</b>		<b>47</b>
C.6	Ethylparaben . . . . .	47
C.7	Propylparaben . . . . .	48
<b>D</b>	<b>Hæmningsforsøg</b>	<b>49</b>
<b>E</b>	<b>Forsøgsvejledning</b>	<b>50</b>
<b>F</b>	<b>Risikovurdering</b>	<b>54</b>

## 1 Indledning

Konserveringen af fødevarer har gennem tiden spillet en enorm rolle for menneskets overlevelse som art. At kunnet bevare fødevarer gennem perioder med mangel har gjort det muligt at have adgang til mad hele året rundt. I nutiden hvor forsyningen af mad ikke er et problem grundet globaliseringen, har bevaringen af mad fået en ny rolle, nemlig at muliggøre transportation og langvarig opbevaring af egnede fødevarer (Anderson, 2019).

Før i tiden benyttedes oftest “naturlige” metoder til at konservere fødevarer, eksempler på disse kunne være:

- saltning af kød, hvilket medfører dehydrering og derved værre miljø for bakterievækst
- tørring af frugt, grøntsager, medfører igen dehydrering
- syltning, placerer fødevaren i et syrligt miljø hvilket minimerer bakterievækst
- frysning, reducerer enzymaktiviteten drastisk og fryser vandet hvilket gør det ubrugeligt for mikroorganismer
- rygning, dræber overfladebakterier og tørrer den ud, røg indeholder formaldehyd og alkohol som har bevarende virkning

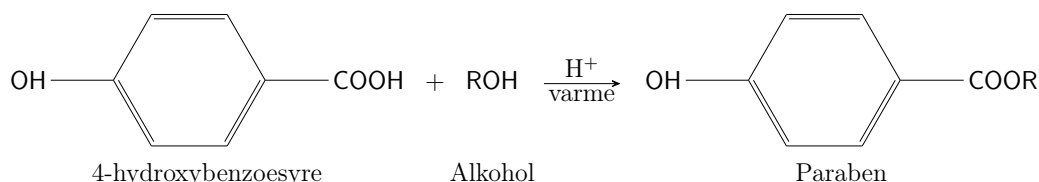
I dag benyttes ofte i stedet syntetiske konserveringsmidler der produceres i laboratorier, grundet deres bedre effektivitet, stabilitet og omkostning. Derudover minimeres også varians mellem partier af konserveringsmidler, hvilket medfører konsekvent bevaring.

Dæmonisering af syntetiske tilsætningsstoffer har dog medført at mange er bange for de syntetiske konserveringsmidlers indvirkning på menneskets sundhed, på trods af manglende empirisk data der understøtter dette. Dette har medført at nogle producenter er begyndt at bevæge sig mod de “naturlige”- eller alternative konserveringsmidler med mindre data der understøtter deres inerte helbredspåvirkning for at appellere til forbrugerne, hvilket kan vise sig at have konsekvenser senere hen grundet den større eksponering til mindre velundersøgte- og potentielt sundhedsskadelige stoffer.

## 2 Teori

### 2.1 Parabener

Parabener indgår i en gruppe af estere dannet ved kondensationereaktion mellem 4-hydroxybenzoesyre og en vilkårlig alkohol. Afhængigt af alkoholen der benyttes vedhæftes forskellige alkylgrupper, hvilket ændrer egenskaberne af det endelige molekyle:



Figur 1: Kondensationsreaktion mellem 4-hydroxybenzoesyre og vilkårlig alkohol, dannet vandmolekyle udeladt.

Afhængigt af hvor de skal benyttes, er det derfor også fordelagtigt at udvælge parabener med foretrækkelige egenskaber. Eksempelvis ses methylparaben oftest benyttet i levnedsmidler grundet dets højere opløselighed i vandige faser, mens blandinger- eller parabener med længere alkylkæder oftest vil benyttes i kosmetik.

Tabel 1: Fysiske egenskaber af forskellige parabener (NIH, u.d.).

	Vand opl. [g/100g]	Ethanol opl. [g/100g]	MV [g/mol]	SMP [°C]
Methylparaben	0.25	52	152.15	125
Ethylparaben	0.085	70	166.17	117
Propylparaben	0.05	95	180.2	96
Butylparaben	0.021	210	194.23	68

Alternativt kan typisk ester-navngivning også benyttes, dog angives parabener hyppigst ved navnet på deres alkylkæde efterfulgt af *paraben*, eksempelvis: *ethylparaben*. *Paraben* stammer fra navnet på 4-hydroxybenzoesyre. Alternativ navngivning jf. de relative molekylepositioner villet medføre at den kaldes *p*-hydroxybenzoesyre, grundet hydroxygruppens placering i *para*-positionen, derfra kommer *para*-hydroxybenzoesyre.

### 2.1.1 Virkningsmekanisme

Parabeners virkningsmekanisme er ikke veletableret, og det er endnu ikke fuldstændigt sikkert hvordan de hindrer mikroorganismers vækst. Nogle populære teorier bygger dog på at de (Valkova m.fl., 2001):

- forstyrrer af membrantransportprocesser
- inhiberer DNA- og RNA-syntese
- inhiberer dannelsen af nødvendige enzymer som ATPase og fosfotransferase

Samtidigt observeres også et sammenhæng mellem længden af den vedhæftede alkylkæde og deres hæmmende effekt (Cashman & Warshaw, 2005). Dette begrundes i den faldende polaritet af molekylet i takt med at længde på alkylkæden stiger, hvilket gør det nemmere for den at interagere med den lipide cellemembran.

Dog er dette ufordelagtigt i en række af produkter, da det begrænser muligheden for at benytte dem i varer med vandige faser. Det samme observeres også i to-fasede produkter, hvor der ofte benyttes blandinger af parabener for at sørge for at de ikke blot akkumulerer i fasen hvori de har lettest ved at forblive opløst.

### 2.1.2 Sundhedsmæssig indvirkning

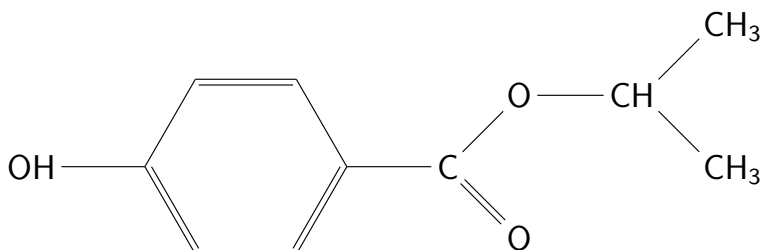
Bekymring for den sundhedsmæssige indvirkning af en lang række syntetiske produkter bringes ofte op i medierne, samt af offentligheden generelt. Dog er dette oftest uden belæg, og kan hovedsageligt tilskrives den *naturalistiske fejlslutning* — troen på at “naturlige” produkter **altid** er bedre for en sundhedsmæssigt, end syntetiske alternativer, hvilket selvfølgelig ikke er sandt.

Dette understøttes også af den eksisterende empiriske data, hvor langt størstedelen deraf viser at parabener ikke har nogen negativ indvirkning på menneskets sundhed under realistiske forhold.

En stor del af frygten for parabener kan tilskrives tidligere studier der har påvist endokrin forstyrrelse i mus og rotter (Darbre & Harvey, 2008), samt fund af intakte parabener i kræftramt brystvæv (Darbre m.fl., 2004). Senere studier har dog påvist at der ikke lader til at være et kausativt sammenhæng

mellem eksponering for parabener og udvikling af cancer (Hager, 2022), samtidigt med at den østrogeniske effekt af parabener *in vivo* er dokumenteret til i værste tilfælde at være  $10 \cdot 10^3$  gange lavere end endogent produceret estradiol (Routledge m.fl., 1998), og anses derfor for at være ubetydelig i realistiske eksponeringsmængder.

Nogle studier har dog også vist en forhøjet endokrin forstyrrende virkning hos parabener med længere alkylkæder- eller forgreninger (Karpuzoglu & Holladay, 2013), hvilket bidragede til at brugen af isopropyl- og butylparaben blev ulovliggjort i kosmetiske produkter beregnet til børn i Danmark (Miljøstyrelsen, 2013), samt levnedsmidler i EU.



Figur 2: Isopropylparaben, en forgrenet paraben.

På baggrund af den manglende evidens for betydningsfulde sundhedsmæssige konsekvenser ved indtag af parabener er der dog mange der mener at de eksisterende grænseværdier (Committe, 2011) ikke har belæg. Samtidigt tager meget lidt af den empiriske data udgangspunkt i mennesker, og retningslinjerne er derfor udformet med udgangspunkt i dyrestudier (Libner, 2016).

Dog er brugen af methyl-, ethyl-, propyl- og butylparaben erklæret harmløst i kosmetik indenfor en grænseværdi af EUs videnskabskomite, mens det ikke har været muligt at drage definitive konklusioner for isopropyl-, isobutyl-, phenyl-, benzyl- og pentymparabener grundet manglende data (Jacobsen, 2013), og brugen deraf er derfor forbudt. En acceptabel daglig dosis for summen af methyl- og ethylparaben fra levnedsmidler er  $0 - 10\text{mg/kg}$

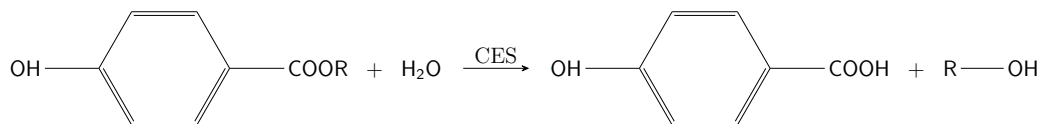
Disse værdier er i praksis nærmest umulig at overskride. Et spansk studie (Galvez-Ontiveros m.fl., 2020) fandt et gennemsnitligt parabenindhold på  $73.86\text{ng/g}$ , ved undersøgelse af 98 forskellige levnedsmidler fra et supermarked, hvilket medfører at en gennemsnitlig person ( $m = 70\text{kg}$ ) skulle indtage ca.  $9.5\text{t}$  levnedsmidler for at nå grænseværdien.

Med udgangspunkt i den eksisterende litteratur er det derfor svært at opstille et kausativt sammenhæng mellem brugen af parabener og en negativ sundhedsmæssig indvirkning. På trods af konstant granskning siden deres første dokumenterede brug i 1920'erne (Liebert, 1984), eksisterer stadig ikke bevis for parabeners negative sundhedspåvirkning, hvilket videre bidrager til argumentationen for deres brug i både kosmetik samt levnedsmidler.

Flere undersøgelser, specielt i mennesker, er dog nødvendige for at opstille en definitiv konklusion for indtagsgrænserne, og de er derfor sat relativt konservativt. Dog er de kategoriserede som GRAS (*Generally Recognized as Safe*) af Amerikas levnedsmiddelsstyrrelse (FDA, 2022).

### 2.1.3 Nedbrydning

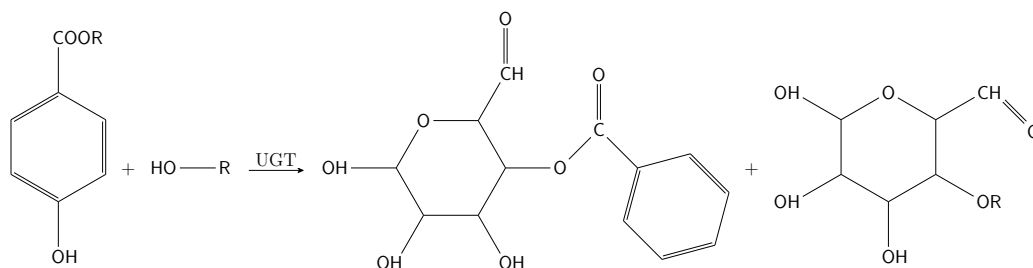
*In vivo* nedbrydes parabener hovedsageligt i leveren eller huden afhængigt af hvordan de er optagede (dermal applikation vs. levnedsmiddel) ved 2-faset metabolisme. I den første fase hydrolyseres molekylet ved enzymatisk reaktion med en carboxylesterase-isoform (CES-1 i leveren, CES-2 i huden) afhængigt af optagelsessitet, hvilket resulterer i omdannelsen til 4-hydroxybenzoesyre og den korresponderende alkohol der herefter udskilles gennem urinen.



Figur 3: Endogen hydrolysering af paraben ved enzymatisk reaktion med carboxylesterase.

Den 2. fase af metabolismen sker ved glukoronidation af de tilbageværende relativt upolære molekyler, katalyseret af glukoronosyltransferase-enzymet (UGT), hvilket medfører en polaritetsstigning hvorved de kan elimineres gennem urinen.





Figur 4: Glukoronidation af tilbageværende relative upolære molekyler, 2 vandmolekyler udeladt.

I plasma lader det til at parabener med kortere alkylgrupper er stabile, mens parabener med længere alkylgrupper degraderes over tid. Den effektive nedbrydning af parabener i leveren indikerer at de *ikke* akkumulerer i kroppen over tid, og i stedet elimineres fuldstændigt (Abbas m.fl., 2010).

For kosmetiske produkter indeholdende parabener hydrolyseres de igen ved enzymatisk reaktion med carboxylesterase, dog denne gang ved isoform 2, CES2, hvilket igen medfører at en meget lille mængde af parabenen når at komme i cirkulation, hvorefter de igen elimineres i leveren.

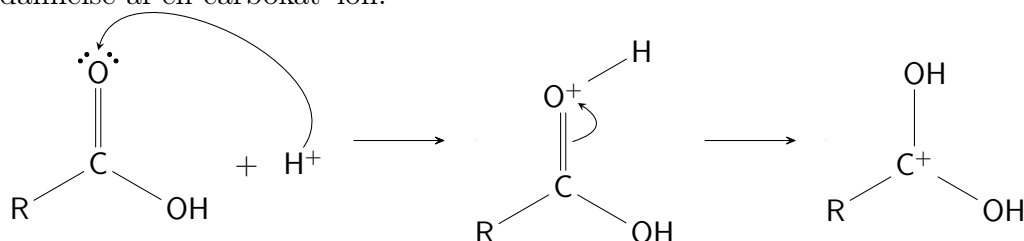
Samtidigt observeres det at parabener med længere alkylkæder generelt hydrolyseret hurtigere i huden, mens parabener med kortere alkylkæder hydrolyseres hurtigere i leveren. Dette er grundet forskellene på de 2 isoformer af carboxylesterase, hvor CES1 har en præference for korte alkylkæder og store acylgrupper, mens at CES2 har det omvendte (Lester m.fl., 2021).

## 2.2 Synteseprocessen

Parabener dannes ved syre-katalyseret esterificering af 4-hydroxybenzoesyre og en vilkårlig alkohol. Dette sker ved at protonen i carboxylsyregruppen fraspaltes under kondensationsreaktion med alkoholens hydroxygruppe, hvorved dets alkylkæde vedhæftes ved oxygenmolekylet ved fraspaltning af et vandmolekyle.

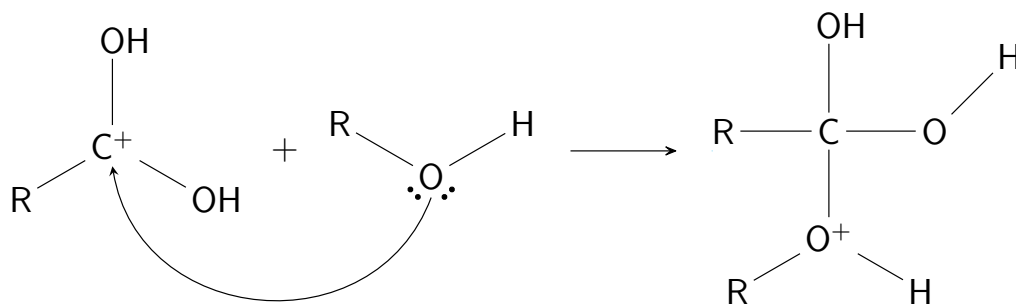
Som katalysator i denne proces benyttes koncentreret svovlsyre. Under en Fischer-esterificeringsreaktioner benyttes stærke organiske syrer for at muliggøre dannelsen af en carbokat-ion, hvilket muliggør nukleofil addition (Farmer, 2023). Dette gøres ved at den stærke syre overfører en proton til det carbonyl oxygenatom hvilket er muligt grundet elektronegativitetsforskellen.

Dette medfører en stigning i det carbonyl carbon-atoms elektrofilicitet ved dannelse af en carbokat-ion.



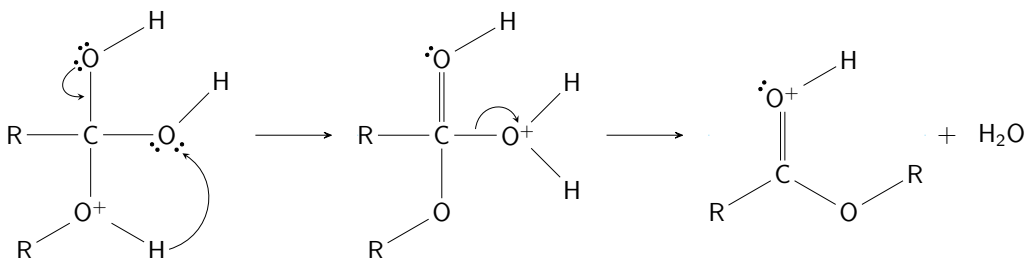
Figur 5: Dannelse af carbokat-ion under reaktion med stærk syre.

Alkoholen har i denne reaktion mulighed for at agere som et nukleofil grundet de frie elektronpar på oxygen-atomet. En nukleofil addition sker derfor ved carbokat-ionen, hvorved alkoholen vedhæftes ved carbokat-ionen dannede, hvilket danner en oxonium-ion ved protonoverførsel.



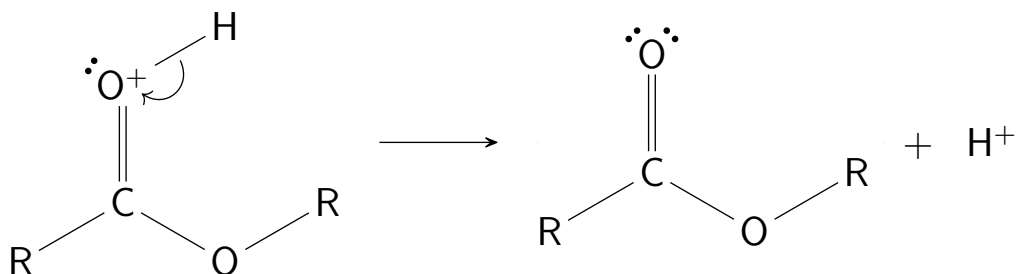
Figur 6: Nukleofil addition af alkoholmolekyle.

Den dannede ether er en dårlig leaving group, og protonen overføres derfor til den ene af hydroxygrupperne hvilket medfører dannelsen af et aktiveret kompleks hvorved vandmolekylet fraspalttes.



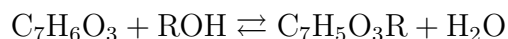
Figur 7: Dannelse af aktivt kompleks ved protonoverførsel til hydroxygruppe samt fraspaltning af vandmolekyle.

Hvorved det kovalente bånd mellem oxonium-ionen og hydrogen-atomet opløses, hvilket frigiver elektronen som optages af oxonium-ionen grundet elektronegativitetsforskellen, og neutraliserer ladningen.



Figur 8: Neutralisering af ladning ved frigivelse af hydron.

Da hydronerne ikke opbruges under reaktionen er det nødvendigt at neutralisere opløsningen for at gøre den sikker at håndtere. Dog er det også nødvendigt at genkende at dette er en ligevægtsreaktion:



Hvilket medfører at det vil være optimalt at udføre et indgreb der forskyder ligevægten mod produktsiden. Ideelt villet vi kunnet fradestillere vandet under reaktionen, men grundet dets højere kogepunkt end de benyttede alkoholer er dette ikke en mulighed. Vi tilsætter derfor alkohol i overskud.

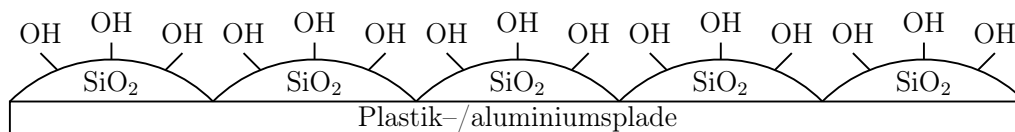
## 2.3 Smeltepunktsbestemmelse

Smeltepunktsbestemmelse gør det muligt at få en generel ide om et molekyles struktur. Et givent molekyles smeltepunkt er hovedsageligt bestemt af hvor tæt molekylet kan pakkes. I forbindelse med parabener vil vi derfor forvente et fald i smeltepunkt i takt med at længden af alkylkæden stiger, da der er begrænset mulighed for at danne Londonbindinger siden den aromatiske ring optager en stor volumen i rummet.

## 2.4 Tyndtlagschromatografi

Tyndtlagschromatografi benyttes til at analysere renheden af- og identificere eventuelle urenheder i et givent produkt. Metoden benytter den sandsynlige polaritetsforskel af dannede molekyler til at skille dem ad. Dette gøres ved at

placere stoffet på en stærkt polær plade (oftest en plade coatet med silicagel grundet dets overfladiske hydroxygrupper).



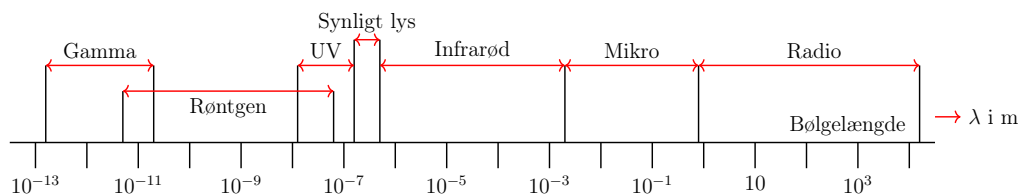
Figur 9: Illustration af hydroxygrupper på silicagel-pålagt TLC-plade.

Ved at tilføje en løbevæske og lade den vandre op ad pladen, vil stofferne “trækkes” forskellige afstande da pladen vil holde bedre fast i de polære- end upolære stoffer.

Endvidere giver dette også mulighed for at samligne med kommercielt indkøbte stoffer, hvor man er sikker på renhed, idet man- hvis det korrekte produkt er dannet, ville forvente at have ens løbelængder.

## 2.5 Spektroskopi

Spektroskopi er den videnskabelige disciplin der beskæftiger sig med måling- og studiet af frekvensspektra. Et frekvensspektra dannes ved at undersøge hvordan elektromagnetiske bølger (radiobølger, mikrobølger, infrarøde bølger, osv.) interagerer med eksempelvis molekyler (Sigurskjold m.fl., 2024). Afhængigt af deres bølgelængde tildeles de forskellige navne:



Figur 10: Det elektromagnetiske spektrum (Lund m.fl., 2012).

Når en elektromagnetisk bølge pålægges et molekyle er der en række forskellige muligheder, hvorved der konsekvent er mulighed for dannelsen af forskellige spektra der viser det enkelte molekyles spektrofotometriske egenskaber (Elvekjær & Benoni, 2020):

- 1) *Absorbtionsspektrum*, kontinuert spektrum der måler et molekyles evne til at absorbere lys af en given bølgelængde (og derved energi), gør det muligt at identificere bølgelængderne som et molekyle har mulighed for at optage.
- 2) *Emissionsspektrum*, det modsatte af et absorbtionsspektrum, måler bølgelængderne (og derved igen energien) af den elektromagnetisk stråling der emitteres fra molekylet ved at gå fra et højt energistadie, til et lavt energistadie.

Det har vist sig senere hen at lys i virkeligheden ikke opfører sig som udelukkende som en bølge, men i stedet både som en partikel og bølge, kendt som bølge-partikel-dualiteten. Energien af lys er derfor ikke kontinuært, men i stedet følger det kvantemekaniske regler. Dvs. at energien kommer i diskrete klumper, kaldet energikvanter (fotoner). Energien af disse kan bestemmes ved Einstein-Planck relationen givet ved:

$$E = hf$$

Hvor  $h$  er Plancks konstant, og  $f$  er frekvensen af lyset (Espita, 2022). Dette betyder samtidigt også at energistadierne i et molekyle må være kvantificerede, og derved diskrete (Andersen & Petresch, 2002), hvilket medfører at hvert molekyle har deres egne absorbtionsspektra grundet forskelle i deres struktur, da et molekyle udelukkende kan absorbere fotoner med en energi der svarer til energidifferensen mellem to kvantemekaniske energistadier. Denne egenskab gør det oplagt til kemisk analyse, da det gør det muligt at differentiere mellem forskellige molekyler. Til dette formål benyttes specielt *kernemagnetisk resonans spektroskopi* (NMR, samt dets undertyper som H-NMR og C-NMR) og *infrarød spektroskopi* (IR), der har hver deres fordele og ulemper.

### 2.5.1 H-NMR-spektroskopi

H-NMR-spektroskopi undersøger overgangen mellem kvantemekaniske energistadier, der sker når et molekyle i et ydre magnetfelt udsættes for en elektromagnetisk frekvens af den rette bølgelængde. Ved at detektere et sådant spring mellem energistadierne kan et NMR-spektrum dannes, hvilket gør det muligt at undersøge strukturen af molekyler.

Den unikke interaktion mellem molekyler og ydre magnetfelter begrundes i deres *spin*, der minder meget om vinkelmomentet vi kender fra den makroskopiske

verden. Hvor spin kommer fra er enormt komplekst, og endnu ikke definitivt beskrevet gennem fysikken (Cartlidge, 2015), det vides dog at spinnet for elektroner, protoner og neutroner er givet ved  $I = \frac{1}{2}$ .

For et givent system bestående af  $n$  dele der hver har et spin kan dets totale spin,  $J$ , beskrives ved:

$$J = \left| \sum_{i=1}^n J_i \right|, \quad \left| \sum_{i=1}^n J_i \right| - 1, \quad \left| \sum_{i=1}^n -J_i \right|$$

Jf. dette er forskellige hydrogenisotopers spin givet ved:

- $^1\text{H}$ , indeholder en proton,  $J = \pm \frac{1}{2}$
- $^2\text{H}$  indeholder en proton og en neutron,  $J = \pm 1 \vee J = 0$

For større molekyler bliver dette umådeligt komplekst, og der er derfor opstilt generelle regler for hvad et molekyles spin vil være:

Tabel 2: Generelle regler for tilskrivning af molekylært spin.

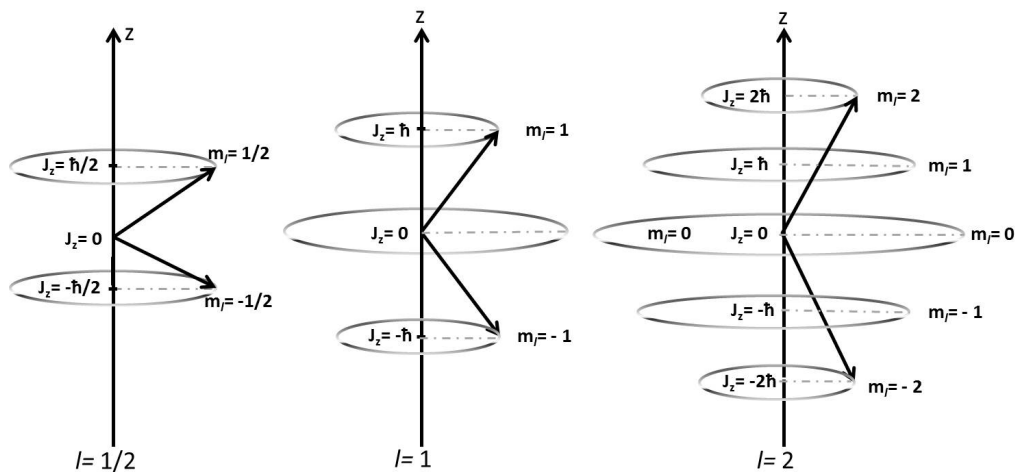
Massenummer	Antal protoner	Antal neutroner	Spin	Eksempel
Lige	Lige	Lige	0	$^{16}\text{O}$
Lige	Ulige	Ulige	$ \mathbb{Z} $	$^2\text{H}$
Ulige	Ulige/lige	Lige/ulige	$ \mathbb{Z}  + \frac{1}{2}$	$^1\text{H}$

Da spin for atomer er analogt til vinkelmomentet for makroskopiske objekter, må de også kunnet beskrives som vektorer med en magnitude,  $L$  og retning,  $m$ . Disse er givet ved:

$$L = h\sqrt{I^2 + I} \quad m = -I, -I + 1, -I + 2, \dots + I$$

Dette medfører at vinkelmomentet påtager sig diskrete værdier afhængigt af den valgte værdi for  $m$ , hvorved vinkelmomentet langs  $z$ -aksen kan bestemmes ved:

$$I_z = mh$$



Figur 11: Vinkelmomentet langs  $z$ -aksen afhængigt af  $l$ .

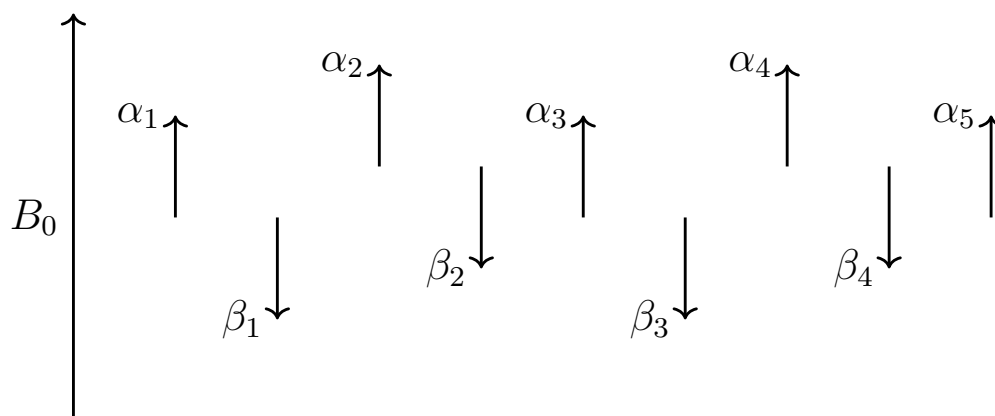
Samtidigt er det klart at da atomkerner er ladede må de, når de bevæger sig, danne et magnetisk felt, og derved også have et magnetisk moment som er givet ved:

$$\mu = \gamma I$$

Hvor  $\gamma$  er det *gyromagnetiske forhold* for kerneisotopen. Idet en given prøve i praksis altid vil indeholde mere end en atomkerne beskriver vi det magnetiske moment ved prøvens *bulk magnetisering*,  $\vec{M}$ , svarende til summen af hvert magnetiske moment:

$$\vec{M} = \sum \vec{\mu}$$

Da vektorerne i det fri vil have vilkårlige retninger vil  $M = 0$  uden ydre påvirkning. Hvis prøvematerialet derimod *ikke* er i det fri, men i stedet påvirket af et kraftigt ydre magnetfelt,  $B_0$ , vil atomkernernes magnetiske momenter enten rette sig efter (lav energi,  $m = -\frac{1}{2}$ )– eller mod det (høj energi,  $m = \frac{1}{2}$ ).



Figur 12: Molekylers magnetiske momenter rettet efter- eller mod magnetfeltet.

Da energidifferensen mellem de to niveauer er relativt lille, er populationsforskellen det også, da simple kollisioner mellem molekyler ofte vil være nok til at skubbe et molekyle op i et højere energistadie. Teoretisk kan populationsforskellen bestemmes som en Boltzmann-fordeling beskrevet ved:

$$\frac{n_{\text{høj}}}{n_{\text{lav}}} = e^{\frac{\Delta E}{kT}}$$

som medfører at  $M \neq 0$ , da der vil være en populationsforskel med bias mod det lave energistadie, hvilket medfører at vi har en bulk magnetiseringsvektor givet ved en positiv skalar af en enhedsvektor langs  $z$ -aksen.

Molekylet der undersøges vil have en række mulige energiniveauer givet ved:

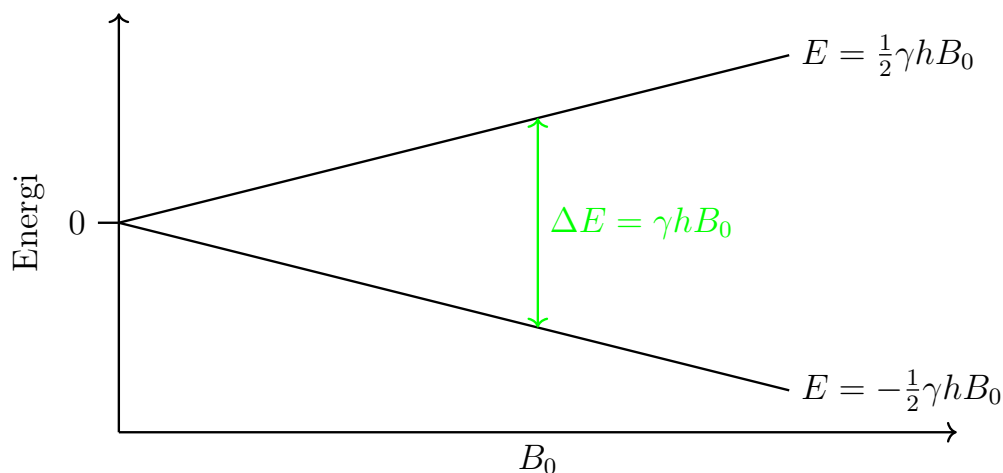
$$n_{\text{energistadier}} = 2I + 1$$

Dette er hvad der gør analyse af molekyler med  $I = \frac{1}{2}$  (eksempelvis  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ ) specielt fordelagtigt, da det skaber et simpelt tilfælde med 2 mulige energistadier. Stadiernes energi, samt differensen mellem dem kan beskrives ved:

$$E_{\text{lav}} = -\frac{1}{2}h\gamma B_0 \quad \Delta E = h\gamma B_0 \quad E_{\text{høj}} = \frac{1}{2}h\gamma B_0$$

Hvor  $h$  er Plancks konstant. Det er denne energidifferens der muliggør analysen af molekylerne, da vi ved at udsætte dem for elektromagnetisk stråling med energi svarende til energidifferensen kan forårsage et *spin flip*. Dvs. en overgang fra det lave energistadie til det høje.





Figur 13: Stigning i energidifferens som funktion af magnetfeltets styrke.

Jf. Einstein-Planck relationen ved vi at energien af en foton er givet ved:

$$E = hf$$

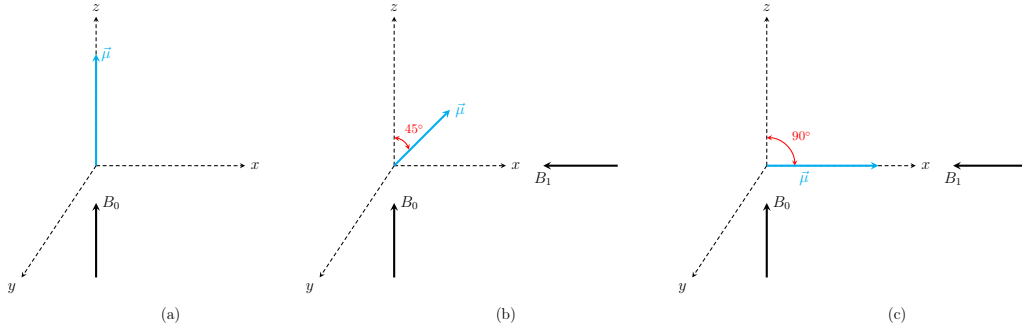
og da denne skal være lig energidifferens må:

$$\Delta E = hf \Leftrightarrow h\gamma B_0 = hf \Leftrightarrow \omega = \gamma B_0$$

Denne frekvens kaldes *Larmor frekvensen*, noteret ved  $\omega$ , og angiver hyppigheden af bulk magnetiseringens præcession (Kaseman & Iyer, 2023; Kaseman m.fl., 2023).

Det er præcis denne præcession der kan måles under analyse, da præcessionen af de ladede atomkerner inducerer en strøm, der kan måles i en spole viklet omkring prøvebeholderen. For at forårsage denne præcession indsendes radiofrekvente bølger, hvis frekvens er omkring  $\omega$ , i prøven sådan at  $B_1 \perp B_0$ .

Dette medfører at vores bulk magnetiseringsvektor “tippes” ud af ækvilibrium, ved at ændre atomernes spin og derved vende deres enkelte magnetiske momenter. Afhængigt af hvor længe prøven udsættes for dette ydre magnetfelt for, desto mere tipper magnetiseringsvektoren.



Figur 14: (a) Magnetiseringsvektoren i afslappet position, ingen ydre påvirkning. (b) Magnetiseringsvektoren bøjet  $45^\circ$  grundet ydre påvirkning fra  $b_1$ . (c) Magnetiseringsvektoren bøjet  $90^\circ$  grundet ydre påvirkning fra  $b_1$ .

Når den kortvarige puls ophører vil den begynde at præcessere omkring  $B_0$ . I denne forbindelse defineres 2 tidsintervaller:

$t_1$ : *Spin-lattice relaxation time*, tiden det tager for bulk magnetiseringsvektoren at bevæge sig tilbage til startpositionen.

$t_2$ : *Spin-spin relaxation time*, tiden det tager for  $xy$ -komponenterne af bulkmagnetiseringsvektoren igen at blive 0.

Generelt vil  $t_1 \geq t_2$ , dette er dog ikke en regel, og nedenstående vil derfor ikke altid være sandt, da spin-lattice relaxation tiden ikke altid vil være den begrænsende faktor.

$$\vec{M} = \begin{bmatrix} 0 \\ 0 \\ z \end{bmatrix} \xrightarrow{B_1} \vec{M} = \begin{bmatrix} x \\ y \\ 0 \end{bmatrix} \xrightarrow{t_1} \vec{M} = \begin{bmatrix} 0 \\ 0 \\ z \end{bmatrix}$$

I takt med at magnetiseringsvektoren stabiliserer sig selv ved at præcessere, induceres en strøm grundet den spirallignende bevægelse i  $xy$ -planen, da det svarer til en ladning der bevæger sig. For at tilnærme os bevægelsen, tænker vi på Eulers formel  $\in \mathbb{R}^2$ , repræsenteret ved dens enkelte komponenter som hhv.  $x$ - og  $y$ -koordinaten:

$$\overrightarrow{\mu_{\mathbb{R}^2}} = \begin{pmatrix} \sin(x) \\ \cos(x) \end{pmatrix}$$

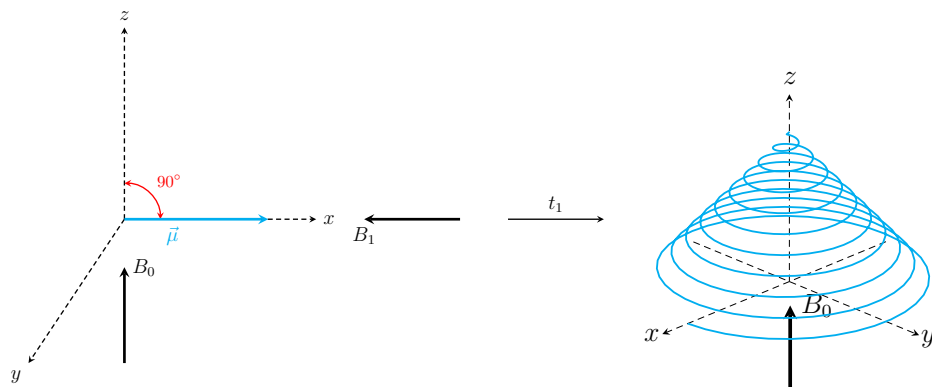
Denne funktion producerer i praksis en cirkel i  $xy$ -planen med amplituden

1. Vi går nu fra  $\mathbb{R}^2 \rightarrow \mathbb{R}^3$ , ved at indføre  $x$ -værdien som den tredje akse:

$$\vec{\mu}_{\mathbb{R}^3} = \begin{pmatrix} \sin(x) \\ \cos(x) \\ x \end{pmatrix}$$

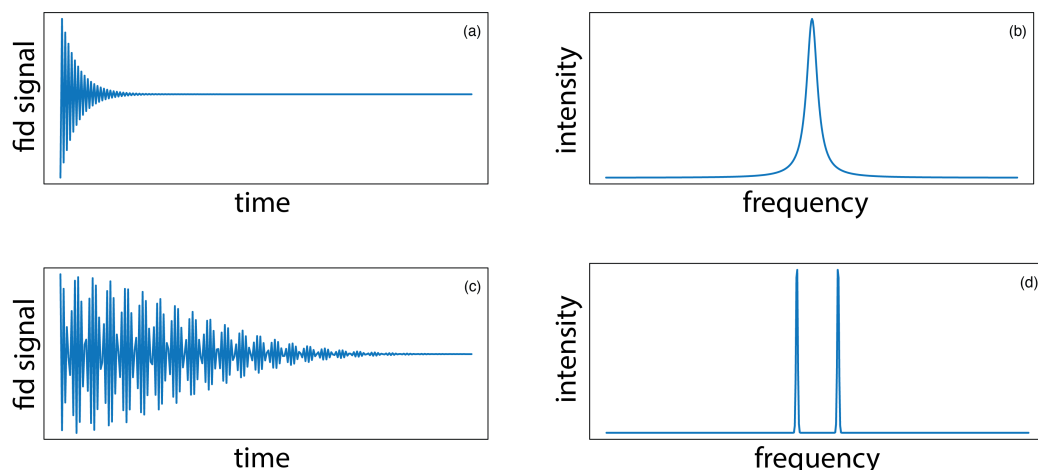
Ved at multiplicere en skalar på ydersiden af den trigonometriske funktion kan vi medføre at den går mod 0, samt gøre spiralbevægelsen mere hyppig ved at multiplicere med en skalar inde i den trigonometriske funktion.

$$\vec{\mu}_{\mathbb{R}^3} = \begin{pmatrix} (2\pi - x) \sin(10x) \\ (2\pi - x) \cos(10x) \\ x \end{pmatrix}$$



Figur 15: Illustration af afslappelse fra exciteret tilstand ved præcession

Grafen der dannes med udgangspunkt i den inducerede strøm kaldes *FID* (free induction decay), og giver os et eksponentielt faldende oscillerende signal, der ved Fourier transformation kan flyttes fra tidsdomænet, til frekvensdomænet (Harvey, 2022).



Figur 16: Eksempler på omdannelser fra FID-grafer til NMR-spektra.

Hvor det vil være muligt at separere forskellige kemisk ækvivalente grupperinger af protoner, da deres Larmor frekvenser (og derved kemisk skift) vil være forskellige grundet gensidig beskyttelse fra det lokale elektronmiljø.

### 2.5.2 Kemisk skift

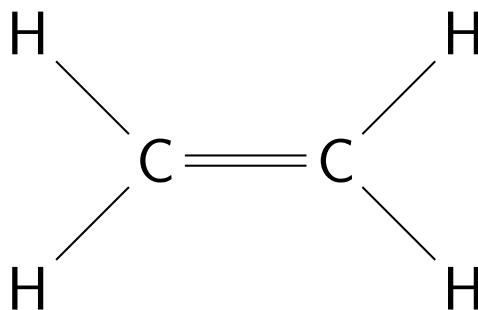
Toppene der ses i et H-NMR-spektrum må altså afhænge af Larmor-frekvensen for en given del af molekylet som der er bundet hydrogen til. Dette angives i kemisk skift,  $\delta$ , som er en værdi der opnås ved at samligne Larmor-frekvensen for delen af molekylet med en standard defineret af IUPAC, nemlig at  $\delta_{\text{tetramethylsilan}} = 0 \text{ ppm}$  (Harris m.fl., 2009), hvilket muliggør beregning af kemisk skift ved:

$$\delta = \frac{\omega_{\text{prøve}} - \omega_{\text{TMS}}}{\omega_{\text{TMS}}}$$

Hvis enhed er *ppm* da  $\omega_{\text{TMS}}$  normal angives i MHz og  $\omega_{\text{prøve}}$  i Hz. I nyere tid er det dog også blevet normalt at benytte opløsningsmidlets kemiske skift som en standard, og det noteres derfor altid med spektret. Umiddelbart lader det dog til at dette ville medføre at alle protonerne ville have ækvivalente kemiske skift, dette er dog ikke tilfældet, da de alle påvirkes af det ydre magnetiske felt forskellige grundet beskyttelse mod det grundet elektronerne der befinder sig omkring protonerne, eftersom elektroner per definition har et spin  $I = \frac{1}{2}$ , hvorved de danner et modsatrettet magnetfelt der skaber interferens.

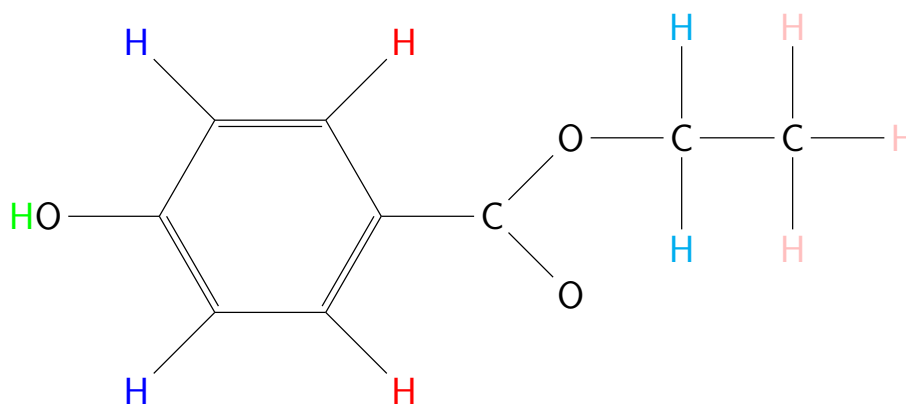
For at identificere protoner der vil have forskellige grader af beskyttelse grun-

det deres lokale elektrondensitet undersøges de *kemiske miljøer* der er tilstede i molekylet, dvs: “hvilke protoner vil have den samme mængde beskyttelse mod det ydre magnetfelt”? Dette afhænger af molekylets symmetri. Et simpelt eksempel herpå et alkener:



Figur 17: Ethenmolekyle.

De 4 protoner i dette molekyle er kemisk ækvivalente, og de vil derfor have den samme Larmorfrekvens. Jf. symmetrien begrundes det i at molekylet i sig selv er fuldstændigt symmetrisk, samtidigt er det også klart at hver proton er bundet til et dobbeltbundet carbon. I større, mere komplekse molekyler kan de blive sværere at identificere kemisk ækvivalens. Se eksempelvis ethylparaben:



Figur 18: Ethylparaben med markerede kemisk ækvivalente protoner.

Her er der 5 adskilte kemiske miljøer i molekylet. Åbenlyst nok har protoner bundet på det samme carbon kemisk ækvivalens, forskellen i de kemiske

miljøer for carbon-atomerne i alkylkæden begrundes hovedsageligt i afstanden til oxygen-atomet, grundet dets større elektronegativitet og derved indvirkning på elektrondensiteten omkring de nærliggende molekyler. I benzenringen er der to forskellige kemiske miljøer grundet dens symmetri, samt påvirkning af oxygen-atomet på phenolgruppen, samtidigt er det også klart at protonen vedhæftet oxygen-atomet må påvirkes meget kraftigt af oxygen-atomets elektronegativitet.

Naboprotoner har også mulighed for at skabe elektromagnetisk interferens. Dette begrundes i at protonerne til enhver tid kan befinde sig i både det positive- og negative spinstadie, hvorved de enten vil forstærke eller udligne det dannede magnetfelt. En generel regel kan derfor opstilles om at mængden af spidser der korresponderer til et givent kemisk miljø vil være givet ved  $n + 1$  hvor  $n$  er antallet af naboprotoner. For ethylparaben vil det sige at protonen på phenolgruppen vil have en enkelt spids, protonerne på benzenringen vil begge have 2, protonerne på methylengruppen vil have 4, mens dem på methylgruppen vil have 3 (Nanalysis, 2020).

### 2.5.3 IR-spektroskopi

Infrarød spektroskopi er en mindre selektiv spektroskopisk metode end H-NMR. Dog giver det stadig mulighed for identifikation af visse aspekter af et givent molekyle, hovedsageligt i form af funktionelle grupper.

Under IR-spektroskopi bestråles en prøve med infrarøde bølger, hvis de præcist matcher energidifferensen mellem molekylets grundstaide og exciterede staide, sker der et spring i energistaide:

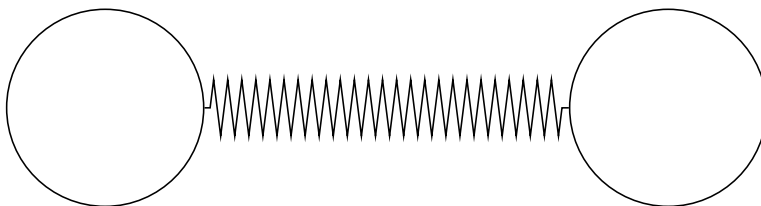
$$\Delta E_{1 \rightarrow 2}$$

Hvilket får dem til at vibrere. Disse vibrationer manifesteres som en fjederliggende bevægelse af det kovalente bånd mellem molekylerne, hvilket ligesom i NMR medfører en ændring i molekylets magnetiske moment, der kan måles. Afhængigt af molekylstrukturen er der dog flere forskellige muligheder for vibrationer:

Tabel 3: Mulige strækninger for molekyler af forskellige strukture.

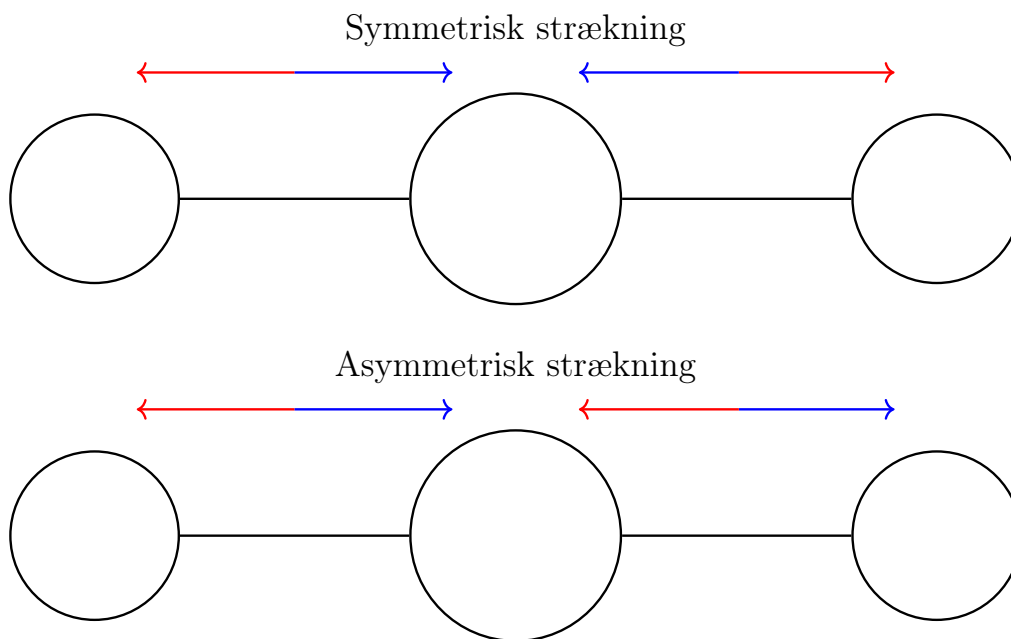
	Symmetrisk		Asymmetrisk	
	Bøjning	Strækning	Bøjning	Strækning
Monoatomig	×	×	×	×
Diatomig	×	✓	×	×
Triatomig	✓	✓	✓	✓
Polyatomig	✓	✓	✓	✓

I tilfældet med diatomige molekyler det simpelt at illustrere den mulige vibration da det kovalente bånd mellem dem udelukkende kan strækkes eller komprimeres, hvilket medfører en fjeder-lignende vibration.

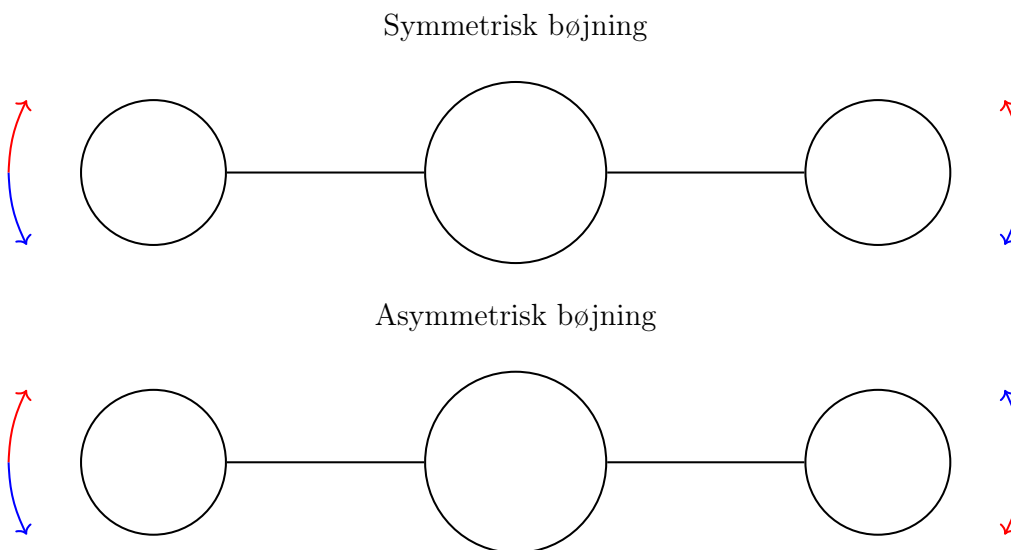


Figur 19: Kovalent bånd i diatomigt molekyle illustreret som fjeder.

For polyatomige molekyler bliver vibrationsmulighederne mere komplekse. Med udgangspunkt i triatomige molekyler kan mulighederne for de enkelte bånd dog illustreres. I takt med at flere atomer tilføjes kan vibrationerne dog kombineres på forskellige måder, samt påvirke hinanden, hvilket medfører en uendelig mængde mulige vibrationer.



Figur 20: Symmetrisk- og asymmetrisk strækning af kovalente bånd i triatomigt molekyle.



Figur 21: Symmetrisk- og asymmetrisk bøjning af kovalente bånd i triatomigt molekyle.



Bøjninger kan ske både i eget plan og vinkelret derpå. Dvs. at atomerne ikke udelukkende har mulighed for at bøje fra side til side, men også frem og tilbage.

## 3 Metoder

### 3.1 Synteser

Med udgangspunkt i den fundne syntesevejledning (Nielsen & Axelsen, 2019) udføres syntesen for ethyl- og propylparaben grundet deres respektive alcohols lavere farlighed end methanol. Af samme grund benyttes ethanol som opløsningsmiddel under oprensningen, idet der herved helt undgås eksponering for methanol hvilket drastisk minimerer eksponeringen for farlige kemikalier under syntesen.

Det vælges at producere 2 parabener for at muliggøre samling af deres respektive H-NMR-spektre, og begrunde hvorfor disse er opstået.

Derudover giver det også mening jf. et eventuelt hæmningsforsøg at fravælge methylparaben da den generelt ses som havende en lavere effektivitet grundet dens ringere evne til at reagere med mikroorganismernes cellemembraner pga. større polaritet.

Et flowdiagram for syntesen udarbejdes for at give overblik over syntesen, samt for at give bedre overblik gennem processen. Flowdiagrammet kan ses under bilag.

#### 3.1.1 Syntese 1: Ethylparaben

Ca. 5g 4-hydroxybenzoesyre afvejes i rundbundet kolbe med slib:



Figur 22: Afvejning af 4-hydroxybenzoesyre.

Da syntesen sker med et overskud af alkohol vil der ideelt ske en fuldstændig reaktion. På baggrund heraf bestemmes det teoretiske udbytte ved at sætte dets stofmængde lig stofmængden af 4-hydroxybenzoesyre:

$$n_{4\text{-hydroxybenzoesyre}} = \frac{5.1338\text{g}}{138.12\text{g/mol}} = 0.037169\text{mol} = n_{\text{ethylparaben}}$$

Den teoretiske stofmængde af dannet ethylparaben omregnes nu til en masse hvorved det fås at:

$$m_{\text{ethylparaben}} = 0.037169\text{mol} \cdot 166.17\text{g/mol} = 6.1745\text{g}$$

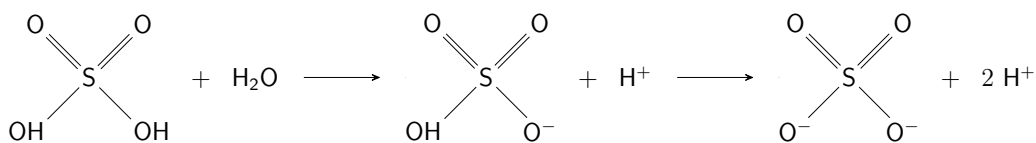
Et regneark udarbejdes til bestemmelsen af det teoretiske udbytte gennem de resterende synteser, en version med værdierne for denne syntese kan ses i bilag 2.

Der afmåles nu 30mL ethanol i måleglas, hvorefter det overføres til den rundbundede kolbe. Kolben rystes til 4-hydroxybenzoesyren er fuldstændigt opløst, hvorefter 2.5mL svovlsyre tilsættes dråbevist under konstant forsigtig omrystning. Opløsningen placeres i en varmekappe og forsynes med et svalerør for at koge med reflux i ca. 1 time.

Efter timen er gået slukkes varmekappen, hvorefter opløsningen nedkøles indtil det ikke længere er kogende og overføres til et 250mL bægerglas med 75mL demineraliseret vand. Bægerglasset placeres nu på en kogeplade og tilsættes en magnetomrører, hvorefter der sørges for moderat omrøring. Blandingen bestående af 10% natriumcarbonat tilsættes nu opløsningen indtil udviklingen af gas stopper, hvorved svovlsyren vil være neutraliseret.

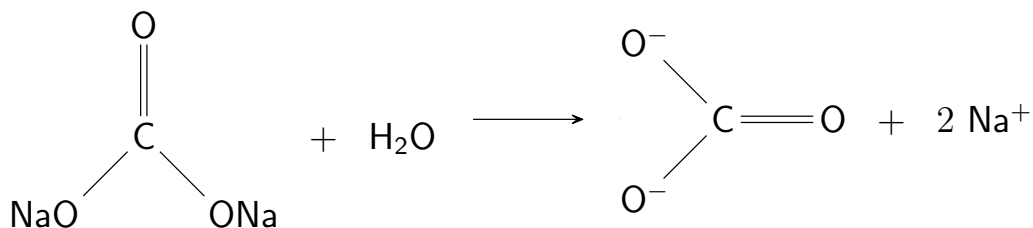
Idet det ikke indgår i forsøgsvejledningen, udregnes mængden af natriumcarbonat der villet være nødvendig for at neutralisere svovlsyren, dog vil der under processen gøres brug af natriumcarbonat i overskud da det ingen negativ virkning vil have, eftersom temperaturen vil være for lav til at forsæbning af parabenen vil kunnet ske.

Da svovlsyre har mulighed for at afgive 2 hydroner hvorved det reduceres til dets syrerest-ion,  $\text{SO}_4^{2-}$ , må den tilsatte base kunnet optage 2 hydroner for at netrualisere 1 svovlsyremokyle:



Figur 23: Dissociering af svovlsyre ved tilsættelse til vand.

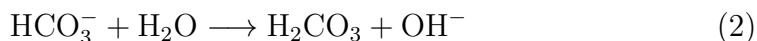
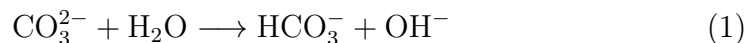
Samtidig er det klart at natriumcarbonat har mulighed for at optage 2 hydroner da det ved tilsættelse til vand øjeblikkeligt dissocierer til natrium- og carbonationer, der herefter reagerer videre for at danne natriumhydroxid.



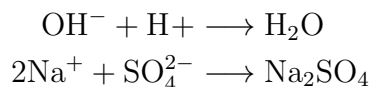
Figur 24: Dissociering af natriumcarbonat ved tilsættelse til vand.

Carbonationen har mulighed for at reagere med vand hvorved der dannes bicarbonat og en hydroxidion, bicarbonationen reagerer videre med vand for at danne ustabil kulsyre og endnu en hydroxidion, hvorefter den ustabile

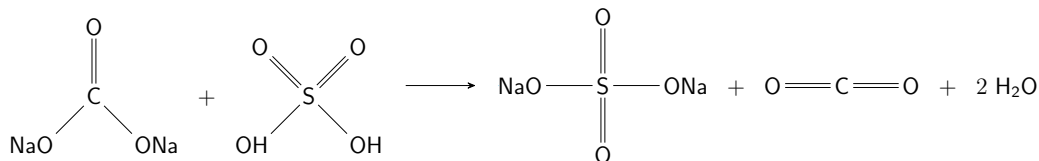
kulsyre brydes hvilket medfører dannelsen af carbondioxid og vand.



De dannede hydroxidioner har nu mulighed for at reagere med hydronerne dannet af svovlsyren, mens natriumionerne har mulighed for at reagere med sulfationerne.



Dette muliggør opskrivning som en totalreaktion ved:



Figur 25: Totalreaktion mellem svovlsyre og natriumcarbonat i vandig opløsning.

Da det nu er klart at reaktionen mellem svovlsyre og natriumcarbonat foregår i forholdet 1:1 og at der under syntesen benyttes 2.5mL svovlsyre med en densitet på 1.84g/mL må det være nødvendigt at bruge:

$$n_{\text{svovlsyre}} = \frac{2.5\text{mL} \cdot 1.84\text{g/mL}}{98.08\text{g/mol}} = 0.04690\text{mol}$$

natriumcarbonat til at neutralisere svovlsyren. Stofmængden omregnes til en masse af natriumcarbonat, her er det vigtigt at pointere at der benyttes natriumcarbonatdecahydrat under fremstillingen af opløsningen, grundet dets effekt på molvægten.

$$m_{\text{natriumcarbonat}} = 0.04690\text{mol} \cdot 286.14\text{g/mol} = 13.4200\text{g}$$

Da det ikke skaber et problem at tilsætte natriumcarbonat i overskud laves opløsning ved brug af 15g natriumcarbonatdecahydrat og 135g vand. En 10%

opløsning benyttes for at reducere voldsomheden af reaktionen mellem den stærke syre og base, samt for at modvirke dens store eksotermicitet.

Den neutraliserede opløsning sugefiltreres og skylles 3 gange med demineraliseret vand efter kort tids afkøling. Det isolerede krystallinske stof overføres til et 250mL bægerglas. Samtidigt opvarmes 50mL hhv. ethanol og vand til opvarmning i hvert deres bægerglas. Når ethanolen koger opløses det krystallinske stof i så lidt som muligt hvorefter varmt vand tilsættes til opløsningen bliver uklar.

Opløsningen stilles nu til frivillig nedkøling, hvorved parabenen igen udfældes og kan isoleres ved sugefiltrering i afvejet glasfilterdigel. Det dannede produkt stilles til tørring i glasfilterdiglen benyttet til filtreringen.

### 3.1.2 Syntese 2: Propylparaben

### 3.1.3 Syntese 3: Dobbeltsyntese

## 3.2 Smeltepunktsbestemmelse

## 3.3 NMR-spektroskopi

## 3.4 IR-spektroskopi

## 3.5 Hæmningsforsøg

### 3.5.1 Mueller–Hinton

Et hæmningsforsøg udføres også for at undersøge parabenernes hæmmende vækst på forskellige bakterier. Til dette formål vælges det at undersøge 3 forskellige bakterier:

Tabel 4: Karakteristika og navn på udvalgte baktierier.

Bakterieart	Cellevægsstruktur
<i>bacillus cereus</i>	Gram-positiv
<i>escherichia coli</i>	Gram-negativ
<i>serratia marcescens</i>	Gram-negativ

Med udgangspunkt i litteraturen er det klart at parabener er mere effek-

tive mod Gram-positive end Gram-negative bakterier (Lincho m.fl., 2021). Derudover har tidligere studier undersøgt de effektive koncentrationer for væksthæmning ved de forskellige parabener for bakteriearterne (Barabasz m.fl., 2019).

Tabel 5: Mindste inhibitoriske parabenkoncentration for hæmning af relevante bakterier.

Bakterieart	MIC [w/w]	
	Ethylparaben	Propylparaben
<i>bacillus cereus</i>	0.1	0.125
<i>escherichia coli</i>	0.1–0.125	0.05–0.1
<i>serratia marcescens</i>	0.049	0.04

### 3.5.2 Fortyndingsrække

## 4 Resultatbehandling

### 4.1 Syntese 1

#### 4.1.1 Smeltepunktsanalyse

Prøve	Smeltepunkt [°C]	Afvigelse [%]
1	116	-1
2	115	-2
3	117	0
Gennemsnit	116	-1

Tabel 6: Smeltepunktsanalyse af produktet dannet ved syntese 1.

#### 4.1.2 TLC-analyse

Plade	Løbelængde [cm]	Kommercielt [cm]	Eget [cm]	rf kommercielt	rf eget	Afvigelse [%]
1	5.4	1.1	1.3	0.20	0.24	18
2	4.5	1.0	0.9	0.22	0.20	-10
3	4.8	1.1	1.0	0.23	0.21	-9
Gennemsnit				0.22	0.22	0

Tabel 7: TLC-analyse af propylparaben dannet ved syntese 3.

### 4.2 Syntese 2

#### 4.2.1 Smeltepunktsanalyse

Prøve	Smeltepunkt [°C]	Afvigelse [%]
1	95	-2
2	96	-1
3	96	-1
Gennemsnit	95.7	-1

Tabel 8: Smeltepunktsanalyse af produktet dannet ved syntese 2.



### 4.2.2 TLC-analyse

Plade	Løbelængde [cm]	Kommercielt [cm]	Eget [cm]	rf kommercielt	rf eget	Afvigelse [%]
1	4.9	3.1	3.4	0.63	0.69	10
2	4.8	3.2	3.1	0.67	0.65	-3
3	4.9	2.9	2.9	0.59	0.59	0
Gennemsnit				0.63	0.64	2

Tabel 9: TLC-analyse af propylparaben dannet ved syntese 3.

## 4.3 Syntese 3

### 4.3.1 Smeltepunktsanalyse

Prøve	Smeltepunkt [°C]	Afvigelse [%]
1	116	-1
2	116	-1
3	117	0
Gennemsnit	116.3	-1

Tabel 10: Smeltepunktsanalyse af ethylparaben dannet ved syntese 3.

Prøve	Smeltepunkt [°C]	Afvigelse [%]
1	96	-2
2	93	-4
3	94	-3
Gennemsnit	94.3	-3

Tabel 11: Smeltepunktsanalyse af propylparaben dannet ved syntese 3.

### 4.3.2 TLC-analyse

Plade	Løbelængde [cm]	Kommercielt [cm]	Eget [cm]	rf kommercielt	rf eget	Afvigelse [%]
1	5.0	2.5	2.5	0.50	0.50	0
2	4.7	2.3	2.3	0.49	0.49	0
3	4.9	2.4	2.4	0.49	0.49	0
Gennemsnit				0.49	0.49	0

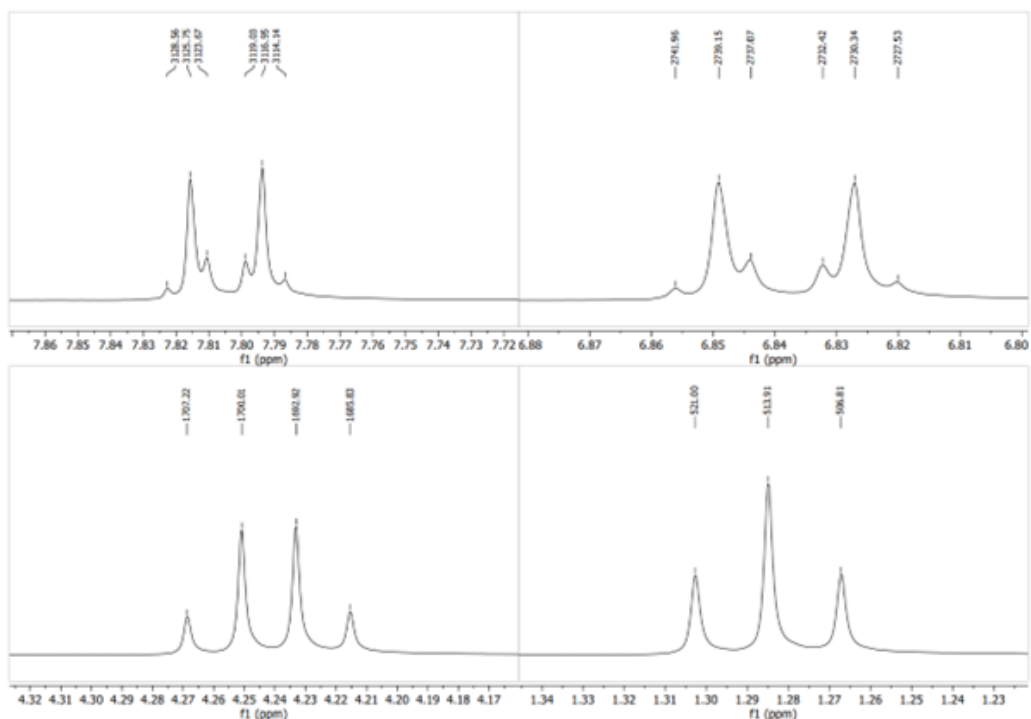
Tabel 12: TLC-analyse af ethylparaben dannet ved syntese 3.

Plade	Løbelængde [cm]	Kommercielt [cm]	Eget [cm]	rf kommercielt	rf eget	Afvigelse [%]
1	4.9	2.4	2.2	0.49	0.45	-8
2	4.7	2.1	2.0	0.45	0.43	-5
3	4.9	2.2	2.2	0.45	0.45	5
Gennemsnit				0.46	0.44	-3

Tabel 13: TLC-analyse af propylparaben dannet ved syntese 3.

## 4.4 H-NMR-spektroskopi

Vi undersøger først spektret for ethylparaben og vurderer om det er sandsynligt at det dannede H NMR-spektrum passer til det vi ville forvente. Til dette formål kigger vi på de individuelle peaks da antallet af spidser kan give os en ide om hvilke atomer de korresponderer til.



Figur 26: Peaks for  $^1\text{H}$ -NMR analyse af ethylparaben.

Peaket omkring  $\delta = 1.28\text{ppm}$  forventes at være tilsvarende methylgruppen på forgreningen der udgår fra benzenringen, eftersom vi observerer 3 peaks, må atomet hydrogenene er bundet til have 2 naboprotoner, hvilket kun opfyldes af methylengruppen. Ved  $\delta = 4.25\text{ppm}$  ses 4 peaks, altså må det være methylengruppen idet den har 3 naboprotoner fra methylgruppen.

Omkring  $\delta = 6.84\text{ppm}$  forventer vi hydrogenene bundet til carbonatomerne i meta-positionerne i benzenringen, idet de vil have et lavere kemisk skift end dem i ortho-positionen grundet den øgede elektronegativitet fra oxygenatomet der er til stede i phenolgruppen.

I selve spektret ses også en singlet ved  $\delta = 10.25\text{ppm}$ , dette kemiske skift er højere end hvad vi normalt villet forvente for en phenolgruppe (der normalt villet befinde sig omkring det aromatiske område, ligesom ortho- og meta-carbonatomerne). Dette kan begrundes i det benyttede opløsningsmiddel, DMSO- $d_6$ , da det har mulighed for at danne hydrogenbindinger med phenolgruppen (Abraham & Mobli, 2007)



**4.5 IR-spektroskopi****4.6 Hæmningsforsøg**

## 5 Diskussion

## 6 Konklusion

## 7 Litteratur

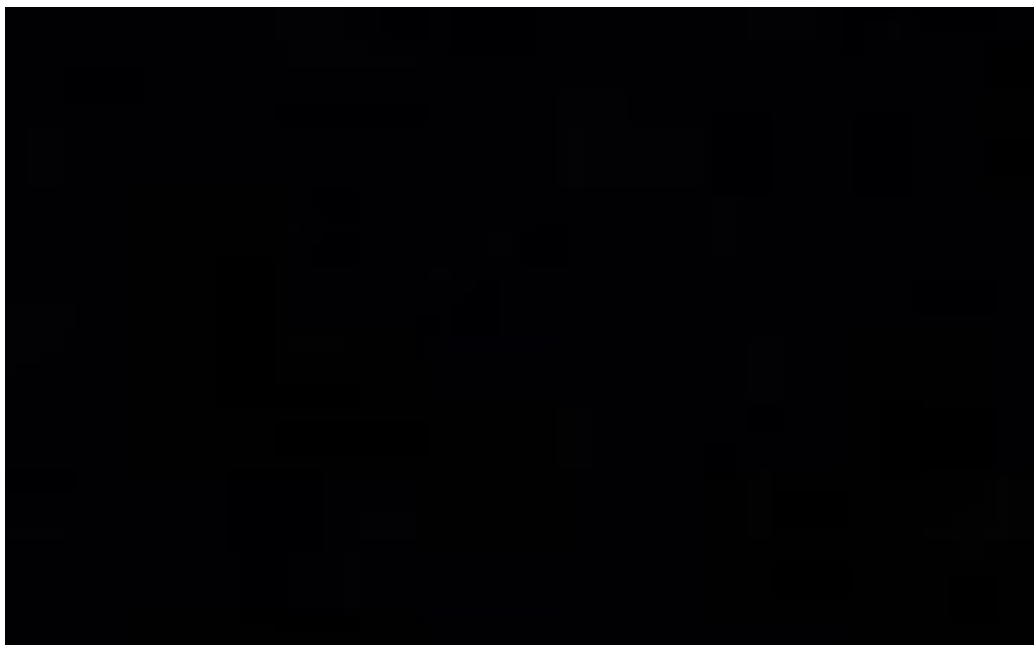
- Abbas, S., Greige-Gerges, H., Karam, N., Piet, M.-H., Netter, P., & Magdalou, J. (2010). Metabolism of parabens (4-hydroxybenzoic acid esters) by hepatic esterases and UDP-glucuronosyltransferases in man. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20930423/>
- Abraham, R. J., & Mobli, M. (2007). An NMR, IR and theoretical investigation of  $^1\text{H}$  Chemical Shifts and hydrogen bonding in phenols. <https://www.modgraph.co.uk/Downloads/SCSPT25.pdf>
- Andersen, E., & Petresch, C. (2002). Borhs atommodel. <https://fysikleksikon.nbi.ku.dk/b/bohrmodel/>
- Anderson, E. (2019). Perservatives – Keeping our foods safe & fresh. <https://www.canr.msu.edu/news/preservatives-keeping-our-foods-safe-fresh>
- Barabasz, W., Pikulicka, A., Wzorek, Z., & Nowak, A. K. (2019). Ecotoxicological aspects of the use of parabens in the production of cosmetics. [https://www.researchgate.net/publication/338425394\\_Ecotoxicological\\_aspects\\_of\\_the\\_use\\_of\\_parabens\\_in\\_the\\_production\\_of\\_cosmetics](https://www.researchgate.net/publication/338425394_Ecotoxicological_aspects_of_the_use_of_parabens_in_the_production_of_cosmetics)
- Cartlidge, E. (2015). The spin of a proton. *Physics World*. <https://physicsworld.com/a/the-spin-of-a-proton/>
- Cashman, A. L., & Warshaw, E. M. (2005). Parabens: A Review of Epidemiology, Structure, Allergenicity, and Hormonal Properties. <https://www.medscape.com/viewarticle/508430>
- Committe, E. S. (2011). Parabens used in cosmetics. [https://ec.europa.eu/health/scientific\\_committees/docs/citizens\\_parabens\\_en.pdf](https://ec.europa.eu/health/scientific_committees/docs/citizens_parabens_en.pdf)
- Darbre, P. D., Aljarrah, A., Miller, W. R., Coldham, N. G., Sauer, M. J., & Pope, G. S. (2004). Concentrations of parabens in human breast tumours. [https://www.researchgate.net/publication/8900600\\_Concentrations\\_of\\_Parabens\\_in\\_human\\_breast\\_tumours](https://www.researchgate.net/publication/8900600_Concentrations_of_Parabens_in_human_breast_tumours)
- Darbre, P. D., & Harvey, P. W. (2008). Paraben esters: review of recent studies of endocrine toxicity, absorption, esterase and human exposure, and discussion of potential human health risks. <https://analyticalsciencejournals.onlinelibrary.wiley.com/doi/epdf/10.1002/jat.1358>
- Elvekjær, F., & Benoni, T. (2020). Fysik AB bogen.
- Espita, G. (2022). Quantum Properties of Light. [https://www.physicsbook.gatech.edu/Quantum\\_Properties\\_of\\_Light](https://www.physicsbook.gatech.edu/Quantum_Properties_of_Light)



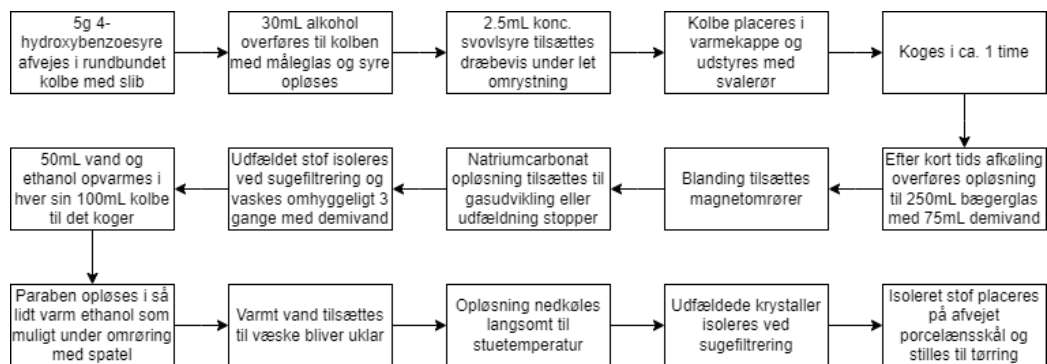
- Farmer, S. (2023). Fischer Esterification. [https://chem.libretexts.org/Bookshelves/Organic\\_Chemistry/Supplemental\\_Modules\\_\(Organic\\_Chemistry\)/Carboxylic\\_Acids/Reactivity\\_of\\_Carboxylic\\_Acids/Fischer\\_Esterification](https://chem.libretexts.org/Bookshelves/Organic_Chemistry/Supplemental_Modules_(Organic_Chemistry)/Carboxylic_Acids/Reactivity_of_Carboxylic_Acids/Fischer_Esterification)
- FDA. (2022). Parabens in Cosmetics. [https://www.fda.gov/cosmetics/cosmetic-ingredients/parabens-cosmetics#are\\_parabens\\_safe](https://www.fda.gov/cosmetics/cosmetic-ingredients/parabens-cosmetics#are_parabens_safe)
- Galvez-Ontiveros, Y., Moscoso-Ruiz, I., Rodrigo, L., Aquilera, M., Rivas, A., & Zafra-Gomez, A. (2020). Presence of Parabens and Bisphenols in Food Commonly Consumed in Spain. <https://www.mdpi.com/2304-8158/10/1/92>
- Hager, E. (2022). Minireview: Parabens Exposure and Breast Cancer. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8834979/>
- Harris, R. K., Becker, E. D., de Menezes, S. M. C., Goodfellow, R., & Granger, P. (2009). NMR nomenclature. Nuclear spin properties and conventions for chemical shifts (IUPAC Recommendations 2001). <https://www.degruyter.com/document/doi/10.1351/pac200173111795/html>
- Harvey, D. (2022). *Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy*. Libretexts. [https://chem.libretexts.org/Bookshelves/Organic\\_Chemistry/Supplemental\\_Modules\\_\(Organic\\_Chemistry\)/Spectroscopy/Nuclear\\_Magnetic\\_Resonance\\_Spectroscopy](https://chem.libretexts.org/Bookshelves/Organic_Chemistry/Supplemental_Modules_(Organic_Chemistry)/Spectroscopy/Nuclear_Magnetic_Resonance_Spectroscopy)
- Jacobsen, H. (2013). EU scientific committee clears parabens in cosmetics as ‘harmless’. <https://www.euractiv.com/section/health-consumers/news/eu-scientific-committee-clears-parabens-in-cosmetics-as-harmless/>
- Karpuzoglu, E., & Holladay, S. D. (2013). Parabens: Potential impact of Low-Affinity Estrogen receptor Binding chemicals on Human health. [https://www.researchgate.net/publication/255174651\\_Parabens\\_Potential\\_impact\\_of\\_Low-Affinity\\_Estrogen\\_receptor\\_Binding\\_chemicals\\_on\\_Human\\_health](https://www.researchgate.net/publication/255174651_Parabens_Potential_impact_of_Low-Affinity_Estrogen_receptor_Binding_chemicals_on_Human_health)
- Kaseman, D., & Iyer, R. S. G. (2023). *Introduction to NMR*. Libretexts. [https://chem.libretexts.org/Bookshelves/Physical\\_and\\_Theoretical\\_Chemistry\\_Textbook\\_Maps/Supplemental\\_Modules\\_\(Physical\\_and\\_Theoretical\\_Chemistry\)/Spectroscopy/Magnetic\\_Resonance\\_Spectroscopies/Nuclear\\_Magnetic\\_Resonance/Nuclear\\_Magnetic\\_Resonance\\_II](https://chem.libretexts.org/Bookshelves/Physical_and_Theoretical_Chemistry_Textbook_Maps/Supplemental_Modules_(Physical_and_Theoretical_Chemistry)/Spectroscopy/Magnetic_Resonance_Spectroscopies/Nuclear_Magnetic_Resonance/Nuclear_Magnetic_Resonance_II)
- Kaseman, D., OZCAN, S., & Du, S. (2023). *NMR - Theory*. Libretexts. [https://chem.libretexts.org/Bookshelves/Physical\\_and\\_Theoretical\\_](https://chem.libretexts.org/Bookshelves/Physical_and_Theoretical_)

- Chemistry\_Textbook\_Maps/Supplemental\_Modules\_(Physical\_and\_Theoretical\_Chemistry)/Spectroscopy/Magnetic\_Resonance\_Spectroscopies/Nuclear\_Magnetic\_Resonance/NMR\_-\_Theory
- Lester, C., Hewitt, N. J., Muller-Vierira, U., Mayer, M., Ellison, C., Duplan, H., Genies, C., Jacques-Jamin, C., Fabian, E., Sorrell, I., Lange, D., Schepky, A., & Gregoire, S. (2021). Metabolism and plasma protein binding of 16 straight- and branched-chain parabens in in vitro liver and skin models. <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0887233320306032>
- Libner, E. (2016). Bliv klogere på parabenerne: sandt og falsk om parabener. <https://samvirke.dk/artikler/bliv-klogere-paa-parabenerne-sandt-og-falsk-om-parabener>
- Liebert, M. A. (1984). Final Report on the Safety Assessment of Methylparaben, Ethyl paraben, Propyl paraben, and Butylparaben. <https://journals.sagepub.com/doi/pdf/10.3109/10915818409021274>
- Lincho, J., Martins, R. C., & Gomes, J. (2021). Paraben Compounds — Part I: An Overview of Their Characteristics, Detection, and Impacts. <https://www.mdpi.com/2076-3417/11/5/2307>
- Lund, B. M., Kraaer, J., & Holck, P. (2012). *Orbit b htx/eux*. Systime.
- Miljøstyrelsen. (2013). Survey of parabens. <https://www2.mst.dk/Udgiv/publications/2013/04/978-87-93026-02-5.pdf>
- Nanalysis. (2020). Spin-Spin Coupling — Beyond Multiplicity. <https://www.nanalysis.com/nmready-blog/2020/2/11/spin-spin-coupling-beyond-multiplicity>
- Nielsen, O. V., & Axelsen, V. (2019). *Basiskemi A Xperimenter*. Praxis.
- NIH. (u.d.). PubChem. <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>
- Routledge, E. J., Parker, J., Odum, J., Ashby, J., & Sumpter, J. P. (1998). Some Alkyl Hydroxy Benzoate Preservatives (Parabens) Are Estrogenic. <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0041008X98985441>
- Sigurskjold, B. W., Henningsen, J. O., & Dietrich, O. W. (2024). spektroskopi. *Den Store Danske*. <https://denstoredanske.lex.dk/spektroskopi>
- Valkova, N., Lepine, F., Valeanu, L., Dupont, M., Louisette, L., Bisailon, J.-G., Beaudet, R., Shareck, F., & Villemur, R. (2001). Hydrolysis of 4-Hydroxybenzoic Acid Esters (Parabens) and Their Aerobic Transformation into Phenol by the Resistant Enterobacter cloacae Strain EM. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC92888/>

## A Gantt-diagram



## B Flowchart



## C Mængdeberegninger

### C.1 Ethylparaben

Stof	Mængde [g ∨ mL]	Densitet [g/mL]	MV [g/mol]	Stofmængde [mol]
4-hydroxybenzoesyre	5.1338	0.79	138.12	0.0372
Ethanol	30		46.07	0.514
Teoretisk ethylparaben	5.66			
Praktisk ethylparaben	2.2666			
Afvigelse	-60%			

### C.2 Propylparaben

Stof	Mængde [g ∨ mL]	Densitet [g/mL]	MV [g/mol]	Stofmængde [mol]
4-hydroxybenzoesyre	5.0346	0.803	138.12	0.0365
Propanol	30		60.1	0.401
Teoretisk propylparaben	5.55			
Praktisk propylparaben	4.4144			
Afvigelse	-20%			

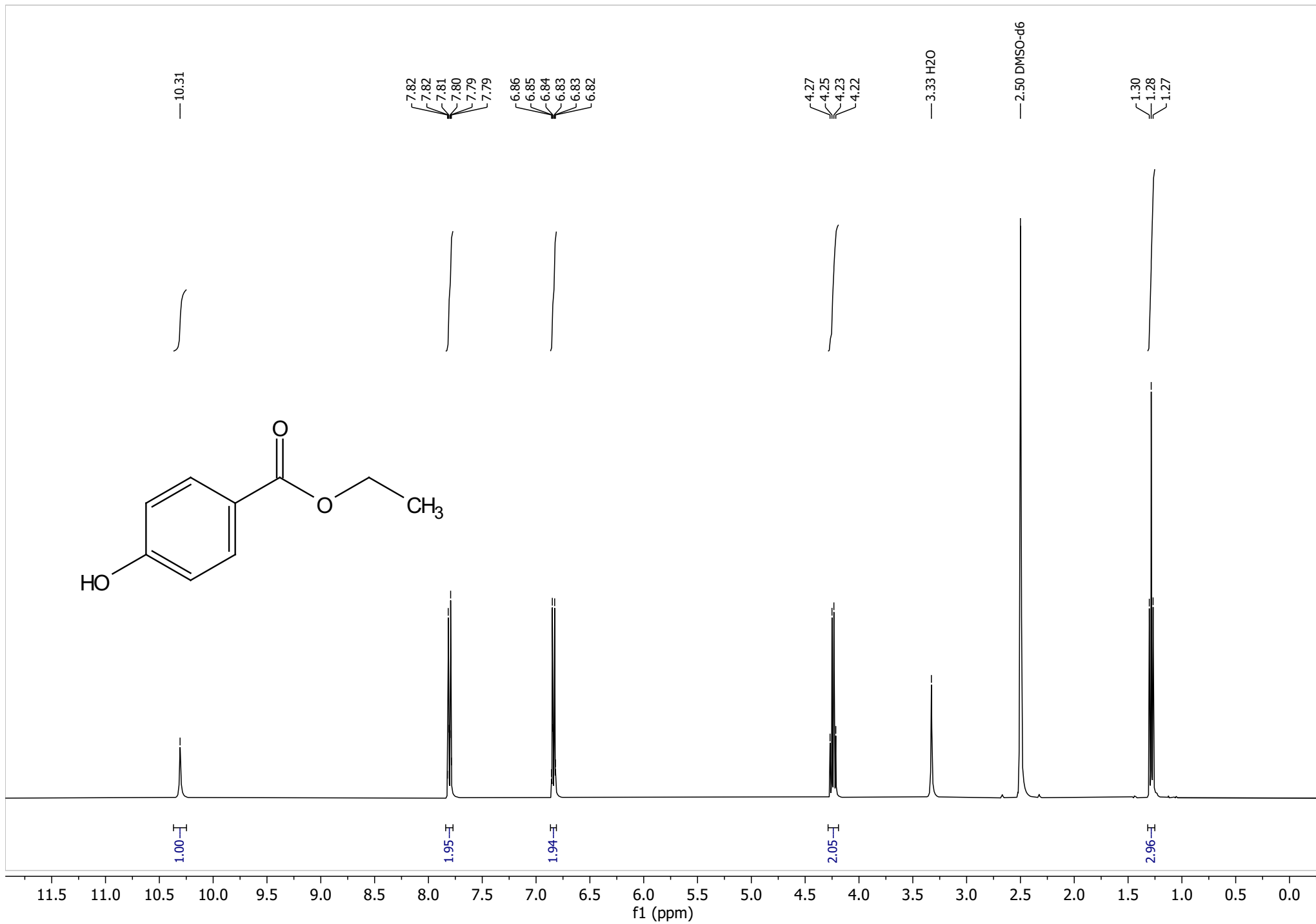
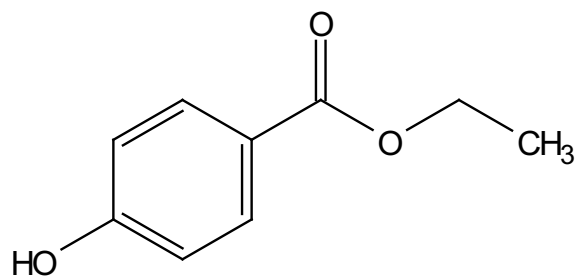
### C.3 Dobbeltsyntese

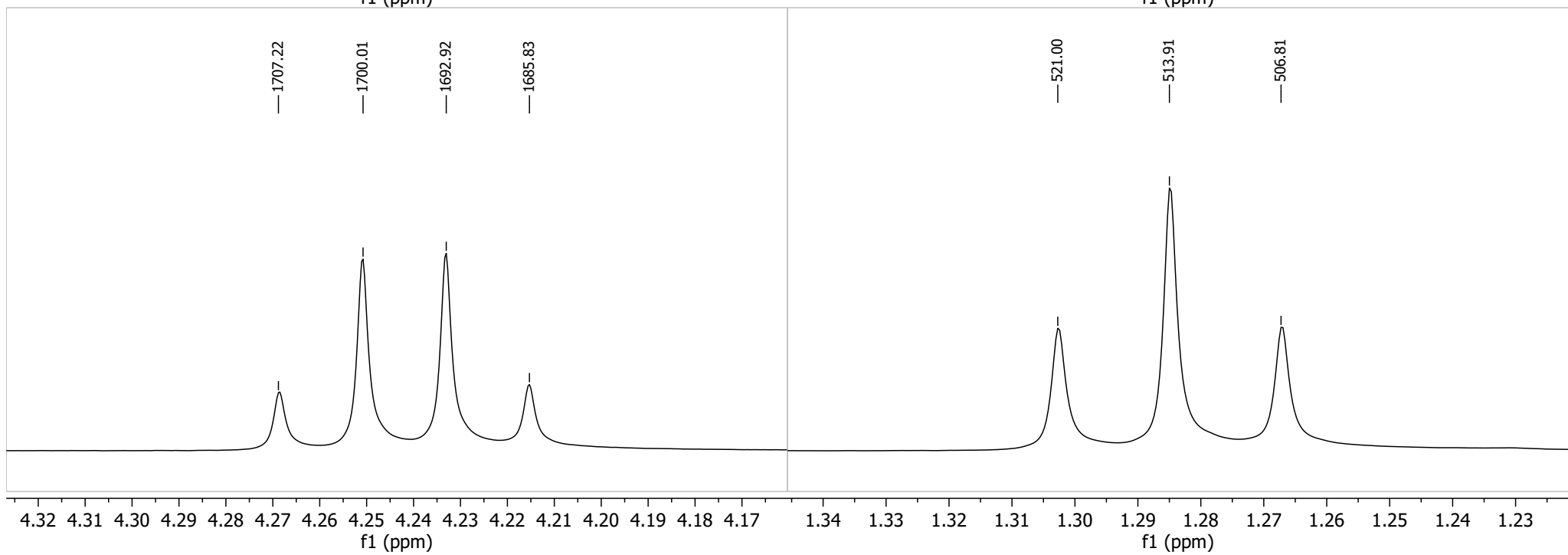
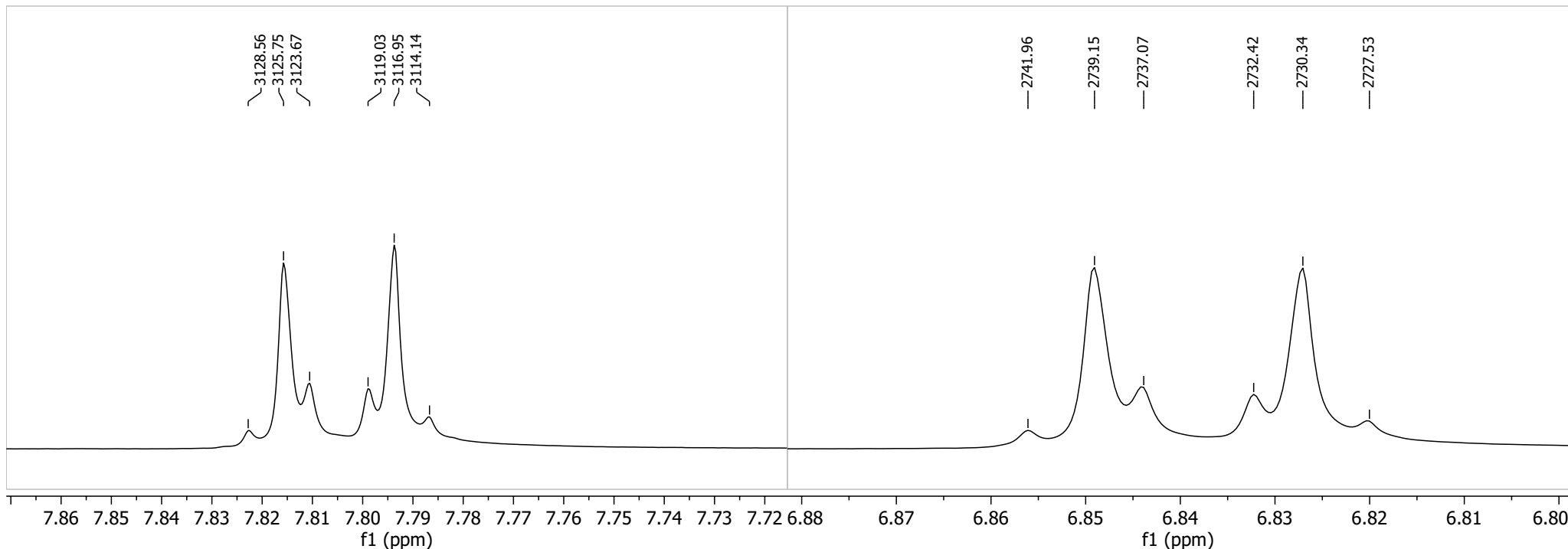
Stof	Mængde [g ∨ mL]	Densitet [g/mL]	MV [g/mol]	Stofmængde [mol]
4-hydroxybenzoesyre	5.0176	0.79	138.12	0.0363
Ethanol	30		46.07	0.514
Teoretisk ethylparaben	5.53			
Praktisk ethylparaben	2.4244			
Afvigelse	-56%			

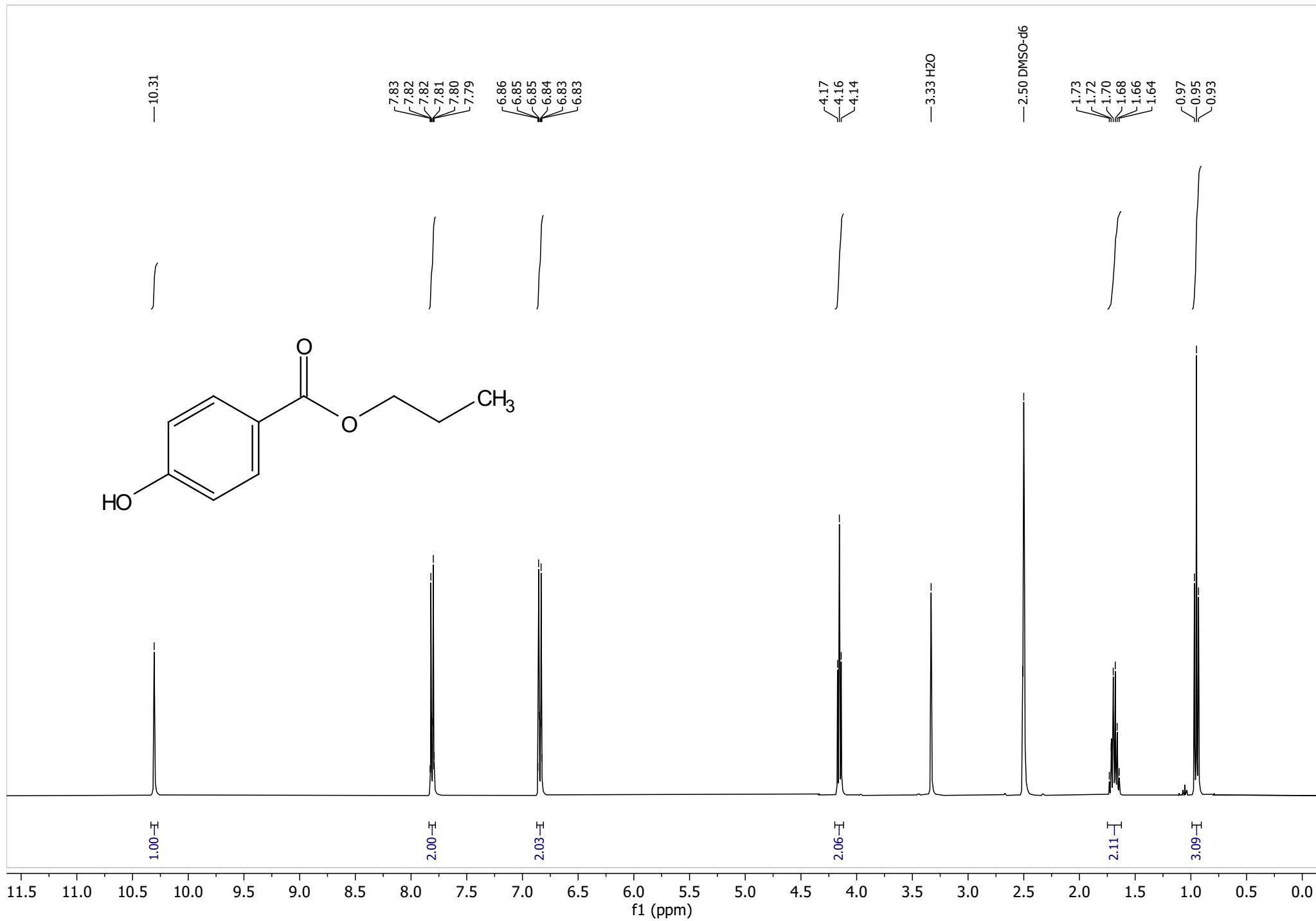
---

Stof	Mængde [g ∨ mL]	Densitet [g/mL]	MV [g/mol]	Stofmængde [mol]
4-hydroxybenzoesyre	5.0346		138.12	0.0365
Propanol	30	0.803	60.1	0.401
Teoretisk propylparaben	5.55			
Praktisk propylparaben	0.5692			
Afvigelse	-90%			

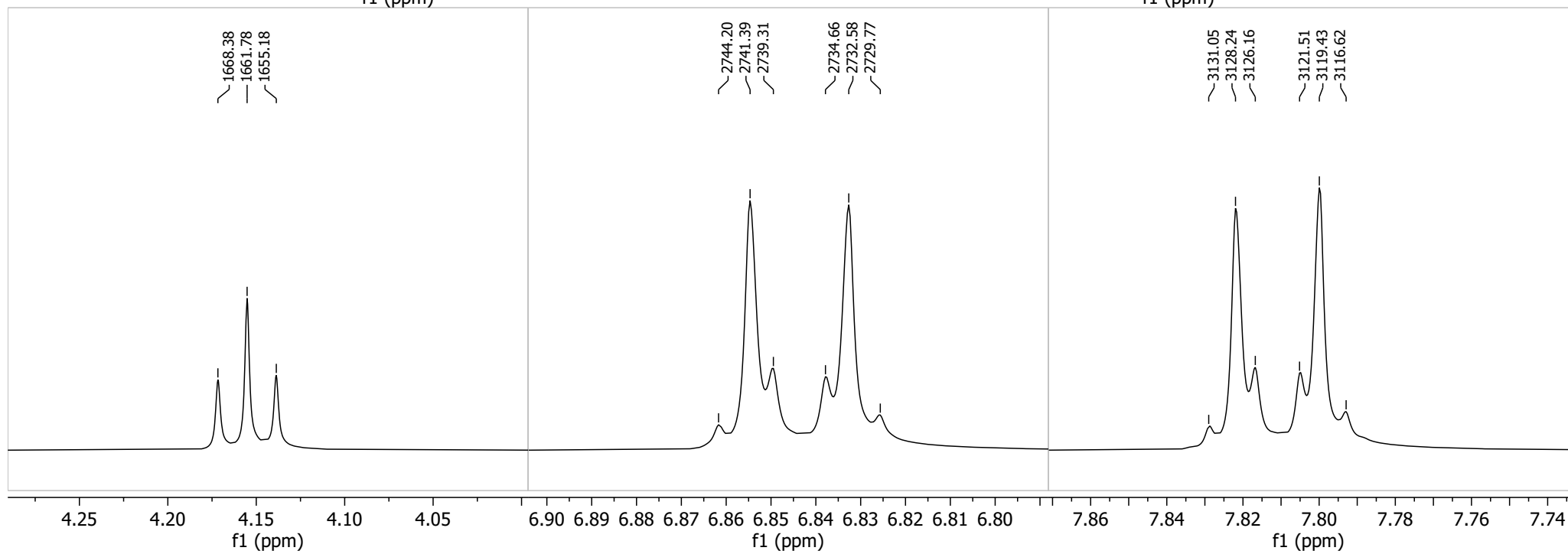
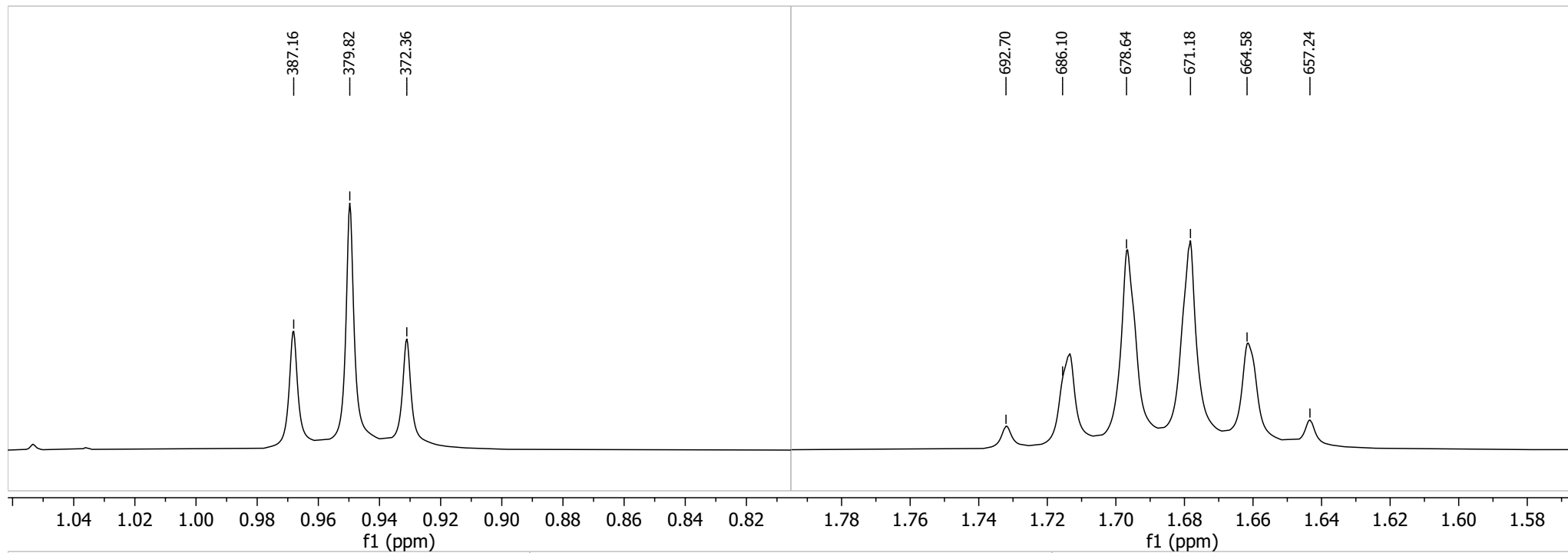
---





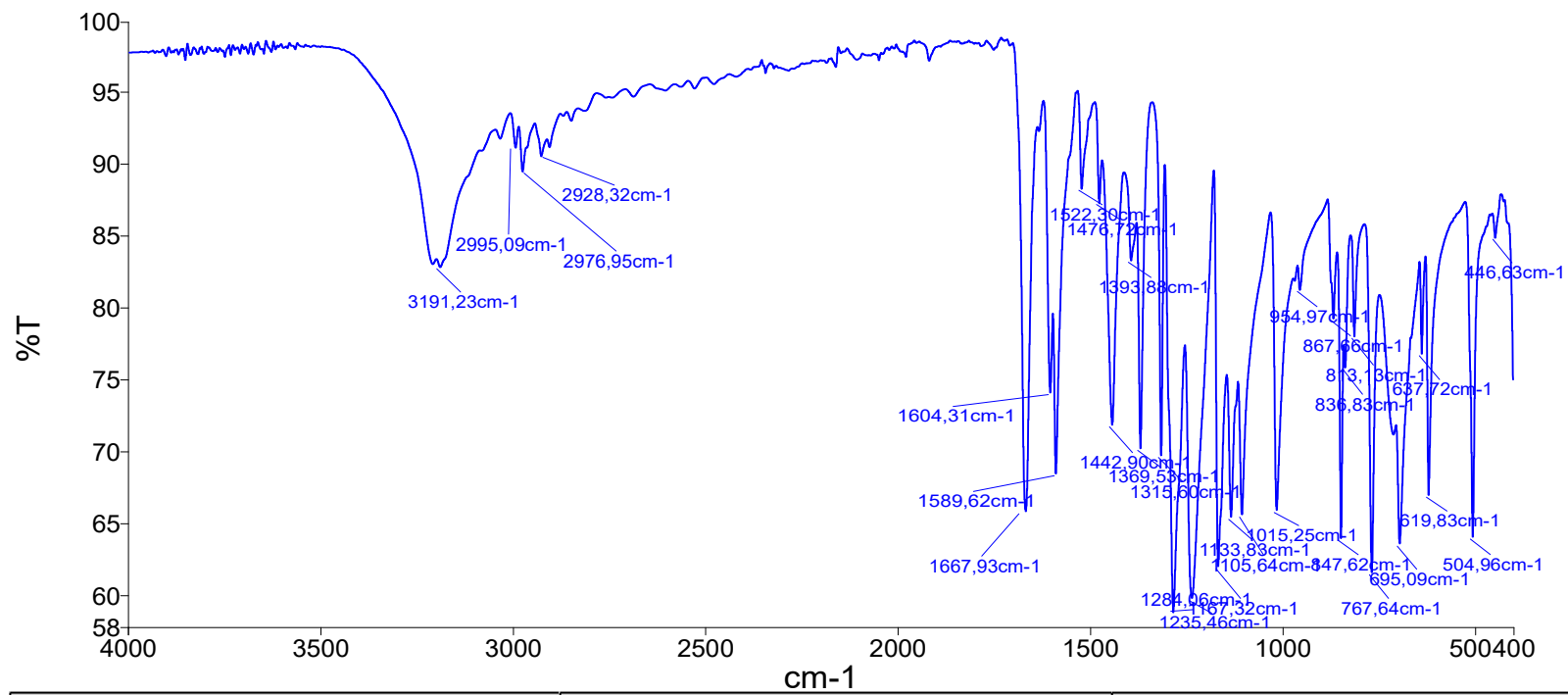






Analyst  
Date

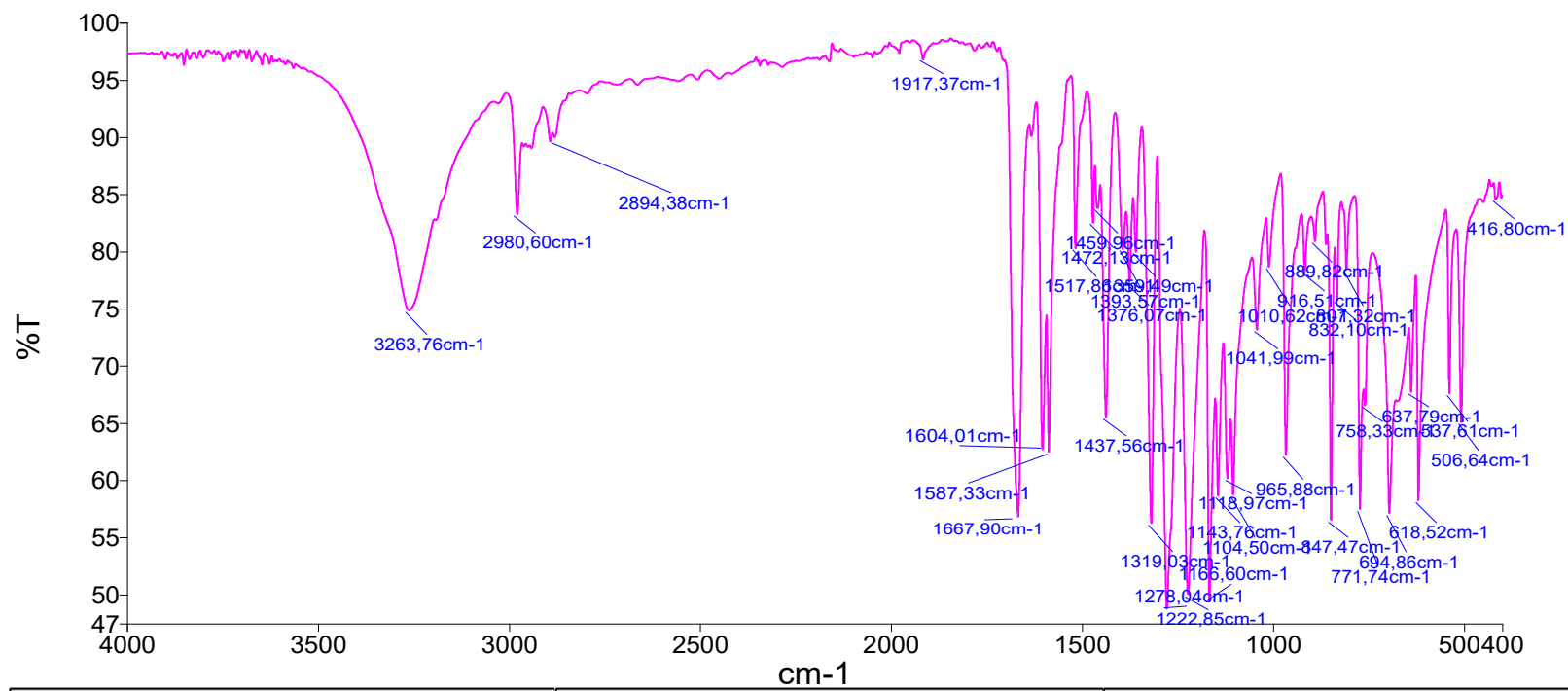
Administrator  
5. april 2024 15:16



Sample Name	Description	Quality Checks
Administrator 1071	Sample 1071 By Administrator Date fredag, april 05 2024	The Quality Checks do not report any warnings for the sample.

Analyst  
Date

Administrator  
5. april 2024 15:19



Sample Name	Description	Quality Checks
Administrator 1072	Sample 1072 By Administrator Date fredag, april 05 2024	The Quality Checks do not report any warnings for the sample.

## D Hæmningsforsøg



## 21. Syntese af en paraben

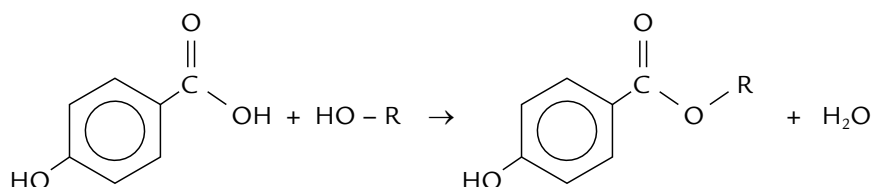


Figur 21.1. Parabener bruges som konserveringsmidler i fx shampoo.

Formålet med dette eksperiment er at fremstille en paraben.

Parabener er estere af syren 4-hydroxybenzoesyre, som også har navnet *para*-hydroxybenzoesyre, hvilket forklarer navnet paraben.

Dannelsen af en paraben kan ske ved en kondensationsreaktion mellem 4-hydroxybenzoesyre og en alkohol. Et generelt reaktionsskema kan opskrives på følgende måde:



### APPARATUR

- Varmerplate med magnetomrører
- Magnet
- Vægt
- Varmekappe
- Rundbundet kolbe med slib, 250 mL
- Korkring
- Svaler
- Stativ
- Muffe og klemme
- Plastpipette
- 2 bægerglas, 250 mL
- 2 bægerglas, 100 mL
- 2 måleglas, 50 mL
- Spatel
- Udstyr til sugfiltrering
- Skål til isbad
- Porcelænsskål
- Smeltepunktsrør
- Smeltepunktsapparat
- Petriskål
- Præparatglas

### KEMIKALIER

- 4-hydroxybenzoesyre,  $\text{HOC}_6\text{H}_4\text{COOH}$
- Alkoholer, fx methanol, ethanol og propan-1-ol
- Konc. svovlsyre,  $\text{H}_2\text{SO}_4$
- 10 % natriumcarbonat,  $\text{Na}_2\text{CO}_3$
- Universalindikatorpapir
- Isterninger

### RISICI

- Alkoholerne er brandfarlige og farlige ved hudkontakt, indånding og indtagelse.
- Methanol er giftig.
- Konc. svovlsyre er stærkt ætsende.
- 4-hydroxybenzoesyre er farlig ved hudkontakt, indånding og indtagelse.

## EKSPERIMENTELT

*Syntese*

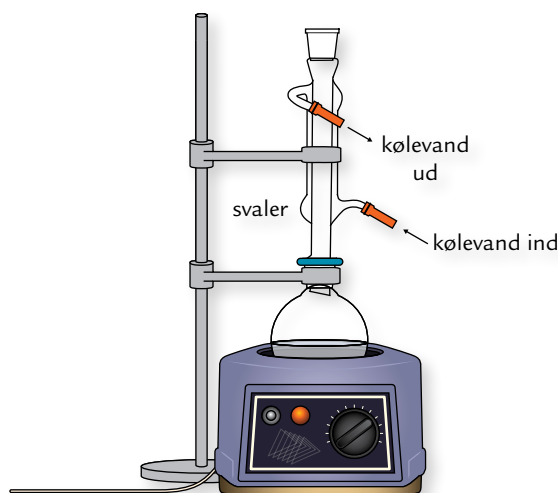
Afvej i en rundbundet kolbe med slib ca. 5 g 4-hydroxybenzoesyre med 0,01 grams nøjagtighed. Notér massen i skemaet:

Masse af 4-hydroxybenzoesyre/g

Overfør med måleglas 30 mL alkohol til kolben. Ryst kolben, til 4-hydroxybenzoesyre er opløst. Tilsæt dråbevis og under let omrystning 2,5 mL konc. svovlsyre til opløsningen.

Placér kolben i en varmekappe og forsyn den med et svalerør. Tænd for opvarmningen, når kølevandet er tilsluttet. Kog med tilbagesvaling (reflux) i ca. en time.

Figur 21.2. Opvarmning med tilbagesvaling.



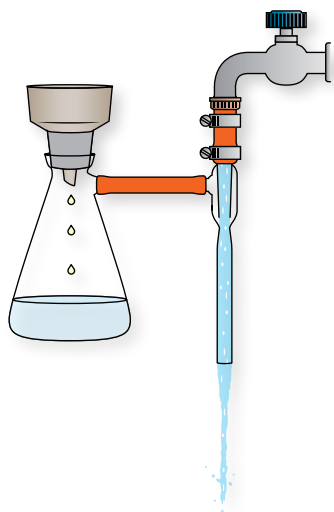
Hæld efter kort tids afkøling opløsningen fra kolben over i et 250 mL bægerglas med 75 mL demineraliseret vand. Placér bægerglasset på en magnetomrører og sørg for moderat omrøring. Tilsæt blandingen 10 %  $\text{Na}_2\text{CO}_3$ , hvorved der sker en udfældning af parabenen. Afslut, når der ikke længere sker gasudvikling eller ses yderligere udfældning af parabenen.

Isolér den udfældede paraben ved sugefiltrering. Vask omhyggeligt stoffet på filteret tre gange med isafkølet demineraliseret vand.

Overfør en lille smule af dette råprodukt til en petriskål til senere smeltepunktsanalyse.

*OmkrySTALLISATION*

Overfør det frafiltrerede stof til et 250 mL bægerglas. Opvarm i hver sit 100 mL bægerglas på en varmeplade under udsugning ca. 50 mL methanol, til det koger, og ca. 50 mL demineraliseret vand. Opløs parabenen i varm methanol –



Figur 21.3. Sugfiltrering med Büchnertragt.

brug så lidt methanol som muligt – og rør rundt med en spatel. Tilsæt dernæst varmt vand, til væsken bliver uklar.

Afkøl langsomt blandingen til stuetemperatur. Til slut kan afkølingen ske i isvand. De udfældede krystaller isoleres ved sugfiltrering. Vej en porcelænsskål og notér massen i skemaet nedenfor. Overfør det omkrystalliserede stof til skålen. Lad stoffet stå til tørring til næste kemitime. Bestem det praktiske udbytte ved at veje porcelænsskålen med det tørre produkt.

Bestem smeltepunktet for råproduktet og det tørre, omkrystalliserede produkt.

Masse af porcelænsskål/g	Masse af porcelænsskål og udbytte/g	Målt smeltepunkt for råprodukt/°C	Målt smeltepunkt for omkrystalliseret produkt/°C

Overfør det tørre, omkrystalliserede produkt til et præparatglas og send produktet til optagelse af IR-spektrum og  $^1\text{H}$ -NMR-spektrum.

## EFTERBEHANDLING

- Opskriv reaktionsskemaet for reaktionen mellem 4-hydroxybenzoesyre og den anvendte alkohol.
- Angiv parabenens systematiske navn.
- Beregn stofmængden af den afvejede mængde 4-hydroxybenzoesyre. Notér i skemaet herunder.
- Find densiteten for den benyttede alkohol ved opslag i en databog. Beregn massen af den anvendte alkohol.
- Beregn stofmængden af alkoholen.
- Begrund ud fra de beregnede stofmængder, at der er anvendt overskud af alkohol.
- Beregn det teoretiske udbytte af parabenen i gram.
- Beregn det praktiske udbytte af parabenen i gram og beregn derefter det praktiske udbytte i % af det teoretiske udbytte. Kommentér og anfør nogle grunde til, at udbyttet er mindre end 100 %.
- Find ved tabelopslag et smeltepunkt for den fremstillede paraben og sammenlign de to målte smeltepunkter for parabenen med tabelværdien. Kommentér.

$n(4\text{-hydroxybenzoesyre})$	$\rho(\text{alkohol})$	$m(\text{alkohol})$	$n(\text{alkohol})$
Teoretisk udbytte $m(\text{paraben})$	Praktisk udbytte $m(\text{paraben})$	Udbytte i %	Tabelværdi for parabenens smeltepunkt

10. Forklar, hvorfor der tilsættes en opløsning af natriumcarbonat under udfældningen af parabenen. Hvilken gas dannes ved tilsætningen? Opskriv et reaktionsskema for denne reaktion.
11. Giv en tilordning af de karakteristiske absorptionsbånd over  $1500\text{ cm}^{-1}$  i IR-spektret af parabenen og sammenhold med strukturformlen. Er der tegn på, at det fremstillede stof er den ønskede paraben?

Bånd nr.	Bølgetal (aflæst) $\frac{1}{\lambda} / \text{cm}^{-1}$	Intensitet	Bindingstilordning	Kommentarer	Bølgetal (tabelværdi) $\frac{1}{\lambda} / \text{cm}^{-1}$

12. Giv en tilordning af signalerne i  $^1\text{H}$ -NMR-spektret af parabenen. Inddrag både kemiske skift, integralkurve og koblingsmønstre, og sammenhold med strukturformlen. Er der tegn på, at det fremstillede stof er den ønskede paraben?

Signal nr.	Kemisk skift (aflæst) $\delta/\text{ppm}$	Integral/areal (relativt antal ækvivalente $^1\text{H}$ -atomer)	Opsplitning	Antal nabo- $^1\text{H}$ 'er	Tilordning	Kemisk skift (tabelværdi) $\delta/\text{ppm}$



# Risikovurdering Kemiske



## Titel

Syntese af ethyl- og propylparaben

## Placering i organisationen

Kemi, proces, Biologi

## Beskrivelse

Formålet med syntesen er at fremstille hhv. ethyl- og propylparaben med henblik på videre undersøgelse og sammenligning af de dannede produkter ved forskellige analysemetoder (H-NMR, smeltepunktsanalyse, TLC), samt undersøgelse af deres væksthæmningsegenskaber.

Dannelsen af parabener sker ved en kondensationsreaktion mellem 4-hydroxybenzoesyre og dets korresponderende alkohol. Reaktionen katalyseres af koncentreret svovlsyre.

Kemikalier:

- 4-hydroxybenzoesyre (99-96-7)
- ethanol (64-17-5)
- propan-1-ol (71-23-8)
- koncentreret svovlsyre (7664-93-9)
- 10% natriumcarbonat (497-19-8)
- ethylparaben (120-47-8)
- propylparaben (94-13-3)

Syntesen foregår i stinkskab, her sker opvarmning med tilbagesvælg, udfældning af parabenen, isolering af parabenen ved sugefiltrering, senere en omkrystallisering og herefter sugefiltrering igen. Produkter stilles herefter til tørring i stinkskabet.

Alt affald hældes i organisk affaldsdunk i stinkskabet.

De fremstillede parabener faremærkes når de hældes i præparatbeholder.

## Farlige egenskaber

- Alkoholerne er brandfarlige og farlige ved indtagelse, hudkontakt og indånding.
- 4-hydroxybenzoesyre er farlig ved indtagelse, hudkontakt og indånding.
- Konc. svovlsyre er stærkt ætsende.

## Eksponeringsgrad, -type og -varighed

Alt arbejde sker i stinkskab med brug af sikkerhedsbriller og kittel. Der bruges nitrilhandsker for at minimere risici for hudkontakt, eksponeringsgraden vurderes lav.

Ved ophældning af alkoholer sker det i måleglas i stinkskabet, måleglas stilles til afdampning efter brug og evt. rester hældes i affaldsdunk.

Koncentreret svovlsyre afpipetteres forsigtigt og tilsættes med dræbepipette, pipette samt dræbepipette skylles 3 gange i vand inden de lægges i affaldsbeholder, affald hældes i syre affaldsdunken i stinkskabet.

Der opsættes en pose til affald i stinkskabet, til brugte handsker og lignende. Posen skal blive i stinkskabet til afdampning. Næste dag lukkes posen og den lægges i almindelig affaldsbeholder.

### Virkninger af forebyggende foranstaltninger

Alt arbejde i laboratoriet skal foregå efter de ophængte laboratorie regler. Der er ophængt i alle laboratorierne.

<https://www.danskkemidatabase.dk/Riskmatrix.html#21>

### Inddragelse af undersøgelser

### Substitutionsovervejelser

Den originale syntesevejledning benyttede methanol som opløsningsmiddel til parabenerne, her benyttes i stedet ethanol da der herved helt kan undgås arbejde med det højest faremærkede kemikalie efter svovlsyren.

### Forbedringsforslag

Alle sikkerhedsforholdsregler er gældende.

### Opfølgningsdato

20-02-2027


### Oprettet dato









20-02-2024 Prøvelogin

### Ændret dato

20-02-2024 Prøvelogin

Produkter tilknyttet denne risikovurdering: 7

	Produkt	Leverandør	Farlighed	Miljø		Faresætninger
	Svovlsyre konc. (885500)	Frederiksen Scientific A/S	● ● ●			H314 Forårsager svære ætsninger af huden og øjenskader. H290 Kan ætse metaller.

	Produkt	Leverandør	Farlighed	Miljø		Faresætninger
✕	1-Propanol GPR RECTAPUR	VWR - Bie & Berntsen A/S	●●		  	H225 Meget brandfarlig væske og damp. H318 Forårsager alvorlig øjenskade. H336 Kan forårsage sløvhed eller svimmelhed.
✕	Natriumcarbonatdecahydrat (1.06391)	Merck Life Science ApS	●			H319 Forårsager alvorlig øjenirritation.
✕	4-Hydroxybenzoesyre (4-Hydroxybenzoic acid)	Thermo Fisher Scientific	●●		 	H318 Forårsager alvorlig øjenskade. H335 Kan forårsage irritation af luftvejene.
✕	4-hydroxybenzoesyreethylester (111988)	Merck Life Science ApS	●			
✕	4-hydroxybenzoesyrepropylester	Leverandøruafhængig	●			
✕	Ethanol 96%	Merck Life Science ApS	●●		 	H225 Meget brandfarlig væske og damp. H319 Forårsager alvorlig øjenirritation.