

بررسی امکان اندازه‌گیری ترکیبات فنولی حلقوی در شکر قهوه‌ای به روش DFT

پرستو مسگران کریمی^a، مسعود هنرور^{b*}

^a دانش آموخته کارشناسی ارشد گروه علوم و صنایع غذایی، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران
^b دانشیار گروه علوم و صنایع غذایی، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

تاریخ دریافت مقاله: ۱۳۹۶/۱۰/۱۳

تاریخ پذیرش مقاله: ۱۳۹۷/۰۱/۳۱

چکیده

مقدمه: گیاه نیشکر و شکر حاصل از آن حاوی انواع ترکیبات فنولی است که خواص آنتی اکسیدانی مطلوبی نیز دارند. از این رو پژوهش حاضر به بررسی امکان اندازه‌گیری این ترکیبات فنولی در شکر قهوه‌ای با استفاده از روش DFT می‌پردازد.

مواد و روش‌ها: در این پژوهش از دو نوع شکر پخت (II) و پخت (III) در فرایند تولید شکر نمونه‌گیری شد و در ابتدا با استفاده از دستگاه کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا (HPLC) نوع و نسبت ترکیبات فنولی حلقوی در دو نوع شکر پخت (II) و پخت (III) شناسایی و تعیین شد. در گام بعدی و برای اولین بار، با استفاده از روش محاسباتی پیشرفته نظریه تابعیت چگالی DFT و براساس محاسبه انتالپی تفکیک پیوند (BDE) و پتانسیل یونیزاسیون (IP) خاصیت آنتی‌اکسیدانی این نوع از ترکیبات محاسبه شد.

یافته‌ها: با مقایسه میزان BDE و IP ترکیبات شناسایی شده مشخص شد کنیفرول الکل بیشترین و بنزوئیک اسید کمترین خاصیت آنتی‌اکسیدانی را در دو نمونه شکر پخت (II) و شکر پخت (III) دارا است.

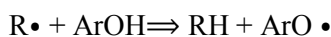
نتیجه‌گیری: استفاده از روش‌های محاسباتی به منظور تعیین میزان ترکیبات فنولی به خوبی می‌تواند کارآمد باشد.

واژه‌های کلیدی: آنتالپی تفکیک پیوند (BDE)، آنتی‌اکسیدان، پتانسیل یونیزاسیون (IP)، نظریه تابعیت چگالی (DFT)

مقدمه

نیشکر گیاهی است که به طور گسترده‌ای در تمامی مناطق جهان کشت می‌شود، و به همراه چغندر قند مهم‌ترین منابع تولید قند می‌باشند. علاوه بر استحصال قند، نیشکر کاربردهای فراوان دیگری نیز به عنوان خوراک دام، ماده اولیه در تولید الکل و دیگر مشتقات آن دارد (Alejandro, 2009). تحقیقات اخیر نشان داده است که گیاه نیشکر و شکر حاصل از آن دارای خواص بیولوژیکی مورد توجهی هستند (Noa et al., 2002). به عنوان مثال حضور انواع اسیدهای فنولی، فلاونوئیدها و دیگر ترکیبات فنولی در نیشکر تشخیص داده شده است، که هر یک از این ترکیبات می‌توانند خواص آنتی‌اکسیدانی مطلوبی داشته باشند (Molina et al., 2005). آنتی‌اکسیدان‌ها می‌توانند به روش‌های مختلفی مانع اکسید شدن واکنش‌های زنجیره‌ای شوند، از جمله دفع مستقیم جزء اکسیژن و واکنش‌پذیر، مهار آنزیم‌ها، و چنگاله کردن یون‌های فلزی مانند آهن و مس. اثرات مفید آنتی‌اکسیدان‌ها و ترکیبات با خصوصیات آنتی‌اکسیدانی در رابطه با بیماری‌ها و عارضه‌هایی است که در آن فرآیندهای اکسیداتیو نقش مهمی را ایفا می‌کنند، به عنوان مثال بیماری‌های قلبی-عروقی، تصلب شریان، ایجاد تومورهای بدخیم و پیری زودرس از جمله این نوع بیماری‌ها هستند (Visioli, 1998). اجزای اصلی آنتی‌اکسیدانی در گیاهان و مواد غذایی، ترکیبات فنولی حلقوی هستند. تحقیقات نشان داده است که فعالیت آنتی‌اکسیدانی به طور معمول به ساختار مولکولی آنها و به طور دقیق‌تر به حضور و تعداد گروه‌های هیدروکسیل مرتبط باشد. بنابراین، اگر چه ترکیبات فنولی حلقوی موجود در نیشکر می‌توانند به عنوان آنتی‌اکسیدان عمل کنند، اما تاکنون تحقیق جامعی در راستای تخمین و اندازه‌گیری این ترکیبات فنولی در گیاه نیشکر به دلیل پایین بودن مقدار آن انجام نشده است. روش نظریه تابعیت چگالی (DFT)^۱ به عنوان یک روش محاسباتی مناسب به منظور اندازه‌گیری همبستگی الکترونی در سال‌های اخیر رواج یافته است که اغلب با هدف بررسی ساختار الکترونی سیستم‌های چند ذره‌ای مورد استفاده قرار می‌گیرد. در نظریه تابعیت چگالی، انرژی

همبستگی الکترون به عنوان تابعی از چگالی الکترونی محاسبه می‌شود (Koch Holthausen, 2001). در نخستین تحقیقات انجام شده در این راستا، در سال ۱۹۹۶ گروهی از محققان حضور ۵ ترکیب آنتی‌اکسیدانی را در عصاره کوکوتو (فرآورده غذایی که از شکر خام قهوه‌ای و از تغلیظ عصاره قند نیشکر ساخته شده است) نشان دادند (Nakasone et al., 1996) و بدنبال آن پژوهشگران چندین ترکیب گلوکوزیله فنولی از همان عصاره طبیعی جداسازی کردند (Takara et al., 2002). در ادامه گروهی دیگر از دانشمندان در سال ۲۰۰۵ در نمونه‌های مختلف شکرهای خام نیشکری فعالیت‌های آنتی‌اکسیدانی بدست آوردند و اسیدهای فنولی مختلف و ترکیبات فلاونوئیدی همچون آپیزین، لوتولین، تریسین و سیناپیک اسید را مسئول این فعالیت آنتی‌اکسیدانی معرفی کردند (Payet et al., 2005). محققان در پژوهش‌های پیشین با بهره‌گیری از نرم‌افزار گوسین یک بررسی کوانتومی-مکانیکی انجام دادند و نتایج نشان داد که فعالیت آنتی‌اکسیدانی فلاونول‌ها مربوط به رادیکال‌های دو وجهی است که بر اساس آن در این رادیکال‌ها با استفاده از عدم استقرار الکترونیکی توسعه یافته می‌توانند نقش محافظتی خود را ایفا کنند (Russo, 2008). در اولین مورد رادیکال آزاد، یک اتم هیدروژن را از آنتی‌اکسیدان (ArOH) حذف می‌کند که خود به یک رادیکال دیگر تبدیل می‌شود:



این مکانیزم به عنوان انتقال اتم H نامیده می‌شود. پایداری بیشتر رادیکال ArO• مربوط به بهره‌وری بهتر آنتی‌اکسیدان ArOH است، بطوری که بعید است با جزء مورد عمل واکنش نشان دهند. به طور کلی، پیوندهای هیدروژنی، مزدوج شدن و رزونانس، آن را یک رادیکال فنوکسیل غیر واکنش‌پذیر می‌سازد. در این مکانیزم، انتالپی تفکیک پیوند (BDE) مربوط به پیوندهای O-H، پارامتری مهم در ارزیابی فعالیت آنتی‌اکسیدان است، چرا که پیوند OH ضعیف‌تر، آسان‌تر، واکنش غیر فعال کردن رادیکال آزاد خواهد بود. در مکانیزم دوم (انتقال یک الکترون)، آنتی‌اکسیدان می‌تواند یک الکترون به رادیکال آزاد بدهد تا خود به یک کاتیون رادیکال تبدیل شود:

¹ Density Function Theory

2000) ساخت کشور کره جنوبی دارای دو پمپ، آشکارساز UV و ستون با ابعاد $6/4 \times 150$ میلی‌متر و اندازه ذرات 5 میکرولیتر انجام شد. سیستم مورد استفاده در این بررسی گرادیان و فاز متحرک شامل آب با 0/2 درصد اسید فسفریک (حجمی-حجمی) (حلال 1)؛ متانول (حلال 2) و استونیتریل (حلال 3) است. سرعت جریان فاز متحرک در ستون 1 میلی‌لیتر در هر دقیقه و دمای ستون برابر دمای اتاق در نظر گرفته شد و حجم تزریق 20 میکرولیتر بود. (Alizadeh, et al., 2013). ستون کروماتوگرافی حداقل به مدت 15 دقیقه با فاز متحرک شستشو شد. سپس 20 میکرولیتر از استاندارد کالیبراسیون خارجی به دستگاه تزریق شد و منحنی کروماتوگرام در 280 نانومتر ثبت شد. مقدار فاکتور پاسخ RF برای 1 میکروگرم از تریسول و 1 میکروگرم از سینرژیک اسید محاسبه شد و نسبت RF سینرژیک اسید به تریسول نیز محاسبه گردید (RRF) (syf/syf). در نهایت 20 میکرولیتر از نمونه به دستگاه تزریق شد و منحنی کروماتوگرام در 280 نانومتر ثبت شد. محتوای فنولی حلقوی که براساس mg/kg محاسبه شد، از طریق محاسبه مجموع زیر پیک کروماتوگرام بدست آمد:

$$\text{mg/kg} = \frac{(\Sigma A) \times 1000 \times \text{RRF syf/tyr} \times (W \text{ syf.acid})}{(A \text{ syf.acid}) \times (W)}$$

(ΣA): مجموع سطوح زیر پیک فنولیک‌ها که در طول موج 280 نانومتر ثبت می‌شود.

(RRF syf/tyr): نسبت RF سینرژیک اسید به تریسول
(W syf. Acid): وزن سینرژیک اسید اسید (بر حسب میلی‌گرم) در 1 میلی‌لیتر استاندارد داخلی، که به نمونه اضافه می‌شود.

(A syf. Acid): سطح زیر پیک سینرژیک اسید به عنوان استاندارد داخلی که در طول موج 280 نانومتر ثبت می‌شود.

W: وزن نمونه بر حسب گرم

- آنالیز محاسباتی

همه محاسبات توسط برنامه محاسباتی Gaussian 09 ارائه شده در سال 2009 انجام شد (Alejandro, 2009). با این برنامه کامپیوتری که بر پایه مکانیک کوانتمی مولکولی استوار است می‌توان خواص الکترونی، شیمیایی، ترموشیمیایی و هندسی ترکیبات متفاوت زیست‌شیمیایی را



همچنین در این مورد، کاتیون رادیکال ناشی از انتقال الکترون باید با ثبات باشد، از این رو با مولکول‌های جزء مورد عمل واکنش نشان نمی‌دهد (Russo, 2008). استفاده از ابزار محاسباتی برای شبیه‌سازی فرایندهای بیوشیمیایی کمک شایانی در درک مکانیسم و ساختار این گونه ترکیبات می‌کند. با بهره‌گیری از متدهای جدید شیمی محاسباتی می‌توانی خاصیت آنتی‌اکسیدانی را مورد سنجش قرار داد. برای اولین بار با بهره‌گیری از روش‌های نوین محاسباتی و بدون صرف هزینه‌های سنگین و زمان‌بر آزمایشگاهی، خاصیت آنتی‌اکسیدانی انواع ترکیبات فنولی احتمالی شناسایی شده در شکرپخت مورد محاسبه قرار گرفته است. بنابر آنچه گفته شد هدف از پژوهش حاضر بررسی امکان اندازه‌گیری ترکیبات فنولی حلقوی در شکر قهوه‌ای به روش محاسباتی نظریه تابعیت چگالی (DFT) می‌باشد.

مواد و روش‌ها

- آماده سازی نمونه

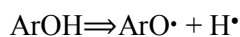
دو نوع شکر پخت (II) و شکر پخت (III) در مسیر خط تولید کارخانه قند همدان نمونه‌برداری و برای انجام اندازه‌گیری ترکیبات فنولی حلقوی آنها به آزمایشگاه منتقل شد. در یک لوله آزمایش درپوش دار 10 میلی‌لیتری، 2 گرم از نمونه وزن شده و 1 میلی‌لیتر از محلول استاندارد داخلی به آن افزوده شد. درب لوله بسته شده و برای 30 ثانیه روی همزن قرار گرفت. سپس 5 میلی‌لیتر از محلول استخراج متانول در آب به نسبت حجمی 80 به 20 به آن اضافه و مجدداً به مدت یک دقیقه عملیات همزدن ادامه یافت. استخراج در حمام اولتراسونیک به مدت 15 دقیقه در دمای محیط صورت گرفته و پس از آن به مدت 25 دقیقه محلول حاصل سانتریفوژ شد (5000 دور در دقیقه) در نهایت فاز مایع رویی برداشته شده و با استفاده از سرنگ پلاستیکی، توسط فیلتر سرنگی 0/45 میکرومتر صاف گردید (Alizadeh, et al., 2013).

- آنالیز با دستگاه HPLC

تعیین کل محتوای پلی فنول‌ها با استفاده از دستگاه کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا (Young Lin) Acme

بررسی امکان اندازه‌گیری ترکیبات فنولی حلقوی در شکر قهوه‌ای به روش DFT

K 298 به عنوان اختلاف انتالپی برای واکنش:

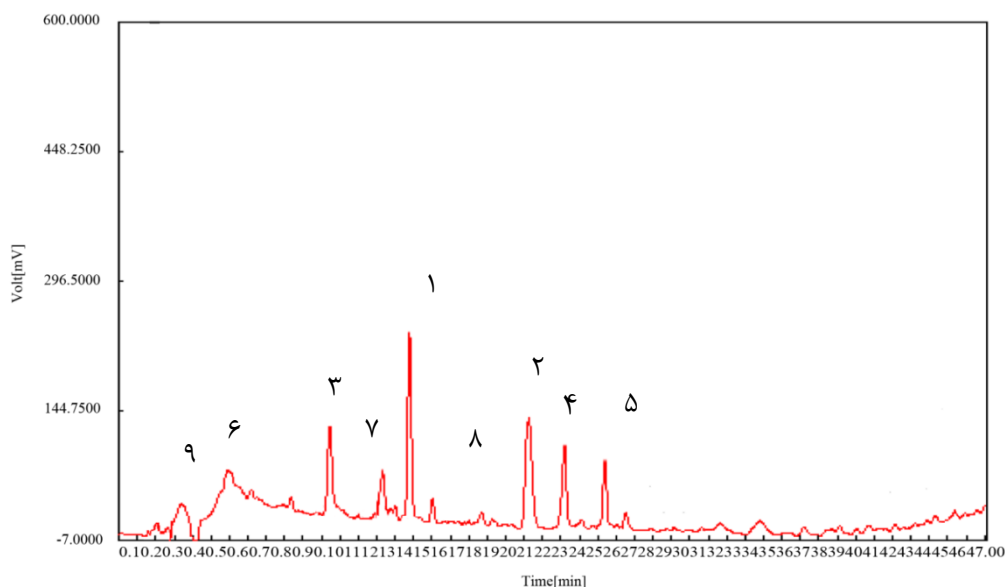


و به عنوان اختلاف انرژی بین گونه‌های ArOH و ArOH⁺ به ترتیب محاسبه می‌شود.

یافته‌ها

در این پژوهش سعی شد تا با استفاده از تکنیک HPLC ترکیبات فنولی حلقوی شناسایی شوند، در جداول ۱ و ۲ نوع و میزان ترکیبات شناسایی شده در دو نوع شکر پخت (II) و شکر پخت (III) ارائه شده است. همچنین منحنی کروماتوگرام‌های به‌دست آمده از دو نمونه در شکل‌های ۱ و ۲ به نمایش درآمده است.

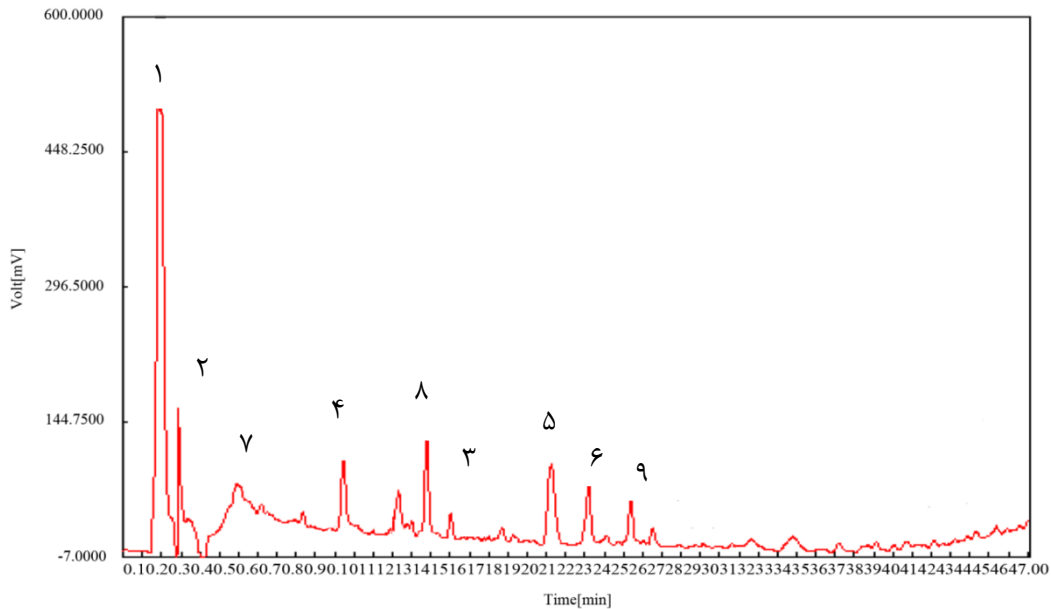
بررسی کرد. پتانسیل همبستگی تبدلی B3LYP برای بهینه‌سازی هندسه ساختار با مجموعه پایه 6-311++G(3df,2p) استفاده می‌شود (Lee, et al., 1988). فرکانس‌های ارتعاشی هارمونیک در همان سطح برای هر دو مولکول (ArOH) اصلی و رادیکال (ArO⁺) جهت توصیف تمام صورتبندی‌های آن به بررسی نقاط زینی و مینیمم انرژی محاسبه خواهد شد. انرژی ساختارهای بهینه‌سازی شده ترکیبات فنولی حلقوی موجود در شکر قهوه‌ای با استفاده از مجموعه پایه 6-311++G(3df,2p) بدست خواهد آمد. سپس مقادیر انرژی پتانسیل یونیزاسیون و روش پوسته باز نامحدود، برای گونه‌های رادیکال استفاده می‌شود. انتالپی تفکیک پیوند (BDE) فاز گاز و پتانسیل یونیزاسیون (IP) در



شکل ۱- شناسایی ترکیبات فنولی حلقوی شکر پخت (III)

جدول ۱- نوع و میزان ترکیبات فنولی حلقوی شکر پخت (III)

ترکیب	شماره پیک	زمان بازداری (دقیقه)	(mg/Kg)
پارا هیدروکسی بنزوئیک اسید	۴	۲۴۰	۱۲/۷۱
وانیلیک اسید	۶	۵۰	۸/۰۸
همو وانیلیک اسید	۱	۱۴۰	۲۲/۱۷
وانیلین	۸	۱۷۰	۱/۸۳
کنیفریل الکل	۷	۱۲۰	۲/۱۲
پارا کوماریک اسید	۲	۲۱۰	۱۶/۲۵
استوسینرژون	۳	۱۰۰	۱۵/۲۰
فرولیک اسید	۵	۲۶۰	۱۰/۲۰
بنزوئیک اسید	۹	۳۰	۱/۷۵
میزان کلی ترکیبات پلی فنول حلقوی	-	-	۹۳/۰۵



شکل ۲- شناسایی ترکیبات فنولی حلقوی شکر پخت (II)

جدول ۲- نوع و میزان ترکیبات فنولی حلقوی شکر پخت (II)

ترکیب	شماره پیک	زمان بازداری (دقیقه)	mg/Kg
پارا هیدروکسی بنزوئیک اسید	۳	۱۴۰	۹/۹۵
وانیلیک اسید	۶	۲۳۰	۵/۱۷
همو وانیلیک اسید	۱	۱۰	۱۲/۶۷
وانیلین	۸	۱۲۰	۰/۹۲
کنیفریل الکل	۷	۵۰	۱/۵۶
پارا کوماریک اسید	۲	۳۰	۱۱/۵۲
استوسینرژون	۴	۹۰	۸/۷۲
فرولیک اسید	۵	۲۱۰	۵/۹۹
بنزوئیک اسید	۹	۲۶۰	۰/۹۱
میزان کلی ترکیبات پلی فنول	-	-	۵۶/۱۷

ساختار بهینه شده ترکیبات فنولی حلقوی را که پایدارترین انرژی را در دمای محیط دارند بدست آورد. بدین منظور در ابتدا ساختار دو بعدی را رسم کرده و در نهایت با تبدیل آن به ساختار سه بعدی محاسبه ساختار سه بعدی بهینه شده در سطح محاسباتی $6-311++G(3df,2p)$ انجام شد. سطح انرژی درونی هر کدام از ترکیبات در جدول ۳ ارائه شده است.

ساختارهایی که انرژی درونی آنها ارائه شد ساختارهایی پایدارند که بر اساس این نوع از پیکربندی مولکولها می توان در مورد نوع هیدروژنی که قابلیت جدا شدن است و چگونگی این فرایند تصمیم گیری کرد.

همانطور که از یافته ها مشخص است در شکر پخت (II) ترکیب همووانیلیک اسید بیشترین میزان و بنزوئیک اسید کمترین میزان را دارا است همچنین در شکر پخت (III) ترکیب همووانیلیک اسید بیشترین میزان و بنزوئیک اسید کمترین میزان را از کل ترکیبات پلی فنولیک حلقوی شامل می شود. از طرفی میزان مجموع ترکیبات پلی فنولیک به ازای مقدار یکسانی از شکر پخت (II) و شکر پخت (III) با نسبت بیشتری در شکر پخت (II) حضور دارد.

- ساختارهای سه بعدی بهینه شده ترکیبات فنولی حلقوی

پس از شناسایی ساختار ترکیبات بر اساس روش های آزمایشگاهی، برای آماده سازی مطالعه نظری ابتدا باید

بررسی امکان اندازه‌گیری ترکیبات فنولی حلقوی در شکر قهوه‌ای به روش DFT

جدول ۳- انرژی درونی ترکیبات فنولی حلقوی شکر پخت (II) و شکر پخت (III) برحسب کیلوژول بر مول

ترکیب	E_{Ar-OH}
پارا هیدروکسی بنزوئیک اسید	-۱۳۰۲۶۸۱/۳۰۷
وانیلیک اسید	-۱۶۰۳۴۲۷/۱۰۴
همو وانیلیک اسید	-۱۷۰۶۶۵۶/۵۲۱
وانیلین	-۱۴۰۵۸۲۴/۰۸۲
کنیفریل الکل	-۱۶۱۲۲۵/۱۵۵
پارا کوماریک اسید	-۱۵۰۵۹۵۰/۱۵۸
استوسینرژون	-۱۸۰۹۸۵۱/۸۰۶
فرولیک اسید	-۱۸۰۶۶۹۵/۹۵۵
بنزوئیک اسید	-۱۱۰۵۱۲۸/۱۷

جدول ۴- انرژی انتالپی $Ar-OH$ ترکیبات فنولی حلقوی شکر پخت (II) و شکر پخت (III) و انرژی انتالپی در حالت رادیکال $Ar-OH^{\bullet}$ و کاتیون رادیکال $Ar-O^{\bullet}$

ترکیب	$E_{Ar-OH^{\bullet}}$	شماره هیدروژن	$E_{Ar-O^{\bullet}}$ (B)	شماره هیدروژن	$H_{Ar-O^{\bullet}}$ (A)	H_{Ar-OH}
پارا هیدروکسی بنزوئیک اسید	-۱۳۰۱۵۰۵/۰۸	۱۶H	-۱۳۰۰۶۴۸/۱۴۶	۱۵H	-۱۳۰۲۳۴۵/۴۵۵	-۱۳۰۲۳۴۵/۴۵۵
وانیلیک اسید	-۱۶۰۲۲۱۶/۰۹۴	۲۰H	-۱۶۰۱۲۹۹/۱۹۶	۱۹H	-۱۶۰۱۳۸۶/۲۳۷	-۱۶۰۲۹۹۸/۳۲
همووانیلیک اسید	-۱۷۰۵۴۱۵/۴۶۸	۲۳H	-۱۷۰۴۴۵۳/۳۸۵	۲۲H	-۱۷۰۴۵۳۷/۲۶۴	-۱۷۰۶۱۵۰/۰۸۵
وانیلین	-۱۴۰۵۴۱۳/۸۷۱	-----	-----	۱۹H	-۱۴۰۳۷۹۸/۰۰۴	-۱۴۰۵۴۱۳/۸۷۱
کنیفریل الکل	-۱۶۱۰۹۵۷/۴۸۷	۲۵H	-۱۶۰۹۹۵۱/۷۱۶	۲۴H	-۱۶۱۰۰۵۵/۳۳۶	-۱۶۱۱۶۵۷/۶۹۲
پارا کوماریک اسید	-۱۵۰۴۷۴۴/۰۶۹	۲۰H	-۱۵۰۳۸۱۷/۹۸۱	۱۹H	-۱۵۰۳۸۸۵/۷۵۱	-۱۵۰۵۵۲۰/۹۵۴
استوسینرژون	-۱۸۱۱۱۵۰/۱۰۳	-----	-----	۲۰H	-۱۸۰۷۶۴۵/۱۱۵	-۱۸۰۹۲۶۹/۴۵۷
فرولیک اسید	-۱۸۰۵۴۲۰/۳۶۱	۲۴H	-۱۸۰۴۴۷۰/۱۷۶	۲۳H	-۱۸۰۴۵۶۳/۲۴۸	-۱۸۰۶۱۷۳/۸۷۹
بنزوئیک اسید	-۱۱۰۳۹۱۴/۷۸۴	-----	-----	۱۵H	-۱۱۰۳۰۱۶/۷۴۵	-۱۱۰۴۷۰۶/۹۷۶

۲۰

ترکیب بدون الکترون آزاد آنتی اکسیدانی $Ar-OH$ و تشکیل رادیکال با الکترون آزاد $Ar-O^{\bullet}$ را می‌توان از رابطه (۱) محاسبه کرد.

$$(1) BDE = H_{Ar-O^{\bullet}} + H_H - H_{Ar-OH}$$

$$(2) IP = H_{Ar-OH^{\bullet+}} + H(e^-) - H_{Ar-OH}$$

میزان پتانسیل یونی‌زاسیون IP و جدا شدن الکترون آزاد تنها از ترکیب بدون الکترون آزاد آنتی‌اکسیدانی $Ar-OH$ و تشکیل رادیکال کاتیون با بار مثبت ۱ و الکترون آزاد $Ar-OH^{\bullet+}$ را می‌توان از رابطه (۲) محاسبه کرد بر اساس روابط و اطلاعات ترمودینامیکی بدست آمده از محاسبات فرکانس جدول ۵ مقادیر انتالپی تفکیک BDE و میزان پتانسیل یونی‌زاسیون IP محاسبه گردید (جدول ۵). باید توجه کرد که کلیه محاسبات در محیط گازی صورت گرفته و بر همین اساس انتالپی تشکیل H^{\bullet} و $H(e^-)$ در محیط گازی به ترتیب $۱۲۱۳/۴۷۹۶۷۳$ - و $۳/۱۴۷$ کیلوژول بر مول می‌باشند.

- انرژی انتالپی فرایند آنتی اکسیدانی انرژی انتالپی کمیتری ترمودینامیکی است که با توجه به میزان تغییرات آن طی یک فرایند شیمیایی می‌توان به ماهیت آن فرایند پی برد و امکان ایجاد این فرایند را بررسی کرد. پس از بدست آوردن انرژی درونی ساختارهای بهینه شده ترکیبات فنولی که در شکر پخت (II) و شکر پخت (III) شناسایی شده‌اند، با محاسبه فرکانس بر روی ترکیبات بهینه شده میزان انرژی انتالپی نیز برای ساختارهای بهینه شده محاسبه شد. از سوی دیگر با توجه به ایجاد ساختار رادیکالی $Ar-O^{\bullet}$ و کاتیون رادیکالی $Ar-O^{\bullet+}$ مرحله محاسبات بهینه شدن و فرکانس انجام شد تا میزان انرژی انتالپی برای ساختار رادیکالی و کاتیون رادیکالی بدست آید. مقادیر انرژی انتالپی برای $Ar-O^{\bullet}$ و $Ar-O^{\bullet+}$ در جدول ۴ نشان داده شده است.

- سنجش محاسباتی خاصیت آنتی اکسیدانی میزان انتالپی تفکیک BDE و جدا شدن هیدروژن از

جدول ۵- انتالپی تفکیک پیوند BDE و پتانسیل یونیزاسیون IP ترکیبات فنولی حلقوی شکر پخت (II) و شکر پخت (III)

ترکیب	IP	BDE (avr)	BDE (B)	BDE (A)
پارا هیدروکسی بنزوئیک اسید	۸۴۲/۵۲	۳۶۲/۱۵	۳۸۴/۸۳	۳۳۹/۴۸
وانیلیک اسید	۷۸۵/۳۵	۳۴۳/۱۲	۳۸۶/۶۴	۲۲۹/۶۰
همووانیلیک اسید	۷۳۷/۷۶	۳۴۲/۲۸	۳۸۴/۲۲	۳۰۰/۳۴
وانیلین	۷۴۶/۳۹	۳۰۵/۳۹	-----	۳۰۵/۳۹
کنیفریل الکل	۷۰۳/۳۵	۶۹/۲۹۱	۲۹۳/۵۰	۲۸۹/۸۸
پارا کوماریک اسید	۷۸۰/۰۳	۳۵۶/۶۱	۳۹۰/۴۹	۳۲۲/۷۲
استوسینرژون	۷۹۱/۳۲	۳۱۱/۸۶	-----	۳۱۱/۸۶
فرولیک اسید	۷۵۶/۶۷	۳۴۴/۶۹	۳۹۱/۲۲	۲۹۸/۱۵
بنزوئیک اسید	۸۹۵/۳۴	۳۸۷/۷۵	-----	۳۸۷/۷۵

بحث

همووانیلیک اسید < وانیلیک اسید < کنیفریل الکل

- مقایسه بر حسب انتالپی تفکیک پیوند

ابتدا باتوجه به اینکه میزان بزرگی انتالپی تفکیک پیوند BDE هیدروکسی ترکیبات فنولی تناسب معکوس با میزان خاصیت آنتی اکسیدانی دارد، نتایج نشان داد که هرچه BDE کوچکتر باشد ترکیب دارای خاصیت آنتی اکسیدانی بیشتری خواهد بود که این مسئله توسط دیگر محققین نیز گزارش شده است (Yu et al., 2017). با توجه به اینکه در بعضی از ترکیبات فنولی حلقوی شناسایی شده در شکر دو گروه عاملی هیدروکسی وجود دارد، جدایی هیدروژن و تشکیل رادیکال از دو موقعیت رخ می‌دهد که در جدول ۴ شماره هیدروژن ترک شونده و مقادیر انتالپی رادیکال تشکیل شده بعد از این جدایی نشان داده شده است. بر همین اساس برخی ترکیبات با دو انرژی تفکیک پیوند BDE که متناسب با دو گروه هیدروکسی متفاوت در یک ترکیب می‌باشد، وجود خواهد داشت. چون کمترین میزان BDE بیانگر بهترین فرایند خاصیت اکسیدانی برای ترکیبات است در ترکیباتی که دارای دو گروه عاملی هستند موقعیتی که انرژی تفکیک پیوند کمتری دارد مد نظر قرار گرفت (Chithiraikumar et al., 2017) و اعداد آن در جدول ۵ به صورت برجسته نشان داده شد و بر اساس این اعداد مقایسه‌ای بین مقدار BDE در زیر انجام شده است. همانطور که بیان شد بر اساس مطالعه‌ای که روی انرژی تفکیک گروه هیدروکسی ترکیبات فنولی حلقوی شناسایی شده در شکر انجام گردید، کنیفریل الکل کمترین BDE و بیشترین خاصیت آنتی اکسیدانی را نشان داده است.

بنزوئیک اسید < فرولیک اسید < پاراکوماریک اسید < پارا هیدروکسی بنزوئیک اسید < استوسینرژون < وانیلین <

- مقایسه بر حسب پتانسیل یونیزاسیون

هنگامی که ترکیب فنولی الکترون از دست می‌دهد می‌توان بر اساس بررسی تغییرات انتالپی در این فرایند سنجشی برای خاصیت آنتی اکسیدانی ارائه داد به عبارت دیگر پتانسیل یونیزاسیون ترکیب فنولی حلقوی عاملی برای بررسی میزان خاصیت آنتی اکسیدانی است. در این تحقیق پتانسیل یونیزاسیون ترکیبات فنولی شناسایی شده در شکر پخت (II) و شکر پخت (III) مورد ارزیابی قرار گرفت که مقدار آن در جدول ۵ ارائه شده است. بنزوئیک اسید و کنیفرول الکل به ترتیب بیشترین و کمترین مقادیر پتانسیل یونیزاسیون را به خود اختصاص داده اند.

بنزوئیک اسید < پاراهیدروکسی بنزوئیک اسید <

استوسینرژون < وانیلیک اسید < پاراکوماریک اسید <

وانیلین < فرولیک اسید < همووانیلیک اسید < کنیفریل الکل

نتیجه گیری

با استفاده از دستگاه HPLC نوع و میزان ترکیبات فنولی در دو نوع شکر پخت (II) و شکر پخت (III) شناسایی شد و بیانگر این موضوع بود که در شکر پخت (II) ترکیبات پلی فنولی بیشتری نسبت به شکر پخت (III) وجود دارد. همچنین مشخص شد در هر دو نوع شکر پخت (II) و شکر پخت (III) ترکیب همووانیلیک اسید بیشترین نسبت و بنزوئیک اسید کمترین نسبت از کل ترکیبات فنولی حلقوی را به خود اختصاص داده است. با بررسی انرژی ساختارهای بهینه شده مشخص شد که بیشترین

Density Functional Theory, Second Edition, Wiley- VCH, New York.

Molina, V., Noa, M., Arruzazabala, L., Carbajal, D. & Mas, R. (2005). Effect of D-003, a mixture of very-long-chain aliphatic acids purified from sugar cane wax, on cerebral ischemia in Mongolian gerbils. *Journal of Medicinal Food*, 8(4), 482–487.

Nakasone, Y., Takara, K., Wada, K., Tanaka, J. & Yogi, S. (1996). Antioxidative compounds isolated from Kokuto, non-centrifuged cane sugar. *Bioscience, Biotechnology and Biochemistry*, 60, 1714–1716.

Noa, M., Mendoza, S., Mas, R. & Mendoza, N. (2002). Effect of D-003, a mixture of high molecular weight primary acids from sugar cane wax, on CL4C-induced liver acute injury in rats. *Drugs under Experimental and Clinical Research*, 28(5), 177–183.

Payet, B., Cheong, A. S. & Smadja, J. (2005). Assessment of antioxidant activity of cane brown sugars by ABTS and DPPH radical scavenging assays: determination of their polyphenolic and volatile constituents. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53, 10074–10079.

Russo, N., Toscano, M. & Uccella, N. (2008). Semiempirical Molecular Modeling into Quercetin Reactive Site: Structural, Conformational, and Electronic Feature, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48, 3232.

Takara, K., Matsui, D., Wada, K., Ichiba, T. & Nakasone, Y. (2002) New antioxidative phenolic glycosides from kokutonon-centrifuged cane sugar. *Bioscience, Biotechnology and Biochemistry*, 66(1), 29–35.

Visioli, F., Bellomo, G. & Galli, C. (2004). Low density lipoprotein oxidation is inhibited in vitro by olive oil constituents. *Atherosclerosis Journal*, 117,1, 25-32.

Yu, S., Wang, Y., Ma, Y., Wang, L., Zhu, J. & Liu, S. (2017). Structure, thermal stability, antioxidant activity and DFT studies of trisphenols and related phenols. *Inorganica Chimica Acta*, 468, 159-170.

کمترین انرژی درونی را در ترکیبات فنولی حلقوی شناسایی شده دارد. بعضی از ساختارها مثل وانیلیک اسید، همووانیلیک اسید، کنیفریل الکل، پارا کوماریک اسید، فرولیک دارای دو موقعیت برای ترک هیدروژن و تفکیک پیوند هیدروکسی دارند و برخی دیگر مانند اسید وانیلین، استوسینرژون، بنزوئیک اسید دارای یک موقعیت برای این فرایند می‌باشند. انرژی انتالپی ترکیبات فنولی حلقوی شناسایی شده در دو نوع شکر پخت (II) و شکر پخت (III) در حالت‌های متفاوت رادیکالی و کاتیون رادیکالی مشخص شد بر اساس آنها مقادیر BDE و IP ترکیبات فنولی حلقوی در دو نوع شکر پخت (II) و شکر پخت (III) تعیین گردید. بنزوئیک اسید بیشترین و کنیفرول الکل کمترین میزان انرژی انتالپی تفکیک پیوند BDE و IP را دارند بر همین اساس می‌توان تشخیص داد در ترکیبات فنولی حلقوی شناسایی شده در شکر پخت (II) و شکر پخت (III) بنزوئیک اسید کمترین و کنیفرول الکل بیشترین خاصیت آنتی اکسیدانی را دارند.

منابع

Alejandro, L. (2009). *Theoretical Aspects of Chemical Reactivity*, Volume 19, eBook ISBN: 9780080466781, Hardcover ISBN: 9780444527196, Imprint: Elsevier.

Alizadeh, A., Alizadeh, O., Amari, G. & Zare, M. (2013). Essential Oil Composition, Total Phenolic Content, Antioxidant Activity and Antifungal Properties of Iranian *Thymus daenensis* subsp. *daenensis* Celak. as in Influenced by Ontogenetical Variation, *Journal of Essential Oil Bearing Plants*. 16, 1, 59-70.

Chithiraikumar, S., Gandhimathi, S. & Neelakantan, M. A. (2017). Structural characterization, surface characteristics and noncovalent interactions of a heterocyclic Schiff base: Evaluation of antioxidant potential by UV-visible spectroscopy and DFT. *Journal of Molecular Structure*, 1137, 569-580.

Koch, W. K. & Holthausen, M. C. (2001). *Front Matter and Index, A Chemist's Guide to*