



متابولیت‌های ثانویه گیاهی

تألیف:

هریئند مکار

پیدهوراجو

کلاس کر

ترجمه:

دکتر سعید کریمی دهکردی

دکتر محمد ابراهیم نوریان سرور

دکتر محمد جواد ابرقویی

سرشناسه:	ماکار، هاریندر پ. اس.
عنوان و نام پدیدآور:	Makkar, Harinder P. S. متابولیت‌های ثانویه گیاهی / تألیف هاریندر مکار، سید هوراجو، کلاوس بکر؛ ترجمه سعید کریمی دهکردی، محمد ابراهیم نوریان سرور، محمد جواد ابرقویی.
مشخصات نشر:	شهرکرد: دانشگاه شهرکرد، ۱۳۹۵.
مشخصات ظاهری:	۲۲۸ ص: مصور
شابک:	۹۷۸-۶۰۰-۷۹۹۷-۱۴-۷
وضعیت فهرست‌نویسی:	فجا
یادداشت:	عنوان اصلی: Plant secondary metabolites, 2007.
موضوع:	متابولیت‌های گیاهی
موضوع:	Plant metabolites
موضوع:	متابولیسم ثانویه
موضوع:	Metabolism, Secondary
موضوع:	حیوان‌ها — تغذیه
موضوع:	Animal nutrition
شناسه افزوده:	سیدهوراجو، پرومال
شناسه افزوده:	Siddhuraju, P. (Perumal)
شناسه افزوده:	بکر، کلاوس
شناسه افزوده:	Becker, Klaus
شناسه افزوده:	کریمی دهکردی، سعید، ۱۳۴۵ -
شناسه افزوده:	نوریان سرور، محمد ابراهیم، مترجم
شناسه افزوده:	رفوویی، محمد جواد، ۱۳۵۹ -
شناسه افزوده:	دانشگاه شهرکرد
رده‌بندی کنگره:	QK ۸۸۱ / م ۳ ۱۳۹۵
رده‌بندی دیویی:	۵۷۲/۳
شماره کتابشناسی ملی:	۴۴۲۵۲۱۷



انتشارات دانشگاه شهرکرد

نام کتاب:	متابولیت‌های ثانویه گیاهی
تألیف:	هاریندر مکار، سیدهوراجو و کلاوس بکر
ترجمه:	سعید کریمی دهکردی، محمد ابراهیم نوریان سرور، محمد جواد ابرقویی
ویراستار ادبی:	سید کاظم موسوی
ناشر:	دانشگاه شهرکرد
امور فنی و اجرایی:	فاطمه قانی
چاپ اول:	زمستان ۱۳۹۵
تیراژ:	۵۰۰ نسخه
قطع:	وزیری
چاپ:	ارس
صفحه‌آرا:	فاطمه قانی
قیمت:	۱۲۰۰۰ ریال
شابک:	۹۷۸-۶۰۰-۷۹۹۷-۱۴-۷

کلیه حقوق این اثر برای نویسندگان و دانشگاه شهرکرد محفوظ است.
نشانی: چهارمحال و بختیاری، شهرکرد، بلوار رهبر، انتشارات دانشگاه شهرکرد، صندوق پستی ۱۱۵.

پیش گفتار

متابولیت‌های ثانویه گیاهی، گروهی از مشتقات مولکول‌هایی هستند که عامل سازگاری گیاهان با محیط می‌شوند، ولی این ترکیبات نقشی در مسیرهای متابولسمی اولیه گیاه و رشد و تولیدمثل سلولی گیاه ندارند. عموماً، در منابع علمی از اصطلاحات و عناوین بخش‌های مؤلفه‌های ثانویه گیاهی، فیتوشیمیایی، عوامل ضدتغذیه‌ای و آگزئوبیک‌مای گیاهی برای معرفی این گروه از مؤلفه‌ها گیاهی استفاده می‌شود. بیش از ۲۰۰۰ ساختار شیمیایی وجود دارد که حاوی بسیاری از مؤلفه‌های با تأثیر ضدتغذیه‌ای، اثر سمی بر پستانداران هستند. این تعداد ذکر شده شامل ترکیبات پلی‌فنولیک الیوئیک، پرپناتنوسیانیدها و تانن‌های قابل هیدرولیز) نیستند. ترکیبات پلی‌فنولیکی که در اینجا بیشتر به دقت‌تر شرح داده شده‌اند و تعداد آن‌ها به چندین هزار نیز می‌رسد. برخی از متابولیت‌های ثانویه گیاهی اصلی یا فیتوشیمیایی‌ها که در گیاهان وجود دارند عبارتند از: مهارکننده‌های رشد، آنتی‌تازها، لک‌تین‌ها، آلکالوئیدها، اسیدهای آمینه غیر پروتئینی، گلایکوسیدهای سیانوریک، ساپونین‌ها و تانن‌ها. این ترکیبات عامل دفاع گیاه در برابر گیاه‌خواران و پاتوژن‌ها بود و سبب تنظیم همزیستی، کنترل جوانه‌زنی دانه و مهار شیمیایی رقابت گونه‌های گیاهی (آل‌پاتی) می‌گردند، بنابراین یک تقابل کامل گونه گیاهی و جوامع دامی و سازگاری گیاهان به محیط خود وجود دارد.

تحقیقاتی در خصوص متابولیت‌های ثانویه گیاهی و تأثیرات ضدتغذیه‌ای و سمی آن‌ها بر دام‌های اهلی انجام گرفته است. متابولیت‌های ثانویه گیاهی - سمی گیاهان در غلظت‌های کم (معمولاً کمتر از ۲ درصد ماده خشک) در گیاهان وجود دارند. زمانی که این متابولیت‌های سمی جذب می‌گردند، دارای تأثیرات منفی فیزیولوژیک همچون مشکلات نورولوژیکی، اختلالات تولیدمثلی، گواتر، قانقاریا و در نهایت مرگ دام می‌شوند. برای نمونه می‌توان به آلکالوئیدها، گلایکوسیدهای سیانوریک، اسیدهای آمینه سمی، ساپونین‌ها و موارد زیادی دیگر اشاره کرد.

ترکیبات فیتوشیمیایی غیرسمی سبب کاهش قابلیت هضم ماده مغذی و خوش‌خوراکی علوفه می‌گردد. غلظت‌های بالای (بیش از ۲ درصد ماده خشک) این

ترکیبات برای استنباط تأثیرات منفی، مورد نیاز است و محل اولیه تأثیرگذاری آن‌ها در مجاری گوارشی یا اندام‌های حساس مرتبط با رفتارهای تغذیه‌ای است. این دسته از متابولیت‌های ثانویه گیاهی؛ شامل تانن‌ها، پروتازها، و مهارکننده‌های آمیلاز هستند. مؤلفه‌هایی که دارای نقش اساسی در گیاه بوده (مانند لیگنین، سیلیکا بیوژنیک و کوتین) به مقدار کمتری از هضم میکروبی پلی‌ساکاریدهای دیواره سلولی هستند.

این نوع تقسیم‌بندی بین گروه‌های متابولیت‌های ثانویه گیاهی، یک نوع تقسیم‌بندی انحصاری نیست. برای مثال؛ تانن‌های قابل هیدرولیز برای نشخوارکنندگان فوق‌العاده سمی هستند. خسارات اصلی ناشی از تانن قابل هیدرولیز عبارتند از: اسهال و استفراغ همراه با خوریزی، نکروزه شدن کبد و آسیب‌های کلیوی با نکروزه شدن لوله‌های پروگسیمال کلیه. مصدومیت رباد و سریع بلوط و دیگر گونه‌های گیاهی درختی که حاوی بیش از ۵ درصد تانن‌های قابل هیدرولیز هستند و سبب بیماری و مرگ و میر در گوسفندان و گوساله‌ها می‌شوند.

به علاوه؛ متابولیت‌های ثانویه گیاهی با بهبود ارزش تغذیه‌ای مرتبط بوده و ممکن است تأثیرات مفیدی بر سلامت دام داشته باشند. پروآنتوسیانیدین‌ها، که بیشتر به نام تانن‌های متراکم شناخته می‌شوند در منابع علوی مرتبط با تغذیه دام [حضور در علوفه لگوم‌ها مانند (*Onobrychis viciaefolia*)، شبدر (*Lotus corniculatus*) و *Lotus pedunculatus*] سبب بهبود هضم و متابولیسم پروتئین و کاهش نفخ در نشخوارکنندگان می‌گردند. تانن‌ها ممکن است همچنین نشخوارکنندگان را در برابر آلودگی‌های انگلی محافظت کنند. محققان با توجه تأثیرات مثبت متابولیت‌های ثانویه گیاهی بر سلامت انسان، تحقیقاتی را در خصوص پتانسیل این متابولیت‌ها و پیش‌گیری و یا تأثیرات درمانی آن‌ها بر سرطان، بیماری‌های خونی و عفونت‌های ویروسی انجام داده‌اند. مکانیسم‌هایی که سبب شده این مواد برای سلامت مفید باشند، ممکن است با تأثیرات سمی آن‌ها مرتبط بوده و تفاوت بین سمیت و تأثیرات سودمند آن‌ها ممکن است تحت تأثیر دز مصرفی و ساختار آن ماده مؤثر باشد. اما، مکانیسم‌های سمی بودن و تأثیرات بهبود دهنده سلامت اکثر متابولیت‌های ثانویه گیاهی در جیره انسان و حیوان تاکنون به خوبی مشخص نشده است.

در طی سال‌های اخیر با توجه به تأثیرات آنتی‌اکسیدانی، ضدویروسی، ضدباکتریایی و ضدسرطانی متابولیت‌های ثانویه گیاهی؛ بیولوژیست‌های مولکولی و اصلاح نباتات علاقه زیادی به تحقیق درباره این ترکیبات گیاهی پیدا کرده‌اند. با پیشرفت‌های اخیر، بیولوژیست‌های مولکولی تغییرات ژنتیکی در سنتز پروآنتوسیانیدین توسط گیاهان ایجاد کردند. هدف آن‌ها حذف نفخ، بهبود راندمان تبدیل پروتئین گیاهی به پروتئین دامی (افزایش پروتئین عبوری و به دنبال آن افزایش قابلیت جذب پروتئین در روده)، کاهش گازهای مخدازای، کاهش انگل‌های دستگاه گوارش بوده است. کارشناسان اصلاح نباتات یک نوع ملزا (کانولا) که حاوی مقادیر کمی از گلوکوسینولات‌ها و اسید اوریک بوده و پنبه‌دانه‌ای که بوسیدنی کمی دارد را تولید کرده‌اند. برنج‌هایی که دستکاری ژنتیکی شده‌اند و دارای مهارکننده تریپسین در حشرات بوده را نیز تولید کرده‌اند. روش‌های مهندسی ژنتیک مولکولی دارای این توانایی فوق‌العاده است که ژن‌های تنظیم‌کننده‌ای با هدف تنظیم بیوسنتز مولکول‌های ثانویه شناسایی کند. این اطلاعات، همراه با افزایش دانش آنزیم‌های ویژه برای مسیرهای بیوشیمیایی می‌تواند پیشرفت مهندسی ژنتیک گیاهی را تسهیل کند.

اکثر منابع گیاهی، به خصوص در افلیم‌ها، غنی از متابولیت‌های ثانویه گیاهی بوده و فقدان اطلاعات در خصوص روش‌های آنالیز برای اندازه‌گیری آن‌هاست. اصلی‌ترین محدودیت برای فهم بیشتر و بهتر آنزیم‌ها و مسیرهای بیوشیمیایی در سنتز آن‌ها، ژن‌های مسئول کنترل فرایندهای بیوشیمیایی غنی کنترل‌کننده و تفاوت‌های فیزیولوژیکی متابولیت‌های ثانویه گیاهی، و در نهایت بهره‌برداری از تأثیرات این ترکیبات فیتوشیمیایی است. تعدادی از دستورالعمل‌های آزمایشگاهی اندازه‌گیری متابولیت‌های ثانویه گیاهی در منابع علمی وجود دارد. این کتاب همه روش‌های موجود را ارائه نکرده است، بلکه ترجیحاً بر اساس تجربیات ده سال گذشته در خصوص اندازه‌گیری متابولیت‌های ثانویه گیاهی، روش‌های آنالیز و اندازه‌گیری برخی از مهم‌ترین متابولیت‌های ثانویه گیاهی را ارائه نموده است. روش‌هایی که می‌تواند در آزمایشگاه‌های مجهز به تجهیزات پایه قابل انجام باشد. روش‌هایی که به شکل ساده برای استفاده عملی در آزمایشگاه نوشته شده‌اند.

امیدوار هستیم که آزمایش‌های ارائه شده در این کتاب بتواند به استفاده مناسب از منابع خوراکی بومی مناطق مختلف کمک کنند و همچنین سبب افزایش دانش محققین تغذیه دام شود که با یک چالش بی‌سابقه در خصوص تقاضا برای غذا و پروتئین دامی در کشورهای در حال توسعه مواجه هستند. این کتاب همچنین سبب فهم بهتر ارتباط بین گیاه و دام شده که نه تنها برای دام‌های اهلی مهم است بلکه برای حیوانات وحشی نیز اهمیت دارد. روش‌های ارائه شده در این کتاب همچنین می‌تواند برای اسازة گیری متابولیت‌های ثانویه در غذای انسانی و مطالعه پیامدهای مصرف آن‌ها در سلامت انسان مفید باشد. این کتاب همچنین سبب افزایش تمایل کارشناسان ژنتیک مولکولی در مهندسی ژنتیک گیاهی برای بهبود صفات کیفی غذا و علوفه خواهد شد.

هریندر مکار

سیدهوراجو

کلاوس بکر

فهرست مطالب

عنوان

صفحه

فصل اول - مهارکننده تریپسین.....	۱
۱-۱- مقدمه.....	۱
۱-۱-۱- ماهیت، مکانیسم عمل و اثرات بیولوژیکی.....	۱
۱-۱-۲- منابع مهارکننده تریپسین.....	۳
۱-۱-۳- سنجش فعالیت مهارکننده تریپسین.....	۴
۱-۲- مواد مورد نیاز.....	۵
۱-۳- روش انجام آزمایش.....	۶
۱-۳-۱- تهیه عصاره.....	۶
۱-۳-۲- تعیین مهارکننده روش اول (کاکید و همکاران، ۱۹۷۴).....	۷
۱-۳-۳- بیان فعالیت.....	۷
۱-۳-۳-۱- محاسبات.....	۸
۱-۳-۳-۲- تعیین مهارکننده (روش دوم کاکید و همکاران، ۱۹۶۹ و اسمیت و همکاران، ۱۹۸۰).....	۸
۱-۳-۳-۱- محاسبات.....	۹
۱-۴- نکته‌ها.....	۱۰
منابع.....	۱۰
فصل دوم - مهارکننده کیموتریپسین.....	۱۱
۱-۲- مقدمه.....	۱۱
۱-۱-۲- منابع مهارکننده کیموتریپسین.....	۱۱
۱-۲-۱- قاعده کلی سنجش.....	۱۲
۱-۲-۲- مواد مورد نیاز.....	۱۲
۱-۳- روش انجام آزمایش.....	۱۳
۱-۳-۲- تهیه عصاره.....	۱۳
۱-۳-۳- تهیه منحنی کالیبراسیون.....	۱۳
۱-۳-۳-۲- تعیین مهارکننده.....	۱۴
۱-۴- نکته.....	۱۵

۱۵	منابع
۱۷	فصل سوم - مهارکننده آلفا - آمیلاز
۱۷	۱-۳-۱ - مقدمه
۱۷	۱-۳-۱-۱ - ماهیت، مکانیسم عمل و اثرات بیولوژیک
۱۸	۱-۳-۲ - منابع مهارکننده ی آلفا - آمیلاز
۱۹	۱-۳-۳ - قاعده کلی اندازه گیری
۱۹	۱-۳-۳-۱ - روش مورد نیاز
۲۰	۱-۳-۳-۲ - روش انجام آزمایش
۲۰	۱-۳-۳-۳ - تهیه محلول کالبراسیون مالتوز
۲۱	۱-۳-۳-۴ - تعیین میزان فعالیت آنزیم آلفا آمیلاز
۲۲	۱-۳-۳-۵ - تهیه محلول برای فعالیت مهارکننده آلفا آمیلاز
۲۳	۱-۳-۴ - نکته ها
۲۳	منابع
۲۵	فصل چهارم - فیتوهماگلو تین
۲۶	۱-۴-۱ - مقدمه
۲۶	۱-۴-۱-۱ - ماهیت، مکانیسم عمل و اثرات بیولوژیک
۲۷	۱-۴-۲ - منابع لکتین
۲۸	۱-۴-۳ - قاعده کلی اندازه گیری
۲۸	۱-۴-۳-۱ - مواد مورد نیاز
۲۸	۱-۴-۳-۲ - روش مشاهده ای (بصری)
۲۹	۱-۴-۳-۳ - روش اسپکتروفتومتری
۳۰	۱-۴-۳-۴ - روش انجام آزمایش
۳۰	۱-۴-۳-۵ - روش مشاهده ای (بصری)
۳۰	۱-۴-۳-۶ - تهیه عصاره
۳۰	۱-۴-۳-۷ - تعیین لکتین
۳۱	۱-۴-۳-۸ - روش اسپکتروفتومتری
۳۱	۱-۴-۳-۹ - تهیه سوسپانسیون استاندارد گلبول قرمز تریپسینه شده
۳۲	۱-۴-۳-۱۰ - تهیه عصاره

۳۲	۴-۳-۲-۳- تعیین فعالیت هماگلو تیناسیون.....
۳۳	۴-۳-۳-۴- محاسبه فعالیت هماگلو تیناسیون.....
۳۴	۴-۴- نکته‌ها.....
۳۵	منابع.....
۳۷	فصل پنجم - اسید فیتیک.....
۳۷	۵-۱- مقدمه.....
۳۷	۵-۱-۱- ماهیت، مکانیسم عمل و اثرهای بیولوژیک.....
۳۸	۵-۱-۲- منابع اسید فیتیک.....
۳۹	۵-۱-۳- اصول آزمایش.....
۳۹	۵-۲- مواد مورد نیاز.....
۳۹	۵-۲-۱- روش اول، بر اساس رسوب فیتات (ویلر و فرل، ۱۹۷۱).....
۴۰	۵-۲-۲- روش دوم، بر اساس اکتشاف معرف وید (وین تراب و لپتوا، ۱۹۸).....
۴۱	۵-۳- روش‌های انجام آزمایش.....
۴۱	۵-۳-۱- روش اول.....
۴۳	۵-۳-۱-۱- تهیه منحنی کالبراسیون نیترات آمونیوم سه ظرفیتی $[Fe(NO_3)_3]$
۴۳	۵-۳-۱-۲- محاسبه.....
۴۳	۵-۳-۲- روش دوم.....
۴۴	۵-۳-۱-۲- تهیه منحنی کالبراسیون.....
۴۵	۵-۴- نکته‌ها.....
۴۵	منابع.....
۴۷	فصل ششم - اسید اگزالیک.....
۴۷	۶-۱- مقدمه.....
۴۷	۶-۱-۱- ماهیت، مکانیسم عمل و اثرهای بیولوژیک.....
۴۸	۶-۱-۲- منابع اگزالات.....
۴۹	۶-۱-۳- اصول آزمایش.....
۵۰	۶-۲- مواد مورد نیاز.....
۵۲	۶-۳- روش انجام آزمایش.....
۵۲	۶-۳-۱- آماده‌سازی عصاره.....

۵۳	۶-۳-۲- تعیین اگزالات
۵۴	۶-۴- نکته
۵۵	منابع
۵۷	فصل هفتم- نیترات و نیتريت
۵۷	۷-۱- مقدمه
۵۷	۷-۱-۱- ماهیت، مکانیسم عمل و اثرهای بیولوژیکی
۵۸	۷-۱-۲- منابع نیترات
۵۸	۷-۱-۳- اصول آزمایش
۵۹	۷-۲- مواد، مواد، بيار
۶۲	۷-۳- روش انجام آزمایش
۶۲	۷-۳-۱- تهیه محلول استاندارد برای نیتريت سدیم
۶۲	۷-۳-۲- آماده‌سازی محلول احمر اصلاح شده‌ی جانز
۶۳	۷-۳-۳- آزمون نمودن راندمان بسن ادمیوم
۶۴	۷-۳-۴- آماده‌سازی عصاره
۶۵	۷-۳-۵- تعیین نیتريت
۶۶	۷-۳-۶- تعیین نیترات به علاوه نیتريت
۶۶	۷-۳-۷- آماده‌سازی معرف بلانک (شاهد)
۶۶	۷-۳-۸- محاسبات
۶۸	۷-۴- نکته‌ها
۶۹	منابع
	فصل هشتم- ال- میموزین (β -(3-Hydroxy-4-Pyridone-1-yl)-L-Alanine)
۷۱	۸-۱- مقدمه
۷۱	۸-۱-۱- ماهیت، مکانیسم عمل و اثرهای بیولوژیک
۷۴	۸-۱-۲- منابع میموزین
۷۴	۸-۱-۳- اصول آزمایش
۷۴	۸-۲- مواد مورد نیاز
۷۴	۸-۲-۱- روش آزمایش ۱: بر اساس کلرید فریک

۲-۲-۸- روش آزمایش ۲: بر اساس پی- نیتروآنیلین.....	۷۵
۳-۸- روش‌های انجام آزمایش.....	۷۷
۱-۳-۸- روش اول: بر اساس کلرید فریک.....	۷۷
۱-۱-۳-۸- آماده‌سازی عصاره.....	۷۷
۲-۱-۳-۸- صاف نمودن عصاره.....	۷۷
۳-۱-۳-۸- اندازه‌گیری مقدار میموزین.....	۷۸
۴-۱-۳-۸- تشکیل منحنی کالیبراسیون.....	۷۸
۲-۳-۸- روش دوم آزمایش: بر اساس پی- نیتروآنیلین.....	۷۹
۱-۲-۳-۸- تشکیل منحنی کالیبراسیون.....	۷۹
۲-۲-۳-۸- آماده‌سازی عصاره.....	۷۹
۳-۲-۳-۸- جداسازی بهوسیله کاغذ کروماتوگرافی و برآورد میموزین.....	۸۰
۴-۸- نکته.....	۸۱
منابع.....	۸۲
فصل نهم- کاناوانین.....	۸۳
۱-۹- مقدمه.....	۸۳
۱-۱-۹- ماهیت، مکانیسم عمل و اثرهای بیورژیک.....	۸۳
۲-۱-۹- منبع کاناوانین.....	۸۴
۳-۱-۹- اصول آزمایش.....	۸۴
۲-۹- مواد مورد نیاز برای آزمایش.....	۸۵
۳-۹- روش انجام آزمایش.....	۸۶
۱-۳-۹- آماده‌سازی عصاره‌ها.....	۸۶
۲-۳-۹- تشکیل منحنی کالیبراسیون.....	۸۷
۳-۳-۹- تعیین مقدار کاناوانین.....	۸۷
منابع.....	۸۸
فصل دهم- ال- ۴،۳- دی‌هیدروکسی فنیل آلانین L-DOPA.....	۸۹
۱-۱۰- مقدمه.....	۸۹
۱-۱-۱۰- ماهیت، مکانیسم عمل و اثرهای بیولوژیک.....	۸۹
۲-۱-۱۰- منابع.....	۹۰

۹۰	۱۰-۱-۳- اصول آزمایش
۹۱	۱۰-۱-۲- مواد و روش ها
۹۱	۱۰-۲-۱- آماده سازی عصاره
۹۱	۱۰-۲-۲- دستگاه HPLC
۹۲	۱۰-۲-۳- آماده سازی استاندارد L-DOPA
۹۲	۱۰-۲-۴- شرایط کروماتوگرافی
۹۲	۱۰-۲-۱- حلال ها، سیستم گرادینت، و جداسازی L-DOPA
۹۳	۱۰-۲-۲- نکته
۹۳	منابع
۹۵	فصل یازدهم - گلوکوسینولات
۹۵	۱۱-۱- مقدمه
۹۵	۱۱-۱-۱- ماهیت، مکانیسم عمل و اثرهای بیولوژیک
۹۸	۱۱-۱-۳- اصول آزمایش
۹۸	۱۱-۲-۱- مواد مورد نیاز
۹۸	۱۱-۲-۱- روش اول بر اساس احیاء فری سید
۱۰۰	۱۱-۲-۲- روش دوم: بر اساس هیدرولیز گلوکوسینولات به گلوکز
۱۰۱	۱۱-۳-۱- روش های آزمایش
۱۰۱	۱۱-۳-۱- روش ۱: بر اساس احیاء فری سیانید
۱۰۱	۱۱-۳-۱-۱- آماده سازی عصاره
۱۰۱	۱۱-۳-۱-۲- تعیین گلوکوسینولات
۱۰۲	۱۱-۳-۱-۳- تهیه منحنی کالیبراسیون
۱۰۳	۱۱-۳-۲- روش ۲: بر اساس هیدرولیز گلوکز
۱۰۳	۱۱-۳-۲-۱- آماده سازی عصاره
۱۰۳	۱۱-۳-۲-۲- آماده سازی مینی ستون DEAE-Sephadex A-25
۱۰۴	۱۱-۳-۲-۳- هیدرولیز آنزیمی گلوکوسینولات ها
۱۰۵	۱۱-۳-۲-۴- تعیین گلوکز
۱۰۵	۱۱-۳-۲-۵- محاسبات
۱۰۵	۱۱-۴-۱- نکته