بررسی تأثیر حلال‌های مختلف بر میزان فنل و فلاونوئید کل و فعالیت آنتی‌اکسیدانی اندام‌های مختلف گیاه *Momordica charantia* L. در منطقه سیستان

فروغ فیروزکوهی[۱]، صدیقه اسمعیل‌زاده بهابادی[۱*]، زینب محکمی[۲]، فروغ یوسف‌زائی[۳]

[۱]گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه زابل، زابل، ایران

[۲]مربی پژوهشکده کشاورزی، دانشگاه زابل، زابل، ایران

[۳]دانش‌آموخته فیزیولوژی گیاهی، گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران

تاریخ دریافت: ۱۳۹٦/۰۵/۱٤ ؛ تاریخ پذیرش: ۱۳۹٦/۱۰/۲٦

چکیده

آنتی‌اکسیدان‌ها ترکیب‌هایی هستند که از بدن در برابر آسیب‌های ناشی از فعالیت رادیکال‌های آزاد محافظت می‌کنند. ترکیب‌های فنلی متابولیت‌های ثانوی گیاهی هستند که توان آنتی‌اکسیدانی بالایی دارند. کارلا با نام علمی *Momordica charantia* L. متعلق به تیره کدوئیان (Cucurbitaceae)، دارای ترکیب‌های فنلی است که به‌عنوان آنتی‌اکسیدان عمل می‌کنند. پژوهش حاضر به منظور بررسی اثر حلال‌های مختلف (متانول ۷۰ درصد، استون، اتیل استات، کلروفرم و هگزان)بر محتوای فنل و فلاونوئید کل و فعالیت آنتی‌اکسیدانی اندام‌های مختلف گیاه کارلا در منطقه سیستان در سال ۹۵ انجام شد. عصاره‌گیری از اندام‌ها با استفاده از حلال‌های مختلف و به روش خیساندن انجام گرفت. میزان فنل و فلاونویید کل به‌ترتیب با استفاده از روش‌های فولین- سیوکالتو و روش رنگ سنجی آلومینیوم کلرید اندازه‌گیری گردید. فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌ها با استفاده از روش‌های دی فنیل پیکریل هیدازیل (DPPH)، قدرت آنتی‌اکسیدانی احیای آهن (FRAP) و پراکسید هیدروژن (H_2O_2) اندازه‌گیری شد. بیشترین میزان فنل در عصاره متانولی میوه و برگ (به‌ترتیب ۱/۳۳±۳۶/۹۶ و ۳/۰۳±۳۳/۰۱ میلی گرم گالیک اسید به وزن خشک) و کمترین میزان در عصاره های کلروفرمی، اتیل استاتی و هگزانی به میزان کمتر از ۱ میلی گرم بر وزن خشک گزارش گردید. نتایج نشان داد بیشترین میزان محتوای فلاونوئیدی مربوط به عصاره استونی و متانولی برگ (به‌ترتیب ۱/۹۷±۱۰/۹۵ و ۲/۲±۱۰/۰۳ میلی‌گرم کوئرستین به گرم وزن خشک) بود. عصاره متانولی میوه در هر سه روش، فعالیت آنتی‌اکسیدانی بالاتری نسبت به سایر عصاره‌ها نشان داد. بر اساس نتایج این تحقیق، میوه کارلا به‌عنوان یک منبع مفید از آنتی اکسیدان‌های طبیعی پیشنهاد می‌شود.

واژه‌های کلیدی: آنتی‌اکسیدان، فنل و فلاونوئید کل، فلاونوئید حلال، سیستان، کارلا.

*نویسنده مسئول: esmaeilzadeh@uoz.ac.ir

مقدمه

آنتی‌اکسیدان‌ها ترکیب‌هایی هستند که به عنوان خنثی کننده رادیکال‌های آزاد عمل نموده و از بدن در مقابل آسیب‌های ناشی از استرس اکسیداتیو محافظت می‌کنند (Parsons, 2017). در شرایط طبیعی اغلب بین تولید رادیکال‌های آزاد از یک سو و سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی از سوی دیگر حالت تعادل وجود دارد که در صورت تولید بیش از حد رادیکال‌های آزاد و یا ضعف سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی تعادل فوق مختل و حالت استرس اکسیداتیو ایجاد می‌شود (Hajian, 2016). گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) در بسیاری از موجودات زنده برای فرآیندهای متابولیکی طبیعی سلول مثل فاگوسیتوز، کاهش التهاب، تقسیم سلولی و سنتزکلاژن موردنیاز است. با این حال تولید بیش از حد ROS منجر به آسیب‌های غیر قابل برگشت و دائمی به مولکول‌های زیستی شامل پروتئین‌ها، چربی‌ها و DNA می‌شود (McMurray et al., 2016). این صدمات باعث اختلالات مختلف بالینی از جمله پیری، بیماری‌های قلبی- عروقی، سکته مغزی و سرطان می‌گردند (Kumar et al., 2010). آنتی‌اکسیدان‌ها به دو دسته سنتزی و طبیعی تقسیم‌بندی می‌شوند. اثرات سمی آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی تمایل به استفاده ازآنتی‌اکسیدان‌های طبیعی را بیشتر کرده است (Lin et al., 2011). ترکیب‌های فنلی مشتق از گیاهان شامل فنولیک اسید، فلاونوئید و پروتوآنتوسیانیدین از مهم‌ترین آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی هستند که دارای پتانسیل قوی برای پاکسازی رادیکال‌های آزاد می‌باشند و خطر ابتلا به بیماری‌های ناشی از استرس اکسیداتیو از جمله سرطان، بیماری‌های قلبی- عروقی، التهاب مزمن و اختلالات متابولیکی را کاهش می‌دهند. فعالیت آنتی‌اکسیدانی ترکیب‌های فنلی به طور عمده ناشی از ساختار شیمیایی خاص آن‌هاست که به علت دارا بودن گروه‌های هیدروکسیل موجود در حلقه آروماتیک، از طریق اهدای الکترون یا اتم هیدروژن باعث مهار رادیکال‌های آزاد می‌شوند (Zhang and Tsao, 2016). گیاه چند ساله کارلا با نام علمی *Momordica charantia* Linn. از خانواده Cucurbitaceae می‌باشد. معمولاً به‌عنوان خربزه تلخ یا کدوتلخ شناخته می‌شود. نام لاتین مومورديکا به معنای گزش (اشاره به لبه‌های ناهمواربرگ دارد) می‌باشد. ارتفاع این گیاه به ۶ متر و یا بیشتر می‌رسد. دارای میوه‌ای دوکی شکل با ۱۰-۶ سانتی متر طول که پوستی زگیل‌دار دارد و محتوی دانه‌هایی به طول ۱۳- ۸ میلی متر است. میوه نارس به رنگ سفید یا سبز، دارای مزه‌ای تلخ و دانه‌هایی به رنگ سفید می‌باشد. در نهایت میوه وقتی می‌رسد به رنگ زرد و نارنجی در می‌آید ودارای دانه‌های قرمز بسیارشیرین است (Kumar et al., 2010). منشا این گیاه چین، هند و پاکستان است. در مناطق گرمسیری و نیمه گرمسیری از جمله آمازون، شرق آفریقا، آسیا، هند، آمریکا و جزایر دریای کارائیب رشد می‌کند. اجزای اصلی گیاه کارلا شامل تری ترپن، پروتئین، استروئید، آلکالوئید، ترکیب‌های معدنی، لیپید و ترکیب‌های فنلی است. در طب سنتی از دانه‌ها، میوه، برگ و ریشه این گیاه برای بهبود زخم و التهاب، عفونت میکروبی، کاهش تب و فشارخون و...استفاده می‌شده است (Ahmad et al., 2016). امروزه به دلیل خاصیت ضددیابتی و به طور بالقوه به دلیل دارا بودن خاصیت آنتی‌اکسیدانی در پیشگیری از انواع بیماری‌ها از جمله سرطان مورد استفاده قرار می‌گیرد (Perumal et al., 2015). بررسی اثر عصاره کارلا به‌عنوان یک عامل ضدسرطان در شرایط آزمایشگاهی نشان داده است که می‌تواند باعث القاء آپوپتوز و کاهش رشد در سلول‌های سرطانی شود (Shobha et al., 2015). محققان گزارش کردند که فعالیت آنتی‌اکسیدانی این گیاه به دلیل حضور ترکیب‌های فنلی و فلاونوئیدی آن است (Ghous et al., 2015; Fongmoon et al., 2013; Hamissou et al., 2013). این ترکیب‌ها دارای

ظرفیت مهار رادیکال‌های آزاد هستند و به عنوان آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی به شمار می‌روند (Divya et al., 2013). طی تحقیقی هوراکس و همکاران (Horax et al., 2010) گزارش کردند که اسیدهای فنلی مهم گیاه کارلا شامل گالیک اسید، جنتیسیک اسید، کاتچین، کلروژنیک اسید و اپی کاتچین است. در تحقیقی دیگر فریدریانی و همکاران (Fridriany et al., 2015) با استفاده از روش DPPH و FRAP فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره برگ، میوه و ساقه گیاه کارلای جمع آوری شده از مزارع غرب اندونزی را مورد ارزیابی قرار دادند. نتایج نشان داد که حضور ترکیب‌های فنلی در تمام اندام‌های گیاه کارلا عامل اصلی ظرفیت آنتی‌اکسیدانی آن است. آنان اظهار داشتند که از تمام اندام‌های گیاه کارلا می‌توان به عنوان منابع آنتی‌اکسیدانی استفاده نمود. ون و لیو (Wen and Liu, 2007) طی تحقیقی اثر چندین حلال مختلف (اتانول، متانول، استون، هگزان) را در میزان محتوای فنل و فلاونوئید گیاه کارلای تهیه شده از چین را مورد ارزیابی قرار دادند. آنها گزارش کردند که بهترین حلال برای استخراج ترکیب‌های فنلی حلال اتانول و پس ازآن متانول، استون و هگزان بود. آنها بیان کردند که تفاوت در میزان محتوای فنل و فلاونوئیدی عصاره‌ها به دلیل تفاوت در قطبیت حلال‌هاست. بهینه‌سازی روش استخراج و حلال‌های مورد استفاده که باعث جداسازی نوع خاصی از ترکیبات شیمیایی می گردد یک عامل تعیین کننده و تأثیرگذار در اندازه‌گیری فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌های گیاهی است. لذا در تحقیق حاضر از حلال‌های مختلف جهت عصاره‌گیری و اندازه‌گیری ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی و خاصیت آنتی‌اکسیدانی استفاده شد. همچنین به منظور معرفی بهترین اندام گیاه کارلا به عنوان آنتی‌اکسیدان طبیعی، فعالیت آنتی‌اکسیدانی در اندام‌های برگ، ریشه و میوه بررسی شد.

مواد و روش‌ها

تهیه نمونه گیاهی: بذرهای کارلا با منشا پاکستانی در مزرعه پژوهشی دانشگاه زابل واقع در پژوهشکده کشاورزی (مجتمع بقیه الله الاعظم) با موقعیت جغرافیایی ۶۱ درجه و ۲۹ دقیقه طول شرقی و عرض جغرافیایی ۳۱ درجه و ۱۳ دقیقه شمالی و در ارتفاع ۴۹۸/۲ متر از سطح دریا کشت گردید. بافت خاک مورد آزمایش شنی لومی، با pH : ۷/۳ و EC: dsm^{-1} ۱/۸۵بود. فرآیند پیش جوانه‌زنی بذرها قبل از کشت، تحت تیمار خیساندن درون دستمال مرطوب صورت گرفت تا ریشه‌چه ظاهر گردد و در نهایت بذرها جوانه‌دار شده و به روش جوی و پشته با فواصل کشت ۶۰ x ۹۰ سانتی‌متر در فروردین ماه ۱۳۹۵ کشت گردید. در طول دوره رشد آبیاری به صورت منظم و در مرحله ۵۰ درصد ظرفیت زراعی انجام شد. عملیات برداشت نمونه‌ها در پایان فصل رشد (شهریور ماه) و از سه اندام میوه در مرحله بلوغ فیزیولوژیک (سبز رنگ)، برگ‌های بالغ و ریشه صورت گرفت. اندام‌ها پس از شستشو و خرد شدن به اجزاء کوچکتر، درون آون با دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد خشک گردیدند (Mobasri Moghadam and Heidari, 2012). پس از خشک کردن هرکدام از اندام‌ها به طور جداگانه توسط آسیاب به صورت پودری کاملاً یکنواخت در آمده و آماده عصاره‌گیری شد.

تهیه عصاره با استفاده از حلال‌های مختلف: امروزه روش‌های متعددی برای عصاره‌گیری از گیاه به کار گرفته می‌شود که از بین آن‌ها روش خیساندن برای عصاره‌گیری انتخاب شد. ۰/۲ گرم از پودر قسمت‌های مختلف گیاه (برگ، میوه، ریشه) با ۱۰میلی لیتر از حلال‌های مختلف (متانول ۷۰٪، استون، اتیل استات، هگزان، کلروفرم) مخلوط شده سپس با پارافیلم درب بشر را بسته و به منظور استخراج بهتر سوسپانسیون حاصل درون بشر به مدت ۲۴ ساعت روی شیکر قرار گرفت. سرعت همزدن ۱۲۰دور در دقیقه تنظیم

گردید. بعد از ۴۸ ساعت قرار گرفتن در دمای اتاق، فیلتراسیون عصاره‌های حاصل با استفاده از قیف شیشه‌ای و کاغذ صافی واتمن شماره یک انجام شد و تا زمان انجام ازمایش در یخچال با دمای ۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد.

تعیین میزان محتوای فنلی کل: مقادیر ترکیب‌های فنلی در نمونه‌های عصاره گیاهی با اندکی تغییر توسط روش فولین سیکالتو اندازه‌گیری گردید و نتایج بر حسب میلی‌گرم گالیک اسید در گرم عصاره بیان شد. بر طبق این روش مقدار ۲۰۰ میکرولیتر از عصاره‌های گیاهی (با غلظت ۱ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر)، در لوله‌های آزمایش ریخته شد. ۴۰۰ میکرولیتر معرف فولین سیوکالتو (رقیق شده با آب مقطر به نسبت ۱ به ۱۰) و ۴۰۰ میکرولیتر کربنات‌سدیم ۷ درصد به محتوای لوله‌های آزمایش اضافه و مخلوط شد. بعد از ۳۰ دقیقه نگهداری در دمای محیط آزمایشگاه، جذب نوری آن توسط اسپکتروفتومتر در طول موج ۷۶۵ نانومتر قرائت شد. در نهایت با قرار دادن مقدار جذب عصاره در معادله خطی مربوط به منحنی استاندارد گالیک اسید، مقدار فنل کل موجود در عصاره محاسبه شد. داده‌ها بر اساس معادل میلی‌گرم گالیک‌اسید بر گرم عصاره بیان گردید (McDonald et al., 2001).

تعیین میزان محتوای فلاونوئیدی کل: محتوای فلاونوئید بر اساس روش رنگ سنجی آلومینیوم کلرید اندازه‌گیری شد. بر طبق این روش در۵۰۰ میکرولیتر از محلول عصاره با ۱/۵ میلی‌لیتر متانول ۸۰ درصد، ۱۰۰ میکرولیتر محلول آلومنیوم کلرید (۱۰ درصد)،۱۰۰میکرولیتر محلول استات پتاسیم یک مولار و ۲/۸ میلی‌لیتر آب مقطر مخلوط گردید. بعد از نگهداری نمونه‌ها در دمای اتاق به‌مدت ۴۰ دقیقه، جذب مخلوط در ۴۱۵ نانومتر نسبت به بلانک اندازه‌گیری شد. از کوئرستین به منظور رسم منحنی استاندارد استفاده شد و نتایج بر حسب میلی‌گرم کوئرستین در هر گرم عصاره بیان شد (Chang et al., 2002).

تعیین فعالیت آنتی‌اکسیدانی به روش دی فنیل پیکریل هیدرازیل (DPPH): اندازه‌گیری میزان مهار رادیکال‌های آزاد DPPH یکی از روش‌های معتبر، دقیق، آسان و مقرون به صرفه با قابلیت تکرارپذیری بالا می‌باشد که در بررسی فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌های گیاهی در شرایط آزمایشگاهی مورد استفاده قرار می‌گیرد (Sing and Sing, 2008). در این روش برای مقایسه اثر آنتی‌اکسیدانی عصاره‌های تهیه شده محلول‌هایی با غلظت‌های مختلف (۰/۱، ۰/۴، ۰/۸، ۱/۲ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) از عصاره‌ها در حلال‌های مذکور آماده شدند. ۲۵۰ میکرولیتر از محلول متانولی DPPH به۷۵۰ میکرولیتر از عصاره افزوده و مخلوط حاصله به شدت هم زده شد. لوله‌های آزمایش به‌مدت ۳۰ دقیقه در محل تاریک قرار گرفتند. بعد از این مدت میزان جذب در طول موج ۵۱۷ نانومتر با دستگاه اسپکتروفتومتر خوانده شد. لازم به ذکر است که در نمونه کنترل، عصاره با ۷۵۰ میکرولیتر متانول جایگزین شد. در نهایت درصد مهار رادیکال‌های DPPH توسط عصاره با فرمول زیر محاسبه گردید:

درصد مهار رادیکال آزاد =(Ac-As)/Ac×100

که در این رابطه Ac و As به‌ترتیب جذب کنترل و جذب نمونه می‌باشند (Bondet et al., 1997).

تعیین فعالیت آنتی‌اکسیدانی به روش بررسی قدرت احیاء کنندگی آهن (FRAP): فعالیت آنتی‌اکسیدانی احیاء کنندگی آهن بر اساس روش بنزی و استرین (Benzie and strain, 1990) انجام شد. طبق این روش معرف FRAP ساخته شد که شامل محلول ۲ و ۴ و ۶ تری پیریدیل تریازین (TPTZ) ۱۰ میلی‌مولار در کلریدریک اسید ۴۰ میلی‌مولار و $FeCl_3.6H_2O$، ۲۰ میلی‌مولار و بافر استات ۳۰۰ میلی مولار با ۳/۶PH به نسبت (۱۰:۱:۱) است. به ۱۰۰ میکرولیتر از

عصاره‌ی بدست آمده ۳ میلی‌لیتر معرف FRAP اضافه گردید. مخلوط حاصل به مدت ۱۰ دقیقه در دمای ۳۷°C انکوبه شد. جذب محلول‌ها در ۵۹۳ نانومتر نسبت به بلانک (شامل ۱۰۰میکرولیتر آب مقطر به همراه ۳ میلی‌لیتر معرف FRAP)، خوانده شد. برای رسم منحنی از آمونیوم فروس سولفات استفاده شد.

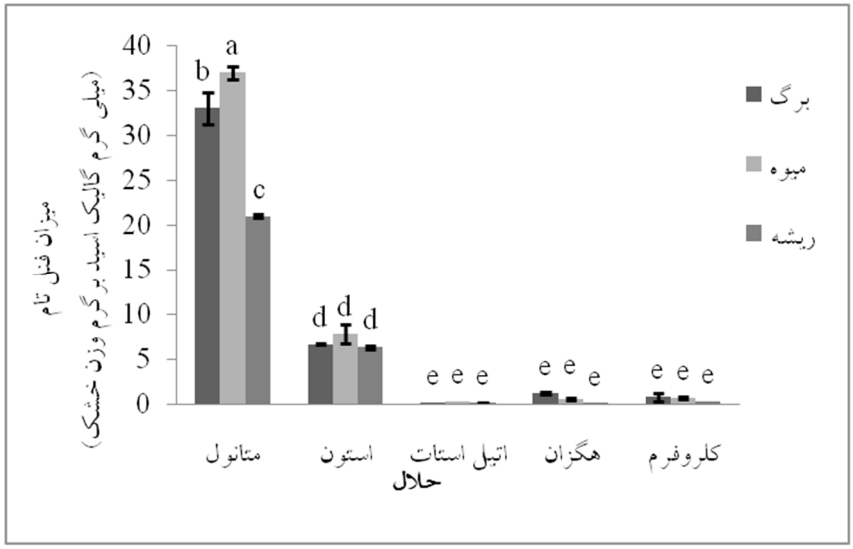
اندازه‌گیری فعالیت جاروب کنندگی رادیکال پراکسید هیدروژن: برای مشخص کردن قدرت مهار رادیکال پراکسید هیدروژن توسط عصاره‌های گیاه مورد نظر از روش راچ و همکاران (Ruch et al., 1989) با کمی تغییر استفاده شد. بدین منظور ۱۰۰ میکرولیتر از عصاره در ۳/۴ میلی‌لیتر محلول بافر فسفات (PBS) ۰/۱ مولار (pH:۷/۴) حل شد. سپس با ۶۰۰ میکرولیتر از محلول ۳/۴ میلی‌مولار پراکسید هیدروژن (تهیه شده در همان بافر) مخلوط شد. در نهایت مهار رادیکال پراکسید هیدروژن توسط خواندن میزان جذب در ۲۳۰ نانومتر از مخلوط‌های واکنش اندازه‌گیری شد. قدرت مهار پراکسید هیدروژن طبق رابطه زیر محاسبه گردید.

درصد مهار فعالیت پراکسید هیدروژن $= (A_{blank} - A_{sample}) / A_{blank} \times 100$ ٪

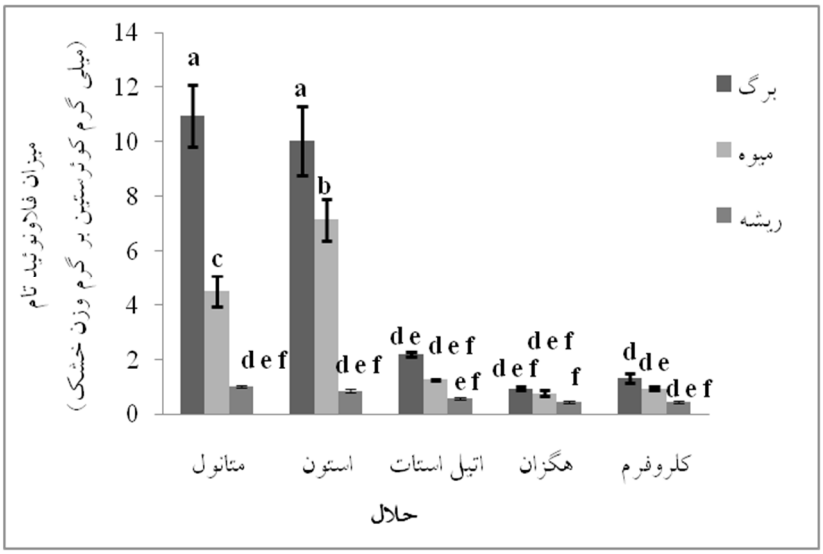
آنالیز آماری: اختلاف میانگین‌ها به کمک روش تجزیه و تحلیل واریانس ANOVA و آزمون دانکن در سطح احتمال ۵ درصد به کمک نرم افزار SPSS و Excel انجام شد. اطلاعات به دست آمده به صورت میانگین ± انحراف معیار (Mean ±SD) بیان شد. تمام آزمایش‌ها برای هر نمونه گیاهی ۳ بار تکرار شد.

نتایج

تأثیر نوع حلال بر محتوای فنلی کل: نتایج حاصل از بررسی و مقایسه اثر حلال‌های مختلف بر محتوای ترکیب‌های فنلی کل عصاره‌های برگ، میوه و ریشه گیاه کارلا در شکل ۱ نشان داده شده است. تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها حاکی از معنادار بودن اثر حلال‌های مختلف بر میزان ترکیب‌های فنلی کل است ($p\leq$۰/۰۵). به‌طورکلی بیشترین میزان فنل مربوط به عصاره متانولی میوه و برگ (به‌ترتیب ۱/۳۳±۳۶/۹۶ و ۳/۰۳±۳۳/۰۱ میلی‌گرم گالیک اسید به وزن خشک) بود. کمترین میزان فنل در عصاره‌های کلروفرمی، اتیل استات و هگزان به میزان کمتر از ۱ میلی‌گرم بر وزن خشک مشاهده شد.

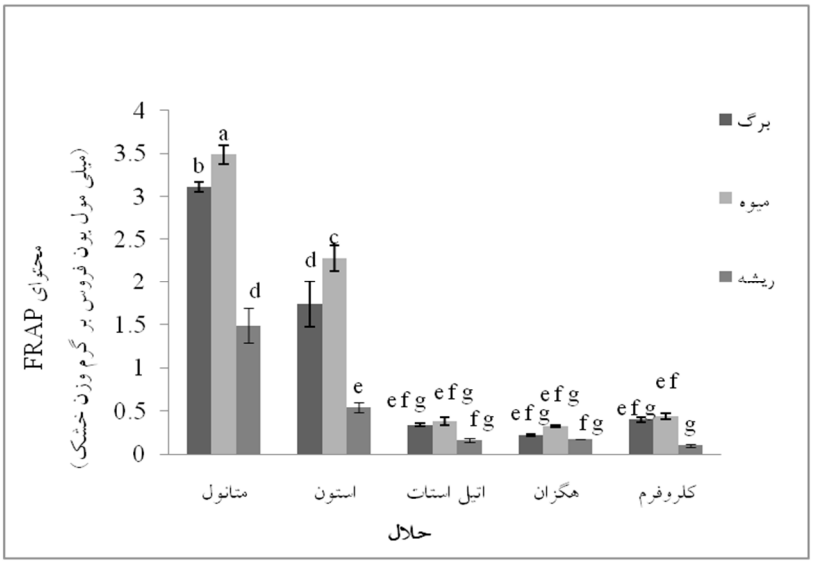


شکل ۱: اثر حلال‌های مختلف بر محتوای فنلی کل گیاه کارلا. میانگین‌های دارای حرف مشترک از نظر آماری در سطح ($p\leq$۰/۰۵) تفاوت معنی‌دار ندارند.

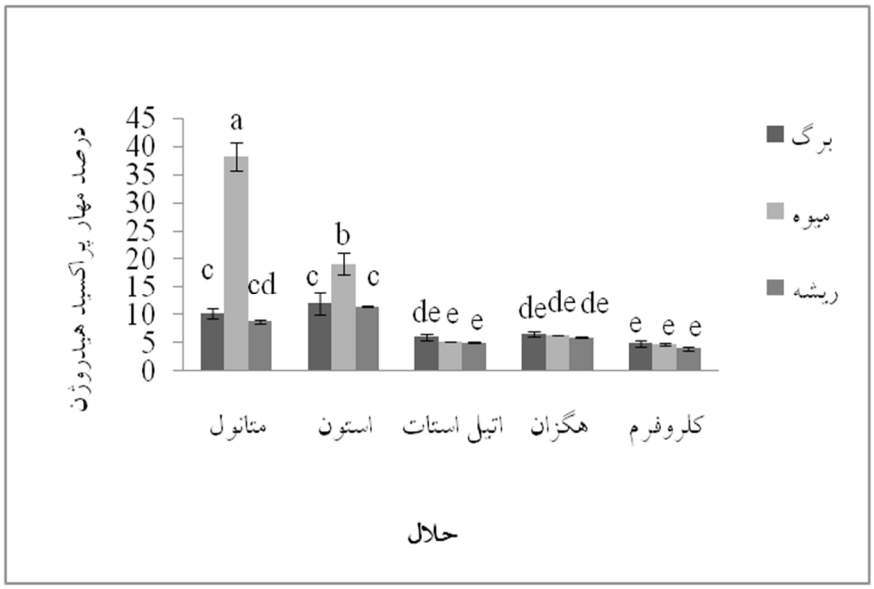


شکل ۲: اثر حلال‌های مختلف بر محتوای فلاونوئیدی کل گیاه کارلا. میانگین‌های دارای حرف مشترک از نظر آماری در سطح (p≤۰/۰۵) تفاوت معنی‌دار ندارند.

تأثیر نوع حلال بر محتوای فلاونوئیدی کل: نتایج حاصل از بررسی و مقایسه اثر حلال‌های مختلف بر محتوای فلاونوئیدی کل عصاره‌های برگ، میوه و ریشه گیاه کارلا در شکل۲ ارائه شده است. تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها نشان داد که اثر حلال‌های مختلف بر میزان محتوای فلاونوئیدی کل معنادار است (p≤۰/۰۵). به‌طور کلی بیشترین میزان محتوای فلاونوئیدی مربوط به عصاره متانولی و استونی برگ (به‌ترتیب ۱/۹۷± ۱۰/۹۵و ۲/۲ ± ۱۰/۰۳ میلی‌گرم کوئرستین به گرم وزن خشک) بود و کمترین میزان مربوط به عصاره هگزانی و کلروفرمی ریشه (به‌ترتیب ۰/۰۶± ۰/۴۳ و ۰/۰۵ ±۰/۴۴ میلی‌گرم کوئرستین به گرم وزن خشک) بود.



شکل۳: مقایسه اثر نوع حلال بر فعالیت آنتی‌اکسیدانی گیاه کارلا به روش قدرت احیاءکنندگی آهن. میانگین‌های دارای حرف مشترک از نظر آماری در سطح (p≤۰/۰۵) تفاوت معنی‌دار ندارند.



شکل ٤: مقایسه اثر نوع حلال بر فعالیت آنتی‌اکسیدانی گیاه کارلا به روش پراکسید هیدروژن.
میانگین‌های دارای حرف مشترک از نظر آماری در سطح (p≤۰/۰۵) تفاوت معنی‌دار ندارند.

تأثیر نوع حلال بر فعالیت آنتی‌اکسیدانی به روش مهار رادیکال DPPH: نتایج حاصل از بررسی اثر حلال‌های مختلف بر فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌های برگ، میوه و ریشه گیاه کارلا در چهار غلظت مختلف (۰/۱، ۰/۴، ۰/۸، ۱/۲ میکروگرم بر میلی‌لیتر) با روش مهار رادیکال DPPH جدول ۱ نشان داده شده است. تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها نشان داد اثر حلال‌های مختلف بر میزان فعالیت عصاره‌ها بر بازدارندگی فعالیت رادیکال DPPH معنی دار است (p≤۰/۰۵). به صورتی که بالاترین فعالیت بازدارندگی مربوط به عصاره متانولی و استونی میوه (به ترتیب ۹۶/۲۴ و ۸۱/۵۴ درصد) در غلظت ۱/۲بود و کمترین فعالیت بازدارندگی مربوط به عصاره کلروفرمی ریشه (۰/۱۰±۱/۳۵) در غلظت ۰/۱ بود به طور کلی عصاره متانولی در پاکسازی DPPH بیشترین تأثیر را داشت و با افزایش غلظت فعالیت آنتی‌اکسیدانی نیز افزایش یافته است. با توجه به نتایج، نوع و غلظت عصاره‌ها تاثیر معنا داری بر میزان مهار رادیکال‌های آزاد داشتند.

تأثیر نوع حلال بر فعالیت آنتی‌اکسیدانی به روش قدرت احیاءکنندگی آهن (FRAP): نتایج حاصل از بررسی و مقایسه اثر حلال‌های مختلف بر فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌های برگ، میوه و ریشه گیاه کارلا با روش FRAP در شکل۳ نشان داده شده است. تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها نشان داد اثر حلال‌های مختلف بر میزان فعالیت عصاره‌ها بر فعالیت آنتی‌اکسیدانی به روش FRAP معنی دار بود (p≤۰/۰۵). نتایج نشان داد که بیشترین فعالیت احیاکنندگی مربوط به عصاره متانولی و استونی میوه (به ترتیب ۳/۴۹ و ۲/۲۸ میلی مول آهن (II) بر گرم وزن خشک) بود. به طور کلی عصاره متانولی و سپس استونی فعالیت آنتی‌اکسیدانی بالاتری نسبت به حلال‌های اتیل‌استات، هگزان و کلروفرم داشتند.

جدول ۱: اثر نوع حلال بر فعالیت آنتی‌اکسیدانی گیاه کارلا با روش مهار رادیکال DPPH

نمونه گیاهی	غلظت mg /ml	متانول ۷۰٪	استون	اتیل استات	هگزان	کلروفرم
برگ	۰/۱	۵۴/۶۹±۴/۰۵d	۳۶/۰۹ ±۰/۴۱g	۱۹/۰۱±۰/۸۳j	۱۵/۲۷±۱/۱۶lk	۷/۵۳±۰/۰۶m
	۰/۴	۷۶/۳۲±۰/۶۳b	۴۵/۶۳±۰/۶۲e	۲۴/۳۲±۰/۷۱i	۲۷/۴۲±۰/۲۸ih	۷/۶۹±۰/۱۲m
	۰/۸	۷۸/۰۹±۰/۴۷b	۵۷/۶۹±۱/۲۷d	۳۰/۱۲±۰/۱۸h	۴۰/۸۳±۰/۸۰f	۱۲/۰۶±۰/۷۲l
	۱/۲	۸۲/۶۲±۰/۷۲a	۶۹/۲۱±۱/۴۱c	۳۵/۴۳±۰/۴۴g	۴۵/۵۱±۰/۵۴e	۱۷/۲۸±۰/۰۵kj
میوه	۰/۱	۶۴/۴۱±۳/۱۹d	۴۳/۶۵±۰/۵۱g	۱۴/۵۲±۰/۹۳l	۲۲/۰۲ ±۱/۳۷k	۸/۱۹ ±۰/۵۱m
	۰/۴	۸۸/۰۲ ±۲/۱۰b	۴۸/۱۵±۰/۴۱fe	۲/۹۹ ±۰/۴۸k	۳۴/۲۶ ±۰/۳۰h	۱۶/۸۳ ±۰/۰۹l
	۰/۸	۹۳/۴۸±۰/۵۴a	۶۳/۱۸±۰/۵۱d	۳۰/۳۰ ±۰/۷۰i	۴۴/۷۰±۰/۶۰gf	۲۴/۹۹±۰/۳۸kj
	۱/۲	۹۶/۲۴±۰/۳۳a	۸۱/۵۴±۳/۸۳c	۳۷/۱۴±۰/۳۳h	۴۸/۸۴±۰/۷۰e	۲۷/۳۳±۰/۳۱ji
ریشه	۰/۱	۴۷/۱۶±۱/۱۹e	۳۱/۲۹±۰/۱۳h	۱۳/۶۶±۰/۶۵k	۵/۴۶±۰/۸۵ml	۱/۳۵ ±۰/۱۰n
	۰/۴	۶۲/۱۹±۳/۱۱c	۴۱/۶۴±۰/۸۰gf	۲۰/۷۵±۰/۶۴j	۲۶/۴۹±۱/۱۷i	۲/۴۳±۰/۱۸nm
	۰/۸	۷۵/۹۶ ±۰/۲۵b	۴۸/۲۷±۱/۳۷e	۲۶/۹۱±۰/۳۶i	۳۹/۳۶±۱/۵۰g	۵/۱۳±۰/۱۰ml
	۱/۲	۸۰/۴۰±۰/۵۵a	۵۹/۰۱±۰/۳۹d	۳۱/۵۶±۰/۵۹h	۴۳/۲۶±۱/۲۷f	۶/۳۰±۰/۰۵l

میانگین‌های دارای حرف مشترک از نظر آماری در سطح (p≤۰/۰۵) تفاوت معنی‌دار ندارند.

تأثیر نوع حلال بر فعالیت ضد اکسایشی به روش پراکسید هیدروژن: نتایج حاصل از بررسی و مقایسه اثر حلال‌های مختلف بر فعالیت ضداکسایشی عصاره‌های برگ، میوه و ریشه گیاه کارلا در مهار رادیکال‌های حاصل از پراکسید هیدروژن در شکل۴ نشان داده شده است. تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها نشان داد اثر حلال‌های مختلف بر فعالیت ضد اکسایشی به روش پراکسید هیدروژن معنی دار (p≤۰/۰۵) بود. بیشترین فعالیت ضداکسایشی در این روش به ترتیب مربوط به عصاره متانولی (۲۵/۱۱ درصد) و استونی (۱۹/۳درصد) میوه بود. حلال‌های اتیل استات، هگزان و کلروفرم از نظر فعالیت ضد اکسایشی تقریباً در یک سطح بودند. به طور کلی میوه دارای بالاترین فعالیت ضداکسایشی بود.

بحث

بررسی نتایج این تحقیق و دیگران نشان داد که رابطه مستقیمی بین قطبیت حلال مورد استفاده جهت استخراج و عملکرد عصاره‌گیری وجود دارد بدین صورت که هرچه قطبیت حلال افزایش یابد راندمان استخراج عصاره نیز افزایش می‌یابد (Pham et al., 2015). در پژوهش حاضر میزان ترکیب‌های فنلی و فلاونوئیدی استخراج شده توسط حلال متانول و استون از ترکیب‌های استخراج شده توسط حلال‌های اتیل استات، هگزان و کلروفرم بیشتر بود. بدین ترتیب می‌توان بیان کرد که استخراج محتوای فنل و فلاونوئیدی عصاره‌ها به قطبیت حلال وابسته است که با افزایش قطبیت از کلروفرم به متانول میزان محتوای فنلی و فلاونوئیدی افزایش می‌یابد (Ghasemzadeh et al., 2011). در تحقیقی دیگر رضایی زاده و همکاران (Rezaeizadeh et al., 2011) فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره متانولی و کلروفرمی گیاه کارلای تهیه شده از مزارع مالزی را تعیین کردند. نتایج پژوهش آنان نشان داد که عصاره متانولی در مقایسه با عصاره کلروفرمی دارای محتوای فنل و فلاونوئیدی بیشتری است. علاوه بر این گزارش کردند که نوع

حلال نقش مهمی در تشخیص ترکیب‌های گیاهی و عوامل آنتی‌اکسیدانی دارد که با نتایج حاصل از پژوهش حاضر مطابقت دارد. تعیین ظرفیت آنتی‌اکسیدانی در مواد غذایی با پیچیدگی‌هایی مانند خصوصیات کلوئیدی نمونه، شرایط و مرحله اکسیداسیون، ویژگیهای طبیعی ماده مانند رنگ pH و محل حضور آنتی‌اکسیدان (فاز آبی یا روغنی) همراه است که این خود باعث عدم نتیجه‌گیری از یک روش می‌گردد (Frankel Meyer, 2000) بنابراین اغلب به منظور اعتبار بخشی به نتایج یک مطالعه از چندین روش برای تعیین ظرفیت آنتی‌اکسیدانی نمونه‌های خوراکی استفاده می‌شود. بدین منظور در تحقیق حاضر میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی توسط روش‌های مهار رادیکال آزاد DPPH، توان آنتی‌اکسیدانی احیای آهن (FRAP) و روش مهار رادیکال پراکسید هیدروژن مورد سنجش قرار گرفت. در تحقیق حاضر، همبستگی بالایی میان میزان محتوای فنلی با فعالیت آنتی‌اکسیدانی در تمام روش‌های تست شده مشاهده شد. همسو با نتایج تحقیق حاضر، قوش و همکاران (Ghosh et al., 2014) فعالیت آنتی‌اکسیدانی گیاه کارلای جمع آوری شده از هندوستان را با روش‌های سنجش مهار رادیکال DPPH، مهار رادیکال سوپراکسید، توانایی احیاء آهن و توانایی مهار پراکسید هیدروژن ارزیابی نمودند. آنها فعالیت آنتی‌اکسیدانی قابل توجهی در تمامی روش‌های به کاربرده شده گزارش کردند. در تحقیق حاضر مشخص شد که نوع حلال مورد استفاده در استخراج ترکیب‌های مؤثره دارای فعالیت بازدارندگی رادیکال DPPH بسیار مؤثر بوده و حلال‌های مختلف اثرات متفاوتی دارند. نتایج حاکی از آن بود که توانائی عصاره‌ها در مهار رادیکال‌های آزاد وابسته به غلظت بوده و با افزایش غلظت عصاره‌ها، فعالیت ضد رادیکالی آنها افزایش یافت. در بین چهار عصاره مورد آزمایش، عصاره کلروفرمی در مقایسه با آنتی‌اکسیدان استاندارد آسکوربیک اسید فعالیت پاکسازی ضعیفی نشان داد و افزایش غلظت نیز تأثیری آن چنان نداشت. در حالی که عصاره‌های متانولی و استونی در پاکسازی رادیکال DPPH بسیار موثر عمل کرده و با افزایش غلظت عصاره‌ها، فعالیت آنتی‌اکسیدانی افزایش یافته است. بررسی نتایج این تحقیق و دیگران نشان می‌دهد که فعالیت آنتی‌اکسیدانی گیاه کارلا ممکن است به دلیل گروه‌های هیدروکسیل موجود در ترکیب‌های فنلی آن باشد (Patel et al., 2011). بنابراین در غلظت‌های بالاتر محتوای فنلی، به دلیل افزایش تعداد گروه‌های هیدروکسیل حلقه‌های آروماتیک در محیط واکنش، احتمال دادن هیدروژن به رادیکال‌های آزاد و به دنبال آن قدرت مهارکنندگی عصاره افزایش می‌یابد (Sanchez et al., 1999). جوناتان و همکاران (Jonathan et al., 2012) در تحقیقی فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌های متانولی ، اتانولی و استونی گیاه کارلا کشت شده در نیجریه را با استفاده از روش DPPH مورد ارزیابی قراردادند. در مطالعه آنها، بالاترین میزان مهار رادیکال DPPH برای عصاره‌های متانولی و استونی گزارش گردید که همسو با نتایج پژوهش حاضر است.

روش قدرت آنتی‌اکسیدانی احیاء آهن روشی سریع و مناسب برای اندازه گیری قدرت احیا کنندگی ترکیبات شیمیایی است و می‌تواند به عنوان شاخصی از قدرت آنتی‌اکسیدانی ترکیبات شیمیایی مورد استفاده قرار گیرد. با توجه به نتایج حاصل از این روش عصاره متانولی همانند روش DPPH نسبت به عصاره‌های دیگر فعال بوده و فعالیت آنتی‌اکسیدانی بالایی را نشان می‌دهد. عصاره استونی نیز فعالیت آنتی‌اکسیدانی خوبی نسبت به عصاره اتیل‌استاتی، هگزانی و کلروفرمی دارد. لی و همکاران (Li et al., 2015) طی تحقیقی اثر حلال‌های مختلف (هگزان،

اتیل استات، استون، اتانول و متانول) را بر فعالیت آنتی‌اکسیدانی میوه کارلای جمع‌آوری شده از مزارع چین را با استفاده از روش‌های مهار رادیکال DPPH و ABT و قدرت آنتی‌اکسیدانی احیاء آهن بررسی نمودند. نتایج آنها نشان داد که استخراج محتوای فنل و فلاونوئیدکل به طور قابل توجهی تحت تأثیر نوع حلال بود. عصاره متانولی، استونی و اتانولی به دلیل داشتن بیشترین محتوای فنل و فلاونوئیدی، فعالیت آنتی‌اکسیدانی بالایی نشان دادند وکمترین فعالیت آنتی‌اکسیدانی مربوط به حلال‌های هگزان و اتیل استات بود که همسو با نتایج تحقیق حاضر است. با توجه به نتایج حاصل از روش مهار رادیکال پراکسید هیدروژن نیز می‌توان گفت که ترکیب‌های ضداکسایشی موجود در گیاه کارلا توسط حلال‌هایی با قطبیت بالا نظیر متانول و استون بهتر از حلال‌هایی با قطبیت پایین نظیر اتیل استات، هگزان و کلروفرم استخراج می‌شوند.

نتیجه‌گیری نهایی

میزان ترکیب‌های فنلی و فلاونوئیدی کل و فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌های تهیه شده توسط حلال‌های متانول ۷۰٪، استون، اتیل استات، هگزان و کلروفرم از سه اندام (ریشه، برگ، میوه) گیاه کارلا تحت تأثیر نوع حلال می‌باشند. نتایج در کل نشان داد عصاره متانولی در هر سه آزمون FRAP، DPPH و H_2O_2نسبت به عصاره‌های دیگر دارای فعالیت آنتی‌اکسیدانی بالایی می‌باشد. علاوه بر این با توجه به نتایج این آزمون‌ها مشخص شد که میوه گیاه کارلا دارای خصوصیات آنتی‌اکسیدانی بهتری نسبت به برگ و ریشه است. بنابراین استفاده از میوه گیاه کارلا به منظور تهیه آنتی‌اکسیدان طبیعی پیشنهاد می‌گردد.

تشکر و قدردانی

این تحقیق با حمایت مالی دانشگاه زابل انجام شده است (شماره گرنت: UOZ3GR39517318).

References

1. Ahmad, N., Hasan, N., Ahmad, Z., Zishan, M. and Zohrameena, S. 2016. *Momordica charantia*: for traditional uses and pharmacological actions. Journal of Drug Delivery and Therapeutics, 6(2): 40-44.
2. Bondet, V., Brand-Williams, W. and Berset, C. 1997. Kinetics and mechanisms of antioxidant activity using the DPPH free radical method. LWT-Food Science and Technology, 30(6): 609-615.
3. Benzie, I.F.F. and Strain, J.J. 1999. Ferric reducing/antioxidant power assay: direct measure of total antioxidant activity of biological fluids and modified version for simultaneous measurement of total antioxidant power and ascorbic acid concentration. Methods in Enzymology, 299:15-27.
4. Chang, C.C., Yang, M.H., Wen, H.M. and Chern, J.C. 2002. Estimation of total flavonoid content in propolis by two complementary colorimetric methods, Journal of food and drug analysis, 10(3).
5. Divya, D., Hettiarachchy, N.S., Ganesh, V., Kannan, A. and Rayaprolu, S. 2013. Phenolic extracts from leaves of bitter melon (*Momordica charantia*) with antioxidant properties. Journal of Agricultural Science and Applications, 2(1): 28-34.
6. Fongmoon, D., Lalitwongsa, S., Keyoonwong, W., Nakong, M. and Iamsaard, S. 2013. Antioxidant Activity and Cytotoxicity of Bitter Melon (*Momordica charantia* L.) Extract Cultured in Lampang Thailand. NU. International Journal of Science, 10(2): 18-25.
7. Fidrianny, I., Ramadhani, S. and Komar, R. 2015. In vitro Antioxidant Capacities of Three Organs of Bitter gourd (*Momordica charantia* L.) Form West Java-Indonesia Using DPPH and FRAP Assays. International Journal of

Pharmacognosy and Phytochemical Research, 7(5): 1034-1041.
8. Frankel, E.N. and Meyer, A.S. 2000. The problems of using one-dimensional methods to evaluate multifunctional food and biological antioxidants. Journal of the Science of Food and Agriculture, 80(13): 1925-1941.
9. Ghasemzadeh, A., Jaafar, H.Z. and Rahmat, A. 2011. Effects of solvent type on phenolics and flavonoids content and antioxidant activities in two varieties of young ginger (*Zingiber officinale* Roscoe) extracts. Journal of Medicinal Plants Research, 5(7): 1147-1154.
10. Ghosh, S., Bhateja, P., Rani, J. and Saini, A. 2014. In vitro evaluation of antioxidant activity of Bitter Melon (*Momordica charantia* L.). International Journal of Pharm Tech Research, 6: 1374-1382.
11. Ghous, T., Aziz, N., Mehmood, Z. and Andleeb, S. 2015. Comparative study of antioxidant, metal chelating and antiglycation activities of *Momordica charantia* flesh and pulp fractions Pakistan Journal of Pharmaceutical Sciences, 28(4): 1217-1223.
12. Hajian, S. 2016. Positive effect of antioxidant on immune system. Immunopathologia Persa, 1(1).
13. Hamissou, M., Smith, A.C., Carter Jr, R.E. and Triplett II, J.K. 2013. Antioxidative properties of bitter gourd (*Momordica charantia*) and zucchini (*Cucurbita pepo*). Emirates Journal of Food and Agriculture, 25(9): 641.
14. Heidari, M. and Mobasri Moghadam, M. 2012. Effect of rate and time of nitrogen application on fruit yield and accumulation of nutrient elements in *Momordica Charantia*. Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences, 11: 129–133.
15. Horax, R., Hettiarachchy, N. and Chen, P. 2010. Extraction, quantification, and antioxidant activities of phenolics from pericarp and seeds of bitter melons (*Momordica charantia*) harvested at three maturity stages (immature, mature, and ripe). Journal of Agricultural and Food Chemistry, 58(7): 4428-4433.
16. Jonathan, S.G., Olawuyi, O.J., Aina, D.A., Odeniyi, S.O., Adediji, I.O. and Ikhedia, A. 2012. "Comparative studies on antifungal, anti-oxidant and phytochemical potential of *Momordica charantia* and *Moringa oleifera*. New York Science Journal, 5(12): 17-28.
17. Kumar, R., Balaji, S., Sripriya, R., Nithya, N., Uma, T.S. and Sehgal, P.K., 2010. In vitro evaluation of antioxidants of fruit extract of *Momordica charantia* L. on fibroblasts and keratinocytes. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 58(3): 1518-1522.
18. Kumar, D.S., Sharathnath, K.V., Yogeswaran, P., Harani, A., Sudhakar, K., Sudha, P., and Banji, D. 2010. A medicinal potency of *Momordica charantia*. International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research, 1(2): 95-99.
19. Lin, K.W., Yang, S.C. and Lin, C.N. 2011. Antioxidant constituents from the stems and fruits of *Momordica charantia* Food Chemistry, 127(2): 609-614.
20. Li, F.J., Liu, X.Y., Xu, G.J. and Guo, H.Y. 2015. Effects of extraction solvents on antioxidant activity of Bitter Gourd (*Momordica charantia* L.) fruits in vitro. Innovations in Food Research, 1: 1-3.
21. McMurray, F., Patten, D.A. and Harper, M.E. 2016. Reactive oxygen species and oxidative stress in obesity—recent findings and empirical approaches. Obesity, 24(11): 2301-2310.
22. McDonald, S., Prenzler, P.D., Antolovich, M. and Robards, K. 2001. Phenolic content and antioxidant activity of olive extracts. Food chemistry, 73(1): 73-84.
23. Parsons, B.J. 2017. Antioxidants in Food: The Significance of characterization, identification, chemical and biological assays in determining the role of antioxidants in food. Foods. Doi: 10.3390/foods6080068.
24. Perumal, V., Murugesu, S., Lajis, N.H., Khatib, A., Saari, K., Abdul-Hamid, A., Khoo, W.C., Mushtaq, M.Y., Abas, F., Ismail, I.S. and Ismail, A. 2015. Evaluation of antidiabetic properties of *Momordica charantia* in streptozotocin induced diabetic rats using metabolomics

approach. International Food Research Journal, 22(3): 1298-1306.
25. Pham, H.N.T., Nguyen, V.T., Vuong, Q.V., Bowyer, M.C. and Scarlett, C.J. 2015. Effect of extraction solvents and drying methods on the physicochemical and antioxidant properties of *Helicteres hirsuta* Lour. leaves. Technologies, 3(4): 285-301.
26. Patel, S., Patel, T., Parmar, K., Patel, B. and Patel, P. 2011. Evaluation of antioxidant activity, phenol and flavonoid contents of *Momordica charantia* Linn fruit. Advance Research in Pharmaceuticals and Biologicals, 1: 120-9.
27. Ruch, R.J., Cheng, S.J. and Klaunig, J.E. 1989. Prevention of cytotoxicity and inhibition of intercellular communication by antioxidant catechins isolated from Chinese green tea. Carcinogenesis, 10(6): 1003-1008.
28. Rezaeizadeh, A., Zuki, A.B.Z., Abdollahi, M., Goh, Y.M., Noordin, M.M., Hamid, M. and Azmi, T.I. 2011. Determination of antioxidant activity in methanolic and chloroformic extracts of *Momordica charantia*. African Journal of Biotechnology, 10(24): 4932-4940.
29. Shobha, C.R., Vishwanath, P., Suma, M.N., Prashant, A., Rangaswamy, C. and Gowdappa, B.H. 2015. In vitro anti-cancer activity of ethanolic extract of *Momordica charantia* on cervical and breast cancer cell lines. International Journal of Health & Allied Sciences, 4: 210-7.
30. Singh, S. and Singh, RP. 2008. In vitro methods of Aassay of antioxidants: an overview. Food Reviews International, 24(4): 392-415.
31. Sanchez-Moreno, C., Larrauri, J.A. and Saura- Calixto, F. 1999. Free radical scavenging capacity and inhibition of lipid oxidation of wines, grape juices and related polyphenolic constituents. Food Research International, 32: 407–412.
32. Wen, L.J. and Liu, W.F. 2007. Study on extracting and antioxidant activity of flavonoids from *Momordica charantia* L. Food Science, 9: 042.
33. Zhang, H. and Tsao, R. 2016. Dietary polyphenols, oxidative stress and antioxidant and anti-inflammatory effects. Current Opinion in Food Science, 8: 33-42.

The effect of different solvents on total phenolic, flavonoid contents and antioxidant activity of different organs of *Momordica charantia* L. cultured in Sistan region

Firouzkoohi F.[1], Esmaeilzadeh Bahabadi S.[1]*, Mohkami Z.[2], Yosefzaei F.[3]
[1]Department of Biology, Faculty of Basic Sciences, University of Zabol, Zabol, Iran
[2]Institute of Biotechnology Agriculture, University of Zabol, Zabol, Iran
[3]Department of Biology, Faculty of science, Urmia University, Urmia, Iran

Accepted Time: 2018/01/16 Received Time: 2017/08/05

Abstract

Antioxidants metabolites which are protect the body against damage caused by free radical activity. Phenolic compounds are secondary metabolites in medicinal plants, which have a high antioxidant power. Karela (*Momordica charantia* L.) is an herb belonging to Cucurbitaceae family, consisted of phenolic compounds which can act as antioxidant. The present study was conducted to investigate the effect of different solvents (methanol, acetone, ethyl acetate, hexane and chloroform) on total phenolic, flavonoids content and antioxidant activities of Karela in Sistan region in 2016. Different extracts of plant parts (Root, leaves and fruit) were obtained by different solvents by maceration method. Total phenolic and flavonoid contents were measured by Folin–Ciocalteu and Aluminum chloride methods, respectively. Antioxidant activity of extracts were determined by using Diphenyl Picryl hydrazyl (DPPH), Hydrogen peroxide (H_2O_2) and Ferric Reducing Antioxidant Power (FRAP) assays. The results were showed that the highest phenolic content was observed in fruit and leaf methanol extract (36.96±1.33 and 33.01±3.03 mg gallic acid/g DW respectively) and the least amount of phenol was extracted by ethyl acetate, hexane and chloroform which was less than 1 mg/g DW. The highest flavonoid content was observed in leaf acetone and methanol extract (10.95±1/97 and 10.03±2.2 mg quercitin/g DW respectively). Fruit methanol extract showed higher antioxidant activity than other extracts in three methods. Based on results of this research, Karela fruit can be suggested as useful source of natural antioxidants.

***Keywords*:** Antioxidant, Phenolicand Flavonoid compounds, Solvent, *Momordica charantia*

.

*Corresponding author;