

การหาปริมาณของแคตไอออนในใบมะรุมพันธุ์ข้าวเหนียวและ พันธุ์กระดุกด้วยเทคนิค Capillary Electrophoresis

Determination of Cations in *Moringa oleifera* and *Moringa stenopetala* Leaves by Capillary Electrophoresis

นฤมล วชิรปัทมา ภัทริน จำริญเจือ และสุทธินี ไมตรีสรสณฑ์

ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์ ศูนย์รังสิต

ตำบลคลองหนึ่ง อำเภอคลองหลวง จังหวัดปทุมธานี 12120

บทคัดย่อ

ใบมะรุมสามารถนำมาใช้ประกอบอาหารหรือทำให้แห้งและบดเป็นผงก่อนบรรจุในแคปซูลเพื่อขายเป็นอาหารเสริมกันมาก เพราะมีข้อมูลว่าใบมะรุมมีปริมาณแคตไอออนที่มีประโยชน์ต่อร่างกาย งานวิจัยนี้จึงมีจุดประสงค์ที่จะหาปริมาณแคตไอออนในใบมะรุม 2 พันธุ์ ที่ปลูกกันมากในประเทศไทย คือ พันธุ์ข้าวเหนียวและพันธุ์กระดุก โดยใช้เทคนิค capillary electrophoresis ซึ่งใช้สารละลาย 12 mM imidazole, 15 mM alanine และ 3 mM 18 crown 6 ether ที่ pH 6.0 เป็น background electrolyte ศักย์ไฟฟ้าที่ใช้มีค่า +25 kV และทำการตรวจวัดที่ความยาวคลื่น 206 nm ผลการทดลองพบว่าใบมะรุมมีปริมาณโพแทสเซียม แคลเซียม และแมกนีเซียมในพันธุ์ข้าวเหนียวเท่ากับ 1.78%, 1.19% และ 0.24% สำหรับในพันธุ์กระดุกมีค่า 1.52%, 2.47% และ 0.42% ตามลำดับ

คำสำคัญ : ใบมะรุม แคตไอออน โพแทสเซียม แคลเซียม แมกนีเซียม แคปิลลารีอิเล็กโตรโฟรีซิส

Abstract

Moringa leaves can be eaten fresh cooked or stored as dried powder in capsule in order to use as a supplementary food. Several information shows *Moringa* leaves contain cations which are useful to human health. Aim of this research was to determine the cations in *Moringa Oleifera* and *Moringa Stenopetala* leaves, which are commonly grown in Thailand by capillary electrophoresis technique. The experiment performed on capillary column 45 cm length with positive applied potential 25 kV. The composition of 12 mM imidazole, 15 mM alanine and 3 mM 18 crown 6 ether at pH 6 was used as background electrolyte and detected at wavelength 206 nm. The results showed potassium, calcium and magnesium ions in *Moringa Oleifera* leaves were 1.78%, 1.19% and 0.24%; whereas in *Moringa stenopetala* leaves were 1.52%, 2.47% and 0.42%, respectively.

Keywords: *Moringa* leave, cation, potassium, calcium, magnesium, capillary electrophoresis

1. บทนำ

ในปัจจุบันมีผู้ป่วยด้วยโรคต่างๆ เป็นจำนวนมาก ผู้คนจึงให้ความสนใจด้านสุขภาพมากยิ่งขึ้น ทั้งทางด้านสุขอนามัยและด้านโภชนาการอาหาร จึงส่งผลให้พืชที่มีฤทธิ์ในการรักษาโรคได้รับความนิยมอย่างสูง มะรุมก็เป็นพืชอีกชนิดหนึ่งที่มีผู้คนให้ความสนใจ เนื่องจากมีข้อมูลว่าในมะรุมอุดมไปด้วยสารอาหารที่เป็นประโยชน์ต่อร่างกายมากมาย อีกทั้งยังสามารถรักษาโรคต่างๆ ได้งานวิจัยหลายฉบับที่ศึกษาเกี่ยวกับสาร ที่มีในเนื้อเยื่อมะรุมรวมทั้งคุณสมบัติการดูดซับสารพิษของเมล็ดมะรุม เช่น ศึกษาการแยกโปรตีนจากเมล็ดมะรุมพันธุ์ข้าวเหนียว [1] ศึกษาการแยก lectin จากเมล็ดมะรุมพันธุ์ข้าวเหนียว [2] ศึกษาการใช้เมล็ดมะรุมลดความกระด้างของน้ำ [3] ศึกษาปริมาณโปรตีนในใบมะรุมพันธุ์ข้าวเหนียวเพื่อใช้เป็นทางเลือกของแหล่งโปรตีนในการเลี้ยงปลา Nile tilapia [4] ศึกษาคุณสมบัติของเมล็ดมะรุมที่บดเป็นผงละเอียดในการกำจัดแคลเซียมออกจากสารละลาย [5] ศึกษาคุณสมบัติการดูดซับสารปนเปื้อนในน้ำที่ใช้ในครัวเรือนด้วย activated carbon ที่เตรียมจากเปลือกมะรุมพันธุ์ข้าวเหนียว [6] ศึกษาการดูดซับแคลเซียมของเมล็ดมะรุมที่บดเป็นผงละเอียดของพันธุ์กระดุกเปรียบเทียบกับพันธุ์ข้าวเหนียว [7] ศึกษาแร่ธาตุอาหารที่มีในราก ลำต้น ก้าน ใบ ดอก และเมล็ดของมะรุมพันธุ์ข้าวเหนียวที่ปลูกในประเทศ Ghana โดยผลการทดลองพบสาร rhamnose, flavonoids, palmitic acid, linolenic acid, oleic acid รวมทั้งโพแทสเซียม แคลเซียม และแมกนีเซียมในเนื้อเยื่อมะรุมทุกส่วน [8] และการศึกษาปริมาณธาตุอาหาร ที่มีในใบ เปลือกหุ้ม

เมล็ดและเมล็ดของมะรุมพันธุ์ข้าวเหนียวที่ปลูกในประเทศ Sheda และ Kuje ของประเทศ Nigeria ผลการทดลองพบว่ามะรุมจากเขต Sheda มีปริมาณธาตุอาหารแคลเซียม แมกนีเซียม เหล็กและทองแดงสูงกว่ามะรุมจากเขต Kuje [9] จากข้อมูลเหล่านี้จะเห็นว่าการวิจัยส่วนใหญ่จะวิเคราะห์หาแร่ธาตุอาหารจากมะรุมพันธุ์ข้าวเหนียวรวมทั้งมีการเปรียบเทียบปริมาณธาตุอาหารของมะรุมที่ปลูกในพื้นที่ต่างกัน นอกจากนี้ยังมีงานวิจัยที่พบว่าเมล็ดมะรุมพันธุ์กระดุกสามารถกำจัดตะกั่วออกจากน้ำได้ดีกว่าเมล็ดมะรุมพันธุ์ข้าวเหนียว [10] สำหรับประเทศไทยนิยมปลูกมะรุม 2 พันธุ์ คือ พันธุ์ข้าวเหนียวและพันธุ์กระดุก เนื่องจากใบมะรุมมีตลอดปีผู้บริโภคจึงนิยมนำใบสดมาบริโภคโดยตรงหรือนำใบตากแห้งมาดเคี้ยวเป็นผงบ่อนบรรจุในแคปซูลเพื่อใช้เป็นอาหารเสริมกันมาก จากงานวิจัยพบว่าใบมะรุมมีธาตุอาหารแคลเซียมและแมกนีเซียมสูงกว่านมคือใบมะรุมพันธุ์ข้าวเหนียวที่ปลูกในประเทศ Ghana มีแคลเซียมและแมกนีเซียม 1.93 % และ 0.43% ตามลำดับ [8] ขณะที่นมผงมีแคลเซียมและแมกนีเซียม 0.95% และ 0.08% ตามลำดับ [11] ดังนั้นใบมะรุมจึงเป็นแหล่งแคลเซียมและแมกนีเซียมที่สำคัญสำหรับคนและสัตว์ โดยเฉพาะอย่างยิ่งผู้สูงอายุที่ต้องการแคลเซียมและแมกนีเซียมเพื่อป้องกันโรคกระดูกพรุน เครื่องมือที่นิยมใช้ในการตรวจวัดปริมาณธาตุอาหารในเนื้อเยื่อพืช เช่น เทคนิค ion chromatography (IC) [8] เทคนิค atomic absorption spectrometer (FAAS) [9] เทคนิค inductively coupled plasma optical emission spectrometry (ICP-OES) [12] และเทคนิค inductively coupled plasma-mass spectrometer (ICP-

MS) [13] ซึ่งเทคนิค IC สามารถวิเคราะห์ธาตุอาหารที่เป็นแคตไอออนได้พร้อมกันหลายตัวแต่มีข้อเสียคือใช้สารเคมีมากและเสียค่าใช้จ่ายสูง สำหรับเทคนิค AAS สามารถวิเคราะห์ธาตุอาหารที่เป็นแคตไอออนได้ที่ละธาตุจึงใช้เวลานาน หากใช้เทคนิค ICP-OES และ ICP-MS จะสามารถวิเคราะห์ธาตุอาหารที่เป็นแคตไอออนได้พร้อมกันหลายตัว แต่มีข้อเสียคือเสียค่าใช้จ่ายสูง เมื่อไม่นานมานี้มีงานวิจัยที่พัฒนาเทคนิค capillary electrophoresis (CE) เพื่อนำไปประยุกต์ใช้วิเคราะห์ธาตุอาหารที่เป็นแคตไอออนได้พร้อมกันในปฏิกิริยา [14] ซึ่งตรวจวัดได้เร็วและใช้สารเคมีน้อย งานวิจัยนี้จึงใช้เทคนิค capillary electrophoresis ที่พัฒนาขึ้น [14] ประยุกต์ใช้เพื่อวิเคราะห์เปรียบเทียบปริมาณแคตไอออนที่มีในใบมะรุม 2 พันธุ์ คือ พันธุ์ข้าวเหนียวและพันธุ์กระดุกซึ่งปลูกในพื้นที่เดียวกัน

2. การทดลอง

2.1 เครื่องมือ

Fused silica capillary column (Polymicro technology (Phoenix, AZ, USA) ยาว 45 cm (75 μ m I.D.) โดยมีความยาวจากจุดที่ฉีดสารถึง ตัวตรวจวัด 36.5 cm เครื่อง capillary electrophoresis ที่ใช้แยก analytes คือ HP^{3D} CE (Agilent Technologies, Bracknell, UK) และใช้ applied voltage +25 kV ที่อุณหภูมิ 25°C ทำการตรวจวัดที่ 206 nm

2.2 สารเคมี

น้ำที่ใช้เป็นน้ำที่ผ่านการกลั่นและ deionised (DI water), K⁺, Na⁺, Ca²⁺, Mg²⁺, NH₄⁺ (Ajax, Finechem, Australia), Imidazole (Fluka, Steinheim, Switzerland) และ 18-crown-6 ether (Sigma-Aldrich Steinheim, Germany) เป็น analytical grade สำหรับ background electrolyte ประกอบด้วย

12 mM imidazole, 15 mM alanine และ 3 mM 18 crown 6 ether ที่ pH 6.0 ใบมะรุมทั้งพันธุ์ข้าวเหนียวและพันธุ์กระดุกได้มาจากตำบลสวนหลวง อำเภอกระทุ่มแบน จังหวัดสมุทรสาครซึ่งทั้งสองพันธุ์ปลูกในพื้นที่เดียวกัน

2.3 วิธีการทดลอง

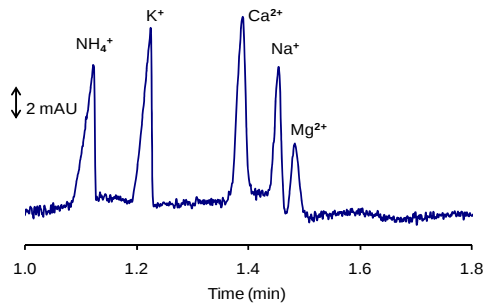
นำใบมะรุมทั้งพันธุ์ข้าวเหนียวและพันธุ์กระดุกไปอบที่อุณหภูมิ 70°C เป็นเวลา 72 ชม. จากนั้นบดให้ละเอียดและร่อนผ่านตะแกรงขนาด 70 mesh ชั่งสารตัวอย่างแต่ละชนิดหนัก 0.1000 g (ทำการทดลอง 3 ซ้ำ) บรรจุใน Savillex screw-top® Teflon vial ซึ่งเป็นขวดเทฟลอนฟลาเกลียวเติมน้ำเล็กน้อย 2-3 หยดเพื่อให้สารตัวอย่างเปียก จากนั้นเติม HNO₃ เข้มข้น (2.0 ml) และ HCl เข้มข้น (1.0 ml) ย่อยสารบน hotplate ซึ่งเป็นเตาให้ความร้อนที่ 70°C จนสารละลายใส ขณะย่อยมีการเปิดฝา 2-3 ครั้งเพื่อลดความดันภายในภาชนะ จากนั้นยก vials ลงจาก hotplate และปล่อยให้เย็น ปรับปริมาตรของสารเป็น 25 ml ใน volumetric flask หรือขวดวัดปริมาตรด้วยน้ำและกรองผ่าน 0.45 μ m filter ก่อนนำตัวอย่างไปฉีดเข้าเครื่อง capillary electrophoresis ต้องเจือจางสารตัวอย่าง 0.5 ml ใน volumetric flask ขนาด 10 ml ด้วย

3. ผลและวิจารณ์ผล

3.1 Electropherogram ของสารมาตรฐาน cations

การวิเคราะห์แคตไอออนที่มักพบในพืช ได้แก่ ammonium (NH₄⁺), potassium (K⁺), calcium (Ca²⁺), sodium (Na⁺) และ magnesium (Mg²⁺) โดยเทคนิค CE จะใช้วิธีการเดียวกับการวิเคราะห์แคตไอออนในปฏิกิริยา [14] โดยตรวจวัดที่ 206 nm ค่า

applied potential เท่ากับ +25 kV ฉีดสารโดยใช้ความดัน 50 mbar เป็นเวลา 7 วินาที จะได้ electropherogram ของแคตไอออนทั้ง 5 ชนิด คือ NH_4^+ , K^+ , Ca^{2+} , Na^+ และ Mg^{2+} ซึ่ง peak ทั้งหมดแยกจากกันและใช้เวลาในการวิเคราะห์น้อยกว่า 2 นาที ดังแสดงในรูปที่ 1

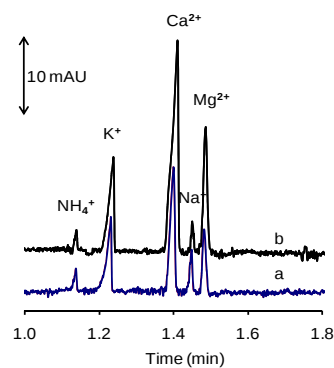


รูปที่ 1 Electropherogram ของสารละลายมาตรฐาน NH_4^+ 2.5 mg/l, K^+ 5 mg/l, Ca^{2+} 1 mg/l, Na^+ 1 mg/l และ Mg^{2+} 0.5 mg/l

3.2 การหาปริมาณแคตไอออนในใบมะรุ้ม

ประยุกต์ใช้ background electrolyte และสภาวะที่เหมาะสมในการหาปริมาณแคตไอออนในใบมะรุ้มได้ electropherogram ของพันธุ์ข้าวเหนียวและพันธุ์กระดุกดังรูปที่ 2a และรูปที่ 3 พบว่าแคตไอออนที่พบปริมาณสูงในใบมะรุ้ม คือ K^+ , Ca^{2+} และ Mg^{2+} เพื่อให้แน่ใจว่าเป็น peak ของ K^+ , Ca^{2+} และ Mg^{2+} จึง spike สารละลายมาตรฐานของ K^+ , Ca^{2+} และ Mg^{2+} ลงในสารตัวอย่างของใบมะรุ้มพันธุ์ข้าวเหนียว Electropherogram ที่ได้แสดงในรูป 2b จะพบว่าแต่ละ peak มี migration time ตรงกับ peak ของ K^+ , Ca^{2+} และ Mg^{2+} ซึ่งเป็นการยืนยันว่าเป็น peak ของ K^+ , Ca^{2+} และ Mg^{2+} จากการวิเคราะห์หาปริมาณ K^+ , Ca^{2+} และ Mg^{2+} ในใบมะรุ้มพันธุ์ข้าวเหนียวและพันธุ์กระดุกด้วย

external calibration curve (R^2 อยู่ในช่วง 0.9995-0.9998) ได้ค่าดังแสดงในตารางที่ 1 จะพบว่าปริมาณ Ca^{2+} และ Mg^{2+} ที่ตรวจพบในใบมะรุ้มพันธุ์กระดุกมีค่ามากกว่าพันธุ์ข้าวเหนียว แต่ปริมาณ K^+ ที่ตรวจพบในใบมะรุ้มพันธุ์กระดุกมีค่าน้อยกว่าพันธุ์ข้าวเหนียว ปริมาณความเข้มข้นของแคลเซียมและแมกนีเซียมจากงานวิจัยที่ใช้เทคนิค ICP-OES วิเคราะห์ในน้ำนมวัว [12] ใช้เทคนิค ICP-MS วิเคราะห์ในน้ำนมแม่ [13] และใช้เทคนิค FAAS วิเคราะห์ในนมผง [11] (ตารางที่ 2) เปรียบเทียบกับงานวิจัยนี้ที่หาปริมาณของแคลเซียมและแมกนีเซียมในใบมะรุ้ม (ตารางที่ 1) พบว่าแคลเซียมและแมกนีเซียมในใบมะรุ้มสูงกว่าในน้ำนมวัว น้ำนมแม่ และนมผงหลายเท่า

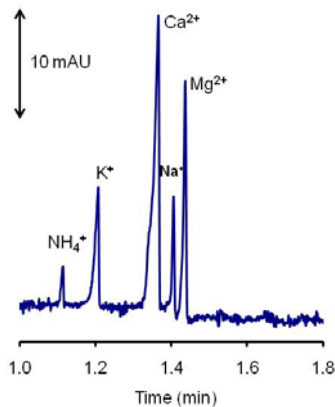


รูปที่ 2 Electropherogram ของ K^+ , Ca^{2+} และ Mg^{2+} ในใบมะรุ้มพันธุ์ข้าวเหนียว (a) และเมื่อ spike ด้วยสารละลายมาตรฐานของ K^+ (2 mg/l), Ca^{2+} (2 mg/l) และ Mg^{2+} (0.5 mg/l)

4. สรุปผลการทดลอง

การวิเคราะห์หาแคตไอออนด้วยเทคนิค capillary electrophoresis แบบ indirect UV detection โดยมี imidazole เป็นตัวให้สัญญาณพบว่าสามารถตรวจวัดแคตไอออนได้โดยไม่มี interference peak เมื่อ นำ condition ที่เหมาะสมไปทำการตรวจวัดตัวอย่าง

ของใบมะรุมนทั้งสองพันธุ์ คือ พันธุ์ข้าวเหนียวและพันธุ์กระดุก พบปริมาณ Ca^{2+} และ Mg^{2+} ปริมาณสูงกว่ามะรุมนหลายเท่า ผลการทดลองพบว่ามะรุมนพันธุ์กระดุกมีปริมาณ Ca^{2+} และ Mg^{2+} มากกว่ามะรุมนพันธุ์ข้าวเหนียวประมาณ 1 เท่าและปริมาณ K^+ ทั้งสองสายพันธุ์มีค่าพอกัน



รูปที่ 3 Electropherogram ของ K^+ , Ca^{2+} และ Mg^{2+} ในใบมะรุมนพันธุ์กระดุก

ตารางที่ 1 ปริมาณของแคตไอออนในตัวอย่างใบมะรุมนพันธุ์ข้าวเหนียวและพันธุ์กระดุกโดยเทคนิค CE (n=3)

ใบมะรุมน	ปริมาณแคตไอออน (%)		
	K^+	Ca^{2+}	Mg^{2+}
พันธุ์ข้าวเหนียว	1.78 ± 0.004	1.19 ± 0.014	0.24 ± 0.007
พันธุ์กระดุก	1.52 ± 0.006	2.47 ± 0.004	0.42 ± 0.005

ตารางที่ 2 เปรียบเทียบความเข้มข้นของแคลเซียมและแมกนีเซียม ที่พบในน้ำนมวัว น้ำนมแม่ และนมผง

	น้ำนมแม่	น้ำนมวัว	นมผง
%Ca	0.025	0.12	0.95
%Mg	0.002	0.01	0.08

5. กิตติกรรมประกาศ

ผู้วิจัยขอขอบคุณแหล่งทุนสนับสนุนจากโครงการมหาวิทยาลัยวิจัยแห่งชาติของสำนักงานคณะกรรมการการอุดมศึกษาปีงบประมาณ 2554

6. เอกสารอ้างอิง

- [1] Gassenschmidt, U., Jany, D.J., Tauscher, B. and Niebergall, H., 1995, Isolation and Characterization of a Flocculating Protein from *Moringa oleifera* Lam, Biochimica et Biophysica Acta 1243: 477-481.
- [2] Santos, A.F.S., Luz, L.A., Argolo, A.C.C., Teixeira, J.A., Paiva, P.M.G. and Coelho, L.C.B.B., 2009, Isolation of a Seed Coagulant *Moringa oleifera* Lectin Process, Biochemistry 44: 504-508.
- [3] Muyibi, S.A. and Evison, L.M., 1995, *Moringa oleifera* Seeds for Softening Hardwater, Water Research 29: 1099-1104.
- [4] Richter, N., Siddhuraju, P. and Becker, K., 2003, Evaluation of Nutritional Quality of *Moringa (Moringa oleifera* Lam.) Leaves as an Alternative Protein Source for Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus* L.), Aquaculture 217: 599-611.
- [5] Sharma, P., Kumari, P., Srivastava, M.M. and Srivastava, S., 2006, Removal of Cadmium from Aqueous System by Shelled *Moringa oleifera* Lam. Seed Powder, Bioresource Technology 97: 299-305.
- [6] Pollard, S.J.T., Thompson, F.E. and McConnachie, G.L., 1995, Microporous

- Carbons from *Moringa oleifera* Husks for Water Purification in Less Developed Countries, *Water Research* 29: 337-347.
- [7] Mataka, L.M., Sajidu, S.M.I., Masamba, W.R.L. and Mwatseteza, J.F., 2010, Cadmium Sorption by *Moringa stenopetala* and *Moringa oleifera* Seed Powders: Batch, Time, Temperature, pH and Adsorption Isotherm Studies, *International Journal of Water Resources and Environmental Engineering* 2 (3): 50-59.
- [8] Amaglo, N.K., Bennett, R. N., Curto, R.B., Rosa, E.A.S., Turco, V.L., Giuffrida, A., Curto, A.L., Crea, F. and Timpo, G.M., 2010, Profiling Selected Phytochemicals and Nutrients in Different Tissues of The Multipurpose Tree *Moringa oleifera* L., Grown in Ghana, *Food Chemistry* 122: 1047-1054.
- [9] Anjorin, T.S., Ikokoh, P. and Okolo, S., 2010, Mineral Composition of *Moringa oleifera* Leaves Pods and Seeds from Two Regions in Abuja, Nigeria, *International Journal of Agriculture & Biology* 12: 431-434.
- [10] Mataka, L.M., Henry, E.M.T., Masamba, W.R.L. and Sajidu, S.M., 2006, Lead Remediation of Contaminated Water using *Moringa stenopetala* and *Moringa oleifera* Seed Powder, *Int. J. Environ. Sci. Technol.* 3: 131-139.
- [11] Noël, L., Carl, M., Vastel, C. and Guérin, T., 2008, Determination of Sodium, Potassium, Calcium and Magnesium Content in Milk Products by Flame Atomic Absorption Spectrometry (FAAS), *International Dairy Journal* 18: 899-904.
- [12] Silva, F.V., Lopes, G.S., Nóbrega, J.A., Souza, G.B. and Nogueira, A.R.A., 2001, Study of the Protein-Bound Fraction of Calcium, Iron, Magnesium and Zinc in Bovine Milk, *Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy* 56: 1909-1916.
- [13] Martino, F.A.R., Sanchez, M.L.F. and Sanz-Medel, A., 2001, The Potential of Double Focusing ICP-MS for Studying Elemental Distribution Patterns in Whole Milk, Skimmed Milk and Milk Whey of Different Milks, *Analytica Chimica Acta* 442: 191-200.
- [14] Vachirapatama, N. and Maitreesorasun, N., 2011, Fast Simultaneous Determination of Cationic Nutrients in Fertilizers by Capillary Zone Electrophoresis, In Preparation to Submit for Publication.