# การสกัดและการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในพืชสมุนไพร 4 ชนิด ด้วยวิธีการทำลายอนุมูลอิสระดีพีพีเอช

# Extraction and antioxidant activity in four types of medicine plant by using DPPH radical scavenging assay


โดย

ศรัญญา มณีทอง



โครงการวิจัยนี้ได้รับการสนับสนุนจากสถาบันวิจัยและพัฒนา

มหาวิทยาลัยราชภัฏบุรีรัมย์

พ.ศ. 2559



(ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยราชภัฏบุรีรัมย์)

สัญญาเลขที่ 45/2559

# การสกัดและการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในพืชสมุนไพร 4 ชนิด ด้วยวิธีการทำลายอนุมูลอิสระดีพีพีเอช

# Extraction and antioxidant activity in four types of medicine plant by using DPPH radical scavenging assay


โดย

ศรัญญา มณีทอง



โครงการวิจัยนี้ได้รับการสนับสนุนจากสถาบันวิจัยและพัฒนา

มหาวิทยาลัยราชภัฏบุรีรัมย์

พ.ศ. 2559



(ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยราชภัฏบุรีรัมย์)

# กิตติกรรมประกาศ

โครงการวิจัยฉบับนี้สำเร็จลุล่วงไปด้วยดี เพราะได้รับความช่วยเหลือจากบุคคลหลายฝ่ายทั้งข้อมูลทางวิชาการ ตัวอย่าง วัสดุอุปกรณ์ และทุนทรัพย์ ดังนั้นผู้ทำวิจัยจึงขอขอบพระคุณไปยัง

สถาบันวิจัยและพัฒนามหาวิทยาลัยราชภัฏบุรีรัมย์ ที่ให้การสนับสนุนเงินทุนวิจัย

ศูนย์วิทยาศาสตร์และวิทยาศาสตร์ประยุกต์ ที่อำนวยความสะดวกในการใช้เครื่องมือสำหรับทำโครงการวิจัยครั้งนี้

สาขาวิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยราชภัฏบุรีรัมย์ ที่อำนวยความสะดวกด้านสถานที่และอุปกรณ์ต่างๆ ที่ใช้ในงานวิจัย

นางสาวกรรณิการ์ ดวนขันธ์ นางสาวรุ่งนภา แสวงผล นางสาวกนกวรรณ บัพสุข และนางสาวยุพิน ทัศสุพล นักศึกษาสาขาวิชาเคมี ที่ช่วยหาตัวอย่างในพื้นที่ต่างๆ และช่วยทำโครงการวิจัยครั้งนี้

ศรัญญา มณีทอง

25 พฤษภาคม 2559

**ชื่อโครงการ:** การสกัดและการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในพืชสมุนไพร 4 ชนิด ด้วยวิธีการทำลายอนุมูลอิสระดีพีพีเอช

**ชื่อผู้วิจัย:** อาจารย์ ดร. ศรัญญา มณีทอง

**ปีที่ได้รับทุน:** 2559

**เลขที่สัญญา:** 45/2559

**สังกัด:** สาขาวิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยราชภัฏบุรีรัมย์

## บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้ได้การศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของการสกัดจากพืชสมุนไพร 4 ชนิด ได้แก่ ผักโขม ผักปลัง มะระขี้นก และผักแพว โดยสกัดด้วยตัวทำละลาย 0.1 M HCl ใน 10% Ethanol และผลของอุณหภูมิและระยะเวลาที่ใช้ในการสกัด ได้แก่ อุณหภูมิห้อง 50 และ60 องศาเซลเซียส ที่เวลา 30 60 และ 120 นาที ทดสอบฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH radical scavenging assay ผลการศึกษาพบว่า ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลาย DPPH มีค่าเท่ากับ 0.568 ซึ่งสารสกัดตัวอย่าง ผักโขม ผักปลัง มะระขี้นก และผักแพว ทำให้ค่าการดูดกลืนแสงของ DPPH ลดลงเท่ากับ 0.119 0.140 0.131 และ 0.074 ตามลำดับ แสดงให้เห็นว่าพืชทั้ง 4 ชนิด มีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระ โดยผักแพวมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงที่สุดรองลงมาคือ ผักโขม มะระขี้นก และผักปลัง ส่วนสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดพืชพบว่า ผักโขม ผักปลัง และ ผักแพว ใช้ระยะเวลาในการสกัด 30 นาที ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส และมะระขี้นก ใช้ระยะเวลาในการสกัด 30 นาที ที่ อุณหภูมิห้อง

คำสำคัญ: ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ, ผักพื้นบ้าน, ผักโขม, ผักปลัง, มะระขี้นก, ผักแพว

**TITLE:** Extraction and antioxidant activity in four types of medicine plant by using DPPH radical scavenging assay

**CANDIDATE:** Dr. Sarunya Maneetong

**DATE OF SCOLARSHIP:** 2559

**CONTRACT NUMBER:** 45/2559

**AFFILIATION:** Department of Chemistry, Faculty of Science,
Buriram Rajabhat University

## Abstract

This research studied the antioxidant activity of medicine plant extracts 4 types as follow *Amaranthus Lividus* L., *Basella Alba* L., *Momordica charantia* L., and *Polygonum odoratum* L. by an extraction solvent 0.1 M HCl in 10% Ethanol and the effect of temperature and extraction time such as room temperature, 50 and 60 degrees Celsius and extraction time are 30, 60 and 120 minutes. The effect of antioxidants with DPPH radical scavenging assay results showed that. The absorbance of the solution DPPH equals 0.568, which extracts a sample of *Amaranthus Lividus* L., *Basella Alba* L., *Momordica charantia* L., and *Polygonum odoratum* L. that makes the absorbance of DPPH reduction equals 0.119, 0.140, 0.131 and 0.074, respectively. The results shown that 4 types of medicine plant has the effect of antioxidants. The *Polygonum odoratum* L. has the highest antioxidant activity, followed by *Amaranthus Lividus* L., *Momordica charantia* L. and *Basella Alba* L.. The optimum extraction for *Amaranthus Lividus* L., *Basella Alba* L. and *Polygonum odoratum* L. are extraction time 30 minutes at 60 ° C and *Momordica charantia* L. extraction time 30 minutes at room temperature.

**Keywords:** antioxidant activity, *Amaranthus Lividus* L., *Basella Alba* L., *Momordica charantia* L., *Polygonum odoratum* L.

# สารบัญ

หน้า


**สารบัญ** ก
**สารบัญตาราง** ข
**สารบัญภาพประกอบ** ค
**บทที่ 1 บทนำ** 1
1.1 ที่มาและความสำคัญ 1
1.2 วัตถุประสงค์ของโครงการวิจัย 2
1.3 ขอบเขตของโครงการวิจัย 2
1.4 ทฤษฎี สมมุติฐาน 3
**บทที่ 2 เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง** 4
2.1 ความรู้ทั่วไปเกี่ยวกับผักพื้นบ้าน 4
2.2 ข้อมูลพืชสมุนไพรที่ใช้ในการศึกษา 6
2.3 วิธีที่ใช้ในการศึกษา 10
2.4 วิธีที่ใช้ทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ 12
2.5 เครื่องมือที่ใช้ในการศึกษา 15
2.6 เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง 16
**บทที่ 3 วิธีการทดลอง** 23
3.1 สารเคมีที่ใช้ในการทดลอง 23
3.2 อุปกรณ์และเครื่องมือที่ใช้ในการทดลอง 23
3.3 การเตรียมสารเคมีและการเตรียมตัวอย่าง 24
3.4 วิธีการทดลอง 25
**บทที่ 4 ผลการทดลอง** 27
4.1 การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี DPPH radical scavenging assay 27
4.2 การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากพืชตัวอย่าง ผักโขม ผักปลัง มะระขี้นก และผักแพว 28
**บทที่ 5 สรุปและอภิปรายผลการทดลอง** 34
**บรรณานุกรม** 35
**ภาคผนวก** 37
**ประวัติผู้วิจัย** 45

# สารบัญตาราง


| ตารางที่ | | หน้า |
|---|---|---|
| 3.1 | แสดงสารเคมีที่ใช้ในการทดลอง | 23 |
| 4.1 | การดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร และ% scavenging ของสารละลายมาตรฐาน Trolox | 27 |
| 4.2 | การดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร และ % scavenging ของสารสกัดจากพืชตัวอย่าง ผักโขม ผักปลัง มะระขี้นก และผักแพว ณ อุณหภูมิห้อง ที่เวลาแตกต่างกัน | 28 |
| 4.3 | การดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร และ % scavenging ของสารสกัดจากพืชตัวอย่าง ผักโขม ผักปลัง มะระขี้นก และผักแพว ณ อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส ที่เวลาแตกต่างกัน | 30 |
| 4.4 | การดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร และ% scavenging ของสารสกัดจากพืชตัวอย่าง ผักโขม ผักปลัง มะระขี้นก และผักแพว ณ อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส ที่เวลาแตกต่างกัน | 32 |

# สารบัญภาพประกอบ


| รูปที่ | | หน้า |
|---|---|---|
| 2.1 | ผักโขม | 6 |
| 2.2 | ผักปลัง | 7 |
| 2.3 | มะระขี้นก | 8 |
| 2.4 | ผักแพว | 9 |
| 2.5 | เครื่องสกัดซอห์กเล็ท | 11 |
| 2.6 | UV-VIS spectrums | 16 |
| 2.7 | องค์ประกอบของเครื่อง UV-VIS spectrophotometer | 16 |
| 4.1 | กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงกับความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐาน Trolox ที่ความเข้มข้นแตกต่างกัน | 27 |
| 4.2 | กราฟความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงกับเวลาที่ใช้ในการสกัดพืชตัวอย่างที่อุณหภูมิห้อง | 29 |
| 4.3 | กราฟความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงกับเวลาที่ใช้ในการสกัดพืชตัวอย่างที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส | 31 |
| 4.4 | กราฟความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงกับเวลาที่ใช้ในการสกัดพืชตัวอย่างที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส | 33 |

# บทที่ 1
# บทนำ

## 1.1 ที่มาและความสำคัญ

มนุษย์เราให้ความสนใจและเอาใจใส่เกี่ยวกับเรื่องสุขภาพกันมากขึ้น ทั้งนี้เนื่องจากการรับประทานอาหารของมนุษย์เราในปัจจุบันพบว่ามีความเสี่ยงต่อโรคต่างๆ มากมาย ขณะที่ผู้รับประทานอาหารประเภทพืชผักและผลไม้เป็นประจำมีความเสี่ยงน้อยกว่า โดยพืชผักและผลไม้มีวิตามินและเกลือแร่ที่มีคุณสมบัติเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ (antioxidant) เช่น เบต้าแคโรทีน วิตามินซี วิตามินอี ทองแดง สังกะสี และแมงกานีส เป็นต้น ในขณะที่เนื้อสัตว์มีของเสียที่เกิดจากขบวนการเผาผลาญอาหารที่เรียกว่า “อนุมูลอิสระ” (free radical) เป็นจำนวนมาก โดยอนุมูลอิสระเป็นสารที่เกิดจากกระบวนการเผาผลาญอาหารในร่างกาย รวมถึงจากมลพิษต่างๆ เช่น โอโซน โลหะหนัก ควันบุหรี่ อนุมูลอิสระเหล่านี้จะทำลายโครงสร้างและหน้าที่ของผนังเซลล์ ก่อให้เกิดความผิดปกติต่างๆ ร่างกายของเราจึงมีกลไกในการควบคุมสารอนุมูลอิสระและผลผลิตของสารอนุมูลอิสระเพื่อไม่ให้ลุกลาม สารดังกล่าว คือ สารต้านอนุมูลอิสระ (antioxidant) สารต้านอนุมูลอิสระมีมากในพืชผักและผลไม้บางชนิดผักพื้นบ้านของแต่ละพื้นที่ของไทยมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงเหมาะที่จะนำมาปรุงอาหารสร้างเสริมสุขภาพ (บุหรัน, 2556)

สารต้านอนุมูลอิสระ เป็นสารประกอบที่ต่อต้านการเกิดออกซิเดชันโดยทางตรงและทางอ้อม ทั้งที่เป็นสารประกอบอินทรีย์และสารประกอบอนินทรีย์ ส่วนใหญ่เป็นสารประกอบอินทรีย์ที่ช่วยในการทำงานของสารต้านอนุมูลอิสระ โดยสารต้านอนุมูลอิสระมีความสามารถในการรับอิเล็กตรอนมาไว้ในตัวเองและสามารถให้อิเล็กตรอนแก่อนุมูลอิสระ ทำให้อนุมูลอิสระไม่สามารถเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันต่อไปได้ สารต้านอนุมูลอิสระเป็นสารที่กำจัดและขนส่งอนุมูลอิสระไปทำลาย เป็นสารที่มีฤทธิ์ในการทำลายหรือต่อต้านอนุมูลอิสระให้กลายเป็นสารธรรมดาทำให้หมดฤทธิ์ในการทำลายเซลล์ต่อไป ภายในร่างกายมีเพียง 3-4 ชนิด ที่ทำหน้าที่เป็นสารต้านอนุมูลอิสระในรูปแบบของเอนไซม์ 3 ชนิดได้แก่ ซูเปอร์ออกไซด์ ดิสมิวเตส (Superoxide dismutase) คาตาเลส (Catalase) และกลูตาไธโอนเปอร์ออกซิเดส (Glutathione peroxidase) เอนไซม์เหล่านี้พร้อมที่จะเป็นตัวเร่งปฏิกิริยาทำลายสารอนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นมาในเซลล์ตลอดเวลา แต่ก็ยังไม่เพียงพอในการต่อสู้กับอนุมูลอิสระที่มีปริมาณมากๆ จึงต้องอาศัยสารต้านอนุมูลอิสระจากแหล่งภายนอกด้วย (Chuanphongpanich et al., 2006)

สารต้านอนุมูลอิสระ จัดได้ว่าเป็นปัจจัยหนึ่งที่สำคัญโดยมีบทบาทในการป้องกันการเกิดโรคต่างๆ ซึ่งผลการศึกษาจากงานวิจัยทางคลินิกและระบาดวิทยา ได้ยืนยันว่า การบริโภคผัก ผลไม้ ธัญพืชที่ไม่ผ่านการขัดสีและพืชสมุนไพรต่างๆ ซึ่งเป็นแหล่งอาหารสำคัญของสารต้านอนุมูลอิสระ นั้นช่วยลดความเสี่ยงต่อการเกิดโรคเรื้อรังที่สัมพันธ์กับอาหาร เช่น โรคมะเร็ง โรคเบาหวาน โรคหัวใจ โรคหลอดเลือดหัวใจ โรคสมอง (เช่น อัลไซเมอร์) เป็นต้น (พีระพรรณ, 2558) โดยผลดังกล่าวมาจากความเกี่ยวข้องกับฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารประเภทวิตามินซี เบต้าแคโรทีนแคโรทีนอยด์ รวมถึงสารกลุ่มโพลีฟีนอลิก โดยวิธีที่จะได้รับสารต้านอนุมูลอิสระ คือ การรับประทานเข้าไปเป็นอาหารประจำวัน (บังอร และ ศิริลักษณ์, 2549)

แต่พบว่า การปลูกพืชแบบเกษตรอุตสาหกรรม โดยเฉพาะอย่างยิ่งกับพืชที่ไม่ใช่พืชพื้นบ้านหรือที่มีในท้องถิ่น มักมีโรคและแมลงรบกวน เกษตรกรจึงแก้ปัญหาโดยการใช้ยาฆ่าแมลง ส่งผลให้เกิดอันตรายต่อสุขภาพผู้บริโภคได้ การรณรงค์ให้บริโภคผักพื้นบ้าน ซึ่งมีงานวิจัยหลายชิ้นที่สรุปว่า ผักพื้นบ้านเป็นผักที่มีความแข็งแรงทนทานต่อโรคและแมลง เหมาะสมกับภูมิอากาศและภูมิประเทศของประเทศไทย ทำให้ไม่มีความจำเป็นในการใช้สารเคมีเพื่อดูแลพืช จึงช่วยให้ผู้บริโภคลดโอกาสที่จะสัมผัสกับสารเคมีลงได้ นอกจากนี้ยังพบว่า ผักพื้นบ้านมีคุณค่าทางโภชนาการสูง มีสรรพคุณทางยาสมุนไพรอยู่มาก หากบริโภคเป็นประจำอาจสามารถป้องกัน บำรุง และรักษาความเจ็บป่วยได้ ประกอบกับสภาพเศรษฐกิจและสังคมในปัจจุบันที่ผู้บริโภคต้องการความปลอดภัยจากการบริโภคและความมั่นคงทางสุขภาพ และกระแสสังคมที่ย้อนกลับมาสนใจยาสมุนไพรเพิ่มมากขึ้น (บังอร และศิริลักษณ์, 2549)

ดังนั้นผู้วิจัยจึงมีความสนใจที่จะศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจาก ผักโขม ผักปลัง มะระขี้นก และผักแพว ซึ่งเป็นพืชสมุนไพรและที่เป็นแหล่งสำคัญของสารต้านอนุมูลอิสระ สามารถนำมารับประทานหรือประกอบอาหารได้ วิธีที่ใช้ในทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระมีหลายวิธีด้วยกัน ได้แก่ การฟอกสีอนุมูลอิสระเอบีทีเอส (ABTS) การวิเคราะห์ความสามารถในการรีดิวซ์เฟอร์ริกของสารต้านอนุมูลอิสระ และทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธีการทำลายอนุมูลอิสระดีพีพีเอช(DPPH radical) ซึ่งเป็นวิธีที่ง่าย สะดวกรวดเร็วและสามารถนำไปประยุกต์ใช้กับตัวอย่างได้หลายชนิด โดยในการศึกษาครั้งนี้ใช้วิธีการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธีการทำลายอนุมูลอิสระดีพีพีเอช (DPPH radical) จากสารที่สกัดได้จากใบ ซึ่งเป็นส่วนที่นิยมนำมารับประทานมากที่สุด เพื่อเป็นฐานข้อมูลทางวิทยาศาสตร์ในการสนับสนุนฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระของผักโขม ผักปลัง มะระขี้นก และผักแพว และเพิ่มคุณค่าของผักพื้นบ้านไทยให้มีมูลค่ามากขึ้น และนำไปประยุกต์ใช้ในทางการแพทย์ต่อไป

## 1.2 วัตถุประสงค์ของโครงการวิจัย

1.2.1 เพื่อศึกษาวิธีการสกัดสารสำคัญจากตัวอย่างผักโขม ผักปลัง มะระขี้นก และผักแพว

1.2.2 เพื่อหาสภาวะที่เหมาะสมที่ใช้ในการสกัดตัวอย่างผักโขม ผักปลัง มะระขี้นก และผักแพว

1.2.3 เพื่อศึกษาผลของระยะเวลาและอุณหภูมิที่ใช้ในการสกัดตัวอย่างผักโขม ผักปลัง มะระขี้นก และผักแพว

1.2.4 เพื่อทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของผักโขม ผักปลัง มะระขี้นก และผักแพว ด้วยวิธีทำลายอนุมูลอิสระ DPPH

## 1.3 ขอบเขตของโครงการวิจัย

1.3.1 พืชที่ใช้อยู่ในงานวิจัยคือ ผักโขม ผักปลัง มะระขี้นก และผักแพว ในชุมชนตำบลอีสาน อำเภอเมือง จังหวัดบุรีรัมย์

1.3.2 ตัวทำละลายที่ใช้ในการสกัดตัวอย่างพืชคือ เอทานอล (Ethanol) ไฮโดรคลอลิก แอซิด (Hydrochloric acid)

1.3.3 สภาวะที่ใช้ในการสกัด

1.3.3.1 อุณหภูมิ ได้แก่ อุณหภูมิห้อง 50 และ 60 องศาเซลเซียส

1.3.3.2 เวลา ได้แก่ 30 60 และ 120 นาที

1.3.3.3 ปริมารตของตัวทำละลายที่ใช้ในการสกัด คือ 20 50 และ 100 มิลลิลิตร

1.3.4 วิธีการทดสอบทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระคือ DPPH radical scavenging assay

## 1.4 ทฤษฎี สมมุติฐาน

1.4.1 สภาวะที่เหมาะสมในการสกัดพืชสมุนไพรมีผลต่อการสกัดสารสำคัญในตัวอย่าง

1.4.2 พืชสมุนไพรต่างชนิดกันมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระแตกต่างกัน

1.4.3 ผักพื้นบ้านบางชนิดมีคุณสมบัติเป็นพืชสมุนไพร

# บทที่ 2
# เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

## 2.1 ความรู้ทั่วไปเกี่ยวกับผักพื้นบ้าน

ผักพื้นบ้าน หมายถึง พรรณพืชผักพื้นบ้านหรือพรรณไม้พื้นเมืองในท้องถิ่นที่ชาวบ้านนำมาบริโภคเป็นผัก ตามวัฒนธรรมการบริโภคของท้องถิ่นที่ได้มาตามแหล่งธรรมชาติ จาก สวน นา ไร่ หรือชาวบ้านนำมาปลูกไว้ใกล้บ้านเพื่อสะดวกในการนำมาบริโภค ผักพื้นบ้านเหล่านี้ อาจมีชื่อเฉพาะตามท้องถิ่น และนำไปประกอบอาหารพื้นเมืองตามกรรมวิธีเฉพาะแต่ละท้องถิ่น
(เมฆ, 2541)

กล่าวได้ว่าผักพื้นบ้านเกิดมาเคียงคู่กับการดำรงชีวิตของมนุษย์เราเลยทีเดียว ในทางมนุษยวิทยาและสังคมวิทยาได้บันทึกไว้ว่า ตั้งแต่สมัยที่มนุษย์หาของป่าล่าสัตว์นั้น อาหารประเภทพืชผักมีบทบาทเป็นอาหารหลักให้กับมนุษย์ถึงร้อยละ 80 ของอาหารที่รับประทานกันทั้งหมด จากการศึกษาการดำรงชีวิตของมนุษย์เผ่าชนต่างๆ พบว่า การหาผักและผลไม้ทำให้มนุษย์มีอาหารรับประทานได้นานวัน กว่าการล่าสัตว์ต่อครั้ง และยังพบว่าชนเผ่าเหล่านี้มีสุขภาพแข็งแรงกว่าชนเผ่าที่เอาแต่ล่าสัตว์อย่างเดียว จึงเป็นเหตุให้นักพฤกษศาสตร์ได้ให้ความสนใจ ศึกษาคุณประโยชน์เกี่ยวกับผักบางชนิดที่มีความเป็นมาเกี่ยวข้องกับการดำรงชีวิตของมนุษย์มาเป็นพันๆ ปี

ในเมืองไทยทุกวันนี้ เริ่มมีกลุ่มศึกษาประโยชน์ของผักพื้นบ้านในมิติต่างๆ กันมากขึ้น พบว่าผักบางชนิดก็เป็นของไทยแต่ดั้งเดิม แต่บางชนิดก็พบว่ามีการนำเข้าจากต่างประเทศนำมาปลูกในเมืองไทยนมนาน จนมีการปรับตัวเข้ากับสภาพแวดล้อม จนกลายเป็นผักพื้นบ้านไทยไปแล้วก็มี
(เมฆ, 2541)

ซึ่งผักพื้นบ้านแต่ละชนิดมีความสำคัญที่แตกต่างกันออกไป แต่โดยสรุปแล้วมีความสำคัญดังนี้ คุณค่าทางอาหารและยา ผักพื้นบ้านมีคุณค่าทางโภชนาการสูง ให้วิตามิน เกลือแร่ น้ำตาล และกากอาหาร ซึ่งเป็นประโยชน์ต่อร่างกาย ผักพื้นบ้านมีคุณค่าทางยารักษาโรคได้ เนื่องจากผักพื้นบ้านมีหลายชนิด แต่ละชนิดย่อมมีรสชาติแตกต่างกันออกไป รสชาติเหล่านี้ล้วนมีสรรพคุณทางยาทั้งสิ้น ดังเช่น รสหวาน ช่วยบำรุงกำลังทำให้ชุ่มชื่น แต่ถ้ากินมากไปย่อมทำให้ง่วงเหงาหาวนอนและเกียจคร้าน รสเค็ม ช่วยแก้โรคที่เกี่ยวข้องกับผิวหนัง เช่น ชา ค้น แต่ถ้ากินมากไปจะทำให้ร้อนใน กระหายน้ำ รสเปรี้ยว ช่วยกัดฟอกเสมหะ กระตุ้นน้ำลาย เจริญอาหาร หากกินมากไปทำให้ท้องอืด ร้อนใน รสฝาด มีฤทธิ์ฝาดสมานรักษาแผล แก้ท้องเสีย หากกินมาไปทำให้ท้องผูก ท้องอืด รสขม ช่วยแก้อาการเพ้อ คลั่ง ลดไข้ โลหิตเป็นพิษ หากกินมากไปจะทำให้อ่อนเพลีย ไร้เรี่ยวแรง นอกจากนั้นยังปลอดสารพิษและยาฆ่าแมลง เพราะผักพื้นบ้านเป็นผักที่ขึ้นตามธรรมชาติ ซึ่งแตกต่างไปตามชนิดของผัก ถ้านำมาปลูกก็ดูแลรักษาง่ายราคาประหยัด ผักพื้นบ้านหามาประกอบอาหารได้ง่ายตามสภาพท้องถิ่น หากจำเป็นต้องซื้อ มีจำหน่ายตามตลาดในท้องถิ่น หาซื้อง่าย ราคาถูก เป็นการประหยัดทั้งทรัพย์และประหยัดชีวิตที่ไม่ต้องไปเสี่ยงกินผักที่อาจปนเปื้อนยาฆ่าแมลงอีกด้วย

ผักโขม หรือ ผักขม ชื่อวิทยาศาสตร์ว่า Amaranthus lividus L. จัดอยู่ในวงศ์ *Amaranthaceae* ไม่ได้มีรสชาติขมเหมือนชื่อ แต่กลับมีรสชาติออกหวานหน่อยๆ และประกอบด้วย โปรตีน วิตามินเอ วิตามินบี 2 วิตามินบี 6 วิตามินบี 9 วิตามินเค ธาตุแคลเซียม ธาตุเหล็ก ธาตุ

แมกนีเซียม ธาตุโพแทสเซียม ธาตุทองแดง ธาตุแมงกานีส และธาตุสังกะสี เป็นต้น ผักโขมมีสารต่อต้านอนุมูลอิสระหลายชนิด จึงมีส่วนช่วยในการชะลอวัยและความเสื่อมของเซลล์ต่างๆ ในร่างกาย ช่วยส่งเสริมการสร้างคอลลาเจน เพิ่มความยืดหยุ่นให้กับผิวหนัง จึงช่วยชะลอการเกิดริ้วรอยได้ ช่วยบำรุงและรักษาสุขภาพสายตา ป้องกันความเสื่อมของดวงตา มีส่วนช่วยบำรุงกระดูกและฟันให้แข็งแรง ลดความเสี่ยงของการเกิดโรคกระดูกพรุน เป็นต้น

ผักแขยง ชื่อวิทยาศาสตร์ Limnophila aromatica (Lam.) จัดอยู่ในวงศ์ *Scrophulariaceae*เป็นไม้ล้มลุกเนื้ออ่อน ลำต้นกลมกลวงและเป็นข้อๆ อาจแตกกิ่งมากหรือไม่แตกกิ่ง ลำต้นทอดเลื้อย ผิวเกลี้ยงหรือมีต่อม แตกรากจากข้อ ทั้งต้นและใบเมื่อนำมาหักจะมีกลิ่นหอมฉุนและเผ็ดร้อน สรรพคุณของผักแขยงป้องกันเส้นเลือดตีบตันและไข้ร้อนใน เป็นยาขับลมและเป็นยาระบายท้อง ใช้เป็นยาแก้พิษงู ใช้แก้อาการคัน กลาก และฝี เป็นต้น

ผักปลัง ชื่อวิทยาศาสตร์ Basella alba L. หรือ Basella rubra L. จัดอยู่ในวงศ์ *Basellaceae* เป็นไม้เถาเลื้อย ลำต้นและใบอวบน้ำ ขึ้นพาดพันรั้วหรือค้าง ใบรูปร่างคล้ายใบพลูแต่เล็กกว่านิดหน่อย ดอกสีแดงอ่อน ผลติดเป็นช่อ ผลขนาดเล็ก ผลอ่อนมีสีเขียว ผลสุกสีม่วงดำ ผักปลังนับเป็นผักที่มีคุณค่าทางอาหารสูงชนิดหนึ่ง เพราะมีธาตุเหล็กและแคลเซียมอยู่สูง นอกจากนี้ยังมีวิตามินเอ วิตามินบี และวิตามินซี อยู่มากด้วย สำหรับเมือกที่มีอยู่ในผักปลังนั้นมีคุณสมบัติเป็นยาระบายอ่อนๆ ช่วยให้ท้องไม่ผูก

หอมเป ชื่อวิทยาศาสตร์ Eryngium foetidum L. จัดอยู่ในวงศ์ *Apiaceae* เป็นผักที่มีกลิ่นหอมเฉพาะตัว มีใบสีเขียวอ่อน ขอบใบมีลักษณะคล้ายฟันเลื่อย สำหรับคุณค่าทางโภชนาการของหอมเปนั้นมีมากมายเพราะอุดมไปด้วยวิตามินและแร่ธาตุต่างๆ ไม่ว่าจะเป็น เบต้าแคโรทีน วิตามินเอ วิตามินบี1 วิตามินบี2 วิตามินบี3 วิตามินซี ธาตุแคลเซียม และธาตุเหล็ก เป็นต้น ประโยชน์ของหอมเปมีมากมาย ได้แก่ มีสารต่อต้านอนุมูลอิสระสูง ซึ่งช่วยชะลอการเสื่อมของเซลล์ต่างๆ ในร่างกาย ช่วยบำรุงกระดูกและฟันให้แข็งแรง สามารถยับยั้งและช่วยชะลอการขยายตัวของเซลล์มะเร็ง ป้องกันการเกิดโรคมะเร็ง ลดระดับความดันโลหิต รักษาสมดุลในร่างกายได้เป็นอย่างดี เป็นต้น

## 2.2 ข้อมูลพืชสมุนไพรที่ใช้ในการศึกษา

### 2.2.1 ผักโขม

**รูปที่ 2.1** ผักโขม

(ที่มา : https://th.wikipedia.org/wiki/ผักโขม)

**วงศ์** : Amaranthaceae

**ชื่อวิทยาศาสตร์**: *Amaranthus Lividus* Linn.

**ชื่อพื้นเมือง**: ผักโขม (กลาง) ผักโขม ผักโขม (ใต้) ผักโขมเกลี้ยง (แม่ฮ่องสอน) กระเหม่อลอเตอ (กระเหรี่ยง, แม่ฮ่องสอน)

**ลักษณะทางพฤกษศาสตร์** : ลักษณะของโขมเป็นไม้พุ่มเตี้ยและเป็นพืชล้มลุกปีเดียว สูง30-100เซนติเมตร ลำต้นอวบน้ำมีสีเขียวตั้งตรงแตกกิ่งก้านสาขามาก โคนมีสีแดงน้ำตาล ใบเป็นใบเดี่ยว รูปไข่คล้ายสามเหลี่ยมใบออกแบบสลับกว้าง 2.5-8.0 เซนติเมตรยาว 3.5-12.0 เซนติเมตร ผิวเรียบหรือมีขนเล็กน้อย ขอบใบเรียบ หลังให้เป็นคลื่นเล็กน้อย ดอกเป็นดอกช่อสีม่วงปนเขียว ออกดอกเป็นช่อตามซอกใบและปลายกิ่ง ดอกย่อยเรียงตัวอัดกันแน่น เมล็ดมีลักษณะกลมสีน้ำตาลเกือบดำ

**การขยายพันธุ์** : โดยใช้เมล็ด

**การใช้ประโยชน์** : ผักโขมเป็นผักใบเขียวที่อุดมด้วยวิตามินเอ กรดโฟเลต แคโรทีน วิตามินซี โพแทสเซียม ธาตุเหล็ก แมกนีเซียม แคลเซียม สังกะสี โปรตีน และไฟเบอร์ ผักใบเขียวอย่างผักโขมเปี่ยมด้วยสารต้านอนุมูลอิสระ ช่วยป้องกัน โรคมะเร็งโดยเฉพาะมะเร็งเต้านมและมะเร็งปอด ผักโขมช่วยขจัดสารพิษออกจากร่างกาย ช่วยชะลอความแก่ วิตามินเอช่วยบำรุงรักษาสายตาบำรุงกระดูกและฟันวิตามินซีช่วยเพิ่มภูมิคุ้มกันแก่ร่างกายให้ปลอดภัยจากโรค ช่วยเสริมสร้างคอลลาเจนเพื่อเพิ่มความยืดหยุ่นให้แก่ผิว ผักโขมยงมีธาตุเหล็กสูงและช่วยบำรุงเลือดอีกด้วย

**ฤดูที่ใช้ประโยชน์** : ตลอดทั้งปี (วิกิพีเดีย สารานุกรมเสรี, 2554)

**2.2.2 ผักปลัง**

**รูปที่ 2.2** ผักปลัง
(ที่มา : http://frynn.com/ผักปลัง)

**วงศ์** : Basellaceae

**ชื่อวิทยาศาสตร์** : *Basella Alba* L., *Basella rubra* L.

**ชื่อพื้นเมือง** : ผักปลังขาว (ภาคกลาง), ผักปั๋ง (เหนือ)

**ลักษณะทางพฤกษศาสตร์** : ลักษณะของลำต้นเป็นไม้เลื้อยพันต้นไม้อื่น ลำต้นอวบน้ำสีเขียวอ่อน ผิวเรียบเป็นมัน มีใบเดี่ยวเรียงสลับ รูปหัวใจขอบใบเรียบ แผ่นใบเป็นมันวาว สีเขียวอ่อน ความกว้างและความยาวประมาณ 5.0–8.0 เซนติเมตร อวบน้ำ มีดอกช่อออกตามซอกใบ ดอกติดที่ก้านออกสีขาวหรือสีชมพูอ่อน ลักษณะผลทรงกลมสีเขียวขนาด 0.3–0.5 เซนติเมตร เมื่อสุกจะมีสีน้ำตาลเข้มหรือดำภายในผลมีเมล็ดทรงกลม มีสีน้ำตาล เปลือกแข็ง

**การขยายพันธุ์** : เมล็ด หรือ ปักชำเถา

**การใช้ประโยชน์** :

ทางอาหาร : ยอดและดอกอ่อนนำไปต้ม หรือนึ่งให้สุกรับประทานเป็นผักจิ้มน้ำพริกแกงส้ม แกงแค ผัดกับแหนมหรือแกงใส่อ่อมหอย

ทางยา : ก้าน แก้พิษฝี แก้ขัดเบา แก้พรรดึก แก้ท้องผูก ลดอาการแน่นท้อง ใบ ขับปัสสาวะ แก้อาการอักเสบ แก้กลาก บรรเทาอาการผื่นคัน น้ำคั้นจากใบเป็นเมือกใช้ทาช่องคลอดช่วยช่วยให้หญิงมีครรภ์คลอดง่ายขึ้น ดอก ทาแก้กลากเกลื้อน ราก แก้มือเท้าด่าง แก้รังแค แก้ พรรดึก ใช้เป็นยาถูนวดให้ร้อน

**ฤดูที่ใช้ประโยชน์** : ตลอดปี(ฐานข้อมูลสมุนไพร, คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี, ผักปลัง, 2558)

**2.2.3 มะระขี้นก**

**รูปที่ 2.3** ผักมะระขี้นก

(ที่มา : http://www.the-than.com/samonpai/sa_24.html)

**วงศ์** : Cucurbitaceae

**ชื่อวิทยาศาสตร์** : *Momordica charantia* Linn.

**ชื่อพื้นเมือง** : ผักไห่ มะไห่ มะนอย มะห่วย ผักไซ (เหนือ) สุพะซู สุพะเด (กะเหรี่ยง-แม่ฮ่องสอน) มะร้อยรู (กลาง) ผักเหย (สงขลา) ผักไห (นครศรีธรรมราช) ระ (ใต้) ผักสะไล ผักไส่ (อีสาน) โกควยเกี๋ยะ โควกวย (จีน) มะระเล็ก มะระขี้นก (ทั่วไป)

**ลักษณะทางพฤษศาตร์** : ลักษณะของมะระขี้นก ราก เป็นพวก cap root system มีรากแก้วแทงลงไปในดินและมีรากแขนงแตกออกไปจากรากแก้วอีก ลำต้น ลักษณะเป็นเถาเลื้อยมีสีเขียว ขนาดเล็ก เป็นเหลี่ยม 5เหลี่ยม มีขนอยู่ทั่วไป มีมือเกาะที่เจริญออกมาจากส่วนของข้อ ใช้สำหรับยึดจับ ใบ เป็นใบเดี่ยว รูปฝ่ามือมีสีเขียวอ่อน และมีขนอ่อนนุ่มปกคลุมเล็กน้อย เมื่อแก่จัดจะมีสีเขียวเข้ม ออกเรียงสลับกัน ก้านใบยาว ขอบใบเว้าหยักลึกเข้าไปในตัวใบ 5–7 หยัก ปลายใบแหลม ใบกว้าง 4.5 – 11.5เซนติเมตร ยาว 3.5–10.0เซนติเมตร เส้นใบแยกออกจากจุดเดียวกัน แล้วแตกออกเป็นร่างแห ดอก เป็นดอกเดี่ยว ดอกตัวผู้และดอกตัวเมียแยกเพศกัน อยู่ในต้นเดียวกัน เจริญมาจากข้อ ดอกตัวผู้ เส้นผ่าศูนย์กลาง 1–1.5 นิ้ว กลีบนอก 5 กลีบ สีเขียวปนเหลือง กลีบในมี 5 กลีบ สีเหลืองสด เกสรตัวผู้มี 3 อัน แต่ละอันจะมีเรณูและก้านชูเกสรตัวผู้อย่างละ 3 อัน เจริญออกมาก่อนดอกตัวเมีย เส้นผ่าศูนย์กลาง 1–1.5 นิ้ว มีรังไข่แบบ infarior ovary ประกอบด้วยกลีบดอก 5 กลีบ สีเขียวปนเหลือง กลีบใน 5 กลีบ สีเหลืองสด เกสรตัวเมียมีรังไข่ 1 อัน stima 3 คู่ ก้านชูเกสรตัวเมีย 3 อัน ผล รูปร่างคล้ายกระสวยสั้น ๆ ผิวเปลือกขรุขระและมีปุ่มยื่นออกมา ผลอ่อนมี สีเขียว เมื่อแก่เต็มที่จะเปลี่ยนเป็นสีเหลืองอมแดง ปลายผลจะแตกอ้าเป็น 3แฉก ผลยาว 5.0–7.0 เซนติเมตร เส้นผ่าศูนย์กลางผล 2.0–4.0 เซนติเมตร เมล็ด เมื่อแก่เต็มที่มีเมือกสีแดงสดห่อหุ้มเมล็ดอยู่ เมล็ดมีรูปร่างกลม รี แบน ปลายแหลมสีฟางข้าว

**การขยายพันธ์** : ใช้เมล็ด

**การใช้ประโยชน์** : ราก แก้พิษ รักษาริดสีดวงทวาร ฝาดสมาน แก้พิษดับร้อน แก้บิด ถ่ายอุจจาระเป็นเลือด แผลฝีบวมอักเสบ ปวดฟันที่เกิดจากลมร้อนเถา ยาระบายอ่อน ๆ แก้พิษทั้งปวง

เจริญอาหาร แก้โรคลมเข้าข้อและเท้าบวม แก้ปวดตามข้อมือและนิ้วมือนิ้วเท้า แก้โรคม้าม แก้โรคตับ ขับพยาธิในท้อง แก้พิษน้ำดีพิการ ลดเสมหะ บำรุงน้ำดี แก้พิษดับร้อน แก้บิด แก้ฝีอักเสบ แก้ปวดฟัน แก้ไข้ ใบ แก้ไข้ ดับพิษร้อน แก้ปากเปื่อยเป็นขุย ขับพยาธิ ขับระดู บีบมดลูก ขับลม แก้ธาตุไม่ปกติ ทำให้นอนหลับ ฯลฯ (กรณ์กาญจน์, 2552)

**2.2.4 ผักแพว**

**รูปที่ 2.4** ผักแพว
(ที่มา : http://thaiherbal.org/1512/1512)

**ชื่อสามัญ** : Vietnamese Coriander

**ชื่อวิทยาศาสตร์** : Polygonum odoratum Lour.

**วงศ์** : Polygonaceae

**ชื่อท้องถิ่น** : ผักแพ้ว ผักพริกม้า ผักจันทน์โฉม (ภาคอีสาน) ผักไผ่ ผักแพว (ภาคเหนือ)

**ลักษณะทั่วไป** : เป็นผักพื้นบ้านจำพวกพวกพืช ล้มลุกที่มีลักษณะใบเรียวยาว และมีกลิ่นแรง ลำต้นเป็น ข้อปล้องเหมือนไผ่ ซึ่งจะเกิดขึ้นเองตามธรรมชาติ ผักแพวมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่ดีโดยมีสารต้านอนุมูลอิสระมากมายเป็นส่วนประกอบ ได้แก่ rutin, catechin, quercetin, kampferol และ isorhamnetin สารสกัดจากผักแพวมีฤทธิ์ในการยับยั้ง การเกิด lipid peroxidation และมีผลในการรักษาระดับของกลูต้าไธโอนในร่างกายของสัตว์ทดลอง

จากการศึกษาวิจัยอย่างกว้างขวางพบว่า สาร catechins เป็นสารประกอบฟีโนลิก (phenolic compound) เป็นสารโภชนเภสัช (nutraceutical) ที่มีศักยภาพในด้านประโยชน์กับสุขภาพ มีฤทธิ์เป็นสารต้านอนุมูลอิสระที่จับกับอนุมูลอิสระและเป็น chelating agent ที่รวมตัวกับไอออนของโลหะหนัก ส่วน quercetin เป็นสารพฤกษเคมีหรือไฟโตนิวเทรียนท์ (phytonutrients)

**ส่วนที่ใช้** : ใบ ดอก ราก

**สรรพคุณ** : มีฤทธิ์ต่อต้านหรือป้องกันโรคได้หลายประเภท เช่น มีฤทธิ์ในการป้องกันการอักเสบ ป้องกันแบคทีเรียและไวรัสป้องกันอาการแพ้ปกป้องหลอดเลือด ป้องกันมะเร็ง ชะลอความชรา ป้องกันโรคที่มาพร้อมกับความเสื่อมต่างๆ รวมทั้งโรคทางระบบประสาทที่เกิดจากความเสื่อม (neurodegenerative diseases) (นันทิยืและคณะ, 2556)

**2.3 วิธีที่ใช้ในการศึกษา**

2.3.1 การสกัด

2.3.1.1 หลักการสกัดสารด้วยตัวทำละลาย

เติมตัวทำละลายที่เหมาะสมลงในตัวอย่างที่ต้องการสกัด จากนั้นก็เขย่าแรงๆ หรือนำไปต้ม เพื่อให้ตัวอย่างหรือสารที่ต้องการสกัดละลายในตัวทำละลาย สารสกัดได้นั้นยังเป็นสารละลาย เพื่อต้องการทำให้สารบริสุทธิ์ ควรนำสารที่ได้ไปแยกตัวทำละลายออกมาก่อน โดยนำไประเหยหรือทำการกลั่นต่อไป

2.3.1.2 การสกัดด้วยตัวทำละลาย (solvent extraction)

1. การสกัดสารและแยกสารด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟฟีเป็นการทำให้สารมีความบริสุทธิ์ขึ้นโดยอาศัยการละลายที่แตกต่างกัน และเป็นเทคนิคที่นิยมใช้ในการแยกสารต่างๆ ออกจากสารผสม การทดลองนี้จะสกัดสารรงควัตถุ (pigment) ออกจากผลิตภัณฑ์ธรรมชาติและจากผลิตภัณฑ์สำเร็จรูปและนำสารที่สกัดได้ไปตรวจสอบความบริสุทธิ์และความเหมือนกัน (identity) ด้วยวิธีโครมา-โทกราฟฟี

2. การแยกสารบางชนิดออกจากสารผสมโดยใช้ตัวทำละลายสกัดออกมานั้นเป็นเทคนิคที่ใช้กันมากในเคมีอินทรีย์ สารผสมที่นำมาสกัดเป็นสารจากผลิตภัณฑ์ธรรมชาติ สารจากการสังเคราะห์ในห้องปฏิบัติการหรือสารจากผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม การสกัดสารด้วยวิธีนี้อาศัยสมบัติของการทำละลายของสารที่ต่างกันในตัวทำละลายชนิดต่างๆ สารผสมที่นำมาสกัดอาจเป็นได้ทั้งของแข็งและของเหลว แต่ตัวทำละลายที่ใช้สกัดมักเป็นของเหลว ซึ่งการสกัดทำได้หลายวิธี

2.3.1.2 วิธีการสกัด

1. การสกัดสารจากของแข็งสารผสมที่เป็นของแข็งมีมากมาย โดยเฉพาะผลิตภัณฑ์ธรรมชาติที่เป็นพืชและสัตว์ตัวอย่างเช่น ใบไม้ ดอกไม้ เปลือกไม้ รากไม้ ผลไม้ เมล็ด และอื่นๆ การสกัดโดยทั่วไปนั้นทำให้ของแข็งแห้งเพื่อขจัดน้ำออกก่อนแล้วจึงบดให้ละเอียดเพื่อทำให้มีพื้นที่ผิวมากซึ่งจะสกัดสารออกมาได้มากที่สุด จากนั้นจึงนำไปแช่ในตัวทำละลายที่อุณหภูมิ หรือต้มที่อุณหภูมิของจุดเดือดของตัวทำละลายที่ใช้สกัดตัวทำละลายที่ใช้ได้แก่ เฮกเซน อีเธอร์ เมธิลีนคลอไรด์ คลอโรฟอร์ม อะซีโตน แอลกอฮอล์ หรือน้ำ เมื่อแช่หรือต้มใน ระยะหนึ่งจึงกรองเอาของแข็งออก และนำสารละลายที่ได้ไประเหยเอาตัวทำละลายออกจะได้สารสกัดขั้นต้น (crude extract ) ส่วนของแข็งที่เหลืออาจนำไปสกัดต่อได้อีก ปกในกรณีที่สกัดขั้นแรกด้วยตัวทำละลายที่ไม่มีขั้วเมื่อจะสกัดต่อจะใช้ตัวทำละลายที่มีขั้วสูงขึ้นวิธีนี้จะทำให้ได้สารสกัดขั้นต้นที่มีสารผสมหลายชนิดเมื่อนำไปแยกต่อจะได้สารที่บริสุทธิ์ ซึ่งสามารถนำไปวิเคราะห์หาโครงสร้างในขั้นต่อไปการสกัดสารโดยต้มกับตัวทำละลายนั้น วิธีที่นิยมใช้มากคือ การสกัดแบบต่อเนื่อง (Continuous extractor) โดยใช้เครื่องมือที่เรียกว่าเครื่องสกัดแบบซอห์กเล็ท (soxhlet extractor) (นภาพรและคณะ, 2556)

**รูปที่ 2.**5 เครื่องสกัดซอห์กเล็ท

(ที่มา : https://www.google.co.th/search?q=เครื่องสกัด+ซอกเล็ต)

2. การสกัดสารจากของเหลว

เมื่อสารที่ต้องการสกัดเป็นของเหลว หรือเป็นสารที่อยู่ในตัวทำละลาย การสกัดจะต้องเลือกตัวทำละลายที่เหมาะสม คือ ไม่ละลายกับตัวทำละลายที่มีอยู่เดิม ซึ่งจะทำให้แยกชั้นออกจากกันได้และต้องละลายสารที่ต้องการได้ดีกว่าตัวทำละลายเดิม ตามหลักการกระจายสาร (Distribution law) การละลายของสารใดสารหนึ่งในตัวทำละลายสองชนิด จะมีการกระจายตัวของสารในตัวทำละลายทั้งสองชนิดในอัตราส่วนคงที่

2.3.1.3 หลักการเลือกตัวทำละลายให้เหมาะสมกับสารที่ต้องการแยก

1. ตัวทำละลายสามารถละลายสารที่ต้องการสกัดได้

2. ตัวทำละลายจะต้องไม่ละลายสารอื่นๆที่เราไม่ต้องการสกัด

3. ตัวทำละลายจะต้องไม่ทำปฏิกริยากับสารที่เราต้องการสกัด ตัวทำละลาย สามารถแยกออกจากสารที่เราต้องการสกัดได้ง่าย มีจุดเดือดต่ำ ระเหยง่าย

4. ตัวทำละลายไม่เป็นพิษ และมีราคาถูก

2.3.1.4 ประโยชน์ของการสกัดด้วยตัวทำละลาย

1. ใช้สกัดน้ำมันพืชจากเมล็ดพืช เช่นน้ำมันงา รำ ถั่ว ปาล์ม นุ่น บัว นิยมใช้เฮกเซน เป็นตัวทำละลาย

2. สกัดสารมีสีออกจากพืช

3. ใช้สกัดน้ำมันหอมระเหยออกจากพืช

4. ใช้สกัดยาออกจากสมุนไพร (นิธิ, 2555)

ซึ่งงานวิจัยนี้จะใช้วิธีการศึกษาโดยการสกัดแบบร้อน คือ เป็นการสกัดที่ใช้อุณหภูมิหรือความร้อน โดยใช้ตัวทำละลายในการสกัดเช่นเดียวกับวิธีอื่นๆ จากนั้นนำไปต้มที่อุณหภูมิต่างๆ เพื่อจะได้สารสกัดตัวอย่างออกมา วิธีนี้สามารถทำได้ง่าย และสะดวก

**2.4 วิธีที่ใช้ทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ**

สำหรับวิธีที่ใช้ในทดสอบความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ มีหลายวิธีได้แก่

2.4.1 วิธี DPPH radical

DPPH• เป็นอนุมูลไนโตรเจนที่คงตัว มีสีม่วงอยู่ในรูปอนุมูลอยู่แล้ว โดยไม่ต้องทำปฏิกิริยาเพื่อให้เกิดอนุมูล การวิเคราะห์เป็นการวัดความสามารถในการรีดิวซ์ การวัดทำโดยใช้เครื่องสเปคโตรวัดการลดลงของสี เมื่อเติมสารต้านอนุมูลลงไป โดยวัดการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 515 นาโนเมตร ดังสมการ

$$DPPH\bullet + AH \longrightarrow DPPH\text{-}H + A\bullet$$

ข้อดี ของวิธีนี้มีข้อดี คือ ง่าย ใช้เครื่องมือสามัญที่มีทั่วไป นิยมใช้เป็นวิธีเบื้องต้นในการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลของสารต้านอนุมูลจากธรรมชาติ ยกเว้นสารกลุ่มแคโรตินอยด์ที่มีดูดกลืนแสงในย่านเดียวกัน

ข้อด้อย ของวิธีนี้คือ อนุมูล DPPH• มีความคงตัวไม่ไวต่อปฏิกิริยาเหมือนอนุมูลที่เกิดในเซลล์หรือร่างกาย ดังนั้นวิธีนี้จึงไม่สามารถแยกแยะจัดอันดับอนุมูลที่มีความไวสูงได้นอกจากนี้โครงสร้างทางเคมีของ DPPH• ที่แสดงจะเห็นว่าอิเลคตรอนเดี่ยวของอนุมูลอิสระจะถูกบดบังด้วยวงเบนซีน 3 วง และหมู่ไนโตร ทำให้สารต้านอนุมูลที่มีฤทธิ์แรงแต่มีขนาดใหญ่บางสารไม่สามารถเข้าไปทำปฏิกิริยาขจัดอนุมูลหรือเกิดปฏิกิริยาช้ากว่าความเป็นจริงทั้งๆ ที่สารต้านอนุมูลนั้นมีฤทธิ์ดีการขจัดอนุมูลเปอร์ออกซี นอกจากนี้สารรีดิวซ์สามารถทำให้สี DPPH• จางลงได้อีกด้วย (โครงการพิเศษเรื่องฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของผักพื้นบ้าน,มหาวิทยาลัยมหิดล, พ.ศ. 2549)

2.4.2 วิธี Scavenging activity of ABTS

เป็นการวัดความสามารถในการฟอกสีของอนุมูลอิสระเอบีทีเอส ($ABTS^{\cdot+}$) หรือ 2,2,-azinobis (3-ethylbenzothiazoline–6–sulfonic acid) radical ซึ่งมีสีเขียวปนน้ำเงินให้ค่าการดูดกลืนแสงสูงสุดที่ความยาวคลื่น 734 นาโนเมตร เมื่อเติมสารต้านอนุมูลอิสระลงไปจะทำให้มีสีลดลง สามารถนำไปคำนวณเป็น % Inhibition ได้ดังสมการ

$$\% \text{ Inhibition} = [(A734 \text{ control} - A734 \text{ test control}) / A734 \text{ control}] \times 100$$

ข้อดีของวิธีนี้ คือ อนุมูลเอบีทีเอส $ABTS^{\cdot+}$ ละลายได้ดีในน้ำและตัวทำละลายอินทรีย์ สามารถทำปฏิกิริยาได้อย่างรวดเณร็วกับสารต้านอนุมูลอิสระภายในเวลา 30 นาที ใช้ได้ในช่วงพีเอสที่กว้าง ดังนั้นจึงตรวจสอบฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระของสารที่ละลายได้ในน้ำและที่ละลายในไขมัน

ข้อเสีย คือ อนุมูลบีทีเอส ($ABTS^{\cdot+}$) ไม่เป็นสารธรรมชาติที่พบในร่างกายหรือในเซลล์ของสิ่งมีชีวิต (อรวรรณ, 2555; Re et al., 1999)

2.4.3 วิธี Hydroxyl (OH) radical scavenging activity

Hydroxyl (OH•) เป็นอนุมูลอิสระที่ว่องไวสามารถจู่โจมชีวโมเลกุลที่สำคัญในร่างกายโดยเกิดปฏิกิริยาลูกโซ่อย่างต่อเนื่อง (Spencer et al, 1994) สิ่งมีชีวิตสามารถสร้าง OH• Radical โดย 2 กลไกลได้แก่

ก. ปฏิกิริยาของไอออนโลหะแทรนซิชันกับไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (OH) แม้ว่าเกลือของโลหะแทรนซิชันทั่วไปทำปฏิกิริยากับ $H_2O_2$ ได้ OH• แต่ในร่างกายนั้นเป็นไปไม่ได้ว่าเกิดจากเหล็ก $Fe^{2+}$ ทำปฏิกิริยากับ $H_2O_2$ ได้ OH• โดยเรียกปฏิกิริยานี้ว่า Fenton reaction ดังสมการ

$$Fe^{2+} + H_2O_2 \longrightarrow Fe^{2+} + OH\bullet + OH^-$$

ข.การแตกตัวของน้ำเนื่องจากการถูกแสงหรือรังสี ดังสมการ

$$H_2O + hv \longrightarrow H_2O^{\cdot+} + e^-$$

$$H_2O^{\cdot+} + H_2O \longrightarrow OH^- + H_2O^+$$

ค. ในการศึกษาความสามารถในการยับยั้ง OH• Radical ของสารตัวอย่างต้องทำการสังเคราะห์ Hydroxyl radical(OH•) จากน้ำตาล deoxyribose โดยปฏิกิริยา Fenton reaction model system เมื่อเติมสาร Thiobarbituric acid (TBA) และ Trichloroacetic acid จะเกิดเป็นสีชมพู เมื่อเติมสารที่ต้องการทดสอบที่มีความสามารถในการยับยั้ง OH• Radical ลงไปจะทำให้สีชมพูสารละลายจางลงโดยสามารถตรวจสอบได้จากการวัดค่าการดูดกลืนแสงที่มีความยาวคลื่น 532 นาโนเมตร (Mathew and Abraham, 2006) จากนั้นไปคำนวณเป็น % Inhibition ได้ดังสมการ (อรวรรณ, 2555; Ohkawa et al., 1979)

$$\% \text{ Inhibition} = [(A532 \text{ control} - A532 \text{ test control}) / A532 \text{ control}] \times 100$$

2.4.4 วิธี Metal chelating activity

การวัดความสามารถโดยการแย่งจับกับโลหะเป็นวิธีหนึ่งที่นิยมใช้ในการหาความสามารถในการต้านออกซิเดชันของสารที่ต้องการทดสอบเพราะโลหะไอออนเป็นตัวการสำคัญในการเร่งปฏิกิริยา ทำให้เกิดสารต้านอนุมูลอิสระต่างๆมากมายหลายชนิดโดยเฉพาะธาตุเหล็กที่อยู่ในรูปเฟอร์รัสหรือ $Fe^{2+}$ จะทำปฏิกิริยาออกซิเดชันกับออกซิเจนในอากาศเกิดเป็นสารอนุมูล Superoxide anion radical ($O_2$) ซึ่งเป็นอนุมูลอิสระตัวเริ่มต้นที่ทำให้เกิดอนุมูลอิสระตัวอื่นต่อไป ดังนั้นวิธีวัดความสามารถในการแย่งจับโลหะ $Fe^{2+}$ ของสารที่ต้องการทดสอบนั้นอาศัยจากการวัดค่าการดูดกลืนแสง

ที่ความยาวคลื่นที่ 562 นาโนเมตร ที่มีค่าลดลงเมื่อเติมสาร Ferrozine ลงไปสารนี้จะไปจับกับ $Fe^{2+}$ แล้วอยู่ในรูป Ferrozine - $Fe^{2+}$ complex ซึ่งจะให้สีแดงและสารที่ต้องการทดสอบมีความสามารถในการแย่งจับกับ $Fe^{2+}$ จะอยู่ในรูปของ Antioxidant - $Fe^{2+}$ complex แล้วจะทำให้สีแดงของ Ferrozine - $Fe^{2+}$ complex จางลงได้เมื่อได้ค่าการดูดกลืนแสงแล้วนำไปคำนวณหา % Inhibition ได้ดังสมการ (อรวรรณ, 2555; Dinis et al.,1994)

% Inhibition = [(A562ontrol – A562 test control) / A562 control] x100

2.4.5 วิธี Superoxide radical scavenging

Superoxide anion radical ($O_2$) เป็นอนุมูลเริ่มแรกที่เกิดในเซลล์ของสิ่งมีชีวิตและเป็นตัวเริ่มต้นที่ทำให้เกิดอนุมูลอิสระตัวอื่นๆอีกมากมายจากการเกิดปฏิกิริยาลูกโซ่นอกจากจะทำให้อนุมูล-อิสระมีปริมาณเพิ่มมากขึ้นแล้วฤทธิ์และความแรงของอนุมูลอิสระที่เกิดจากปฏิกิริยาลูกโซ่เป็นอันตรายสูงขึ้นด้วยตัวของ $O_2^-$ จะมีความว่องไวน้อยกว่า $OH^-$ ซึ่งการเกิด $O_2^-$ เป็นดังสมการ

$$O_2 + e^- \longrightarrow O_2^-$$

$$O_2^- + O_2^- + 2H^+ \longrightarrow H_2O_2 + O_2$$

เมื่อ $O_2^{\cdot\cdot}$ ทำปฏิกิริยากับ $H_2O_2$ จะทำให้เกิด OH• เรียกปฏิกิริยานี้ว่า Haber Weiss reaction (Kappus, 1992) ดังสมการ

$$O_2^{\cdot\cdot} + H_2O_2 + H^+ \longrightarrow OH^{\cdot} + O_2 + H_2O$$

การศึกษาสมบัติการเป็นสารจับ $O_2^{\cdot\cdot}$ ของสารตัวอย่างซึ่ง $O_2^{\cdot\cdot}$ จะผลิตมาจากปฏิกิริยาออกซิเดชันของสารในระบบPhenazinemethosulphate(PMS)-Nicotinanide adenine dinucleotide(NADH) อนุมูล $O_2^{\cdot\cdot}$ ที่เกิดขึ้นจะทำปฏิกิริยากับสาร Nitroblue tetarzolium (NBT) ซึ่งมีสีเหลือง

ปฏิกิริยาระหว่าง $O_2^{\cdot\cdot}$ กับสาร NBT ให้ผลิตภัณฑ์เป็นสาร diformazan (DF) ที่มีสีน้ำเงิน และสามารถวัดค่าการดูดกลืนแสงได้ที่ 560 นาโนเมตร จากนั้นนำไปคำนวณเป็น % Inhibition ได้ดังสมการ (อรวรรณ, 2555; Nikishimi et al., 1994)

% Inhibition = [(A560ontrol – A560 test control) / A560 control] x100

2.4.6 วิธี Reducing power

ความสามารถของการเป็นตัวอิเล็กตรอนในปฏิกิริยาออกซิเดชันรีดักชันของสารที่ต้องการ ทดสอบสามารถใช้ในการหาความสามารถในการต้านออกซิเดชันได้

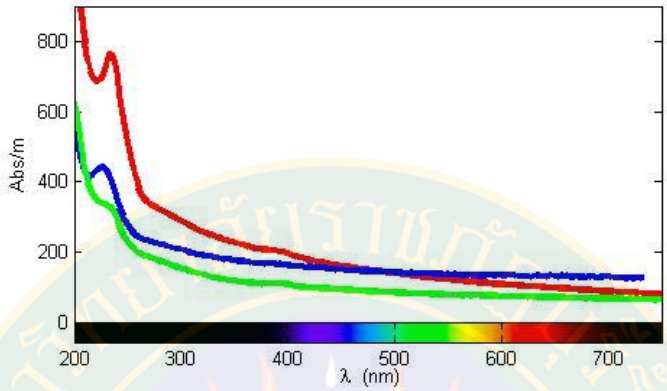
วิธีนี้เป็นการศึกษาความสามารถในการรีดิวซ์หรือให้อิเล็กตรอนของสารตัวอย่างที่ต้องการทดสอบแก่สารอนุมูลอิสระที่สังเคราะห์ขึ้นภายในระบบโดยสารที่ต้องการทดสอบจะเป็นตัวให้อิเล็กตรอนแก่อนุมูลอิสระที่ทำให้เปลี่ยนเป็นสารที่คงตัวอีกทั้งยังสามารถหยุดปฏิกิริยาลูกโซ่ของอนุมูลอิสระอีกด้วยโดยอาศัยจากการวัดปฏิกิริยา reduction ของ $Fe^{3+}$ $(CN^{-})_6$ ไปเป็น $Fe^{2+}$ $(CN^{-})_6$ ซึ่งจะทำให้มีสีน้ำเงินที่เข้มขึ้น สามารถตรวจสอบความสามารถในการรีดิวซ์ได้จากวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 700 นาโนเมตร ค่าการดูดกลืนแสงที่เพิ่มขึ้นแสดงถึงความสามารถในการรีดิวซ์มากขึ้น (อรวรรณ, 2555; Oyaizu.,1994)

ในการศึกษาครั้งนี้จะใช้วิธี DPPH โดยอนุมูล DPPH• ที่มีคุณสมบัติเป็นอนุมูลอิสระ ดังนั้นจึงสามารถนำอนุมูลดีพีพีเอสมาใช้ทดสอบหาความสามารถในการเป็นสามารถต้านอนุมูลอิสระเบื้องต้นของตัวอย่าง

**2.5 เครื่องมือที่ใช้ในการศึกษา**

2.5.1 หลักการของเครื่อง UV-VIS spectrophotometer

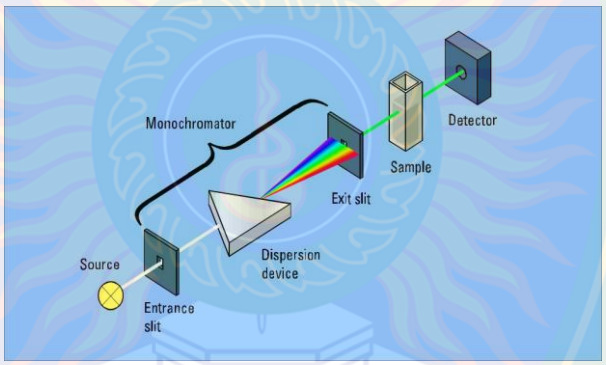
UV-VIS spectrophotometer เป็นเครื่องมือที่ใช้ในวิเคราะห์สารโดยอาศัยหลักการดูดกลืนรังสีของสารที่อยู่ในช่วงUltra violet (UV) และVisible (VIS) ความยาวคลื่นประมาณ 190-1000 nm ส่วนใหญ่เป็นสารอินทรีย์ สารประกอบเชิงซ้อน หรือสารอนินทรีย์ ทั้งที่มีสีและไม่มีสี สารแต่ละชนิดจะดูดกลืนรังสีในช่วงความยาวคลื่นที่แตกต่างกันและปริมาณการดูดกลืนรังสีก็ขึ้นอยู่กับความเข้มของสารนั้น การดูดกลืนแสงของสารต่างๆเป็นสัดส่วนโดยตรงกับความเข้มข้นของสาร จึงสามารถวิเคราะห์ได้ในเชิงคุณภาพและปริมาณ เป็นเทคนิคที่ให้สภาพไวที่ดี และใช้กันอย่างแพร่หลาย ผลที่ได้จากการวิเคราะห์ด้วยเทคนิคนี้จะแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสง (Absorbance) และค่าความยาวคลื่น (Wavelength) ซึ่งเรียกว่า Spectrum ดังรูป




**รูปที่ 2.6** UV-VIS spectrums

(ที่มา: http://en.wikipedia.org/wiki/File:UVVIS spectrum of bisulphide in sewage.jpg)

2.5.2 ส่วนประกอบที่สำคัญของเครื่อง UV-VIS spectrophotometer ประกอบไปด้วย




**รูปที่ 2.7** องค์ประกอบของเครื่อง UV-VIS spectrophotometer

(ที่มา : http://faculty.sdmiramar.edu/fgarces/LabMatters/Instruments/UV_Vis)

2.5.2.1 Light source แหล่งกำเนิดรังสีเป็นส่วนที่ให้รังสีในช่วงความยาวคลื่นที่ต้องการออกมาอย่างต่อเนื่องและคงที่ รวมทั้งมีความเข้มแสงที่มากพอ หลอดกำเนิดรังสีมีหลายชนิดตามความยาวคลื่นรังสีที่เปล่งออกมา เช่น ช่วง UV จะใช้หลอด H2 and D2 lamp ให้ความยาวคลื่นอยู่ในย่าน 160-380 nm และช่วง Vissible ใช้หลอด Tungsten/halogen ให้ความยาวคลื่นในช่วง 240-2,500 nm เป็นต้น

2.5.2.2 Monochromator เป็นส่วนที่ใช้ควบคุมแสงโดยจะทำให้แสงที่ออกมาจากต้นกำเนิดแสง ซึ่งเป็นพอลิโครเมติก ให้เป็นแสงโมโนโครเมติก ซึ่งเป็นแถบแสงแคบๆ หรือมีความยาวคลื่นเดียวใช้ฟิลเตอร์ปริซึมหรือ เกรตติ้ง

2.5.2.3 Cell sample เซลล์ที่ใช้บรรจุสารละลายตัวอย่าง บางครั้งอาจเรียกว่า Cuvettes ที่ใช้กันทั่วไปได้แก่เซลล์ที่ทำด้วยแก้วจะใช้ได้เฉพาะช่วงวิสิเบิล เพราะแก้วจะดูดกลืนรังสีในช่วงยูวีได้ และเซลล์ที่ทำด้วยซิลิกา และควอร์ตซ์ ซึ่งใช้ได้ทั้งช่วงยูวีและวิสิเบิล

2.5.2.4 Detector ทำหน้าที่ในการวัดความเข้มของรังสีที่ถูกดูดกลืนโดยการแปลงพลังงานคลื่นรังสีเป็นพลังงานไฟฟ้า เครื่องวัดรังสีมีหลายชนิดที่นิยม ได้แก่ Photomultiplier tube และเครื่องวัดแสงชนิดซิลิกอนไดโอด Silicon diode detector (จินดาพร, 2012)

**2.6 งานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับสารต้านอนุมูลอิสระ**

การศึกษางานวิจัยในครั้งนี้เป็นการศึกษาเกี่ยวกับการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระจากสารสกัดผักพื้นบ้าน โดยจะมีวิธีในการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH radical ทั้งนี้จะต้องมีงานวิจัยที่ได้ทำการศึกษาที่เกี่ยวกับการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระจากสารสกัดพืชผัก สมุนไพรต่างๆมาแล้ว ดังนั้นเพื่อเป็นแนวทางหรือข้อมูลในการทำวิจัย ผู้ทำการศึกษาจึงได้ยกตัวอย่างหรืองานวิจัยที่เกี่ยวข้อง ดังต่อไปนี้

การศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของส่วนสกัดเหง้าข่าลิงชั้นเฮกเซน (hexane) เอทธิลอะซิเตท (ethyl acetate) และเมทานอล (methanol) และศึกษาฤทธิ์ดังกล่าวของสารสกัดเหง้าข่าลิงชั้นเอทธิลอะซิเตทในหนูขาว วิธีการศึกษาสกัดสารจากเหง้าข่าลิงโดยวิธีเปอร์โคเลชันด้วยเฮกเซนเอทธิลอะซิเตท และเมทานอล วัดปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม ศึกษาฤทธิ์ต้านออกซิเดชันในหลอดทดลองด้วย DPPH assay, ABTS assay และ FRAP assay ทดสอบฤทธิ์ยับยั้งการเกิดเปอร์ออกซิเดชันของกรดไขมันไลโนเลอิกที่ถูกเหนี่ยวนำให้เกิดด้วยความร้อน ศึกษาฤทธิ์ต้านออกซิเดชันในสัตว์ทดลองโดยเหนี่ยวนำให้หนูขาวเกิดภาวะถูกออกซิไดซ์เกินสมดุลด้วยคาร์บอนเตตระคลอไรด์ในวันสุดท้ายหลังได้รับสารสกัดข่าลิงชั้น เอทธิลอะซิเตทในขนาด 100, 200 และ 500 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมทุกวันนาน 28 วัน เก็บตับและสมองเพื่อวัดปริมาณมาลอนไดอัลดีไฮด์ ผลการศึกษาสารสกัดเหง้าข่าลิงชั้นเอทธิลอะซิเตท มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมสูงสุดคือ 120.44 ± 0.01 ไมโครกรัมต่อมิลลิกรัม ผลการศึกษาความสามารถในการจับอนุมูลอิสระพบค่า $IC_{50}$ เท่ากับ 12.32 ± 0.28 ไมโครกรัมต่อมิลลิกรัม เมื่อทดสอบด้วย DPPH assay และมีค่า TEAC (Trolox Equivalent Antioxidative Capacity) เท่ากับ 26.02 ± 1.92 มิลลิโมลาร์ต่อมิลลิกรัม เมื่อทดสอบด้วย ABTS assay ความสามารถในการให้อิเล็กตรอนเมื่อทดสอบ ด้วย FRAP assay มีค่า FRAP value 1.16 ± 0.05 ไมโครกรัมต่อมิลลิกรัม สารสกัด เหง้าข่า- ลิงชั้น เอทธิลอะซิเตทสามารถลดการเกิดเปอร์ออกซิเดชันของกรดไขมัน ไลโนเลอิกที่ถูกเหนี่ยวนำโดยความร้อนในขณะเก็บ ได้สารสกัดดังกล่าวทุกขนาด สามารถลดปริมาณ มาลอนไดอัลดีไฮด์ในตับและสมองของหนูขาวได้ แต่ไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ สรุปสารสกัดเหง้าข่าลิงชั้น เอทธิลอะซิเตทเมื่อทดสอบใน หลอดทดลองมีสารที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ

ที่ดี จึงควรศึกษาเพื่อหาโครงสร้างสารสำคัญ กลไกการออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและความปลอดภัย เพื่อพัฒนาเป็นยาต่อไป (นพวัฒน์ และคณะ, 2554)

ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากเปลือกหุ้มเมล็ดมะขามหวานและมะขามเปรี้ยว มะขามจัดเป็นพืชที่มีสรรพคุณทางยาสมุนไพร โดยน้ำต้มจากใบและดอกมะขามสามารถช่วยลดความดันโลหิต มะขามเปียก สามารถเป็นยาระบาย ขับเสมหะ ในขณะที่เมล็ดนำมาใช้เป็นยาแก้ท้องร่วง ยาขับพยาธิ เป็นต้น จากงานวิจัยที่ผ่านมาพบว่า สารสกัดจากเปลือกหุ้มเมล็ดมะขามมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ แต่การศึกษาวิจัยส่วนใหญ่ไม่ได้ระบุชนิดของมะขามและแหล่งที่มาที่แน่นอนของเมล็ดมะขามที่นำมาศึกษา และเนื่องจากมะขามต่างชนิดกันจะมีองค์ประกอบภายในเมล็ดแตกต่างกันออกไป เป็นผลให้ฤทธิ์ของการต้านอนุมูลอิสระที่ได้แตกต่างเช่นกัน ดังนั้นการศึกษาวิจัยนี้จึงมุ่งเน้นในการเปรียบเทียบฤทธิ์ของการต้านอนุมูลอิสระจากสารสกัดเปลือกหุ้ม เมล็ดมะขามหวานและมะขามเปรี้ยว จากผลการทดลองพบว่า สารสกัดจากเปลือกหุ้มเมล็ดมะขามเปรี้ยวความเข้มข้น 1 ถึง 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร มีปริมาณฟีนอลอยู่ในช่วง 0.233 ± 0.001 ถึง 1.09 ± 0.04 ไมโครกรัม เมื่อคำนวณเป็น gallic acid และมี ร้อยละการยับยั้งสาร Diphenyl ถึง 2-picrylhydrazyl (DPPH) อยู่ในช่วง 41.01 ± 4.92 ถึง 91.64 ± 1.38 ไมโครกรัม โดยความเข้มข้นของสารสกัดจากเปลือกหุ้มเมล็ดมะขามหวาน 1 ถึง 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร มีปริมาณฟีนอล อยู่ในช่วง -0.04 ± 0.006 ถึง 1.06 ± 0.009 ไมโครกรัมเมื่อคำนวณเป็น gallic acid และมีร้อยละการยับยั้งสาร DPPH อยู่ในช่วง 3.2 ± 3.3 ถึง 90.49 ± 0.27 จากการเปรียบเทียบสรุปได้ว่า สารสกัดจากเปลือกหุ้มเมล็ดมะขามเปรี้ยวมีปริมาณ ฟีนอลและ ร้อยละการยับยั้งสาร DPPH มากกว่าสารสกัดจากเปลือกหุ้มเมล็ดมะขามหวานอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ปริมาณสารประกอบฟีนอลสัมพันธ์กับ ร้อยละการยับยั้งสาร DPPH และสารฟีนอลและฤทธิ์การต้าน-อนุมูลอิสระของสารสกัดเปลือกหุ้มเมล็ดมะขามเป็นปฏิภาคโดยตรงกับความเข้มข้นของสารสกัด (วันเซ็ง และคณะ, 2554)

ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ฤทธิ์ต้านการก่อกลายพันธุ์ของสารสกัดเห็ดหิ้งเกือกม้าเห็ดหิ้งเกือกม้าหรือ *Phellinus rimosus* เป็นสิ่งมีชีวิตจำพวกเห็ดราที่อยู่ในวงศ์ Hymenochaetaceae จากการศึกษาพบว่าเห็ดชนิดนี้มีฤทธิ์ ทางยาและมักพบในเขตภาคอีสาน ตามภูมิปัญญาดั้งเดิมทางการแพทย์แผนไทยได้มีการนำมาใช้เป็นส่วนผสมในตำรับยารักษามะเร็ง รักษาโรคเริม อาการปวดหู และอาการผื่นคันปวดแสบปวด-ร้อน วัตถุประสงค์ การศึกษานี้เป็นการศึกษาเพื่อเปรียบเทียบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและฤทธิ์ต้านการก่อ-กลายพันธุ์ของสารสกัดเห็ดหิ้งเกือกม้าที่สกัดด้วยเอทานอล, น้ำและการสกัดแอลคาลอยด์ วิธีการทดลองทางการศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี 2,2–Diphenyl- picrylhydrazyl radical assay (DPPH assay) และ Ferric reducing antioxidant power assay (FRAP assay) รวมถึงการศึกษาฤทธิ์ ต้านการก่อกลายพันธุ์โดยวิธี Ames test ซึ่งทดสอบกับ เชื้อแบคทีเรีย คือ *Salmonella typhimurium* strain TA98 และ TA100 ผลการทดลองและสรุปผล สารสกัดที่ออกฤทธิ์ต้านอนุมูล

อิสระและฤทธิ์ต้านการก่อกลายพันธุ์ที่ดีที่สุด คือ สารสกัด *P.rimosus* โดยวิธีการสกัดด้วยเอทานอลซึ่งเป็นที่น่าสนใจในการนำมาพัฒนา (ชลดา และคณะ, 2556)

สารสกัดหยาบจากเห็ดป่ากินได้ 5 ชนิดในจังหวัดเพชรบูรณ์ (เห็ดน้ำผึ้ง เห็ดระโงกขาว เห็ดถ่านใหญ่ เห็ดน้าหมาก เห็ดตะไคล) สกัดในตัวทำละลาย 3 ชนิด (เอทิลอะซิเตท เมทานอล น้ำ) ทดสอบคุณสมบัติต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี 1,1 diphenenyl-2-picryhydrazyl (DPPH) radical scavenging capacity และหาปริมาณฟีนอลิกรวมทั้งหมดด้วยวิธี Folin-Ciocalteu method และวิเคราะห์ข้อมูลเชิงปริมาณด้วยสถิติและค่าความแปรปรวนด้วย ANOVA พบว่าสารสกัดหยาบจากเห็ดในชั้นตัวทำละลายเอทิลอะซิเตทมีสมบัติต้านอนุมูลอิสระสูงสุดยกเว้นเห็ดตะไคลจะเป็นชั้นน้ำ พิจารณาจากค่า $IC_{50}$ เปรียบเทียบกับสารมาตราฐาน tolox มีค่าเป็น 0.0213 0.0073 0.0224 0.02391 และ 0.0339 ตามลำดับ แต่ทุกตัวมีค่า $IC_{50}$ สูงกว่า tolox ซึ่งมีค่าคือ 2.2430 และค่า $IC_{50}$ มีความสัมพันธ์กับปริมาณฟีนอลิกรวมทั้งหมดยกเว้นสารสกัดจากเห็ดตะไคลในชั้นตัวทำละลายเอทิลอะซิเตท จากผลการวิจัยนี้เป็นประโยชน์ต่อการศึกษาประโยชน์จากเห็ดในระดับต่อไปและเป็นประโชน์ต่อการบริโภคเห็ดป่าของชาวบ้าน (น้ำฝน, 2556)

ศึกษาฤทธิ์ต้านออกซิเดชันและฤทธิ์กระตุ้นการสังเคราะห์เม็ดสีเมลานินของสารสกัดด้วยน้ำ เอธิลอะซิเตท เมทานอล และเฮกเซนของพืชสมุนไพรไทยพื้นบ้าน 5 ชนิด คือ ย่านาง บัวบก อัญชัน หม่อน และกวาวเครือขาว วัสดุและวิธีการ การศึกษาเป็นแบบการทดสอบในหลอดทดลอง (in vitro test) โดยทำการทดสอบฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน ด้วยวิธี DPPH, ABTS, FRAP assay และ total phenolic compound ฤทธิ์ป้องกันสารอนุมูลอิสระไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ ด้วยวิธี MTT assay ส่วนฤทธิ์กระตุ้นการสังเคราะห์เม็ดสีเมลานิน ทำโดยศึกษาฤทธิ์กระตุ้นการทำงานของเอนไซม์ไทโรซิเนส ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่เปลี่ยนสารตั้งต้นไทโรซินให้เป็นเมลานิน ด้วยวิธี tyrosinase activity assay และศึกษาฤทธิ์กระตุ้นการเพิ่มจำนวนของเซลล์เมลาโนไซท์ที่สร้างเม็ดสีเมลานิน โดยทดสอบในเซลล์เพาะเลี้ยง B16F10 ด้วยวิธี MTT assay ผลการศึกษา ผลการทดสอบด้วยวิธี DPPH และABTS พบว่า สารสกัดด้วยน้ำของย่านางมีฤทธิ์ต้านออกซิเดชันดีที่สุด โดยมีค่า $EC_{50}$ เท่ากับ 72.12 ± 20.18 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร มีค่า TEAC และ VEAC เท่ากับ 0.77 ± 0.03 และ 2.00 ± 0.03 ตามลำดับ ผลการทดสอบด้วยวิธี FRAP และหาค่า total phenolic compound พบว่า สารสกัดด้วยเมทธานอลของย่านาง มีฤทธิ์ต้านออกซิเดชันดีที่สุด โดยมีค่า FRAP value และ GAE เท่ากับ 546.99 ± 0.01 มิลลิโมลาร์ และ 82.75 ตามลำดับ เมื่อทดสอบฤทธิ์ป้องกันสารอนุมูลอิสระไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ พบว่า สารสกัดด้วยน้ำของหม่อน บัวบก ย่านาง และอัญชัน มีฤทธิ์ป้องกันเซลล์ดีที่สุดโดยมีค่าร้อยละของการรอดชีวิตของเซลล์ เท่ากับ 88.29, 84.41, 83.14 และ 76.25 ตามลำดับ ส่วนฤทธิ์กระตุ้นการสังเคราะห์เม็ดสีเมลานิน ทำโดยศึกษาฤทธิ์กระตุ้นการทำงานของเอนไซม์ไทโรซิเนส พบว่าสารสกัดด้วยเอธิลอะซิเตทของย่านาง มีฤทธิ์กระตุ้นเอนไซม์ไทโรซิเนสดีที่สุดโดยมีค่าร้อยละของการ

กระตุ้น (% stimulation) เท่ากับ 94.34 ส่วนฤทธิ์กระตุ้นการเพิ่มจำนวนของเซลล์เมลาโนไซท์ พบว่าสารสกัดด้วยเมทธานอลของอัญชันและสารสกัดด้วยน้ำของย่านาง มีฤทธิ์กระตุ้นการเพิ่มจำนวนของเซลล์เมลาโนไซท์ดีที่สุด โดยมีค่า P.I. (proliferation index) เท่ากับ 1.7 และ 1.6 ตามลำดับ งานวิจัยนี้แสดงศักยภาพของสารสกัดสมุนไพรไทยพื้นบ้านโดยเฉพาะย่านางที่มีแนวโน้มสามารถนำไปพัฒนาให้อยู่ในรูปแบบเวชสำอางสำหรับผมหงอกก่อนวัยได้ (กฤตติญารัตน์ และชุตินันท์, 2555)

การศึกษาฤทธิ์ต้านออกซิเดชันของส่วนสกัดย่อยเฮกเซน เอทิลอะซิเตท และน้ำ ของต้นเร่วหอม *(Etlingera pavieana)* และว่านสาวหลง *(Amomum biflorum)* โดยนำมาทำการทดสอบฤทธิ์กำจัดอนุมูล DPPH ทดสอบความสามารถในการรีดิวซ์ และความสามารถในการคีเลทไอออนของโลหะ ในการทดสอบฤทธิ์กำจัดอนุมูล DPPH เปรียบเทียบกับสารต้านออกซิเดชันมาตรฐาน คือ กรดแอสคอร์บิก และบีเอชที (BHT) จากการทดสอบพบว่า ส่วนสกัดย่อยเอทิลอะซิเตทของต้นเร่วหอมและ ว่านสาวหลง มีฤทธิ์กำจัดอนุมูล DPPH สูงที่สุด รองลงมาคือส่วนสกัดย่อยน้ำ และส่วนสกัดย่อยเฮกเซน ตามลำดับ นอกจากนี้ยังพบว่าส่วนสกัดเอทิลอะซิเตทของต้นเร่วหอมและว่านสาวหลงมีความสามารถใน การรีดิวซ์สูงที่สุด ส่วนความสามารถในการคีเลทไอออนของโลหะ พบว่าส่วนสกัดย่อยเฮกเซนของต้น เร่วหอม และส่วนสกัดย่อยน้ำของต้นว่านสาวหลงมีความสามารถในการคีเลทไอออนของโลหะสูงที่สุด และเมื่อทำการวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟีนอลรวม พบว่าส่วนสกัดย่อยเอทิลอะซิเตทของเร่ว หอมและว่านสาวหลงมีปริมาณสารประกอบฟีนอลรวมสูงที่สุด และพบว่าฤทธิ์การกำจัดอนุมูล DPPH มี ความสัมพันธ์กับปริมาณสารประกอบฟีนอลรวม ด้วยค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์เท่ากับ 0.9731 (ปริยานุช, 2551)

ตัวอย่างพืชผักพื้นบ้านที่ใช้ในศึกษา ได้แก่ ผักโขม ผักปลัง มะระขี้นก โดยนำมาสกัดเพื่อทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ซึ่งพืชผักพื้นบ้านดังกล่าว ได้มีผู้วิจัยทำการศึกษาไว้แล้วแต่อาจเป็นการศึกษาที่แตกต่างกัน ดังนั้นเพื่อเป็นแนวทางและข้อมูลในการศึกษาทำวัจัยครั้งนี้ จึงได้นำตัวอย่างงานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับผักโขม ผักปลัง และมะระขี้นก ดังต่อไปนี้

**2.6.1 งานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับผักโขม**

การศึกษาปริมาณสารโพลีฟีนอลและประสิทธิภาพการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ ในใบสดและใบอบแห้งของผักโขม 5 ชนิดคือ ผักโขมแดง ผักโขมแก้ว ผักโขมจีน ผักโขมขาว และผักโขมไทย เปรียบเทียบวิธีการสกัด 2 วิธีคือ การสกัดแบบร้อนแบบไหลย้อนกลับ (reflux extraction ) และการสกัดแบบเย็นแบบแช่ (maceration method) วิเคราะห์ปริมาณสารโพลีฟีนอลด้วยวิธี Folin-Ciocalteu’s phenol reagent และประสิทธิภาพการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธีการฟอกสีอนุมูล-อิสระเอบีทีเอส (ABTS+ assay) พบว่าผักโขมขาวอบแห้งสกัดแบบร้อนมีปริมาณสารโพลีฟีนอลสูงสุดเท่ากับ 131.0 มิลลิกรัมต่อลิตร GAE และผักโขมจีนสดสกัดแบบเย็น มีปริมาณสารโพลีฟี

นอลน้อยที่สุดคือ 69.59 มิลลิกรัมต่อลิตร GAE ผักโขมขาวสดสกัดแบบร้อนและผักโขมไทยแห้งสกัดแบบเย็นมีคุณสมบัติในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระสูงที่สุด และน้อยที่สุดตามลาดับ โดยมีค่าการต้านอนุมูลอิสระเท่ากับ 0.631 มิลลิโมลาร์ GAE และ 0.168 มิลลิโมลาร์ GAE ตามลาดับ ทั้งนี้ตัวอย่างพืชสดและแห้งมีผลต่อปริมาณโพลีฟีนอลและสารต้านอนุมูลอิสระ (สัมพันธ์ และคณะ, 2557)

**2.6.2 งานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับผักปลัง**

การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของผักพื้นบ้าน จำนวน 6 ชนิด ได้แก่ ผักกูด, ผักติ้ว, ผักปลังขาว, ย่านาง, ผักเหมียง และผักหวานบ้าน สกัดสารสำคัญจากผักแต่ละชนิดโดยการหมัก ด้วย methanol นาน 3 วัน แล้วนำไประเหยแห้งด้วยความร้อนที่ 60 องศาเซลเซียส นำสารสกัดที่ได้มาแยกเป็น 2 ส่วน คือ ส่วนที่ละลายในน้ำ และส่วนที่ไม่ละลายในน้ำซึ่งนำมาละลายกลับด้วย methanol ทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากผักทั้ง 6 ชนิดด้วยวิธี DPPH assay โดยผสมตัวอย่างที่ทดสอบกับสารละลาย 2,2–diphenyl–1–picrylhydrazyl (DPPH) แล้ววัดการเปลี่ยนแปลงค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 515 นาโนเมตร เปรียบเทียบกับ control, วิตามินซี และ วิตามินอี (Trolox) ซึ่งเป็นสารมาตรฐาน ผลการศึกษาพบว่า สารสกัดจากผักติ้วแสดงฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระมากที่สุด โดยสารสกัดส่วนที่ละลายในน้ำและส่วนที่ไม่ละลายในน้ำให้ค่า $IC_{50}$ เท่ากับ 205.96 กรัมต่อมิลลิลิตร และ 101.79 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ รองลงมาคือ สารสกัดจากย่านาง ให้ค่า $IC_{50}$ 499.24 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร (ส่วนที่ละลายในน้ำ) และ 772.63 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร (ส่วนที่ไม่ละลายในน้ำ) สำหรับวิตามินซี และวิตามินอี ให้ค่า $IC_{50}$ 9.34 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร และ 15.91 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ ส่วนสารสกัดจากผักอีก 4 ชนิดมีค่า $IC_{50}$ มากกว่า 1,000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร การตรวจสอบทางเคมีเบื้องต้นพบว่าสารสกัดผักติ้วมี hydrolysable tannin ส่วนสารสกัดย่านางมี phenolic compounds และได้จัดทำ TLC fingerprints เพื่อเปรียบเทียบสำหรับการศึกษาครั้งต่อไป (บังอร และศศิลักษณ์, 2549)

การสกัดบีตาเลนจากผลผักปลัง ผลผักปลัง (*Basella alba* Linn.) เป็นแหล่งของสารให้สีม่วงแดงที่มีศักยภาพในการนำมาผลิตสีผสมอาหารจากธรรมชาติ งานวิจัยนี้มีจุดประสงค์เพื่อศึกษาหาตัวทำละลายที่เหมาะสมต่อการสกัดบีตาเลนจากผลผักปลังสุกและศึกษาผลของอุณหภูมิและพีเอชที่มีต่อความเสถียรของสารสกัดสี ตัวทำละลายที่ใช้ในการสกัดมี 4 ชนิด ได้แก่ น้ำกลั่น กรดไฮโดรคลอริก (ร้อยละ 1) เมทานอล (ร้อยละ 20) และเอทานอล (ร้อยละ 20) ผลการศึกษาพบว่า สารสกัดสีจากผลผักปลังที่ใช้ตัวทำละลาย 4 ชนิดมีค่าสี ( L* a* และ b*) ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) ปริมาณบีตาเลนสูงที่สุดได้จากการใช้น้ำกลั่นเป็นตัวสกัด (485.19±350.03 มิลลิกรัมต่อลิตร) แต่การสกัดด้วยกรดไฮโดรคลอริก ทำให้ได้ปริมาณผลผลิตของสารสกัด สูงสุด (ร้อยละ 58.76±4.16) เมื่อนำสารสกัดสีจากผลผักปลังไปให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 60 และ 90 องศาเซลเซียส นาน 30 นาที พบว่า การใช้อุณหภูมิสูงที่

90 องศาเซลเซียส ทำให้สีของสารสกัดเปลี่ยนจากชมพูเป็นเหลืองอย่างชัดเจนกว่าที่ 60 องศาเซลเซียส เมื่อนำสารสกัดสีไปผสมกับสารละลายบัฟเฟอร์ที่มีพีเอชระหว่าง 1-7 พบการเปลี่ยนแปลงของค่าความยาวคลื่นแสงที่ มีค่าการดูดกลืนแสงได้สูงสุด (max) โดยลดลงจาก 549 นาโนเมตรที่ค่าพีเอช 1-2 เป็น 230-266 นาโนเมตรที่ค่าพีเอช 3-7 เนื่องจากความเป็นกรดอาจมีผลต่อโครงสร้างของบีตาเลนที่เป็น zwitter ion (ทัตดาว และคณะ, 2555)

**2.6.3 งานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับมะระขี้นก**

ความสามารถในการต้านจุลินทรีย์และต้านสารอนุมูลอิสระของพืชสมุนไพร การศึกษาสารสกัดเอธานอลของสมุนไพรไทยต่างๆ จำนวน 25 ชนิดจาก 5 วงศ์พืชเบื้องต้นพบว่า ประสิทธิภาพการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ 6 ชนิดนั้น สมุนไพรในวงศ์ Combretaceae กับ Caesalpiniaceae แสดงประสิทธิภาพยับยั้งค่อนข้างสูงอย่างมีนัยสำคัญ โดยสมุนไพรในวงศ์ Combretaceae มีฤทธิ์ยับยั้งเฉพาะเชื้อ *Staphylococcus aureus* กับ *Bacillus cereus* ซึ่งเป็นแบคทีเรียแกรมบวกเท่านั้น ส่วนสมุนไพรวงศ์ Caesalpiniaceae มีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ได้หลากหลายชนิด แต่มีประสิทธิภาพสูงในการยับยั้งแบคทีเรียแกรมบวกเช่นเดียวกัน ความสามารถในการต้านสารอนุมูลอิสระเบื้องต้นนั้น สมุนไพรไทยเกือบทุกชนิดมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระเมื่อนำสมุนไพรไทยในวงศ์ Combretaceae และวงศ์ Caesalpiniaceae มาสกัดแยกส่วนด้วยตัวทาละลายชนิดต่างๆ โดยเริ่มจาก เฮกเซน ไดคลอโรมีเทน เอธิล อะซิเตท และเมทานอลตามลำดับ เพื่อทดสอบประสิทธิภาพการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์จากสารสกัดแยกส่วนพบว่า สารสกัดเฮกเซน สารสกัดไดคลอโรมีเทน และสารสกัดเอธิลอะซิเตท ไม่มีฤทธิ์หรือมีฤทธิ์ค่อนข้างต่ำในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ ส่วนสารสกัดเมทานอลพบว่ามีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ได้ดี โดยพบว่าสมุนไพรไทยในวงศ์ Combretaceae มีฤทธิ์ยับยั้งได้เฉพาะแบคทีเรียแกรมบวก สมุนไพรไทยวงศ์ Caesalpiniaceae มีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ทุกประเภทแต่จะมีประสิทธิภาพสูงมากในการยับยั้งแบคทีเรียแกรมบวก ในการหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ได้ในสารสกัด เมทานอล พบว่า สำหรับเชื้อ *S.aureus* ฝางให้ค่า MICs เท่ากับ 6.3 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ส่วนเชื้อ *B. cereus* แสมสารให้ค่า MICs เท่ากับ 3.1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร การหาค่า $EC_{50}$ ของความสามารถในการต้านสารอนุมูลอิสระ พบว่า สมอไทยให้ค่าต่ำสุดคือ 0.2 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร (ธีรวุฒิ และรัชนี, 2550)

# บทที่ 3
# วิธีการดำเนินงานวิจัย

## 3.1 สารเคมีที่ใช้ในการทดลอง

3.1.1 สารเคมีที่ใช้ดังตารางที่ 3.1

**ตารางที่ 3.1** แสดงสารเคมีที่ใช้ในการทดลอง

| ชื่อสารเคมี | สูตรโมเลกุล | มวลโมเลกุล กรัม/โมล | ความหนาแน่น กรัม/ลูกบาศก์เซนติเมตร | เกรดสารเคมี |
|---|---|---|---|---|
| เมทานอล (Methanol) | $CH_3OH$ | 32.05 | 0.7918 | AR grade |
| เอทานอล (Ethanol) | $C_2H_5OH$ | 46.07 | 0.789 | AR grade |
| ไฮโดรคลอลิก (Hydrochloric acid) | HCl | 36.46 | 1.19 | AR grade |
| สารละลายมาตรฐาน Trolox | $C_{14}H_{18}O_4$ | 250.29 | - | - |
| สารละลาย DPPH | $C_{18}H_{12}N_3O_8$ | 394.4 | - | - |
| น้ำกลั่น (Distilled water) | $H_2O$ | 18 | - | - |

3.1.2 ตัวอย่างพืช

3.1.2.1 ผักโขม

3.1.2.2 ผักปลัง

3.1.2.3 มะระขี้นก

3.1.2.4 ผักแพว

## 3.2 อุปกรณ์และเครื่องมือที่ใช้ในการทดลอง

3.2.1 บีกเกอร์ (Beaker)

3.2.2 ขวดวัดปริมาตร (Volumetric flask)

3.2.3 หลอดทดลอง (Test tube)

3.2.4 ปิเปต (Pipette)

3.2.5 กระดาษกรอง (Filter paper)

3.2.6 ขวดรูปชมพู่ (Erlenmeyer flask)

3.2.7 แท่งแก้วคนสาร (Stirring rod)

3.2.8 ช้อนตักสาร (Spatula)

3.2.9 แผ่นอะลูมิเนียมฟอยล์ (Aluminum foil)

3.2.10 กรวยกรองแก้ว (Glass funnel)

2.3.11 เทอร์โมมิเตอร์ (Thermometer)

2.3.12 เครื่องชั่งละเอียด 4 ตำแหน่ง (Analytical balance)

2.3.13 อ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ (Water bath)

2.3.14 ถุงมือเอนกประสงค์ (Latex rubber glove)

2.3.15 ตู้อบลมร้อน (Hot air oven)

2.3.16 เครื่องยูวี–วิสิเบิลสเปกโทรโฟโตมิเตอร์ (UV-Visible spectrophotometer)

**3.3 การเตรียมสารเคมีและการเตรียมตัวอย่าง**

3.3.1 การเตรียมตัวอย่าง

งานวิจัยนี้ใช้ตัวอย่างพืช 4 ชนิด ได้แก่ ผักโขมสด ผักปลังสด มะระขี้นกสด และผักแพว โดยเก็บตัวอย่างพืชในพื้นที่จังหวัดบุรีรัมย์ มีขั้นตอนการเตรียมตัวอย่างดังนี้

3.3.1.1 ล้างผักโขมด้วยน้ำกลั่นให้สะอาด หั่นเป็นชิ้นเล็กๆ จากนั้นนำไปผึ่งในที่ร่มและอบที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 วันหรือจนกว่าจะแห้ง แล้วบดให้ละเอียด

3.3.1.2 ล้างผักปลังด้วยน้ำกลั่นให้สะอาด หั่นเป็นชิ้นเล็กๆ จากนั้นนำไปผึ่งในที่ร่มและอบที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 วันหรือจนกว่าจะแห้ง แล้วบดให้ละเอียด

3.3.1.3 ล้างมะระขี้นกด้วยน้ำกลั่นให้สะอาด หั่นเป็นชิ้นเล็กๆ จากนั้นนำไปผึ่งที่ร่มและอบที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 วันหรือจนกว่าจะแห้ง แล้วบดให้ละเอียด

3.3.1.4 ล้างผักแพวด้วยน้ำกลั่นให้สะอาด หั่นเป็นชิ้นเล็กๆ จากนั้นนำไปผึ่งที่ร่มและอบที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 วันหรือจนกว่าจะแห้ง แล้วบดให้ละเอียด

3.3.2 การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH radical scavenging assay

3.3.2.1 สารละลาย DPPH ความเข้มข้น 80 ไมโครโมลาร์

ละลาย 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl radical น้ำหนัก 0.0031 กรัม ด้วยเมทานอลจำนวน 100 มิลลิลิตร เก็บไว้ในขวดวัดปริมาตร

3.3.2.2 สารมาตรฐานโทรล็อกซ์

ละลาย 6-hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchlorman-2-carboxylic acid (trolox) ในเอทานอลความเข้มข้น 70 เปอร์เซ็นต์ ให้ได้ความเข้มข้น 2.5 มิลลิโมลาร์ แล้วเจือจางให้ได้ความเข้มข้นสุดท้ายเป็น 2.0, 1.5, 1.0, และ 0.5 มิลลิโมลาร์ ด้วยเอทานอลความเข้มข้น 70 เปอร์เซ็นต์

**3.4 วิธีการทดลอง**

3.4.1 การสกัดพืชตัวอย่าง

3.4.1.1 การสกัดผักโขม ด้วยตัวทำละลาย

1. นำผักโขมที่บดละเอียดแล้ว ชั่งน้ำหนักให้ได้ประมาณ 1.xxxx กรัม เติมตัวทำละลายในอัตราส่วน 1:20 กรัมต่อมิลลิลิตร

2. นำมาสกัดที่อุณหภูมิต่างกันดังนี้ อุณหภูมิห้อง 50 และ 60 องศาเซลเซียส เวลาที่ใช้ 30 60 และ120 นาที

3. จากนั้นกรองด้วยกระดาษกรองเบอร์ 1 เก็บสารตัวอย่างที่ได้จากการสกัดเพื่อทดสอบต่อไป

3.4.1.2 การสกัดผักปลัง ด้วยตัวทำละลาย

1. นำผักปลังที่บดละเอียดแล้ว ชั่งน้ำหนักให้ได้ประมาณ 1.xxxx กรัม เติมตัวทำละลายใน อัตราส่วน 1:20 กรัมต่อมิลลิลิตร

2. นำมาสกัดที่อุณหภูมิต่างกันดังนี้ อุณหภูมิห้อง 50 และ 60 องศาเซลเซียส เวลาที่ใช้ 30 60 และ120 นาที

3. จากนั้นกรองด้วยกระดาษกรองเบอร์ 1 เก็บสารตัวอย่างที่ได้จากการสกัดไปทดสอบต่อไป

3.4.1.3 การสกัดมะระขี้นก ด้วยตัวทำละลาย

1. นำผักมะระขี้นกที่บดละเอียดแล้ว ชั่งน้ำหนักให้ได้ประมาณ 1.xxxx กรัม เติมตัวทำละลายในอัตราส่วน 1:20 กรัมต่อมิลลิลิตร

2. สกัดที่อุณหภูมิต่างกันดังนี้ อุณหภูมิห้อง 50 และ 60 องศาเซลเซียส เวลาที่ใช้ 30 60 และ120 นาที

3. จากนั้นกรองด้วยกระดาษกรองเบอร์ 1 เก็บสารตัวอย่างที่ได้จากการสกัดไปทดสอบต่อไป

3.4.1.4 การสกัดผักแพว ด้วยตัวทำละลาย

1. นำผักแผวที่บดละเอียดแล้ว ชั่งน้ำหนักให้ได้ประมาณ 1.xxxx กรัม เติมตัวทำละลายในอัตราส่วน 1:20 กรัมต่อมิลลิลิตร

2. สกัดที่อุณหภูมิต่างกันดังนี้ อุณหภูมิห้อง 50 และ 60 องศาเซลเซียส เวลาที่ใช้ 30 60 และ120 นาที

3. จากนั้นกรองด้วยกระดาษกรองเบอร์ 1 เก็บสารตัวอย่างที่ได้จากการสกัดไปทดสอบต่อไป

3.4.2 การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH radical scavenging assay

3.4.2.1 การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารละลายมาตรฐาน Trolox

1. เตรียมสารละลายมาตรฐาน Trolox ความเข้มข้นต่างดังนี้ 0.5 1.0 1.5 2.0 และ 2.5 ppm

2. ปิเปตสารละลายมาตรฐาน Trolox เตรียมที่ความเข้มข้นต่างๆ 300 ไมโครลิตร ผสมกับสารละลาย DPPH 2700 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากัน

3. ตั้งไว้ที่มืดเป็นเวลา 10 นาที เพื่อให้เกิดปฏิกิริยา

4. นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร

5. คำนวณหาค่า % scavenging จากสูตรคำนวณดังนี้

$$\% \text{ Scavenging} = [(A_{control} - A_{sample})/A_{control} \times 100]$$

เมื่อ $A_{control}$ = ค่าการดูดแสงของตัวควบคุม

$A_{sample}$ = ค่าการดูดกลืนแสงของสารตัวอย่าง

6. นำค่าการดูดกลืนแสงที่วัดได้มาคำนวณหา % Scavenging จากนั้นสร้างกราฟมาตรฐานแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสารมาตรฐาน Trolox กับค่าการดูดกลืนแสง

3.4.2.2 การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัด ผักโขม ผักปลัง มะระขี้นก และผักแพว

1. ปิเปตสารละลายตัวอย่างปริมาตร 300 ไมโครลิตร ผสมกับสารละลาย DPPH 2700 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากัน

2. ตั้งไว้ที่มืดเป็นเวลา 10 นาที เพื่อให้เกิดปฏิกิริยา

3. นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร

4. คำนวณหาค่า % scavenging จากสูตรคำนวณดังนี้

$$\% \text{ Scavenging} = [(A_{control} - A_{sample})/A_{control} \times 100]$$

เมื่อ $A_{control}$ = ค่าการดูดแสงของตัวควบคุม

$A_{sample}$ = ค่าการดูดกลืนแสงของสารตัวอย่าง

5. นำค่าการดูดกลืนแสงที่วัดได้มาคำนวณหา % Scavenging จากนั้นสร้างกราฟมาตรฐานแสดงความสัมพันธ์ระหว่างเวลาที่ทำการสกัด กับค่าการดูดกลืนแสงของสารตัวอย่าง

# บทที่ 4
# ผลการทดลอง

## 4.1 การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี DPPH radical scavenging assay

### 4.1.1 การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารมาตรฐาน Trolox

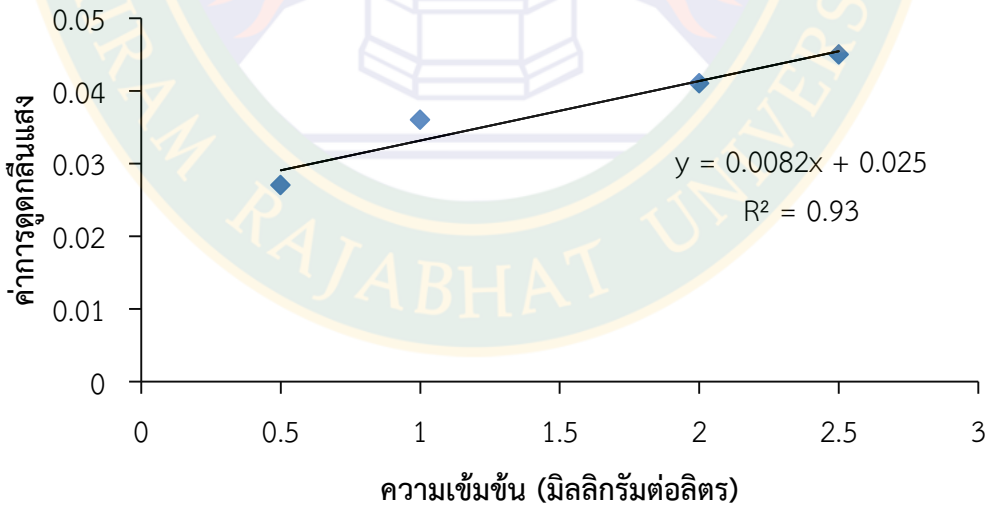
เตรียมความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐาน trolox ที่ความเข้มข้น 0.5 1.0 1.5 2.0 และ2.5 มิลลิกรัมต่อลิตร มาทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ โดยทำปฏิกิริยากับ DPPH$^{\cdot}$ จากนั้นทำการวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร จำนวน 3 ซ้ำ ดังตารางที่ 4.1

**ตารางที่ 4.1** การดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร และ% scavenging ของสารละลายมาตรฐาน Trolox

| สารตัวอย่าง | ความเข้มข้น (มิลลิกรัมต่อลิตร) | ค่าการดูดกลืนแสง |
|---|---|---|
| สารละลายมาตรฐาน Trolox | 0.5 | 0.027 |
| | 1.0 | 0.036 |
| | 2.0 | 0.041 |
| | 2.5 | 0.046 |

($A_{control}$ = 0.472)

นำค่าที่ได้มาสร้างกราฟความสัมพันธ์ระหว่าง ค่าการดูดกลืนแสงกับความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐาน Trolox ที่ความเข้มข้นแตกต่างกัน




**รูปที่ 4.1** กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงกับความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐาน Trolox ที่ความเข้มข้นแตกต่างกัน

จากการทดสอบฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระของสารละลายมาตรฐาน Trolox ที่ความเข้มข้นต่างๆ พบว่าสารละลายมาตรฐาน Trolox มีค่า $R^2$ = 0.93 ซึ่งอยู่ในเกณฑ์ที่ยอมรับได้

**4.2 การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากพืชตัวอย่าง ผักโขม ผักปลัง มะระขี้นก และผักแพว**

**4.2.1 การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดผักโขม ผักปลัง มะระขี้นก และผักแพว โดยสกัดที่อุณหภูมิห้อง**

นำสารสกัดจากพืชตัวอย่างในตัวทำละลาย 0.1 M HCl ใน 10% Ethanol มาทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ โดยทำปฏิกิริยากับสาร DPPH˙ จากนั้นทำการวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร จำนวน 3 ซ้ำ ค่าเฉลี่ยแสดงดังตารางที่ 4.2

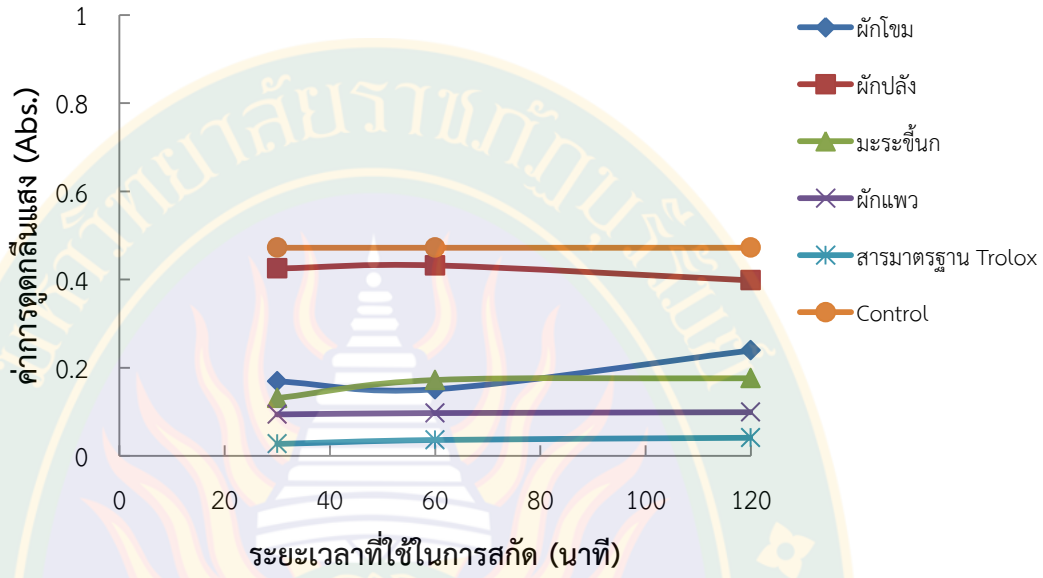
**ตารางที่ 4.2** การดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร และ % scavenging ของสารสกัดจากพืชตัวอย่าง ผักโขม ผักปลัง มะระขี้นก และผักแพว ณ อุณหภูมิห้อง ที่เวลาแตกต่างกัน

| สารตัวอย่าง | เวลาที่ใช้ (นาที) | ค่าการดูดกลืนแสง(เฉลี่ย ± SD) | % scavenging |
|---|---|---|---|
| ผักโขม | 30 | 0.169±0.053 | 64.053 |
| | 60 | 0.151±0.017 | 68.079 |
| | 120 | 0.239±0.043 | 49.364 |
| ผักปลัง | 30 | 0.425±0.035 | 9.887 |
| | 60 | 0.432±0.026 | 8.474 |
| | 120 | 0.398±0.049 | 15.607 |
| มะระขี้นก | 30 | 0.131±0.016 | 72.245 |
| | 60 | 0.172±0.027 | 63.488 |
| | 120 | 0.176±0.048 | 62.570 |
| ผักแพว | 30 | 0.094±0.006 | 80.08 |
| | 60 | 0.097±0.002 | 79.45 |
| | 120 | 0.990±0.002 | 79.02 |

($A_{control}$ =0.472)

จากตารางที่ 4.2 พบว่า สารสกัดจากผักโขม มะระขี้นก และผักแพว มีความสามารถทำให้ค่าการดูดกลืนแสงของอนุมูลอิสระ DPPH ลดลงได้มาก ส่วนสารสกัดจากผักปลังมีความสามารถทำให้ค่าการดูดกลืนแสงของอนุมูลอิสระ DPPH ลดลงได้น้อยที่สุด แสดงให้เห็นว่าสารสกัดจากผักโขม มะระขี้นก และผักแพว มีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระได้ดี ที่สภาวะการสกัดคือ ระยะเวลาในการสกัด 30 นาที ณ อุณหภูมิห้อง

จากตารางที่ 4.2 นำค่าที่ได้มาสร้างกราฟความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงกับเวลาที่ใช้ในการสกัดพืชตัวอย่างที่อุณหภูมิห้อง ได้ดังแสดงในรูปที่ 4.2




**รูปที่ 4.2** กราฟความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงกับเวลาที่ใช้ในการสกัดพืชตัวอย่างที่อุณหภูมิห้อง

### 4.2.2 การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากพืชตัวอย่างผักโขม ผักปลัง มะระขี้นก และผักแพว โดยสกัดที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส

นำสารสกัดจากพืชตัวอย่างในตัวทำละลาย 0.1 M HCl ใน 10% Ethanol มาทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ โดยทำปฏิกิริยากับสาร $DPPH^{\cdot}$ จากนั้นทำการวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร จำนวน 3 ซ้ำ ค่าเฉลี่ยแสดงดังตารางที่ 4.3

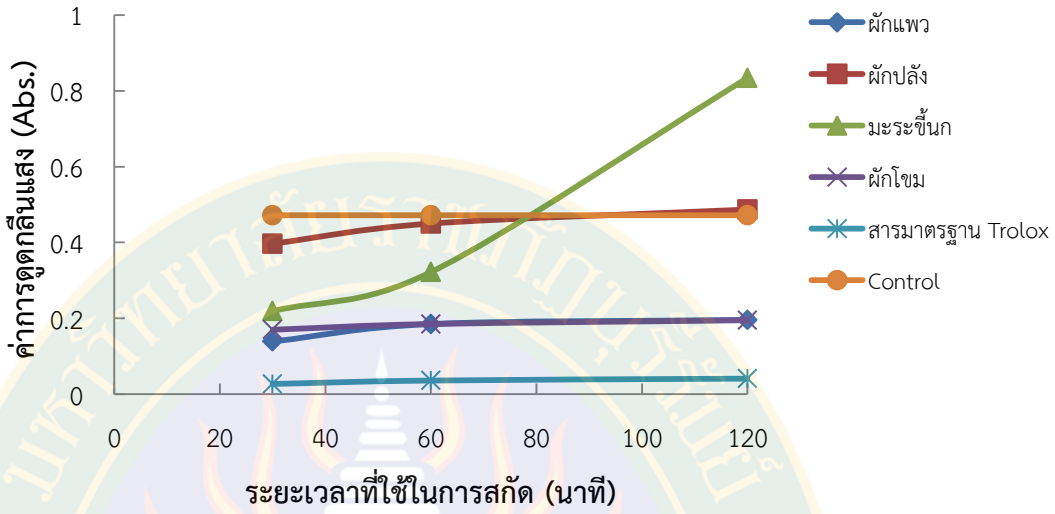
**ตารางที่ 4.3** การดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร และ % scavenging ของสารสกัดจากพืชตัวอย่าง ผักโขม ผักปลัง มะระขี้นก และผักแพว ณ อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส ที่เวลาแตกต่างกัน

| สารตัวอย่าง | เวลาที่ใช้ (นาที) | ค่าการดูดกลืนแสง(เฉลี่ย ± SD) | % scavenging |
|---|---|---|---|
| ผักโขม | 30 | 0.139±0.018 | 70.480 |
| | 60 | 0.185±0.034 | 60.805 |
| | 120 | 0.196±0.052 | 58.474 |
| ผักปลัง | 30 | 0.397±0.046 | 15.889 |
| | 60 | 0.450±0.002 | 4.590 |
| | 120 | 0.487±0.048 | -3.248 |
| มะระขี้นก | 30 | 0.219±0.018 | 53.672 |
| | 60 | 0.322±0.047 | 31.850 |
| | 120 | 0.834±0.041 | -76.642 |
| ผักแพว | 30 | 0.170±0.024 | 63.98 |
| | 60 | 0.185±0.016 | 60.80 |
| | 120 | 0.195±0.022 | 58.68 |

($A_{control}$ =0.472)

จากตารางที่ 4.3 พบว่า สารสกัดจากผักโขม มะระขี้นก และผักแพว มีความสามารถทำให้ค่าการดูดกลืนแสงของอนุมูลอิสระ DPPH ลดลงได้มาก ส่วนสารสกัดจากผักปลังมีความสามารถทำให้ค่าการดูดกลืนแสงของอนุมูลอิสระ DPPH ลดลงได้น้อยที่สุด แสดงให้เห็นว่าสารสกัดจากผักโขม มะระขี้นก และผักแพว มีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระได้ดี ที่สภาวะการสกัดคือ ระยะเวลาในการสกัด 30 นาที ณ อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส

จากตารางที่ 4.3 นำค่าที่ได้มาสร้างกราฟความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงกับเวลาที่ใช้ในการสกัดพืชตัวอย่างที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส ได้ดังแสดงในรูปที่ 4.3




**รูปที่ 4.3** กราฟความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงกับเวลาที่ใช้ในการสกัดพืชตัวอย่างที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส

**4.2.3 การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดผักโขม ผักปลัง มะระขี้นก และผักแพว โดยสกัดที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส**

นำสารสกัดจากพืชตัวอย่างในตัวทำละลาย 0.1 M HCl ใน 10% Ethanol มาทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ โดยทำปฏิกิริยากับสาร DPPH˙ จากนั้นทำการวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร จำนวน 3 ซ้ำ ค่าเฉลี่ยแสดงดังตารางที่ 4.4

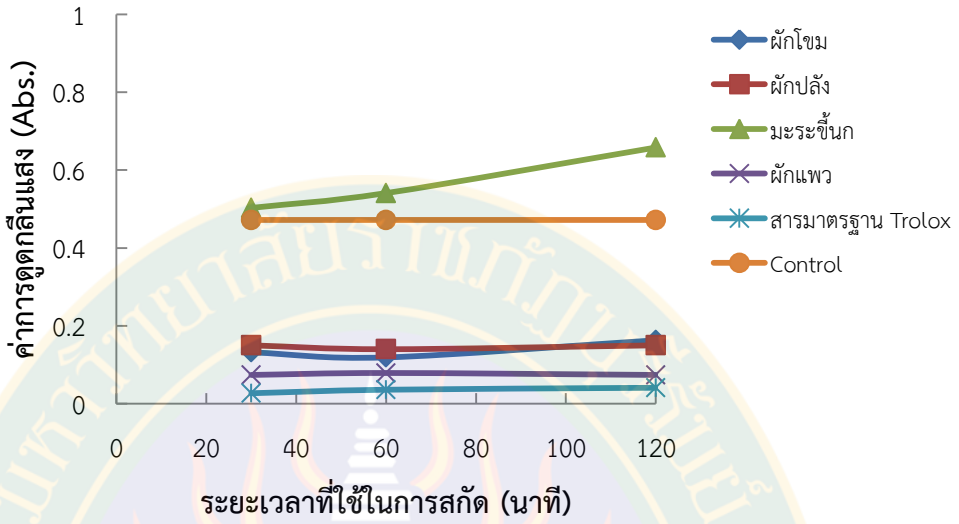
**ตารางที่ 4.4** การดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร และ% scavenging ของสารสกัดจากพืชตัวอย่าง ผักโขม ผักปลัง มะระขี้นก และผักแพว ณ อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส ที่เวลาแตกต่างกัน

| สารตัวอย่าง | เวลาที่ใช้ (นาที) | ค่าการดูดกลืนแสง(เฉลี่ย ± SD) | % scavenging |
|---|---|---|---|
| ผักโขม | 30 | 0.132±0.012 | 72.245 |
| | 60 | 0.119±0.001 | 75.000 |
| | 120 | 0.163±0.007 | 65.466 |
| ผักปลัง | 30 | 0.150±0.011 | 68.419 |
| | 60 | 0.140±0.010 | 70.338 |
| | 120 | 0.150±0.016 | 68.149 |
| มะระขี้นก | 30 | 0.503±0.060 | -6.567 |
| | 60 | 0.541±0.087 | -14.689 |
| | 120 | 0.658±0.076 | -39.477 |
| ผักแพว | 30 | 0.074±0.003 | 84.32 |
| | 60 | 0.079±0.004 | 83.26 |
| | 120 | 0.074±0.004 | 84.32 |

($A_{control}$ =0.472)

จากตารางที่ 4.4 พบว่า สารสกัดจากผักโขม ผักปลัง และผักแพว มีความสามารถทำให้ค่าการดูดกลืนแสงของอนุมูลอิสระ DPPH ลดลงได้มาก ส่วนสารสกัดจากมะระขี้นกมีความสามารถทำให้ค่าการดูดกลืนแสงของอนุมูลอิสระ DPPH ลดลงได้น้อยที่สุด แสดงให้เห็นว่าสารสกัดจากผักโขม ผักปลัง และผักแพว มีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระได้ดี ที่สภาวะการสกัดคือ ระยะเวลาในการสกัด 30 นาที ณ อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส ส่วนสารสกัดมะระขี้นกไม่สามารถทำให้ค่าการดูดกลืนแสงของอนุมูลอิสระ DPPH ลดลงได้ แสดงว่าที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส มีผลทำให้สารที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในมะระขี้นกสลายไป

จากตารางที่ 4.4 นำค่าที่ได้มาสร้างกราฟความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงกับเวลาที่ใช้ในการสกัดพืชตัวอย่างที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส ได้ดังแสดงในรูปที่ 4.4




**รูปที่ 4.4** กราฟความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงกับเวลาที่ใช้ในการสกัดพืชตัวอย่างที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส

# บทที่ 5
# สรุปและอภิปรายผลการทดลอง

งานวิจัยนี้ได้ทำการศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของพืชสมุนไพร 4 ชนิด ได้แก่ ผักโขม ผักปลังมะระขี้นก และผักแพว โดยสกัดด้วยตัวทำละลาย 0.1 M HCl ใน 10% Ethanol และผลของอุณหภูมิและระยะเวลาที่ใช้ในการสกัด ได้แก่ อุณหภูมิห้อง 50 และ60 องศาเซลเซียส ที่เวลา 30 60 และ 120 นาที ทำการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH radical scavenging assay ผลการศึกษา พบว่าพืชทั้ง 4 ชนิด มีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระ เมื่อเปรียบเทียบฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัด พบว่าสารสกัดจากผักแพวมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระได้มากที่สุด รองลงมาคือ ผักโขม มะระขี้นก และผักปลัง ตามลำดับ สอดคล้องกับงานวิจัยของ (พัชรี และคณะ, 2556) ที่ได้ศึกษาการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในไม้ดอกกินได้พื้นบ้านทั้ง 15 ชนิด ที่พบในจังหวัด มหาสารคาม ทำการสกัดด้วยตัวทำละลายเอทานอล 80% (v/v) พบว่าดอกไม้กินได้พื้นบ้านเหล่านี้ มีฤทธิ์การต้านออกซิ-แดนท์ที่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ โดยปกติแล้วผักพื้นบ้านส่วนใหญ่จะมีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ ซึ่งจากผลการวิจัยหลายๆ งานได้ชี้ให้เห็น ดังตัวอย่างเช่น การศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดเหง้าข่าลิง ด้วยตัวทำละลาย เฮกเซน (hexane) เอทธิลอะซิเตท (ethyl acetate) และเมทานอล (methanol) และศึกษาฤทธิ์ดังกล่าวของสารสกัดเหง้าข่าลิง ด้วยตัวทำละลายเอทธิลอะ-ซิเตทในหนูขาว ด้วยวิธี DPPH assay, ABTS assay และ FRAP assay ซึ่งพบว่าเหง้าข่าลิงมีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระได้ (นพวัฒน์ และคณะ, 2554) การศึกษาปริมาณสารโพลีฟีนอลและประสิทธิภาพการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ ในใบสดและใบอบแห้งของผักโขม 5 ชนิดคือ ผักโขมแดง ผักโขมแก้ว ผักโขมจีน ผักโขมขาว และผักโขมไทย เปรียบเทียบวิธีการสกัด 2 วิธีคือ การสกัดแบบร้อนแบบไหลย้อนกลับ (reflux extraction ) และการสกัดแบบเย็นแบบแช่ (maceration method) วิเคราะห์ปริมาณสารโพลีฟีนอลด้วยวิธี Folin-Ciocalteu's phenol reagent และประสิทธิภาพการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธีการฟอกสีอนุมูล-อิสระเอบีทีเอส ($ABTS^{+}$ assay) พบว่าผักโขมขาวอบแห้งสกัดแบบร้อนมีปริมาณสารโพลีฟีนอลสูงสุดเท่ากับ 131.0 มิลลิกรัมต่อลิตร GAE และผักโขมจีนสดสกัดแบบเย็น มีปริมาณสารโพลีฟีนอลน้อยที่สุดคือ 69.59 มิลลิกรัมต่อลิตร GAE ผักโขมขาวสดสกัดแบบร้อนและผักโขมไทยแห้งสกัดแบบเย็นมีคุณสมบัติในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระสูงที่สุด และน้อยที่สุดตามลาดับ โดยมีค่าการต้านอนุมูลอิสระเท่ากับ 0.631 มิลลิโมลาร์ GAE และ 0.168 มิลลิโมลาร์ GAE ตามลาดับ ทั้งนี้ตัวอย่างพืชสดและแห้งมีผลต่อปริมาณโพลีฟีนอลและสารต้านอนุมูลอิสระ (สัมพันธ์ และคณะ, 2557) การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของผักพื้นบ้านจำนวน 6 ชนิด ได้แก่ ผักกูด, ผักติ้ว, ผักปลังขาว, ย่านาง, ผักเหมียง และผักหวานบ้าน สกัดสารสำคัญจากผักแต่ละชนิดโดยการหมัก ด้วย methanol นาน 3 วัน แล้วนำไประเหยแห้งด้วยความร้อนที่ 60 องศาเซลเซียส นำสารสกัดที่ได้มาแยกเป็น 2 ส่วน คือ ส่วนที่ละลายในน้ำ และส่วนที่ไม่ละลายในน้ำซึ่งนำมาละลายกลับด้วย methanol ทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากผักทั้ง 6 ชนิดด้วยวิธี DPPH assay โดย ผสมตัวอย่างที่ทดสอบกับสารละลาย 2,2–diphenyl–1–picrylhydrazyl (DPPH) ผลการศึกษาพบว่า สารสกัดจากผักติ้วแสดงฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระมากที่สุด โดยสารสกัดส่วนที่ละลายในน้ำและส่วนที่ไม่ละลายในน้ำให้ค่า $IC_{50}$ เท่ากับ 205.96 กรัมต่อมิลลิลิตร

และ 101.79 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ รองลงมาคือ สารสกัดจากย่านาง ให้ค่า $IC_{50}$ 499.24 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร (ส่วนที่ละลายในน้ำ) และ 772.63 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร (ส่วนที่ไม่ละลายในน้ำ) สำหรับวิตามินซี และวิตามินอี ให้ค่า $IC_{50}$ 9.34 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร และ 15.91 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ ส่วนสารสกัดจากผักอีก 4 ชนิดมีค่า $IC_{50}$ มากกว่า 1,000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร การตรวจสอบทางเคมีเบื้องต้นพบว่าสารสกัดผักติ้วมี hydrolysable tannin ส่วนสารสกัดย่านางมี phenolic compounds และได้จัดทำ TLC fingerprints เพื่อเปรียบเทียบสำหรับการศึกษาครั้งต่อไป (บังอร และศศิลักษณ์, 2549)

สำหรับสภาวะที่เหมาะสมพบว่า ผักโขม ผักปลัง และผักแพว มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่ดี ระยะเวลา 30 นาที ณ อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส ผักมะระขี้นก มีฤทธ์ต้านอนุมูลอิสระที่ดี ระยะเวลา 30 นาที ณ อุณหภูมิห้อง

ผลการศึกษานี้สามารถนำไปใช้เป็นประโยชน์ ต่อยอดในการพัฒนาพืชผักพื้นบ้านเป็นผลิตภัณฑ์ต้านอนุมูลอิสระต่างๆ โดยเลือกวิธีในการสกัดพืชที่ทำให้ได้สารสกัดที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงสุด และยังสามารถเลือกรับประทานผักพื้นบ้านเหล่านี้ได้ ทั้งแบบสดและแบบแห้ง จึงเป็นอีกทางเลือกหนึ่งที่ช่วยให้ ผู้ที่รักสุขภาพมีสุขภาพที่ดีได้ เนื่องจากเป็นแหล่งที่อุดมไปด้วยสารอาหารและยังมีประโยชน์ต่อสุขภาพซึ่งสารนี้มีคุณสมบัติเป็นสารต้านอนุมูลอิสระและยับยั้งการเกิดอนุมูลอิสระได้อีกด้วย

**ข้อเสนอแนะ**

1. ควรทำการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี DPPH ของพืชสมุนไพรแต่ละชนิดจากหลายๆ แหล่ง

2. ตรวจสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระควรใช้วิธีอื่นร่วมด้วย เช่น FRAP, ORAC, TRAP, Lipid Peroxidation

เป็นต้น

3. ควรทำการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี DPPH ของพืชสมุนไพรชนิดอื่นๆ เพิ่มขึ้น

4. วิธีการสกัดอาจเปลี่ยนไปใช้วิธีอื่นได้

# บรรณานุกรม


กฤตติญารัตน์ และคณะ (2552) ฤทธิ์ต้านออกซิเดชันและฤทธิ์กระตุ้นการสังเคราะห์เม็ดสีเมลานินของสารสกัดสมุนไพรพื้นบ้านบางชนิด เพื่อใช้สำหรับผมหงอกก่อนวัย.

กรณ์กาญจน์ ภมรประวัติธนะ (2552) สำนักพิมพ์หมอชาวบ้าน, บทความสุขภาพรู้, มะระขี้นก.

จินดาพร บุญวัฒนา (2012) เครื่องมือทดสอบทางสเปกโตรสโคป.

ณัฏฐา เลาหกุลจิตต์ และ คณะ (2555). การศึกษาสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ ศักยภาพการเป็นสารต้านเชื้อจุลินทรีย์และต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากพืชพื้นบ้านไทย

ทัตดาว ภาษีผลและคณะ (2555) การสกัดบีตาเลนจากผักปลัง.

ธีรวุฒิ หวังอำนวยพรและคณะ (2550) ความสามารถในการต้านจุลินทรีย์และสารต้านอิสระของพืชสมุนไพรบางชนิด, คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยหอการค้าไทย.

นพวัฒน์ พึ่งคำสี และคณะ (2554) ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดเหง้าข่าลิง.

นันทิยา และคณะ (2556) ศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดผักแพวด้วยเอทานอลในหลอดทดลองและในร่างกายหนูแรท

นวลศรี รักอริยะธรรม (2551). ผักพื้นบ้านต้านอนุมูลอิสระ ทำหน้าที่ป้องกันการเกิดกระบวนการออกซิเดชันที่ทำให้เกิดอนุมูลอิสระ

น้ำฝน เบ้าคำ (2556) ศึกษาสารต้านอนุมูลอิสระและปริมาณสารฟีนอลลิกทั้งหมดของเห็ดป่ากินได้ 5 ชนิด จากป่าชุมชนบ้านน้ำจางในเขตพื้นที่จังหวัดเพชรบูรณ์, มหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบูรณ์.

บังอร วงศ์รักษ์ และคณะ (2549) ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของผักพื้นบ้าน. ปริญญาเภสัชศาสตรบัณฑิต คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล

บุหรัน พันธุ์วงศ์ (2556) อนุมูลอิสระ สารต้านอนุมูลอิสระ และการวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ

ปรียานุช อินทร์รอด (2551) ฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน และปริมาณสารประกอบฟีนอลรวมของส่วนสกัดจากต้นเร่วหอมและว่านสาวหลง, สาขาชีวเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา.

พัชรี สิริตระกูลศักดิ์และคณะ (2556) กิจกรรมต้านอนุมูลอิสระของดอกไม้กินได้ 15 ชนิด ในจังหวัดมหาสารคาม.

พรพิมล บัวชุม รัตติกาล วงศ์ศิริ และ อรสา อินทร์น้อย (2556). ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากผักพื้นบ้านและผักทั่วไปที่ใช้บริโภค 8 ชนิด

พิชญ์อร ไหมสุทธิสกุล (2547). การคัดเลือกพืชสำหรับใช้เป็นสารต้านอนุมูลอิสระจากธรรมชาติตัวใหม่เพื่อทดแทนสารสังเคราะห์

วันเซ็ง สิทธิกิจโยธินและคณะ (2554) ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากเปลือกหุ้มเมล็ดมะขามหวานและมะขามเปรี้ยว, ภาควิชาวิศวกรรมเคมี มหาวิทยาลัยบูรพา.

สัมพันธ์ สร้อยกล่อมและคณะ (2557) ปริมาณสารโพลีฟีนอลและประสิทธิภาพการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระในสารสกัดผักโขม.

อรนุช นาคชาติ วรรณา เอกทอง อรนุช คงลัก ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในผงผักแขยง

อรวรรณ กริ่งเกษมศรี (2555) ปริมาณสารโพลีฟีนอลและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของเปลือกและเมล็ดของผลไม้ไทย, วิทยานิพนธ์ สาขาวิทยาศาสตร์สิ่งแวดล้อม มหาวิทยาลัยศิลปกร.

อัญชนา เจนวิถีสุข (2545). แอคติวิตีของสารต้านอนุมูลอิสระโดยวิธีวัดการชะลอการฟอกสีของเบต้าแคโรทีนในผักพื้นบ้านและสมุนไพรไทย

Benzie I.F.F. and Stain J.J. (1996). *The Ferric Reducing Ability of Plasma (FRAP) as Measure of Antioxidant Power*: *The FRAP Assay*, Anal. Biochem.239:70–76

Chattopadhyay K. and Chattopadhyay B. D. (2008). *Effect of nicotine on lipid profile, peroxidation & antioxidant enzymes in female rats with restricted dietary protein*. J. Res. Educ. 127: 571-576

Chuanphongpanich S., Suttajit M., Phanichphant S., Buddhasukh D. and Sirithunyalug B.(2006) *Antioxidant Capacity of Broccoli Seeds Grown in Thailand.* Chiang Mai J. Sci. 33(1) : 117-122

Cornish M.L. and Garbary D.J. (2010). *Antioxidant from microalgae: potential application in human health and nutrition*. Free Radical Biology & Medicine. 25:155-171.

Dinis, T.C.P., Madeira,V.M.C. and Almeida, L.M. (1994). “Action of phenolic derivatives (acetaminophen, salicylate, and 5-aminosalicylate) as inhibitors of membrane lipid peroxidation and as peroxyl radical scavengers.” Archives of Biochemistry and Biophysics 315 : 161-169.

Halliwell B. (2009). *The wanderings of a free radical*. Free Radical Bio. Med. 46: 531-542.

Hou W.C., Lee M.H., Chen H. J., Liang W. L., Han C. H., Liu Y.W., & Lin Y.H. (2001). *Antioxidant activities of dioscorin, the storage protein of yam (Dioscorea batatas Decne) tuber*. J. Agri. Food Chem. 49, 4956-4960.

Nikrishimi, M.,Rao,N.and Yagi, K. (1972) “The occurrence of Superoxide anion in the reaction of rcduced phenazine methosulphate and molecular oxygen.”Biochemical and Biophysical Research Communications 46:849-854.

Oyaiza,M. (1986).”Studies on products of browning reaction prepared from glucoseamine.”Japanese Journal of Nutrition 44:307-314.

Ohkawa,H., Ohishi,N. and Yagi,K.(1979). “Assay for lipid peroxidase in animal tissues by thiobarituric acid reaction.”Analytical Biochemistry 95:351-358.

Re R., Pellegrini N., Proteggente A., Pannala A., Yang M. and Rice-Evans C. (1999). *Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorisation assay*. Free Radical Biol. Med. 26: 1231-1237.

Sies H., Stahl W. and Sundquist A. (1992). *Antioxidant functions of vitamins, vitamin E and C, beta-carotene and other carotenoids.* Ann. Ny. Acad. Sci. 368: 7-19

Velioglu Y.S., Mazza G., Gao L. and Oomah B.D. (1998). *"Antioxidant activity and total phenolics in selected fruits, vegetables and grain products".* J. Agr. Food Chem. 46: 4113-4117.

# ภาคผนวก

# ภาคผนวก ก
# การคำนวณ

การคำนวณการเตรียมสาร

1.1 การคำนวณการเตรียมสาร DPPH 80 ไมโครโมลาร์

ละลาย DPPH ด้วย Methanol 100 ml โดยชั่งน้ำหนัก DPPH

$$\text{จากสูตร } \frac{g}{Mw} = \frac{CV}{1000}$$

g = น้ำหนักของ DPPH ที่ต้องการเตรียม (กรัม)
Mw = มวลโมเลกุลของ DPPH (394.32)
C = ความเข้มข้นของ DPPH ($80 \times 10^{-6}$ โมลาร์)
V = ปริมาตรที่ต้องการ (100 มิลลิลิตร)

แทนค่าจากสูตร

$$\frac{g}{Mw} = \frac{CV}{1000}$$

$$\frac{g}{394.32} = \frac{(80 \times 10^{-6}\ M) \times 100\ ml}{1000}$$

$$g = 0.0031$$

ดังนั้น ต้องชั่ง DPPH กรัม ปรับปริมาตรด้วยเอทานอลให้ได้ปริมาตร 100 มิลลิลิตร จะได้สารละลาย DPPH $80 \times 10^{-6}$ โมลาร์

1.2 การคำนวณการเตรียมสารละลายมาตรฐาน Trolox ที่ความเข้มข้นต่างๆดังนี้

ละลาย Trolox ในเอทานอล ความเข้มข้น 70% ให้ได้ความเข้มข้น 2.5 มิลลิโมลาร์แล้วเจือจางให้ได้ความเข้มข้นเป็น 0.5, 1.0, 1.5 และ2.0 มิลลิโมลาร์ ด้วยเอทานอลความเข้มข้น 70%

$$\text{จากสูตร } \frac{g}{Mw} = \frac{CV}{1000}$$

g = น้ำหนักของ DPPH ที่ต้องการเตรียม (กรัม)
Mw = มวลโมเลกุลของ DPPH (250.29 $g/mol^{-1}$)
C = ความเข้มข้นของ DPPH ($2.5 \times 10^{-3}$ โมลาร์)
V = ปริมาตรที่ต้องการ (100 มิลลิลิตร)

แทนค่าจากสูตร $\frac{g}{Mw} = \frac{CV}{1000}$

$$\frac{g}{250.29} = \frac{(2.5\times10^{-3}\ M) \times 100\ ml}{1000}$$

$$g = 0.0626$$

เตรียมในเอทานอล 70% ปริมาตร 250 ml

จากสูตร $C_1V_1 = C_2V_2$

เมื่อ $C_1$ = ความเข้มข้นเริ่มต้นที่เตรียม

$C_2$ = ความเข้มข้นใหม่ที่ต้องการเตรียม

$V_1$ = ปริมาตรที่ต้องการคำนวณ

$V_2$ = ปริมาตรที่ต้องการเตรียม

แทนค่าจากสูตร $C_1V_1 = C_2V_2$

$100 \times V_1 = 70 \times 250\ ml$

จะได้ $V_1 = 175\ ml$

เจือจางให้ได้ความเข้มข้น 0.5, 1.0, 1.5 และ 2.0 มิลลิโมลาร์ จากความเข้มข้น 2.5 มิลลิโมลาร์

ที่ความเข้มข้น 2.5 โมลาร์ ปริมาตร 25 ml

แทนค่าจากสูตร $C_1V_1 = C_2V_2$

$(2.5\times10^{-3}\ M) \times (V_1) = (2.0\times10^{-3}\ M) \times (25\ ml)$

จะได้ $V_1 = 20\ ml$

ที่ความเข้มข้น 1.5 โมลาร์ ปริมาตร 25 ml

แทนค่าจากสูตร $C_1V_1 = C_2V_2$

$(2.5\times10^{-3}\ M) \times (V_1) = (1.5\times10^{-3}\ M) \times (25\ ml)$

จะได้ $V_1 = 15\ ml$

ที่ความเข้มข้น 1.0 โมลาร์ ปริมาตร 25 ml

แทนค่าจากสูตร $C_1V_1 = C_2V_2$

$(2.5\times10^{-3}\ M) \times (V_1) = (1.0\times10^{-3}\ M) \times (25\ ml)$

จะได้ $V_1 = 10\ ml$

ที่ความเข้มข้น 0.5 โมลาร์ ปริมาตร 25 ml

แทนค่าจากสูตร $C_1V_1 = C_2V_2$

$(2.5x10^{-3}\ M) \times (V_1) = (0.5x10^{-3}\ M) \times (25\ ml)$

จะได้ $V_1 = 5\ ml$

การคำนวณหา % scavenging

จากสูตร $\%\ scavenging = \frac{[A_{control} - A_{sample}]}{A_{control}} \times 100$

เมื่อ $A_{control}$ = ค่าการดูดกลืนแสงของตัวควบคุม

$A_{sample}$ = ค่าการดูดกลืนแสงของสารตัวอย่าง

ตารางที่ ก- 1 การดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร และ% scavenging ของสารละลายมาตรฐาน Trolox

| สารตัวอย่าง | ความเข้มข้น (มิลลิกรัมต่อลิตร) | ค่าการดูดกลืนแสง |
|---|---|---|
| สารละลายมาตรฐาน Trolox | 0.5 | 0.027 |
| | 1.0 | 0.036 |
| | 2.0 | 0.041 |
| | 2.5 | 0.046 |

($A_{control}$ = 0.472)

คำนวณหา % scavenging โดยนำค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร มาคำนวณดังสมการ

จากสูตร $\%\ scavenging = \frac{[A_{control} - A_{sample}]}{A_{control}} \times 100$

$\%\ scavenging = \frac{[0.472 - 0.027]}{0.472} \times 100$

$\%\ scavenging = 94.27\ \%$

# ภาคผนวก ค

## รูปการทดลอง

**รูปที่ ค-1** การเตรียมพืชตัวอย่าง

**รูปที่ ค-2** ชั่งพืชตัวอย่างด้วย เครื่องชั่งแบบละเอียด 4 ตำแหน่ง

**รูปที่ ค-3** อบพืชด้วยตู้อบลมร้อน

**รูปที่ ค-4** เครื่องปั่นพืชตัวอย่าง

**รูปที่ ค-5** การสกัดพืชตัวอย่าง

**รูปที่ ค-6** การเตรียมสารเพื่อทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ

**รูปที่ ค-7** การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยเครื่องยูวี – วิสิเบิลสเปกโทรโฟโตมิเตอร์

# ประวัติผู้วิจัย

**ชื่อ-นามสกุล** นางสาวศรัญญา มณีทอง
**วัน เดือน ปีเกิด** 4 มกราคม 2530
**ภูมิลำเนา** 144 หมู่ 9 ตำบลคอนฉิม อำเภอแวงใหญ่ จังหวัดขอนแก่น
รหัสไปรษณีย์ 40330
หมายเลขติดต่อ 084-4027688
E-mail : sarunya_0401@hotmail.com

**ประวัติการศึกษา**

| | |
|---|---|
| **พ.ศ. 2552-2556** | นิสิตระดับปริญญาเอก หลักสูตรปรัชญาดุษฎีบัณฑิต แบบ 2.2 (โทควบเอก หลักสูตร 5 ปี) ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหาสารคาม |
| **พ.ศ. 2551** | สำเร็จการศึกษาระดับปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต (วท.บ. เคมี) เกียรตินิยมอันดับ 2 (เกรดเฉลี่ย 3.55) คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหาสารคาม จังหวัดมหาสารคาม |
| **พ.ศ. 2547** | สำเร็จการศึกษาระดับมัธยมศึกษาตอนปลาย (เกรดเฉลี่ย 3.78) โรงเรียนแวงใหญ่วิทยาคม อำเภอแวงใหญ่ จังหวัดขอนแก่น |

**ประวัติทุนการศึกษา**

| | |
|---|---|
| **พ.ศ. 2548-2551** | ได้รับทุนโครงการพัฒนากำลังคนด้านวิทยาศาสตร์ (ทุนเรียนดีวิทยาศาสตร์แห่งประเทศไทย) (ปริญญาตรี) |
| **พ.ศ. 2552-2556** | ได้รับทุนโครงการพัฒนากำลังคนด้านวิทยาศาสตร์ (ทุนเรียนดีวิทยาศาสตร์แห่งประเทศไทย) (ปริญญาเอก) |
| **พ.ศ. 2555** | ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยเพื่อพัฒนานิสิตระดับบัณฑิตศึกษา (ปริญญาเอก) |

**ประวัติทุนการศึกษา**

| | |
|---|---|
| **พ.ศ. 2558** | ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัย จากมหาวิทยาลัยราชภัฏบุรีรัมย์ |

**ผลงานวิจัยตีพิมพ์**

**Maneetong, S**., Chookhampaeng, S., Chantiratikul, A., Chinrasri, O., Thosaikham, W., Sittipout, R. & Chantiratikul, P. (2013) Hydroponic cultivation of selenium-enriched kale (*Brassica oleracea* var. *alboglabra* L.) seedling and speciation of selenium with HPLC–ICP-MS, *Microchemical Journal*. 108, 87-91.

Chantiratikul, A., Pakmaruek, P., Chinrasri, O., Aengwanich, W., Chookhampaeng, S., **Maneetong, S**. & Chantiratikul, P. (2015) Efficacy of Selenium from Hydroponically Produced Selenium-Enriched Kale Sprout (*Brassica oleracea* var. *alboglabra* L.) in Broilers, *Biological Trace Element Research*. DOI 10.1007/s12011-015-0227-5

Thosaikham, W., Jitmanee, K., Sittipout, R., **Maneetong, S.**, Chantiratikul, A. & Chantiratikul, P. (2014) Evaluation of selenium species in selenium-enriched pakchoi (*Brassica chinensis Jusl var parachinensis (Bailey) Tsen & Lee*) using mixed ion-pair reversed phase HPLC–ICP-MS, *Food Chemistry*. 145, 736-742.

Chantiratikul, A., Chinrasri, O., Jaichong, D., Laodim, T., Changkhunthod, S., Chookhampaeng, S., **Maneetong, S.** & Chantiratikul, P. (2013) Selenium concentration in tissues of laying quails fed selenium from hydroponically produced Se-enriched kale sprout (*Brassica oleracea* var. *alboglabr*a L.). *Agricultural Science Journal*. 44 (1), 111-114.

Chinrasri, O., Chantiratikul, P.**, Maneetong, S.**, Chookhampaeng, S., & Chantiratikul, A. (2013) Productivity and selenium concentrations in egg and tissue of laying quails fed selenium from hydroponically produced selenium-enriched kale sprout (*Brassica oleracea* var. *alboglabra* L.). *Biological Trace Element Research*. DOI 10.1007/s12011-013-9824-3.

**Maneetong, S.**, Chantiratikul, P., Chookhampaeng, S., Chantiratikul, A., Chinrasri, O. & Jitmanee, K. (2012) The production and selenium speciation of Se-enriched kale seedling (*Brassica oleracea* var. *alboglabr*a L.). The 8th Mahasarakham University Research Conference. 8th - 9th November 2012, Mahasarakham, Thailand.

Pakmaruek, P., Chinrasri, O., Aengwanich, W., Chantiratikul, P., Chookhampaeng, S., **Maneetong, S.** & Chantiratikul, A., Utilization of Se-enriched kale sprout (*Brassica oleracea* var. *alboglabr*a L.) as selenium source in broiler diets. The 8th Mahasarakham University Research Conference. 8th - 9th November 2012, Mahasarakham, Thailand.

Thosaikham, W., **Maneetong, S.**, Sittipout, R., Chantiratikul, A. & Chantiratikul, P. Extraction method for extracting selenium from Se-enriched plants. The 8th Mahasarakham University Research Conference. 8th - 9th November 2012, Mahasarakham, Thailand.

Chinrasri, O., Pakmaruek, P., Chookhampaeng, S., **Maneetong, S.**, Chantiratikul, P. & Chantiratikul, A. (2013) Supplementing selenium from selenium-enriched kale sprout (*Brassica oleracea* var. *alboglabr*a L.) in broiler diets. The 4th International Conference on Sustainable Animal Agriculture for Developing Countries. 27th - 31st July 2013, Lanzhou, China.

Chantiratikul, A., Chinrasri, O., Pakmaruek, P., Chookhampaeng, S., **Maneetong, S.** & Chantiratikul, P. (2013) Organic selenium from selenium-enriched kale sprout increased tissue selenium concentrations of broilers. The 4th International Conference on Sustainable Animal Agriculture for Developing Countries. 27th - 31st July 2013, Lanzhou, China.

**งานประชุมวิชาการ**

**Maneetong, S.** & Chantiratikul, P. (2012) The production and selenium speciation of Se-enriched kale seedling (*Brassica oleracea* var. *alboglabr*a L.). The 7th Conference on Science and Technology for Youths. Poster Presented. 2nd - 4th May 2012, Bangkok International Trade and Exhibition Centre, Bangkok, Thailand.

**Maneetong, S.**, Chantiratikul, P., Chookhampaeng, S., Chinrasri, O., Jitmanee, K. & Chantiratikul, A. (2012) Se-enriched kale seedling production by hydroponic cultivation. Private Public Partnership, The First National Conference on 3P (Private Public Partnership) Research & Technology licensing Office (TLO). 28th - 30th July 2012, Phitsanulok, Thailand.

**Maneetong, S.** & Chantiratikul, P. (2011) The production of Se-enriched kale sprout (*Brassica oleracea* var. *alboglabr*a L.). The 6th Conference on Science and Technology for Youths. Poster Presented. 18th - 19th March 2011, Bangkok International Trade and Exhibition Centre, Bangkok, Thailand.

**Maneetong, S.**, Thosaikham, W.**,** Sittipout, R. & Chantiratikul, P. (2010) Speciation and determination of selenium in selenium-enriched duckweed (*Lemna minor*). Pure and Applied Chemistry International Conference (PACCON). Poster Presented. 21st - 23rd January 2010, Ubon Ratchathani, Thailand.

Sittipout, R., Thosaikham, W., **Maneetong, S.** & Chantiratikul, P. (2010) Sample preparation methods for selenium determination with ICP-MS technique. Pure and Applied Chemistry International Conference (PACCON). Poster Presented. 21st - 23rd January 2010, Ubon Ratchathani, Thailand.

Thosaikham, W., Jitmanee, K., Sittipout, R., **Maneetong, S.**, Chantiratikul, A. & Chantiratikul, P. 2012. Ion-paired reversed phase HPLC-ICP-MS for selenium speciation analysis in Se-enriched yeast. Pure and Applied Chemistry International Conference (PACCON). Oral presentation. 11st-13rd January 2012. The Empress Convention Center, Chiang Mai, Thailand.

Thosaikham, W., Jitmanee, K., Chantiratikul, A., Sittipout, R., **Manee-tong, S.** & Chantiratikul, P. (2010) Selenium extraction using mixture of pepsin and cellulase for selenium-enriched Chinese kale (*Brassica alboglabra* L.H. Bailey). Pure and Applied Chemistry International Conference (PACCON). Oral presentation. 21st - 23rd January 2010, Ubon Ratchathani, Thailand.

# ON $0$-MINIMAL $(0,2)$-BI-HYPERIDEAL IN ORDERED SEMIHYPERGROUP

Samkhan Hobanthad

This research was supported by RDI

Buriram Rajabath University

Academic Year 2016

(Copyright of Buriram Rajabath University)

No. 43/2559

# ON $0$-MINIMAL $(0,2)$-BI-HYPERIDEAL IN ORDERED SEMIHYPERGROUP

Samkhan Hobanthad

This research was supported by RDI

Buriram Rajabath University

Academic Year 2016

(Copyright of Buriram Rajabath University)

ชื่อโครงการวิจัย ไบไฮเพอร์ไอดีลชนิด (0,2) ที่เล็กสุดครอบคลุมศูนย์ในกึ่งไฮเพอร์กรุปอันดับ
ชื่อผู้วิจัย สำคัญ ฮ่อบรรทัด
ปีวิจัยสมบูรณ์ 2559
เลขที่สัญญารับทุน 43/2558

**บทคัดย่อ**

กึ่งไฮเพอร์กรุปอันดับ คือ ระบบ $(H, \circ, \leq)$ โดยที่ $(H, \circ)$ เป็นกึ่งไฮเพอร์กรุป และ $\leq$ เป็นความสัมพันธ์อันดับบน $H$ ซึ่ง สำหรับทุก $x, y, a \in H$ ถ้า $x \leq y$ แล้ว $a \circ x \leq a \circ y$ ในกรณีที่มี $0 \in H$ (เรียกว่า ศูนย์) ที่ทำให้ $x \circ 0 = 0 \circ x = \{0\}$ จะเรียก $(H, \circ, \leq)$ ว่ากึ่งไฮเพอร์กรุปอันดับที่มีศูนย์ กำหนดให้ $A$ เป็นกึ่งไฮเพอร์กรุปย่อยของ $H$ จะกล่าวว่า $A$ เป็นไฮเพอร์ไอดีลชนิด $(m, n)$ ของ กึ่งไฮเพอร์กรุปอันดับ $H$ ถ้า $A^m \circ H \circ A^n \subseteq A$ และ สำหรับ $x \in A, y \in H$ ถ้า $y \leq x$ แล้ว $y \in A$ ในกรณีที่ $m = n = 1$ จะเรียก $A$ ว่า ไบไฮเพอร์ไอดีลของกึ่งไฮเพอร์กรุปอันดับ $H$

สำหรับงานวิจัยนี้ ศึกษาคุณสมบัติของไบไฮเพอร์ไอดีลชนิด $(0, 2)$ และ $(1, 2)$ รวมถึง ไบไฮเพอร์ไอดีลชนิด $(0, 2)$ ที่เล็กสุดครอบคลุมศูนย์ โดยขยายผลการวิจัย จากกึ่งไฮเพอร์กรุปไปบนกึ่งไฮเพอร์กรุปอันดับ

**คำสำคัญ** ไฮเพอร์ไอดีล ไบไฮเพอร์ไอดีล กึ่งไฮเพอร์กรุป กึ่งไฮเพอร์กรุปอันดับ

Title: On $0$-minimal $(0,2)$-bi-hyperideal in ordered semihypergroup
Author: Samkhan Hobanthad
Academic Year: 2016
No. 43/2016

## Abstract

An ordered semihypergroup is a tripple $(H,\circ,\leq)$ such that $(H,\circ)$ is a semihypergroup and $\leq$ is an order relation on $H$, where, for all $x,y,a\in H$, if $x\leq y$, then $a\circ x\leq a\circ y$. If there exist $0\in H$ (called a zero scalar) such that $x\circ 0=0\circ x=\{0\}$, then $(H,\circ,\leq)$ is called an ordered semihypergroup with zero scalar. A subsemihypergroup $A$ is called $(m,n)$-hyperidal of ordered semihypergroup $H$, if $A^m\circ H\circ A^n\subseteq A$ and for all $x\in A, y\in H$, $y\leq x$ implies $y\in A$. In the case $m=n=1$, $A$ is called a bi-hyperideal of ordered semihypergroup $H$.

In this research, I study $(0,2)$-bi hyperideal, $(1,2)$-bi hyperideal and $0$-minimal $(0,2)$-bi-hyperideal in ordered semihypergroups. The result obtained extend the results on semihypergroups.

**Keyword** : hyperideal, bi-hyperideal, semihypergruop, ordered semihypergroup

# ACKNOWLEDGEMENTS

This research was supported by Buriram Rajabath University. I am greatly indepted to Associate Professor Malinee Chutopama, president of Buriram Rajabath University. Associate Professor Dr.Sommatra Pholkerd, Vice President for Research and Academic Service Affairs. Mrs. Pisamai Prachanant, Director, Research and Development Institute. Moreover, I would like to Thank all of my teachers and all lecturers.

In particular, thank to my dear friends for giving me good experience at Buriram Rajabath University.

Finally, I would like to express my gratitude to my beloved family for their love and encouragement throughout my finished research.

Samkhan Hobanthad

# CONTENTS

page

Abstract (in thai) . . . . . (1)

Abstract (in english) . . . . . (2)

Acknowledgements . . . . . (3)

Contents . . . . . (4)

Chapter

I Introduction . . . . . 1

1.1 Motivation . . . . . 1

1.2 Objective of the research . . . . . 2

1.3 Scope of the research . . . . . 2

1.4 Expected benifits . . . . . 2

II Preliminaries and Literature reviews . . . . . 3

2.1 Preliminaries . . . . . 3

2.2 Literature reviews . . . . . 6

III Research methodology . . . . . 18

IV Main results . . . . . 19

V Conclusion . . . . . 30

References . . . . . 32

# CHAPTER I
# INTRODUCTION

There are four sections in this chapter. In the first section, I shall give, briefly, the history of hyperstructure theory and some research in 0-minimal bi-ideal in semigroups. In the second section, the main purpose of this research will be addressed. In the third section, I shall give scope of the research. In the last section, I shall give expected benefits.

## 1.1 Motivation

The hyperstructure theory was first known in 1934 by F. Marty. He gave the definition of a hypergroup as a generalization of a group. Many researchers from many places have developed this area. We see that there are many significant results regarding semihypergroups, hypergroups, semihyperrings, hyperrings, semihyperfields, hyperfields, hypermodules and so on. The International Algebraic Hyperstructures and Its Applications Conference has been organized constantly from 1978, 1983 in Taormina, Italy; 1985 in Udine, Italy; 1990 in Xanthi, Greece; 1993 in Iasi, Romania; 1996 in Prague, Czech Republic; 1999 in Taormina, Italy; 2003 in Samotraki, Greece and, 2005 in Mazandaran, Iran; 2008 in Brno, Czech Replublic; 2011 in cheti-Pescara, Italy and, recently, 2014 in Xanthi, Greece.

The notion of $(m, n)$-ideal in semigroups was introduced by S. Lajos in 1961 as a generalized ideals in semigroups. In 1980, Dragica N. Krgovic described $(0, 2)$-ideal, $(1, 2)$-ideal, 0-minimal bi-ideal and $0$-minimal $(0, 2)$-ideal in semigroups. In 2013, $0$-minimal $(0, 2)$-ideal in semigroup is extended to ordered semigroup by Wichayaporn Jantanan and Thawhat Changphas. Then S. Hobanthad extend $0$-minimal $(0, 2)$-bi-ideal in semigroups to semihypergroups in 2015.

In this research, we use the concept of $(m, n)$-hyperideal in ordered semihypergroups and extend the results of 0-minimal bi-hyperideal and 0-minimal $(0, 2)$-hyperideal in semihypergroups to ordered semihypergroups. The notions of bi-hyperideal, $(0, 2)$-hyperideal in ordered semihypergroups will be introduced in Chapter II.

## 1.2 Objective of the Research

The main purpose of this research is to extend the results of $0$-minimal $(0,2)$-bi-hyperideal in semihypergroups to ordered semihypergroups.

## 1.3 Scope of the Research

I extend binaryoperation to hyperoperation and set to ordered set. The scope of this research is the properties of $0$-minimal $(0,2)$-bi-hyperideal in ordered semihypergroups.

## 1.4 Expected Advantage

The result of research can be used in hyperstructure theory.

# CHAPTER II
# PRELIMINARIES AND LITERATURE REVIEWS

There are two sections in this chapter. In the first section, I shall give, briefly, the notions of basic algebraic hyperstructure and definition of $(m,n)$-hyperideal in ordered semihypergroups. In the other section, I shall give literature review of this research.

## 2.1 Preliminaries

A *hyperoperation* on a nonempty set $H$ is a mapping from $H \times H$ into $P^*(H)$. A *hypergroupoid* is a system $(H, \circ)$ consisting of a nonempty set $H$ and a hyperoperation $\circ$ on $H$.

Let $(H, \circ)$ be a hypergroupoid. For nonempty subsets $A$ and $B$ of $H$ and $x \in H$, let $A \circ x = A \circ \{x\}$, $x \circ A = \{x\} \circ A$ and

$$A \circ B = \bigcup_{a \in A, b \in B} a \circ b.$$

A *semihypergroup* is a hypergroupoid $(H, \circ)$ such that $(x \circ y) \circ z = x \circ (y \circ z)$ for all $x, y, z \in H$.

**Example 2.1** Let $H$ be a nonempty set. Define a hyperoperation $\circ$ on $H$ by

$$x \circ y = H \qquad \text{for all } x, y \in H.$$

Then $(H, \circ)$ is a semihypergroup.

**Example 2.2** Let $H = \{0, 1, a, b\}$. Define a hyperoperation $\circ$ on $H$ by

| $\circ$ | $0$ | $1$ | $a$ | $b$ |
|---|---|---|---|---|
| $0$ | $\{0\}$ | $\{0\}$ | $\{0\}$ | $\{0\}$ |
| $1$ | $\{0\}$ | $\{1\}$ | $\{a\}$ | $\{b\}$ |
| $a$ | $\{0\}$ | $\{a\}$ | $\{0\}$ | $\{0, a\}$ |
| $b$ | $\{0\}$ | $\{b\}$ | $\{0, a\}$ | $H$ |

Then $(H, \circ)$ is a semihypergroup.

**Definition 2.3** An element $0$ of $H$ is called a *zero scalar* of $(H, \circ)$ if $x \circ 0 = 0 \circ x = \{0\}$.

**Definition 2.4** A nonempty subset $A$ of a semihypergroup $H$ is called a subsemihypergroup of $H$ if $A \circ A \subseteq A$ and if $H \circ A \subseteq A (A \circ H \subseteq A)$, then $A$ is called a left hyperideal (right hyperideal) of $H$. Moreover, if $A$ is a left and right hyperideal of $H$, then it is called a hyperideal of $H$.

**Definition 2.5** Let $(H, \circ)$ be a semihypergroup and $m, n$ be non-negative integers. A subsemihypergroup $A$ is called a $(m, n)$-hyperideal of $H$ if $A^m \circ H \circ A^n \subseteq A$

In the above definition, If $m = n = 1$, then a subsemihypergroup $A$ of semihypergroup $H$ is called a bi-hyperideal of $H$. If $m = 0$ and $n = 2$, then a subsemihypergroup $A$ of semihypergroup $H$ is called $(0, 2)$-hyperideal of $H$.

**Definition 2.6** (D.Heidari and B.Davvaz, 2011) An algebraic hyperstructure $(H, \circ, \leq)$ is called an ordered semihypergroup, if $(H, \circ)$ is a semihypergroup and $\leq$ is an order relation on $H$ such that the monotone condition holds as follows :

$$x \leq y \Rightarrow a \circ x \leq a \circ y \text{ for all } x, y, a \in H$$

Where, if $A$ and $B$ are nonempty subsets of $H$, then we say that $A \leq B$ if for every $a \in A$ there exist $b \in B$ such that $a \leq b$.

**Definition 2.7** (D.Heidari and B.Davvaz, 2011) A non-empty subset $A$ of an ordered semihypergroup $(H, \circ, \leq)$ is called a left (right) hyperideal of $H$ if the following conditions hold :

1. $H \circ A \subseteq A (A \circ H \subseteq A)$;
2. If $a \in A$ and $b \leq a$, then $b \in A$ for every $b \in H$

$A$ is called a hyperidel of $H$ if it is a left and right hyperideal. If $(H, \circ, \leq)$ is an ordered semihypergroup and $A \subseteq H$, then $(A]$ is the subset of $H$ defined as follows :

$$(A] = \{t \in H : t \leq a \text{ for some } a \in A\}$$

**Example 2.8** (D.Heidari and B.Davvaz, 2011) If $A$ is a non-empty subset of $H$ containing $\mathbb{Q}$, then $(A]$ is a hyperideal of ordered semihypergroup $(H, \circ, \leq)$ where $x \circ y = \mathbb{Q}$ for every $x, y$ in $H$.

**Proposition 2.9** (D.Heidari and B.Davvaz, 2011) Let $(H, \circ, \leq)$ be an ordered semihypergroup then the following holds :

1. $A \subseteq (A]$ for every $A \subseteq H$.
2. If $A \subseteq B$, then $(A] \subseteq (B]$ for every $A, B \subseteq H$.
3. $(A] \circ (B] \subseteq (A \circ B]$ for every $A, B \subseteq H$.
4. $((A]] = (A]$ for every $A \subseteq H$.
5. If $A$ and $B$ are hyperideals of $H$, then $(A \circ B]$ and $A \cup B$ are hyperideals of $H$.
6. For every $a \in H$, $(H \circ a \circ H]$ is a hyperideal of $H$.
7. If $A, B, C \subseteq H$ such that $A \subseteq B$, then $C \circ A \subseteq C \circ B$ and $A \circ C \subseteq B \circ C$.

**Definition 2.10** Let $(H, \circ, \leq)$ be an ordered semihypergroup and let $m, n$ be non-negative integer. A subsemihypergroup $A$ of $H$ is called a $(m, n)$-hyperideal of $H$ if the following hold :

1. $A^m \circ H \circ A^n \subseteq A$;
2. for $x \in A$ and $y \in H, y \leq x$ implies $y \in A$.

From Definition 2.10, if $m = n = 1$, then $A$ is called a bi-hyperideal of $H$. If $m = 0$ and $n = 2$, then $A$ is called a $(0, 2)$-hyperideal of $H$.

**Definition 2.11** A subsemihypergroup $A$ of an ordered semihypergroup $(H, \circ, \leq)$ is called $(0, 2)$-bi-hyperideal of $H$ if $A$ is both a bi-hyperideal and $(0, 2)$-hyperideal of $H$.

## 2.2 Literature reviews

D. N. Krgović. (1980) has introduced the concept of a degenerate bi-ideal of a semigroup $S$. If $B$ is a 0-minimal bi-ideal of $S$, then either $B$ is a degenerate bi-ideal or $bSb = B$ for every $b$ in $B \setminus \{0\}$. He shows that if $S \neq S^0$, then a nonempty subset $B$ of $S$ is a minimal bi-ideal of $S$ if and only if $B$ is a minimal right ideal of some minimal left ideal $S$. Moreover, he gives a characterization of a completely 0-simple semigroup by a non-degenerate 0-minimal bi-ideal.

D. N. Krgović. (1982) has introduced the notion of $(0,2)$-bi-ideals and $0$-$(0,2)$-bisimple semigroups, he describes 0-minimal $(0,2)$-bi-ideals and prove that a semigroup $S = S^0$ is $0$-$(0,2)$-bisimple if and only if $S$ is left 0-simple.

Whichayaporn Jantanan and Thawhat Changphas. (2013) have introduced $(0,2)$-ideals, $(1,2)$-ideals and 0-minimal $(0,2)$-ideals in ordered semigroups. The results obtained extend the results on semigroups without order.

Samkhan Hobanthad and Wichayaporn Jantanan. (2015) have introduce bi-hyperideal in semihypergroups. The results extend the result on semigroups as the following ;

**Lemma 2.12** Let $H$ be a semihypergroup with zero and $A$ be a 0-minimal bi-hyperideal of $H$. Then either $a \circ H \circ a = A$ for every $a$ in $A \setminus \{0\}$ or $A$ is degenerate.

*Proof.* Let $a \in A \setminus \{0\}$. Then $a \circ H \circ a \subseteq A \circ H \circ A \subseteq A$ and

$$\begin{aligned}(a \circ H \circ a) \circ H \circ (a \circ H \circ a) &= a \circ (H \circ a \circ H \circ a \circ H) \circ a \\ &\subseteq a \circ H \circ a\end{aligned}$$

so $a \circ H \circ a$ is a bi-hyperideal of $H$ contained in $A$. Since $A$ is a 0-minimal bi-hyperideal of $H$ so $a \circ H \circ a = \{0\}$ or $a \circ H \circ a = A$. Let $a \circ H \circ a = \{0\}$. If $a \circ a = \{0\}$, we have $A$ is a degenerate. If $a \circ a = \{a\}$ so $(a \circ a) \circ a = \{a\} \circ a = a \circ a = \{a\}$. This is impossible because $a \in a \circ a \circ a \subseteq a \circ H \circ a$. If $a \circ a = \{0, a\}$ then $(a \circ a) \circ a = \{0, a\} \circ a = 0 \circ a \cup a \circ a = \{0, a\}$. This is impossible, since $a \in a \circ a \circ a \subseteq a \circ H \circ a$.

Since $x \in a \circ a \subseteq A$, so $\{0, x\} \subset A$. If there exist $x \in a \circ a$ such that $x \notin \{0, a\}$, then

$$\begin{aligned}\{0, x\} \circ H \circ \{0, x\} &= 0 \circ H \circ 0 \cup 0 \circ H \circ x \cup x \circ H \circ 0 \cup x \circ H \circ x \\ &= \{0\} \subseteq \{0, x\}.\end{aligned}$$

Therefore $\{0, x\}$ is a bi-hyperideal of $H$. This is impossible because $A$ is 0-minimal bi-hyperideal of $H$. We have $a \circ a = \{0\}$ and $A = \{0, a\}$ with $a \circ H^1 \circ a = \{0\}$ so that $A$ is a degenerate bi-hyperideal.

It easy to see that the following statements holds:

**Lemma 2.13** A subset $A$ of a semihypergroup $H$ with zero is a non-degenerate 0-minimal bi-hyperideal of $H$ if and only if $A = a \circ H \circ a$ for every $a$ in $A \setminus \{0\}$

**Theorem 2.14** Let $H$ be a semihypergroup with zero and $A$ be a 0-minimal bi-hyperideal of $H$. Then either $A^2 = \{0\}$ or $x \circ A \circ x = A$ for every $x \in A$

*Proof.* Assume $A^2 \neq \{0\}$. Let $x \in A \setminus \{0\}$. By Lemma 2.12, $x \circ H \circ x = A$. It easy to see that

$$\begin{aligned}(x \circ A \circ x) \circ H \circ (x \circ A \circ x) &= x \circ A \circ (x \circ H \circ x) \circ A \circ x \\ &= x \circ A \circ A \circ A \circ x \\ &\subseteq x \circ A \circ x.\end{aligned}$$

Therefore $x \circ A \circ x$ is a bi-hyperideal contained in $A$, it follows that either $x \circ A \circ x = \{0\}$ or $x \circ A \circ x = A$. Assume that $x \circ A \circ x = \{0\}$. Thus $\{0\} = x \circ A \circ x = x \circ (x \circ H \circ x) \circ x = x^2 \circ H \circ x^2$. According to Lemma 2.12, we have $x^2 = \{0\}$. Then $A^2 = (x \circ H \circ x) \circ (x \circ H \circ x) = x \circ H \circ x^2 \circ H \circ x = \{0\}$. This is imposible. Therefore $x \circ A \circ x = A$.

**Lemma 2.15** Let $H$ be a semihypergroup with zero and $A$ be a 0-minimal right hyperideal of some 0-minimal left hyperideal of $H$. Then $A$ is a 0-minimal bi-hyperideal of $H$.

*Proof.* **Case 1.** $L$ is a degenerate 0-minimal left hyperideal of $H$. Then $L = \{0, l\}$ and $H \circ l = \{0\}$. Since $A$ is 0-minimal right hyperideal of $L$ so $A = L$. Then

$A \circ H \circ A = A \circ H \circ L \subseteq A \circ L \subseteq A$. Therefore $A$ is a degenerate 0-minimal bi-hyperideal of $H$. **Case 2.** $L$ is a non-degenerate 0-minimal left hyperideal of $H$. If $A$ is a degenerate 0-minimal right hyperideal of $L$. Then $A = \{0, a\}$ with $a \circ L = \{0\}$ and $A \circ H \circ A \subseteq A \circ H \circ L \subseteq A \circ L \subseteq A$. Hence $A$ is a degenerate 0-minimal bi-hyperideal of $L$. If $A$ is a non-degenerate 0-minimal right hyperideal of $L$. Hence $H \circ a = L$ and $a \circ L = A$ for every $a$ in $A \setminus \{0\}$. Thus $a \circ H \circ a = a \circ L = A$ for every $a$ in $A \setminus \{0\}$. By Lemma 2.13, we have $A$ is a non-degenerate 0-minimal bi-hyperideal of $H$.

**Lemma 2.16** Let $H$ be a semihypergroup with zero and $A$ be a non-degenerate 0-minimal bi-hyperideal of $H$ and $a \in A \setminus \{0\}$. Then

(i) $A = a \circ H \circ a$

(ii) If $L$ is a left hyperideal of $H$ contained in $H \circ a$ then $L^2 = \{0\}$ or $L = H \circ a$

(iii) If $R$ is a right hyperideal of $H \circ a$ contained in $A$ then $R^2 = \{0\}$ or $R = A$

*Proof.* (i) By Lemma 2.13, $A = a \circ H \circ a$.

(ii) Let $L \subseteq H \circ a$ and $H \circ L \subseteq L$. Since $(a \circ L) \circ H \circ (a \circ L) \subseteq (a \circ L) \circ H \circ L \subseteq a \circ L \circ L \subseteq a \circ L$ so $a \circ L$ is a bi-hyperideal contained in $A$. It follows that $a \circ L = \{0\}$ or $a \circ L = A$. If $a \circ L = \{0\}$ then $L^2 \subseteq (H \circ a) \circ L = H \circ (a \circ L) = \{0\}$. If $a \circ L = A$. Since $b \circ L \subseteq H \circ L \subseteq L$ implies $A \subseteq L$. Thus $H \circ a \subseteq H \circ L \subseteq L$. Therefore $L = H \circ a$.

(iii) Let $R \subseteq A$ and $R \circ H \circ a \subseteq R$. Since $(R \circ H \circ a) \circ H \circ (R \circ H \circ a) \subseteq R \circ H \circ a$ so $R \circ H \circ a$ is a bi-hyperideal of $H$ contained in $A$. It follows that $R \circ H \circ a = \{0\}$ or $R \circ H \circ a = A$. If $R \circ H \circ a = \{0\}$ then $R^2 \subseteq R \circ R \subseteq R \circ H \circ a = \{0\}$. If $R \circ H \circ a = A$ then $R \circ H \circ a \subseteq R$ implies $A \subseteq R$. Therefore $A = R$.

**Lemma 2.17** Let $H$ be a semihypergroup with zero and $A$ be a 0-minimal bi-hyperideal of $H$ such that $x \circ A \circ x = A$ for every $x \in A \setminus \{0\}$. Then $A$ is a 0-minimal right hyperideal of $H \circ x$.

*Proof.* Since $A \circ H \circ x \subseteq A \circ H \circ A \subseteq A$. Then $A$ is a right hyperideal of $H \circ x$. If $R \subseteq A$ and $R$ is a right hyperideal of $H \circ x$. By Lemma 2.16 (iii) we have $R^2 = \{0\}$ or $R = A$. If $x \in R \setminus \{0\}$ then $A = x \circ A \circ x \subseteq R \circ H \circ x \subseteq R$. Therefore $A$ is a

0-minimal right hyperideal of $H \circ x$.

The following theory follows from Lemma 2.15 and Lemma 2.17:

**Theorem 2.18** Let $H$ be a semihypergroup without zero and $A$ be a nonempty subset of $H$. Then $A$ is a minimal bi-hyperideal of $H$ if and only if $A$ is a minimal right hyperideal of some minimal left hyperideal of $H$.

Samkhan Hobanthad. (2015) have introduce $(0,2)$-bi-hyperideal in semihypergroups. The results obtained extending the result on semigroup as the follow :

If $A$ is a nonempty subsemihypergroup of semihypergroup $H$, it easy to see that $A \cup H \circ A$ is a left hyperideal of $H$ and $A \cup A \circ H \circ A$ is a bi-hyperideal of $H$. Since $(A \cup A \circ H) \circ H = A \circ H \cup A \circ H^2 \subseteq A \circ H \subseteq A \cup A \circ H$, then $A \cup A \circ H$ is a right hyperideal of $H$. Moreover,

$$\begin{aligned} H \circ (A \cup H \circ A^2)^2 &= H \circ (A \cup H \circ A^2) \circ (A \cup H \circ A^2) \\ &= H \circ A^2 \cup H^2 \circ A^3 \cup H \circ A \circ H \circ A^2 \cup H^2 \circ A^2 \circ H \circ A^2 \\ &\subseteq H \circ A^2 \cup H \circ A^2 \cup H \circ A^2 \cup H \circ A^2 \\ &= H \circ A^2 \\ &\subseteq A \cup H \circ A^2, \end{aligned}$$

we have $A \cup H \circ A^2$ is a $(0,2)$-hyperideal of $H$.

**Lemma 2.19** If $A$ is a subsemihypergroup of semihypergroup $H$, then $A$ is $(0,2)$-hyperideal of $H$ if and onlyif $A$ is a left hyperideal of some left hyperideal of $H$.

*Proof.* Assume $A$ is $(0,2)$-hyperideal of $H$. Consider

$$\begin{aligned} H \circ (A \cup H \circ A) &= H \circ A \cup H^2 \circ A \\ &\subseteq H \circ A \cup H \circ A \\ &= H \circ A \\ &\subseteq A \cup H \circ A. \end{aligned}$$

Hence $A \cup H \circ A$ is a left hyperideal of $H$. Consider

$$\begin{aligned}(A \cup H \circ A) \circ A &= A^2 \cup H \circ A^2 \\ &\subseteq A \cup A \\ &= A.\end{aligned}$$

Thus $A$ is a left hyperideal of $A \cup H \circ A$. Conversly, if $A$ is a left hyperideal of some left hyperideal of $H$. Let $L$ be a left hyperideal of $H$ and $A$ be a left hyperideal of $L$, then $H \circ A^2 \subseteq H \circ L \circ A \subseteq L \circ A \subseteq A$. Therefore $A$ is $(0,2)$-hyperideal of $H$.

**Theorem 2.20** Let $A$ be a subsemihypergroup of a semihypergroup $H$. The following statments are equivalent.

i) $A$ is a $(1,2)$-hyperideal of $H$.

ii) $A$ is a left hyperideal of some bi-hyperideal of $H$.

iii) $A$ is a bi-hyperideal of some left hyperideal of $H$.

iv) $A$ is a $(0,2)$-hyperideal of some right hyperideal of $H$.

v) $A$ is a right hyperideal of some $(0,2)$-hyperideal of $H$.

*proof.* (i $\Rightarrow$ ii) Assume that $A$ is a $(1,2)$-hyperideal of $H$. Consider

$$\begin{aligned}(A \cup A \circ H \circ A) \circ H \circ (A \cup C) &= A \circ H \circ A \cup A \circ A \circ H \circ A \cup \\ &\quad A \circ H \circ A \circ A \cup A \circ H \circ A \circ H \circ A \circ H \circ A \\ &\subseteq A \circ H \circ A \cup A \circ H \circ A \cup A \circ H \circ A \\ &= A \circ H \circ A \\ &\subseteq A \cup A \circ H \circ A.\end{aligned}$$

Hence $A \cup A \circ H \circ A$ is a bi-hyperideal of $H$. Consider

$$\begin{aligned}(A \cup A \circ H \circ A) \circ A &= A^2 \cup A \circ H \circ A^2 \\ &\subseteq A \cup A \\ &= A.\end{aligned}$$

Thus $A$ is a left hyperideal of $A \cup A \circ H \circ A$.

(ii $\Rightarrow$ iii) Let $A$ be a left hyperideal of some bi-hyperideal $B$ of $H$. Consider

$$\begin{aligned} A \circ (A \cup H \circ A) \circ A &= A^3 \cup A \circ H \circ A^2 \\ &\subseteq A \cup B \circ H \circ B \circ A \\ &\subseteq A \cup B \circ A \\ &\subseteq A \cup A \\ &= A. \end{aligned}$$

Hence $A$ is a bi-hyperideal of $A \cup H \circ A$. Since $A \cup H \circ A$ is a left hyperideal of $H$, then $A$ is a bi-hyperideal of left hyperideal $A \cup H \circ A$ of $H$.

(iii $\Rightarrow$ iv) Assume that $A$ be a bi-hyperideal of some left hyperideal $L$ of $H$. Consider

$$\begin{aligned} (A \cup A \circ H) \circ A^2 &= A^3 \cup A \circ H \circ A^2 \\ &\subseteq A \cup A \circ H \circ L \circ A \\ &\subseteq A \cup A \circ L \circ A \\ &\subseteq A \circ A \\ &= A. \end{aligned}$$

Since $A \cup A \circ H$ is a right hyperideal of $H$. Thus $A$ is a $(0,2)$-hayperideal of right hyperideal $A \cup A \circ H$ of $H$.

(iv $\Rightarrow$ v) Suppose that $A$ is a $(0,2)$-hyperideal of some right hyperideal $R$ of $H$. Consider

$$\begin{aligned} A \circ (A \cup H \circ A^2) &= A^2 \cup A \circ H \circ A^2 \\ &\subseteq A \cup R \circ H \circ A^2 \\ &\subseteq A \cup R \circ A^2 \\ &\subseteq A \cup A \\ &= A. \end{aligned}$$

Since $A \cup H \circ A^2$ is a $(0,2)$-hyperideal of $H$, we have $A$ is a right hyperideal of $(0,2)$-hyperideal $A \cup H \circ A^2$ of $H$.

(v $\Rightarrow$ i) Assume that $A$ is a right hyperideal of $(0,2)$-hyperideal $R$ of $H$. Then $A \circ H \circ A^2 \subseteq A \circ H \circ R^2 \subseteq A \circ R \circ A \subseteq A$. Hence $A$ is a $(1,2)$-hyperideal of $H$.

**Lemma 2.21** A subsemihypergroup $A$ of a semihypergroup $H$ if and only if there exist a $(0,2)$-hyperideal $L$ of $H$ and a right hyperideal $R$ of $H$ such that $R \circ L^2 \subseteq A \subseteq R \cap L$.

*Proof.* Let $A$ be a $(1,2)$-hyperideal of $H$, $L = A \cup H \circ A^2$ and $R = A \cup A \circ H$. Consider

$$\begin{aligned} R \circ L^2 &= (A \cup A \circ H) \circ (A \cup H \circ A^2)^2 \\ &= (A \cup A \circ H) \circ (A \cup H \circ A^2) \circ (A \cup H \circ A^2) \\ &= (A^2 \cup A \circ H \circ A^2 \cup A \circ H \circ A \cup A \circ H^2 \circ A^2) \circ (A \cup H \circ A^2) \\ &= (A^2 \cup A \circ H \circ A) \circ (A \cup H \circ A^2) \\ &= A^3 \cup A^2 \circ H \circ A^2 \cup A \circ H \circ A^2 \cup A \circ H \circ A \circ H \circ A^2 \\ &\subseteq A \cup A \circ H \circ A^2 \\ &= A. \end{aligned}$$

Hence $R \circ L^2 \subseteq A \subseteq R \cap L$. Conversely, let $R$ be a right hyperideal of $H$ and let $L$ be a $(0,2)$-hyperideal of $H$ such that $R \circ L^2 \subseteq A \subseteq R \cap L$. Then

$$A \circ H \circ A \subseteq (R \cap L) \circ H \circ (R \cap L) \circ (R \cap L) \subseteq R \circ H \circ L^2 \subseteq R \circ L^2 \subseteq A.$$

Thus $A$ is a $(1,2)$-hyperideal of $H$.

Let $H$ be a semihypergroup with zero scalar and $L$ is a left hyperideal of $H$. Since $H \circ L^2 \subseteq H \circ L$, then $L$ is a $(0,2)$-hyperideal of $H$. Therefore every left hyperideal of $H$ is a $(0,2)$-hyperideal of $H$.

A left hyperideal, right hyperideal, hyperideal, $(0,2)$-hyperideal, $(0,2)$-bi-hyperideal $A$ of a semihypergroup $H$ with zero scalar will be said to be 0-minimal if $A \neq \{0\}$ and $\{0\}$ is the only left hyperideal, right hyperideal, hyperideal, $(0,2)$-hyperideal, $(0,2)$-bi-hyperideal $A$, respectively of $H$ properly contained in $A$.

**Lemma 2.22** Let $L$ be a 0-minimal left hyperideal of semihypergroup $H$ with zero scalar and $A$ a subsemihypergroup of $L$. Then $A$ is a $(0,2)$-hyperideal of $H$ if and only if $A^2 = \{0\}$ or $A = L$

*Proof.* Let $L$ be a 0-minimal left hyperideal of semihypergroup $H$ with zero scalar and $A$ a subsemihypergroup of $H$ contained in $L$. It easy to see that $H \circ A^2$ is a left hyperideal of $H$. Thus $H \circ A^2 \subseteq A \subseteq L$, we have $H \circ A^2 = \{0\}$ or $H \circ A^2 = L$. If $H \circ A^2 = L$, then $A = L$. If $H \circ A^2 = \{0\}$ , then $H \circ A^2 \subseteq A^2$, we have $A^2$ is a left hyperideal of $H$ contained in $L$. Hence $A^2 = \{0\}$ or $A^2 = L$. If $A^2 = L$, then $A = L$. Therefore $A^2 = \{0\}$ or $A = L$. Conversely, if $A^2 = \{0\}$, then $H \circ A^2 = H \circ \{0\} = \{0\} \subseteq A$. If $A = L$, then $H \circ A^2 = H \circ L^2 \subseteq H \circ L \subseteq L = A$.

**Lemma 2.23** Let $L$ be a 0-minimal $(0, 2)$-hyperideal of a semihypergroup $H$ with zero scalar. Then $L^2 = \{0\}$ or $L$ is a 0-minimal left hyperideal of $H$.

*Proof.* Since $H \circ L^2 \subseteq L$, so $H \circ (L^2)^2 = H \circ L^2 \circ L^2 \subseteq L \circ L^2 \subseteq L^2$. Hence $L^2$ is a $(0, 2)$-hyperideal of $H$, contained in $L$. Then $L^2 = \{0\}$ or $L^2 = L$. If $L^2 = L$, implies $H \circ L = H \circ L^2 \subseteq L$. Thus $L$ is a left hyperideal of $H$. Let $B \subseteq L$ and $B$ is a left hyperideal of $H$ such that $B \neq \{0\}$, so $H \circ B^2 \subseteq H \circ B \subseteq B$. Thus $B$ is a $(0, 2)$-hyperideal of $H$. Since $L$ is a 0-minimal $(0, 2)$-hyperideal of $H$, then $B = L$. Therefore $L$ is a 0-minimal left hyperideal of $H$.

**Corollary 2.24** Let $H$ be a semihypergroup without zero scalar. Then $L$ is a minimal $(0, 2)$-hyperideal of $H$ if and only if $L$ is a minimal left hyperideal of $H$.

**Lemma 2.25** Let $H$ be a semihypergroup without zero scalar and let $A$ be a nonempty subset of $H$. Then $A$ is a minimal $(2, 1)$-hyperideal of $H$ if and only if $A$ is a minimal bi-hyperideal of $H$.

*Proof.* Since $(A^2 \circ H \circ A)^2 \circ H \circ (A^2 \circ H \circ A) \subseteq A^2 \circ H \circ A$, then $A^2 \circ H \circ A$ is a $(2, 1)$-hyperideal of $H$. Since $A$ is a minimal $(2, 1)$-hyperideal of $H$, so $A^2 \circ H \circ A = A$. Consider $A \circ H \circ A = A^2 \circ H \circ A \circ H \circ A \subseteq A^2 \circ H \circ A \subseteq A$, then $A$ is a bi-hyperideal of $H$. Let $B$ be a noempty subset of $A$ and $B$ be a bi-hyperideal of $H$. Since $B^2 \circ H \circ B \subseteq B^2 \subseteq B$, then $B$ is a $(2, 1)$-hyperideal of $H$. Since $A$ is a minimal $(2, 1)$-hyperideal of $H$, so $B = A$. Therefore $A$ is a minimal bi-hyperideal of $H$. Conversely, let $A$ be a minimal bi-hyperideal of $H$. Clearly that $A^2 \circ H \circ A \subseteq A \circ H \circ A \subseteq A$, so $A$ is a $(2, 1)$-hyperideal of $H$. Let $B \subseteq A$ and $B^2 \circ H \circ B \subseteq B$. Consider

$(B^2 \circ H \circ B) \circ H \circ (B^2 \circ H \circ B) \subseteq B^2 \circ H \circ B$, then $B^2 \circ H \circ B$ is a bi-hyperideal of $H$. We have $B^2 \circ H \circ B = A$. Since $B^2 \circ H \circ B \subseteq B$, so $A \subseteq B$. Thus $A = B$. Therefore $A$ is a minimal $(2,1)$-hyperideal of $H$.

**Definition 2.26** A subsemihypergroup $A$ of a semihypergroup $H$ with zero scalar is called a $(0,2)$-bi-hyperideal of $H$ if $A$ is a bi-hyperideal of $H$ and also a $(0,2)$-hyperideal of $H$. A $(0,2)$-bi-hyperideal of $H$ is called 0-minimal if $A \neq \{0\}$ and $\{0\}$ is the only $(0,2)$-bi-hyperideal of $H$ properly contained in $A$.

A semihypergroup $H$ with zero scalar is called a $(0,2)$-bisimple if $H^2 \neq \{0\}$ and it is the only proper $(0,2)$-bi-hyperideal of $H$.

**Lemma 2.27** Let $A$ be a subsemihypergroup of a semihypergroup $H$ without zero scalar. Then $A$ is a $(0,2)$-bi-hyperideal of $H$ if and only if $A$ is a hyperideal of some left hyperideal of $H$.

*Proof.* Let $A$ be a $(0,2)$-bi-hyperideal of $H$, i.e., $A \circ H \circ A \subseteq A$ and $H \circ A^2 \subseteq A$. Since $A \cup H \circ A$ is a left hyperideal of $H$. Consider

$$\begin{aligned} A \circ (A \cup H \circ A) &= A^2 \cup A \circ H \circ A \\ &\subseteq A \cup A = A \\ (A \cup H \circ A) \circ A &= A^2 \cup H \circ A^2 \\ &\subseteq A \cup A = A. \end{aligned}$$

Therefore $A$ is a hyperideal of left hyperideal $A \cup H \circ A$ of $H$. Conversely, let $A$ be a hyperideal of some left hyperideal $L$ of $H$. By Lemma 4.8, $A$ is a $(0,2)$-hyperideal of $H$. Since $A \circ H \circ A \subseteq A \circ H \circ L \subseteq A \circ L \subseteq A$. Thus $A$ is a bi-hyperideal of $H$. Therefore $A$ is a $(0,2)$-bi-hyperideal of $H$.

**Theorem 2.28** Let $A$ be a 0-minimal $(0,2)$-bi-hyperideal of a semihypergroup $H$. Then exactly one of the following cases occures:

i) $A = \{0, a\}, a \circ H^1 \circ a = \{0\}$

ii) $A = \{0, a\}, a^2 = \{0\}, a \circ H \circ a = A$

iii) $\forall a \in A \setminus \{0\}, H \circ a^2 = A$

*Proof.* Let $a \in A \setminus \{0\}$. Since $(H \circ a) \circ H \circ (H \circ a^2) \subseteq H \circ a^2$, so $H \circ a^2$ is a bi-hyperideal of $H$. Morover, $H \circ a^2$ is a $(0,2)$-hyperideal because $H \circ (H \circ a^2)^2 = H \circ H \circ a^2 \circ H \circ a^2 \subseteq H \circ a^2$. Since $H \circ a^2 \subseteq H \circ A^2 \subseteq A$, we have $H \circ a^2$ is a $(0,2)$-bi-hyperideal contained in $A$. Therefore $H \circ a^2 = \{0\}$ or $H \circ a^2 = A$. Let $H \circ a^2 = \{0\}$. We have either $a \circ a = \{0\}$ or $a \circ a = \{a\}$ or $a \circ a = \{0, a\}$ or there exist $x \in a^2$ such that $x \notin \{0, a\}$. If $a \circ a = \{a\}$, This is imposible because $a \in a \circ a \circ a \subseteq H \circ a^2 = \{0\}$. If $a \circ a = \{0, a\}$, so $(a \circ a) \circ a = \{0, a\} \circ a = 0 \circ a \cup a \circ a = \{0\} \cup \{0, a\} = \{0, a\}$. This is contradiction because $a \in a \circ a \circ a \subseteq H \circ a^2 = \{0\}$. If there exist $x \in a^2$ such that $x \notin \{0, a\}$, so $x \in A$. Then $\{0, x\} \subseteq \{0, x, a\} \subseteq A$. Since $H \circ x \subseteq H \circ a^2 = \{0\}$, so $H \circ x = \{0\}$. Thus $H \circ x^2 = (H \circ x) \circ x = \{0\}$. Consider

$$\begin{aligned} H \circ (\{0, x\})^2 &= H \circ \{0, x\} \circ \{0, x\} \\ &= H \circ 0^2 \cup H \circ 0 \circ x \cup H \circ x \circ 0 \cup H \circ x^2 \\ &= \{0\} \\ &\subseteq \{0, x\}, \end{aligned}$$

so $\{0, x\}$ is a $(0,2)$-hyperideal of $H$. Since

$$\begin{aligned} \{0, x\} \circ H \circ \{0, x\} &= 0 \circ H \circ 0 \cup 0 \circ H \circ x \cup x \circ H \circ 0 \cup x \circ H \circ x \\ &= x \circ H \circ x \\ &= x \circ \{0\} = \{0\} \subseteq \{0, x\}, \end{aligned}$$

so $\{0, x\}$ is a bi-hyperideal. Therefore $\{0, x\}$ is a $(0,2)$-bi-hyperideal of $H$ contained in $A$. This is contradiction because $\{0, x\} \neq A$ and $A$ is a 0-minimal $(0,2)$-bi-hyperideal of $H$. Thus $a^2 = \{0\}$ and $A = \{0, a\}$. Since $(a \circ H \circ a) \circ H \circ (a \circ H \circ a) \subseteq a \circ H \circ a$, so $a \circ H \circ a$ is a bi-hyperideal of $H$, $a \circ H \circ a \subseteq A \circ H \circ A \subseteq A$ and

$$\begin{aligned} H \circ (a \circ H \circ a)^2 &= H \circ a \circ H \circ a \circ a \circ H \circ a \\ &= H \circ a \circ H \circ a^2 \circ H \circ a \\ &= \{0\} \subseteq a \circ H \circ a. \end{aligned}$$

Then $a \circ H \circ a$ is a $(0,2)$-bi-hyperideal of $H$. Thus $a \circ H \circ a = \{0\}$ or $a \circ H \circ a = A$.

**Corollary 2.29** Let $A$ be a 0-minimal $(0,2)$-bi-hyperideal of $H$ such that $A^2 \neq \{0\}$. Then $A = H \circ a^2$ for every $a \in A \setminus \{0\}$.

**Corollary 2.30** A semihypergroup $H$ with zero scalar is $0$-$(0,2)$-bisimple if and only if $H \circ a^2 = H$ for every $a \in H \setminus \{0\}$.

*Proof.* Let $H$ be a $0$-$(0,2)$-bisimple, then $H^2 \neq \{0\}$ and $H$ is a 0-minimal $(0,2)$-bi-hyperideal. According to Corollary 2.29, $H \circ a^2 = H$ for every $a \in H \setminus \{0\}$. Conversely, let $A$ be non-null $(0,2)$-bi-hyperideal of $H$ and $a \in A \setminus \{0\}$. Then $H = H \circ a^2 \subseteq H \circ A^2 \subseteq A$. Thus $H = A$. Therefore, $H$ is $0$-$(0,2)$-bisimple.

**Theorem 2.31** A semihypergroup $H$ with zero scalar is $0$-$(0,2)$-bisimple if and only if $H$ is left 0-simple.

*Proof.* Since $H$ be a $0$-$(0,2)$-bisimple. Hence $H^2 = \{0\}$ and $H$ is only proper $(0,2)$-bi-hyperideal of $H$. Let $A \subseteq H$ such that $H \circ A \subseteq A$, we have $H \circ A^2 \subseteq A \circ A \subseteq A$ and $A \circ H \circ A \subseteq A \circ A \subseteq A$. Thus $A = H$. Therefore $H$ is a left 0-simple. Conversely, if $H$ is a left 0-simple and $H \circ (H \circ a) \subseteq H \circ a$ such that $a \in H \setminus \{0\}$, so $H \circ a$ is a left hyperideal contained in $H$. Thus $H \circ a = H$. Hence $H \circ a^2 = (H \circ a) \circ a = H \circ a = H$. Since Corollary 2.30, $H$ is a $0$-$(0,2)$-bisimple.

**Theorem 2.32** Let $A$ be a 0-minimal $(0,2)$-bi-hyperideal of $H$. Then either $A^2 = \{0\}$ or $A$ is left 0-simple.

*Proof.* Let $A^2 \neq \{0\}$, according to Corollary 2.29, $H \circ a^2 = A$ for every $a \in A \setminus \{0\}$. Let $a \in A \setminus \{0\}$. Since $(A \circ a^2) \circ H \circ (A \circ a^2) \subseteq A \circ H \circ A \circ a^2 \subseteq A \circ a^2$, then $A \circ a^2$ is a bi-hyperideal. Since

$$\begin{aligned} H \circ (A \circ a^2)^2 &= H \circ A \circ a^2 \circ A \circ a^2 \\ &\subseteq H \circ a^2 \circ A \circ a^2 \\ &= A \circ A \circ a^2 \\ &\subseteq A \circ a^2, \end{aligned}$$

hence $A \circ a^2$ is a $(0,2)$-hyperideal. Therefore $A \circ a^2$ is a $(0,2)$-bi-hyperideal of $H$. Then $A \circ a^2 = \{0\}$ or $A \circ a^2 = A$. If $a^2 = \{0\}$, it is imposible because $H \circ a^2 = A$.

Thus $a^2 \neq \{0\}$ for every $a \in A$. Therefore there exist $x \in a^2 \setminus \{0\}$. Since $x \in a^2 \subseteq A$, we have $x^2 \neq \{0\}$. Consider $x^2 \subseteq a^2 \circ a^2 = a^4$, then $a^4 = a^2 \circ a^2 \subseteq A \circ a^2$. Thus $A \circ a^2 \neq \{0\}$. Therefore $A \circ a^2 = A$. According to Corollary 2.30 and Theorem 2.31, $A$ is left $0$-simple.

# CHAPTER III

# RESEARCH METHODOLOGY

In this research, used the concept of direct proof, indirect proof and existence proof as the following:

1. Direct proof

   A proof is a sequence of statements. Usually the theorem we are trying to prove is the form $P_1 \wedge \ldots \wedge P_n \Rightarrow Q$. The $P_i$ are the hypotheses of the theorem. We can assume that the hypotheses are true, because if one of the $P_i$ is false, then the implication is true. In addition to any stated hypotheses, it is always valid in a proof to write down a theorem that has already been established, or an unstated hypothesis. If we know $\forall x, P(x)$, then we can write down $P(x_0)$ whenever $x_0$ is a particular value. Similarly, if $P(x_0)$ has appeared in a proof, it is valid to continue with $\exists x, P(x)$. Frequently, choosing a useful special case of a general proposition is the key step in an argument.

2. Indirect proof

   There are two methods of indirect proof: proof of the contrapositive and proof by contradiction.

   2.1 Proof of the contrapositive

   The contrapositive of the statement $P \Rightarrow Q$ is $\sim Q \Rightarrow \sim P$.

   2.2 Proof by contradiction

   we assume $\sim P$ and derive a statement that is known to be false. Since mathematics is consistent, this means $P$ must be true.

3. Existence proof

   In such existence proofs, try to be as specific as possible. The most satisfying and useful existence proofs often give a concrete example, or describe explicitly how to produce the object $x$.

# CHAPTER IV
# MAIN RESULTS

This chapter, I shall give, briefly, the results of $0$-minimal bi-hyperideal of ordered semihypergroups and $0$-minimal $(0,2)$-bi-hyperideal of ordered semihypergroups.

**Lemma 4.1** Let $(H,\circ,\leq)$ be an ordered semihypergroup and let $A$ be a subsemihypergroup of $H$. Then the following holds :

1. $(A\cup H\circ A]$ is a left hyperideal of $H$.
2. $(A^2\cup A\circ H\circ A^2]$ is a bi-hyperideal of $H$.
3. $(A\cup A\circ H]$ is a right hyperideal of $H$.
4. $(A\cup H\circ A^2]$ is a $(0,2)$-hyperideal of $H$.

**Proof** Let $(H,\circ,\leq)$ be an ordered semihypergroup and let $A$ be a subsemihypergroup of $H$.

(1) Since $H\circ(A\cup H\circ A]\subseteq(H\circ A\cup H^2\circ A]\subseteq(H\circ A]\subseteq(A\cup H\circ A]$, we have $(A\cup H\circ A]$ is a left hyperideal of $H$.

(2) Since

$$\begin{aligned}(A^2\cup A\circ H\circ A^2]\circ H\circ(A^2\cup A\circ H\circ A^2] &\subseteq (A^2\circ H\circ A^2\cup A^2\circ H\circ A\circ H\circ A^2\\ &\quad \cup A\circ H\circ A^2\circ H\circ A^2\\ &\quad \cup A\circ H\circ A^2\circ H\circ A\circ H\circ A^2]\\ &\subseteq (A\circ H\circ A^2]\\ &\subseteq (A^2\cup A\circ H\circ A^2].\end{aligned}$$

We have $(A^2\cup A\circ H\circ A^2]$ is a bi-hyperideal of $H$.

(3) Since $(A\cup A\circ H]\circ H\subseteq(A\circ H\cup A\circ H^2]\subseteq(A\circ H]\subseteq(A\cup A\circ H]$, we have $(A\cup A\circ H]$ is a right hyperideal of $H$.

(4) Since

$$\begin{aligned}H\circ(A\cup H\circ A^2]^2 &= H\circ(A\cup H\circ A^2]\circ(A\cup H\circ A^2]\\ &\subseteq (H\circ A^2\cup H\circ A\circ H\circ A^2\cup H^2\circ A^3\cup H^2\circ A^2\circ H\circ A^2]\\ &\subseteq (H\circ A^2]\\ &\subseteq (A\cup H\circ A^2].\end{aligned}$$

We have $(H \circ A^2]$ is a $(0,2)$-hyperideal of $H$.

**Lemma 4.2** Let $(H, \circ, \leq)$ be an ordered semihypergroup and let $A \subseteq H$. Then $A$ is a $(0,2)$-hyperideal of $H$ if and only if $A$ is a left hyperideal of some left hyperideal of $H$.

**Proof** If $A$ is a $(0,2)$-hyperideal of $H$,
then $(A \cup H \circ A] \circ A \subseteq (A^2 \cup H \circ A^2] \subseteq (A] = A$.
Thus $A$ is a left hyperideal of left hyperideal $(A \cup H \circ A]$ of $H$.
Conversely, assume that $A$ is a left hyperideal of
left hyperideal $L$ of $H$.
Then $H \circ A^2 \subseteq H \circ L \circ A \subseteq L \circ A \subseteq A$.
Let $a \in A$ and $b \in H$ be such that $b \leq a$.
Since $a \in L$, we have $b \in L$.
The assumption implies $b \in A$.
Therefore $A$ is $(0,2)$-hyperideal of $H$.

**Theorem 4.3** Let $(H, \circ, \leq)$ be an ordered semihypergroup and let $A \subseteq H$. The following statements are equivalent :

1. $A$ is a $(1,2)$-hyperideal of $H$ ;
2. $A$ is a left hyperideal of some bi-hyperideal of $H$ ;
3. $A$ is a bi-hyperideal of some left hyperideal of $H$ ;
4. $A$ is a $(0,2)$-hyperideal of some right hyperideal of $H$ ;
5. $A$ is a right hyperideal of some $(0,2)$-hyperideal of $H$.

**Proof** Let $(H, \circ, \leq)$ be an ordered semihypergroup and let $A \subseteq H$.

(1.→2.) If $A$ is a $(1,2)$-hyperideal of $H$, then

$$\begin{aligned}(A^2 \cup A \circ H \circ A^2] \circ A &= (A^2 \cup A \circ H \circ A^2] \circ (A] \\ &\subseteq (A^3 \cup A \circ H \circ A^3] \\ &\subseteq (A^2 \cup A \circ H \circ A^2] \\ &\subseteq (A] = A.\end{aligned}$$

Clearly, if $a \in A, b \in (A^2 \cup A \circ H \circ A^2]$ such that $b \leq a$, we have $b \in A$. Hence $A$ is a left hyperideal of the bi-hyperideal $(A^2 \cup A \circ H \circ A^2]$ of $H$.

(2.→3.) If $A$ is a left hyperideal of a bi-hyperideal $B$ of $H$, then $A^2 \subseteq B \circ A \subseteq A$ and

$$\begin{aligned}A \circ (A \cup H \circ A] \circ A &\subseteq (A] \circ (A \cup H \circ A] \circ (A] \\ &\subseteq (A^3 \cup A \circ H \circ A^2] \\ &\subseteq (A \cup B \circ H \circ B \circ A] \\ &\subseteq (A \cup B \circ A] \\ &\subseteq (A] = A.\end{aligned}$$

Let $a \in A, b \in (A \cup H \circ A]$ such that $b \leq a$.
Since $a \in A$, so $a \in B$.
Thus $b \in B$, we have $b \in A$.
Therefore $A$ is a bi-hyperideal of
the left hyperideal $(A \cup H \circ A]$ of $H$.

(3.→4.) If $A$ is a bi-hyperideal of some left hyperideal $L$ of $H$, we have

$$\begin{aligned}(A \cup A \circ H] \circ A^2 &\subseteq (A \cup A \circ H] \circ (A^2] \\ &\subseteq (A^3 \cup A \circ H \circ A^2] \\ &\subseteq (A \cup A \circ H \circ L \circ A] \\ &\subseteq (A \cup A \circ L \circ A] \\ &\subseteq (A] = A.\end{aligned}$$

Let $a \in A, b \in (A \cup A \circ H]$ such that $b \leq a$, then $a \in L$.
Thus $b \in L$, so $b \in A$.
Hence $A$ is a $(0,2)$-hyperideal of
the right hyperideal $(A \cup A \circ H]$ of $H$.

(4.→5.) If $A$ is a $(0,2)$-hyperideal of some right hyperideal $R$ of $H$, we have

$$\begin{aligned} A \circ (A \cup H \circ A^2] &\subseteq (A^2 \cup A \circ H \circ A^2] \\ &\subseteq (A \cup R \circ H \circ A^2] \\ &\subseteq (A \cup R \circ A^2] \\ &\subseteq (A] = A. \end{aligned}$$

Assume that $a \in A, b \in (A \cup H \circ A^2]$ such that $b \leq a$.

Then $a \in R$, so $b \in R$. Thus $b \in A$. Hence $A$ is a right hyperideal of the $(0,2)$-hyperideal $(A \cup H \circ A^2]$ of $H$.

(5.→1.) If $A$ is a right hyperideal of a $(0,2)$-hyperideal $R$ of $H$, we have $A \circ H \circ A^2 \subseteq A \circ H \circ R^2 \subseteq A \circ R \subseteq A$.

Assume that $a \in A, b \in H$ such that $b \leq a$.

Since $a \in R$, so $b \in R$. Thus $b \in A$.

Hence $A$ is a $(1,2)$-hyperideal of $H$.

**Lemma 4.4** Let $(H, \circ, \leq)$ be an ordered semihypergroup and let $A$ be a subsemihypergroup of $H$ such that $A = (A]$. Then $A$ is a $(1,2)$-hyperideal of $H$ if and only if there exist a $(0,2)$-hyperideal $L$ of $H$ and a right hyperideal $R$ of $H$ such that $R \circ L^2 \subseteq A \subseteq R \cap L$.

**Proof** Assume that $A$ is a $(1,2)$-hyperideal of $H$.

From Lemma 4.1, $(A \cup H \circ A^2]$ and $(A \cup A \circ H]$ are $(0,2)$-hyperideal and right hyperideal of $H$, respectively.

Setting $L = (A \cup H \circ A^2]$ and $R = (A \cup A \circ H]$, we have

$$\begin{aligned} R \circ L^2 &\subseteq (A \cup A \circ H] \circ (A \cup H \circ A^2] \circ (A \cup H \circ A^2] \\ &\subseteq (A^3 \cup A^2 \circ H \circ A^2 \cup A \circ H \circ A^3 \cup A \circ H \circ A^2 \circ H \circ A^2 \\ &\quad \cup A \circ H \circ A^2 \cup A \circ H \circ A \circ H \circ A^2 \cup A \circ H^2 \circ A^3 \\ &\quad \cup A \circ H^2 \circ A^2 \circ H \circ A^2] \\ &\subseteq (A^3 \cup A \circ H \circ A^2] \\ &\subseteq (A] = A. \end{aligned}$$

It is clearly that $A \subseteq R \cap L$.

Hence $R \circ L^2 \subseteq A \subseteq R \cap L$.

Conversely, let $R$ be a right hyperideal of $H$ and $L$ be a $(0,2)$-hyperideal of $H$ such that $R \circ L^2 \subseteq A \subseteq R \cap L$. Then $A \circ H \circ A^2 \subseteq (R \cap L) \circ H \circ (R \cap L) \circ (R \cap L) \subseteq R \circ H \circ L^2 \subseteq R \circ L^2 \subseteq A$. Hence $A$ is a $(1,2)$-hyperideal of $H$.

**Definition 4.5** A $(0,2)$-bi-hyperideal $A$ of an ordered semihypergroup $(H, \circ, \leq)$ with a zero scalar element $0$ will be said to be $0$-minimal if $A \neq \{0\}$ and $A$ is the only $(0,2)$-bi-hyperideal of $H$ properly contained in $A$.

From above definition, clearly that every left hyperideal of $H$ is a $(0,2)$-hyperideal of $H$. Hence if $L$ is a $0$-minimal $(0,2)$-hyperideal of $H$ and $A$ is a left hyperideal of $H$ contained in $L$, then $A = 0$ or $A = L$.

**Lemma 4.6** Let $(H, \circ, \leq)$ be an ordered semihypergroup with zero scalar element $0$. If $L$ is a $0$-minimal left hyperideal of $H$ and $A$ is a subsemihypergroup of $L$ such that $A = (A]$, then $A$ is a $(0,2)$-hyperideal of $H$ contained in $L$ if and only if $(A^2] = \{0\}$ or $A = L$.

**Proof** Assume that $A$ is a $(0,2)$-hyperideal of $H$ contained in $L$,
then $(H \circ A^2] \subseteq L$.
Since $(H \circ A^2]$ is a left hyperideal of $H$,
we have $(H \circ A^2] = \{0\}$ or $(H \circ A^2] = L$. If $(H \circ A^2] = L$.
Then $L = (H \circ A^2] \subseteq (A] = A$.
Hence $A = L$. If $(H \circ A^2] = \{0\}$.
We have $H \circ (A^2] \subseteq (H \circ A^2] = \{0\} \subseteq (A^2]$.
Thus $(A^2]$ is a left hyperideal of $H$ contained in $L$.
By the minimality of $L$, $(A^2] = \{0\}$ or $(A^2] = L$.
If $(A^2] = L$, then $L = (A^2] \subseteq (A] = A$. Hence $A = L$
The opposite direction is clear.

**Lemma 4.7** Let $(H, \circ, \leq)$ be an ordered semihypergroup with zero scalar element $0$. If $L$ be a $0$-minimal $(0,2)$-hyperideal of $H$, then $(L^2] = \{0\}$ or $L$ is a $0$-minimal left hyperideal of $H$.

**Proof** Let $(H, \circ, \leq)$ be an ordered semihypergroup with zero scalar.
Assume that $L$ be a $0$-minimal $(0,2)$-hyperideal of $H$.
Consider $H \circ (L^2]^2 = H \circ (L^2] \circ (L^2] \subseteq (H \circ L^2] \circ (L^2] \subseteq (L^2]$.
Then $(L^2]$ is a $(0,2)$-hyperideal of $H$ contained in $L$.
Hence $(L^2] = \{0\}$ or $(L^2] = L$.
Suppose that $(L^2] = L$.
Since $H \circ L = H \circ (L^2] \subseteq (H \circ L^2] \subseteq (L] = L$.
We obtain $L$ is left hyperideal of $H$.
Let $B$ be a left hyperideal of $H$ contained in $L$ .
It follows that $H \circ B^2 \subseteq H \circ B \subseteq B$.
This show that $B$ is a $(0,2)$-hyperideal of $H$ contained in $L$.
Therefore $B = \{0\}$ or $B = L$.
Thus $L$ is a $0$-minimal left hyperideal of $H$.

The following corollary follows from Lemma 4.6 and Lemma 4.7

**Corollary 4.8** Let $(H, \circ, \leq)$ be an ordered semihypergroup without zero scalar. Then $L$ is a minimal $(0,2)$-hyperideal of $H$ if and only if $L$ is a minimal left hyperideal of $H$.

**Lemma 4.9** Let $(H, \circ, \leq)$ be an ordered semihypergroup without zero scalar and let $A$ be a nonempty subset of $H$. Then $A$ is a minimal $(2,1)$-hyperideal of $H$ if and only if $A$ is a minimal bi-hyperideal of $H$.

**Proof** Let $(H, \circ, \leq)$ be an ordered semihypergroup with zero scalar and let $A$ be a nonempty subset of $H$.

$(\Rightarrow)$ Assume that $A$ is a minimal $(2,1)$-hyperideal of $H$.

Since $(A^2 \circ H \circ A]^2 \circ H \circ (A^2 \circ H \circ A] \subseteq (A^2 \circ H \circ A]$

and $(A^2 \circ H \circ A] \subseteq (A] = A$,

then $(A^2 \circ H \circ A]$ is a $(2,1)$-hyperideal of $H$ contained in $A$.

Therefore $(A^2 \circ H \circ A] = A$. Since

$$\begin{aligned} A \circ H \circ A &= (A^2 \circ H \circ A] \circ H \circ A \\ &\subseteq (A^2 \circ H \circ A \circ H \circ A] \\ &\subseteq (A^2 \circ H \circ A] = A, \end{aligned}$$

we have $A$ is a bi-hyperideal of $H$.

Suppose that there exist a bi-hyperideal $B$ of $H$ contained in $A$.

Then $B^2 \circ H \circ B \subseteq B^2 \subseteq B \subseteq A$.

Thus $B$ is a $(2,1)$-hyperideal of $H$ contained in $A$.

Using the minimality of $A$, we get $B = A$.

$(\Leftarrow)$ Conversely, assume that $A$ is a minimal bi-hyperideal of $H$.

Then $A$ is a $(2,1)$-hyperideal of $H$.

Let $C$ be a $(2,1)$-hyperideal of $H$ contained in $A$. Since

$$\begin{aligned} (C^2 \circ H \circ C] \circ H \circ (C^2 \circ H \circ C] &\subseteq (C^2 \circ H \circ C \circ H \circ C^2 \circ H \circ C] \\ &\subseteq (C^2 \circ H \circ C], \end{aligned}$$

we have $(C^2 \circ H \circ C]$ is a bi-hyperideal of $H$.

This implies that $(C^2 \circ H \circ C] = A$.

Since $A = (C^2 \circ H \circ C] \subseteq (C] = C$, so $A = C$.

Therefore $A$ is a minimal $(2,1)$-hyperideal of $H$.

**Lemma 4.10** Let $(H, \circ, \leq)$ be an ordered semihypergroup with zero scalar and let $A \subseteq H$. Then $A$ is a $(0,2)$-bi-hyperideal of $H$ if and only if $A$ is a hyperideal of some left hyperideal of $H$.

**Proof** Let $(H, \circ, \leq)$ be an ordered semihypergroup with zero scalar and let $A \subseteq H$.

$(\Rightarrow)$ Assume that $A$ is a $(0,2)$-bi-hyperideal of $H$.

Then $H \circ (A^2 \cup H \circ A^2] \subseteq (H \circ A^2 \cup H^2 \circ A^2]$

$$\subseteq (H \circ A^2]$$

$$\subseteq (A^2 \cup H \circ A^2].$$

Hence $(A^2 \cup H \circ A^2]$ is a left hyperideal of $H$.

Since $A \circ (A^2 \cup H \circ A^2] \subseteq (A^3 \cup A \circ H \circ A^2] \subseteq (A]$ and

$$(A^2 \cup H \circ A^2] \circ A \subseteq (A^3 \cup H \circ A^3] \subseteq (A],$$

we obtain $A$ is a hyperideal of $(A^2 \cup H \circ A^2]$.

$(\Leftarrow)$ Conversely, if $A$ is a hyperideal of a left hyperideal $L$ of $H$.

Hence, by Lemma 4.2, $A$ is a $(0,2)$-hyperideal of $H$.

Since $A \circ H \circ A \subseteq A \circ H \circ L \subseteq A \circ L \subseteq A$,

hence $A$ is a bi-hyperideal of $H$.

Therefore $A$ is a $(0,2)$-bi-hyperideal of $H$.

**Theorem 4.11** Let $(H, \circ, \leq)$ be an ordered semihypergroup with zero scalar element $0$. If $A$ is a $0$-minimal $(0,2)$-bi-hyperideal of $H$, then exactly one of the following cases occurs :

1. $A = \{0\}, (a \circ H^1 \circ a] = \{0\}$
2. $A = (\{0, a\}], a^2 = \{0\}, (a \circ H \circ a] = A$
3. $\forall a \in A \setminus \{0\}, (H \circ a^2] = A$.

**Proof** Let $(H, \circ, \leq)$ be an ordered semihypergroup with zero scalar element $0$.

Assume that $A$ is a $0$-minimal $(0,2)$-bi-hyperideal of $H$.

Let $a \in A \setminus \{0\}$, we have $(H \circ a^2] \subseteq A$.

Moreover, $(H \circ a^2]$ is a $(0,2)$-bi-hyperideal of $H$.

Hence $(H \circ a^2] = \{0\}$ or $(H \circ a^2] = A$.

Let $(H \circ a^2] = \{0\}$, we have either $a \circ a = \{0\}$ or $a \circ a = \{a\}$ or $a \circ a = \{0, a\}$ or there exist $x \in a^2$ such that $x \notin \{0, a\}$.

If $a \circ a = \{a\}$ this is impossible because $a \in a \circ a \circ a \subseteq H \circ a^2 = \{0\}$.

If $a \circ a = \{0, a\}$, so $(a \circ a) \circ a = \{0, a\} \circ a = 0 \circ a \cup a \circ a = \{0, a\}$.

This is contradiction because $a \in a \circ a \circ a \subseteq H \circ a^2 = \{0\}$.

If there exist $x \in a^2$ such that $x \notin \{0, a\}$, so $x \in A$.

Then $\{0, x\} \subseteq \{0, x, a\} \subseteq A$.

Since $H \circ x \subseteq H \circ a^2 = \{0\}$, so $H \circ x = \{0\}$.

Thus $H \circ x^2 = (H \circ x) \circ x = \{0\}$, consider

$$\begin{aligned} H \circ (\{0, x\}]^2 &= H \circ (\{0, x\}] \circ (\{0, x\}] \\ &= (H \circ 0^2 \cup H \circ 0 \circ x \cup H \circ x \circ 0 \cup H \circ x^2] \\ &= (\{0\}] \subseteq (\{0, x\}], \end{aligned}$$

so $(\{0, x\}]$ is a $(0, 2)$-hyperideal of $H$. Since

$$\begin{aligned} (\{0, x\}] \circ H \circ (\{0, x\}] &= (x \circ H \circ x] \\ &= (x \circ \{0\}] \\ &= (\{0\}] \subseteq (\{0, x\}], \end{aligned}$$

we have $(\{0, x\}]$ is a $(0, 2)$-bi-hyperideal of $H$ contained in $A$.

If $(\{0, x\}] = A$, then

$$\begin{aligned} a \circ a \subseteq A \circ A &\subseteq H \circ (\{0, x\}] \\ &\subseteq (H \circ x] \\ &\subseteq (H \circ a^2] = \{0\}. \end{aligned}$$

This is contradiction because $\{0, x\} \subseteq a \circ a$.

Hence $(\{0, x\}] \neq A$.

Using the minimality of $A$, we have $a^2 = \{0\}$ and $A = (\{0, a\}]$.

It is clear that $a \circ H \circ a$ is a bi-hyperideal of $H$ contained in $A$ and

$$\begin{aligned} H \circ (a \circ H \circ a)^2 &= H \circ a \circ H \circ a^2 \circ H \circ a \\ &= H \circ a \circ H \circ \{0\} \circ H \circ a \\ &= \{0\} \subseteq a \circ H \circ a. \end{aligned}$$

Then $a \circ H \circ a$ is a $(0, 2)$-bi-hyperideal of $H$ contained in $A$.

Thus $a \circ H \circ a = \{0\}$ or $a \circ H \circ a = A$.

The following corollary follows from theorem 4.11.

**Corollary 4.12** Let $A$ be a 0-minimal $(0,2)$-bi-hyperideal of an ordered semihypergroup $(H,\circ,\leq)$ with a zero scalar. If $(A^2] \neq \{0\}$, then $A = (H \circ a^2]$ for every $a \in A \setminus \{0\}$.

**Definition 4.13** An ordered semihypergroup $(H,\circ,\leq)$ with a zero scalar is said to be a $(0,2)$-bisimple if $(H^2] \neq \{0\}$ and it is only proper $(0,2)$-bi-hyperideal of $H$.

We obtain the following corollary from Corollary 4.12 and Definition 4.13.

**Corollary 4.14** An ordered semihypergroup $H$ with zero scalar is $0$-$(0,2)$-bisimple if and only if $(H \circ a^2] = H$ for every $a \in H \setminus \{0\}$.

**Proof** Assume that $(H \circ a] = H$ for all $a \in H \setminus \{0\}$.
Let $A$ be a $(0,2)$-bi-hyperideal of $H$ such that $A \neq \{0\}$.
Let $a \in A \setminus \{0\}$.
Since $H = (H \circ a^2] \subseteq (H \circ A^2] \subseteq (A] = A$, so $A = H$.
Since $H = (H \circ a^2] \subseteq (H \circ H] = (H^2]$, we have $(H^2] \neq \{0\}$.
Therefore $H$ is a $(0,2)$-bisimple.
The converse statement follows from Corollary 4.12

**Theorem 4.15** Let $(H,\circ,\leq)$ be an ordered semihypergroups with zero scalar element $0$. Then $H$ is $0$-$(0,2)$-bisimple if and only if $H$ is a left $0$-simple.

**Proof** Assume that $H$ is $0$-$(0,2)$-bisimple.
If $A$ is a left hyperideal of $H$, so $A$ is a $(0,2)$-bi-hyperideal of $H$.
Hence $A = \{0\}$ or $A = H$.
Conversely, assume that $H$ is left $0$-simple.
Let $a \in H \setminus \{0\}$.
Then $(H \circ a] = H$, hence

$$\begin{aligned} H = (H \circ a] = ((H \circ a] \circ a] &\subseteq ((H \circ a] \circ (a]] \\ &= ((H \circ a^2]] \\ &= (H \circ a^2]. \end{aligned}$$

By corollary 4.14, $H$ is $0$-$(0,2)$-bisimple.

**Theorem 4.16** Let $(H, \circ, \leq)$ be an ordered semihypergroups with zero scalar element $0$. If $A$ is a $0$-minimal $(0,2)$-bi-hyperideal of $H$, then either $(A^2] = \{0\}$ or $A$ is left $0$-simple.

**Proof** Assume that $A$ is a $0$-minimal $(0,2)$-bi-hyperideal of $H$ such that $(A^2] \neq \{0\}$. By Corollary 4.12, $(H \circ a^2] = A$ for every $a \in A \setminus \{0\}$.
Let $a \in A \setminus \{0\}$. Since

$$\begin{aligned} (A \circ a^2] \circ H \circ (A \circ a^2] &= (A \circ a^2 \circ H \circ A \circ a^2] \\ &\subseteq (A \circ A^2 \circ H \circ A \circ a^2] \\ &= (A \circ A \circ (A \circ H \circ A) \circ a^2] \\ &\subseteq (A^3 \circ a^2] \\ &\subseteq (A \circ a^2] \quad \text{and} \\ H \circ (A \circ a^2]^2 &= H \circ (A \circ a^2] \circ (A \circ a^2] \\ &= (H \circ A \circ a^2 \circ A \circ a^2] \\ &\subseteq (H \circ A \circ A^2 \circ A \circ a^2] \\ &= ((H \circ A^2) \circ A \circ A \circ a^2] \\ &\subseteq (A^3 \circ a^2] \\ &\subseteq (A \circ a^2]. \end{aligned}$$

We obtain that $(A \circ a^2]$ is a $(0,2)$-bi-hyperideal of $H$ contained in $A$. Hence $(A \circ a^2] = \{0\}$ or $(A \circ a^2] = A$.
Since $(H \circ a^2] = A$ for every $a \in A \setminus \{0\}$, we have $a^2 \neq \{0\}$.
Therefore there exist $0 \neq x \in a^2 \subseteq A$.
Clearly that $x^2 \neq \{0\}$ and $x^2 \subseteq a^2 \circ a^2 \subseteq A \circ a^2 \subseteq (A \circ a^2]$.
We get $(A \circ a^2] = A$ and conclude by Corollary 2.14 that $A$ is $0$-$(0,2)$-bisimple. By Theorem 4.15, applies $A$ is left $0$-simple.

# CHAPTER V

# CONCLUSION

From Chapter IV, we have the following theory :

1. Let $(H, \circ, \leq)$ be an ordered semihypergroup and let $A$ be a subsemihypergroup of $H$. Then the following holds :
   1. $(A \cup H \circ A]$ is a left hyperideal of $H$.
   2. $(A^2 \cup A \circ H \circ A^2]$ is a bi-hyperideal of $H$.
   3. $(A \cup A \circ H]$ is a right hyperideal of $H$.
   4. $(A \cup H \circ A^2]$ is a $(0, 2)$-hyperideal of $H$.
2. Let $(H, \circ, \leq)$ be an ordered semihypergroup and let $A \subseteq H$. Then $A$ is a $(0, 2)$-hyperideal of $H$ if and only if $A$ is a left hyperideal of some left hyperideal of $H$.
3. Let $(H, \circ, \leq)$ be an ordered semihypergroup and let $A \subseteq H$. The following statements are equivalent :
   1. $A$ is a $(1, 2)$-hyperideal of $H$ ;
   2. $A$ is a left hyperideal of some bi-hyperideal of $H$ ;
   3. $A$ is a bi-hyperideal of some left hyperideal of $H$ ;
   4. $A$ is a $(0, 2)$-hyperideal of some right hyperideal of $H$ ;
   5. $A$ is a right hyperideal of some $(0, 2)$-hyperideal of $H$.
4. Let $(H, \circ, \leq)$ be an ordered semihypergroup and let $A$ be a subsemihypergroup of $H$ such that $A = (A]$. Then $A$ is a $(1, 2)$-hyperideal of $H$ if and only if there exist a $(0, 2)$-hyperideal $L$ of $H$ and a right hyperideal $R$ of $H$ such that $R \circ L^2 \subseteq A \subseteq R \cap L$.
5. Let $(H, \circ, \leq)$ be an ordered semihypergroup with zero scalar element $0$. If $L$ is a $0$-minimal left hyperideal of $H$ and $A$ is a subsemihypergroup of $L$ such

that $A = (A]$, then $A$ is a $(0,2)$-hyperideal of $H$ contained in $L$ if and only if $(A^2] = \{0\}$ or $A = L$.

6. Let $(H, \circ, \leq)$ be an ordered semihypergroup with zero scalar element $0$. If $L$ be a $0$-minimal $(0,2)$-hyperideal of $H$, then $(L^2] = \{0\}$ or $L$ is a $0$-minimal left hyperideal of $H$.

7. Let $(H, \circ, \leq)$ be an ordered semihypergroup without zero scalar. Then $L$ is a minimal $(0,2)$-hyperideal of $H$ if and only if $L$ is a minimal left hyperideal of $H$.

8. Let $(H, \circ, \leq)$ be an ordered semihypergroup without zero scalar and let $A$ be a nonempty subset of $H$. Then $A$ is a minimal $(2,1)$-hyperideal of $H$ if and only if $A$ is a minimal bi-hyperideal of $H$.

9. Let $(H, \circ, \leq)$ be an ordered semihypergroup with zero scalar and let $A \subseteq H$. Then $A$ is a $(0,2)$-bi-hyperideal of $H$ if and only if $A$ is a hyperideal of some left hyperideal of $H$.

10. Let $(H, \circ, \leq)$ be an ordered semihypergroup with zero scalar element $0$. If $A$ is a $0$-minimal $(0,2)$-bi-hyperideal of $H$, then exactly one of the following cases occurs :

    1. $A = \{0\}, (a \circ H^1 \circ a] = \{0\}$
    2. $A = (\{0, a\}], a^2 = \{0\}, (a \circ H \circ a] = A$
    3. $\forall a \in A \setminus \{0\}, (H \circ a^2] = A$.

11. Let $A$ be a $0$-minimal $(0,2)$-bi-hyperideal of an ordered semihypergroup $(H, \circ, \leq)$ with a zero scalar. If $(A^2] \neq \{0\}$, then $A = (H \circ a^2]$ for every $a \in A \setminus \{0\}$.

12. An ordered semihypergroup $H$ with zero scalar is $0$-$(0,2)$-bisimple if and only if $(H \circ a^2] = H$ for every $a \in H \setminus \{0\}$.

13. Let $(H, \circ, \leq)$ be an ordered semihypergroups with zero scalar element $0$. Then $H$ is $0$-$(0,2)$-bisimple if and only if $H$ is a left $0$-simple.

14. Let $(H, \circ, \leq)$ be an ordered semihypergroups with zero scalar element $0$. If $A$ is a $0$-minimal $(0,2)$-bi-hyperideal of $H$, then either $(A^2] = \{0\}$ or $A$ is left $0$-simple.

# REFERENCES

D.Heidari and B.Davvaz. (2011). **On ordered hyperstructure**, U.P.B. Sci. Bull. Series A, Vol. 73, Iss.2, 85-97.

D. N. Krgović. (1980). **On 0-minimal bi-ideals of semigroups**, Publ. Inst. Math. (Beograd), 135-137.

D. N. Krgović. (1982). **On 0-minimal (0,2)-ideal of semigroups**, Publ. Inst. Math. (Beograd), 103-107.

Nawamin Phaipong and Thawhat Changphas. (2013). **On 0-minimal (0,2)-bi-$\Gamma$-ideal in $\Gamma$-semigroups**, IJPAM. 84 : 549-556.

S.Lajos. (1961), **Generalized ideals in semigroups,** Acta Sci. Math. 22 : 217-222

S. Hobanthad and W. Jantanan. (2015). **On 0-minimal bi-hyperideal of semihypergroups with zero**, NIRC. 1 : 117-121.

W. Jantanan and T. Changphas. (2013). **On 0-minimal (0,2)-bi-ideal in ordered semigroups**, Quasigroups and Related Systems. 21 : 51-58.