# บทที่ 3

# วัสดุ อุปกรณ์และวิธีทดลอง

## วัสดุและอุปกรณ์

1. ข้าวสาร และข้าวโพด
2. น้ำ
3. ขวดแก้ว สำลี
4. เครื่อง spectrophotometer

## วิธีทดลอง

1. เตรียมกล้าเชื้อ
   1.1 โดยถ่ายเชื้อรา *Monascus purpureus* 1 loop จาก stock culture ลงบนอาหารแข็ง (PDA) ที่มีอาหารเพาะเชื้อ อยู่ 5 มิลลิลิตรนำไปบ่มในตู้บ่มเชื้อที่ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48-72 ชั่วโมง
   1.2 นำเชื้อรา *Monascus purpureus* ที่เจริญเต็มที่แล้วมาทำสารแขวนลอยสปอร์ (spore suspension) ให้ได้เท่ากับ 106 สปอร์/มิลลิลิตร
2. เตรียมเชื้อ *Neurospora sp* โดย streak บน slant PDA และบ่มเพาะให้เป็นเวลา 48 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส
3. นำข้าว (ข้าวสาร) มาแช่น้ำเป็นเวลา 24 ชั่วโมง นำมาสะเด็ดน้ำ บรรจุในขวดแก้ว ปิดจุกสำลี แล้วนำไปฆ่าเชื้อในหม้อนึ่งความดันไอ เป็นเวลา 15-30 นาที ที่อุณหภูมิ 121$^{o}$C ทิ้งไว้ให้เย็น
4. ใส่เชื้อ *Neurospora sp* บ่มไว้ให้เกิดการหมักที่อุณหภูมิ 25-32 $^{o}$C เป็นเวลาประมาณ 1-3 สัปดาห์ โดยมีการคนข้าวเป็นระยะ ในระหว่างการบ่มต้องไม่ให้เมล็ดข้าวแต่ละเมล็ดเกาะกัน
5. สังเกตการเปลี่ยนแปลงของข้าวในขวดแก้ว และรายงานผลการทดลองทุกวัน เป็นเวลา 15 วัน

6. สกัดสีออกจากเส้นใยโดยใช้ตัวทำละลายเป็นตัวสกัด เปรียบเทียบประสิทธิภาพในการสกัด ระหว่าง เมทานอล คลอโรฟอร์ม เอทานอล 95 เปอร์เซ็นต์ และอะซีโตน นำสารละลายที่ได้จากการสกัดไปกรอง จากนั้นนำไปวัดค่าดูดกลืนแสงด้วยสเปกโตโฟโตมิเตอร์ ที่ความยาวคลื่น 390 นาโนเมตร เปรียบเทียบกับ OD ที่วัดได้

**การวิเคราะห์ผลการทดลอง**

1. เปรียบเทียบค่าการดูดกลืนแสง ที่ 370 nm
2. สังเกตการณ์เปลี่ยนแปลงของข้าวตลอดระยะเวลาการทดลอง