

TEST PROSEDÜRÜ :

- 1,0 mL uygun şekilde seyreltilmiş enzim preparatını veya un ekstraktını (uygun tamponda) 40°C'de 5 dakika ön dengeleyin.
- Her bir tüpe (karıştırmadan) bir Amilazim tablet ekleyin. Tablet hızla hidratlanır ve serbest sıvının çoğunu emer. Süspansiyonu karıştırmayın. Tüpleri 40°C'de tam olarak 10 dakika inkübe edin.
- Tabletin eklenmesinden 10 dakika sonra 10,0 mL Tris Base solüsyonu (pH 9, %2 w/v, Megazyme B-TRIS500) ekleyin ve tüpleri bir vorteks karıştırıcıda kuvvetlice karıştırın. Tüpleri oda sıcaklığında bırakın.
- Yaklaşık 5 dakika sonra tüpleri tekrar karıştırın ve içeriği Whatman No. 1 (9 cm) filtre kağıdından süzün.
- Reaksiyon boşuna karşı 590 nm'de süzüntünün absorbansını ölçün.
- Amilazim tablosunun eklenmesinden önce enzim solüsyonuna Tris Bazı ekleyerek boş bir substrat/enzim hazırlayın.

NOTLAR:

1. Her belirleme seti için tek bir boş gereklidir ve bu, spektrofotometreyi sıfırlamak için kullanılır. Reaksiyon çözeltilerinin absorbansı daha sonra reaksiyon boşluğuna karşı ölçülür (bkz. Kontroller ve Önlemler 5).
2. Bakteriyel α -amilazlar pH 7,0'da optimum aktiviteye sahip olduğundan, Tris Baz solüsyonu (pH ~ 9,0) enzim reaksiyonunu tamamen sonlandırmaz. Bu nedenle, bu reaksiyon çözeltilerinin, reaksiyonun "sonlandırılmasından" sonraki 5 dakika içinde filtrelenmesi esastır. Alternatif olarak reaksiyon, tri-sodyum fosfat solüsyonu (pH 11, %1 w/v) ile sonlandırılabilir.