

A. MANUEL TEST PROSEDÜRÜ :**Enzim Ekstraksiyonu ve Seyreltme:**

- 1. Sıvı enzim preparatları:** Pozitif yer değiştirme dağıtıcı kullanarak 49 mL ilgili Ekstraksiyon/Dilüsyon Tamponuna 1,0 mL sıvı enzim preparatı ekleyin (bu çözeltiler çok viskoz olabilir) ve iyice karıştırın. Buna Orijinal Ekstrakt denir.
- 2. Toz enzim preparatları:** 50 mL ilgili Ekstraksiyon/Dilüsyon Tamponuna 1,0 g toz enzim numunesi ekleyin ve bulamacı yaklaşık 15 dakika veya numune tamamen dağılına veya çözünene kadar. Bu solüsyonu santrifüjleme (1.000 g, 10 dakika) veya Whatman No. 1 (9 cm) filtre halkalarından süzme yoluyla berraklaştırın. Buna Orijinal Ekstrakt denir.
- 3.** 9,0 mL ilgili Ekstraksiyon/Dilüsyon Tamponuna (10 kat seyreltme) 1,0 mL Orijinal Ekstrakt ekleyin ve iyice karıştırın. Bu seyreltme işlemi, deney için uygun bir endo-ksilanaz konsantrasyonu elde edilene kadar tekrarlanır.

Endo-ksilanaz testi:

- 1.** 0,05 mL'lik XylX6 reaktif solüsyonunu doğrudan 13 mL'lik cam tüplerin dibine dağıtın ve tüpleri yaklaşık 40°C'de ön inkübe edin. 3 dakika.
- 2.** Seyreltilmiş bir endo-ksilanaz solüsyonunu 40°C'de 3 dakika ön inkübe edin.
- 3.** XylX6 solüsyonu içeren her bir tüpe, tüpün tabanına 0,05 mL endoksilanaz solüsyonu ekleyin, bir vorteks karıştırıcı üzerinde karıştırın ve tüpleri 40°C'de tam olarak 10 dakika (ekleme zamanından itibaren) inkübe edin.
- 4.** 10 dakikalık inkübasyon süresinin sonunda 1,5 mL Durdurma Reaktifini ekleyin ve tüp içeriğini karıştırın.
- 5.** Distile suya karşı 400 nm'de reaksiyon solüsyonlarının ve kör reaktifin absorpsiyonunu okuyun.

B. OTOMATİK TEST PROSEDÜRÜ :**EKİPMAN (ÖNERİLEN):**

- 405 nm filtre ile donatılmış ChemWell®-T otomatik analiz cihazı.
- Polipropilen tüpler (13 mL kapasiteli).
- Enzim ekstraktını dağıtmak için Pipetleyiciler, 1 mL (örn. Gilson Pipetman®).
- Ayarlanabilir hacimli dağıtıcı: - 0-10 mL (Ekstraksiyon Tamponu için).
- Üst pan dengesi.
- Vorteks karıştırıcı (isteğe bağlı).
- Saati Durdurun.
- Mikrofij veya Whatman GF/A cam elyaf filtre kağıdı halkaları (9 cm çap).

REAKTİFLERİN HAZIRLANMASI:

Hazırlanması aşağıda açıklanan durdurma reaktifini dışında tüm reaktifler yukarıda manuel tahlil prosedürü için açıklandığı gibi hazırlanır.

DURDURMA REAKTİFİNİN HAZIRLANMASI:**500 mM Sodyum Karbonat, pH 11.0.**

53 g sodyum karbonatı (susuz) 1 L damıtılmış suda çözün ve pH'ı yaklaşık 11.0. Kapalı bir şişede saklayın. Oda sıcaklığında ~ 3 ay.

ENZİM EKSTRAKSİYONU VE TEST:

- Orijinal Ekstrakt, yukarıda manuel test prosedürü için açıklandığı gibi hazırlanır.
- K-XylX6 ChemWell®-T test dosyalarını kullanarak testi gerçekleştirin.

Otomatik Tahlil Parametreleri:

Tahlil hacimleri	: XylX6 Reaktif	0,025 mL
	Numune (ekstrakt)	0,025 mL
	Durdurma Reaktifi	0,300 mL
Reaksiyon süresi	: 37°C'de 10 dakika	
Dalga boyu	: 405 nm	
Tahlil tipi	: Durdurulmuş reaksiyon	
Tepki yönü	: Artırma	