

PROSEDÜR A : (Standart Test Prosedürü)

- Dalga boyu : 340 nm
- Küvet : 1 cm ışık yolu (cam veya plastik)
- Sıcaklık : ~25°C
- Nihai Hacim : 2,72 mL
- Numune Solüsyonu : Küvet başına 4-80 µg D-galaktoz (veya 8-160 µg laktoz) (0,20-1,00 mL numune hacminde)
- Havaya karşı okuma : (ışık yolunda küvet olmadan) veya suya karşı okuyun

Pipette into cuvettes	Lactose		Galactose	
	Blank	Sample	Blank	Sample
sample solution	-	0.20 mL	-	0.20 mL
solution 4 (β-Galactosidase)	0.20 mL	0.20 mL	-	-
Ensure that all of the solutions are delivered to the bottom of the cuvette. Mix the contents by gentle swirling, cap the cuvettes and incubate them for 10 min at ~ 25°C. Add:				
distilled water (at ~ 25°C)	2.20 mL	2.00 mL	2.40 mL	2.20 mL
solution 2 (buffer)	0.20 mL	0.20 mL	0.20 mL	0.20 mL
solution 3 (NAD ⁺)	0.10 mL	0.10 mL	0.10 mL	0.10 mL
Mix*, read the absorbances of the solutions (A ₁) after approx. 3 min and start the reactions by addition of:				
suspension 5 (β-GalDH/GalM)	0.02 mL	0.02 mL	0.02 mL	0.02 mL
Mix*, read the absorbance of the solutions (A ₂) at the end of the reaction (< 5 min). If the reaction has not stopped after 6 min, continue to read the absorbances at 1 min intervals until the absorbances remain the same over 1 min**.				

* örneğin plastik bir spatula ile veya küveti bir küvet kapağı veya Parafilm® ile kapattıktan sonra hafifçe ters çevirerek.

** A₂ absorbansı sürekli olarak artıyorsa, absorbansı süspansiyon 5'in (β-GalDH/GalM) eklenme zamanına göre tahmin edin.

PROSEDÜR B :

(Yüksek düzeyde monosakkaritler içeren "düşük laktozlu" veya "laktozsuz" numuneler için)

1. Aşama :

4mL suya 1mL süt (veya homojenleştirilmiş numune) ekleyin, karıştırın ve ardından 1mL 10mg/mL sodyum borohidrit (50 mM NaOH içinde çözülmüş ve 5 saatten daha eski) ekleyin. Bu solüsyonu kapalı bir plastik kaptaki 40°C'de 30 dakika inkübe edin, ardından 2,5 mL 0,2 M asetik asit ekleyerek nötralle edin. Whatman No. 1 filtre kağıdından süzün veya bir mikrofüjde 13.000 xg'de santrifüjleyin ve süzüntüyü veya süpernatanı doğrudan testte veya distile suda uygun bir seyreltmeyle (gerekirse) kullanın. Süzüntü puslu olacaktır ancak bu testte kararlıdır ve absorbansta çok az katkıda bulunur. Tipik olarak 0,2 mL'lik bir numune hacmi kullanın. Adım 2'de.

2. Aşama :

- **Dalga boyu** : 340 nm
- **Küvet** : 1 cm ışık yolu (cam veya plastik)
- **Sıcaklık** : ~25°C
- **Nihai Hacim** : 2,72 mL
- **Numune Solüsyonu** : Küvet başına 4-80 µg D-galaktoz (veya 8-160 µg laktoz) (0,20-1,00 mL numune hacminde)
- **Havaya karşı okuma** : (ışık yolunda küvet olmadan) veya suya karşı okuyun

Pipette into cuvettes	Lactose		Galactose	
	Blank	Sample	Blank	Sample
sample solution solution 4 (β-Galactosidase)	- 0.20 mL	0.20 mL 0.20 mL	- -	0.20 mL -
Ensure that all of the solutions are delivered to the bottom of the cuvette. Mix the contents by gentle swirling, cap the cuvettes and incubate them for 2 h at ~ 25°C. Add:				
distilled water (at ~ 25°C)	2.20 mL	2.00 mL	2.40 mL	2.20 mL
solution 2 (buffer)	0.20 mL	0.20 mL	0.20 mL	0.20 mL
solution 3 (NAD ⁺)	0.10 mL	0.10 mL	0.10 mL	0.10 mL
Mix*, read the absorbances of the solutions (A ₁) after approx. 3 min and start the reactions by addition of:				
suspension 5 (β-GalDH/GalM)	0.02 mL	0.02 mL	0.02 mL	0.02 mL
Mix*, read the absorbance of the solutions (A ₂) at the end of the reaction (< 5 min). If the reaction has not stopped after 6 min, continue to read the absorbances at 1 min intervals until the absorbances remain the same over 1 min**.				

* örneğin plastik bir spatula ile veya küveti bir küvet kapağı veya Parafilm® ile kapattıktan sonra hafifçe ters çevirerek.

** A₂ absorbanası sürekli olarak artıyorsa, absorbanası süspansiyon 5'in (β-GalDH/GalM) eklenme zamanına göre tahmin edin.