

TEST PROSEDÜRÜ :**Enzim Ekstraksiyonu:**

1. 50 gr maltı Buhler Miag diskli öğütücü ile öğütün. Taşlama diskleri arasındaki boşluk 0,2 mm'dir.
2. 13 mL'lik bir polipropilen tüpte 0,5 +/- 0,01 g una (tam ağırlığı not edin) 5,0 mL Betamyl-3® tampon A (reaktif 4) ekleyin. Kısa vorteksleyin.
3. Tüpleri bir Stuart Blood Tube Rotator'a yerleştirdikten sonra oda sıcaklığında 1 saatlik bir süre boyunca enzimin ekstrakte olmasına izin verin veya tüpleri yaklaşık 10 dakikalık aralıklarla 5 saniye boyunca manuel olarak vorteksleyin.
4. Tüpleri bir tezgah santrifüjünde veya mikrofüjde en az 2.000 g'de 10 dakika santrifüjleyin. Alternatif olarak, ekstrakt çözeltisinin bir bölümünü Whatman GF/A cam elyaf filtre kağıdından filtre edin.
5. 4,0 mL seyreltilmiş Betamyl-3® tampon B'ye (reaktif 5, sayfa 3) 0,2 mL filtrat ekleyin, karıştırın (bu Ekstrakt A'dır) ve bu solüsyonu hem α -amilaz hem de β -amilaz aktivitelerinin tahlili için kullanın aşağıda açıklandığı gibi:

 β -Amilaz Testi:

1. 0,2 mL'lik seyreltilmiş malt ekstraktını (A Ekstresi) doğrudan 12 mL'lik cam test tüplerinin dibine dağıtın ve tüpleri yaklaşık 40°C'de 5 dakika ön inkübe edin.
2. Betamyl-3® substrat solüsyonunu 40°C'de yaklaşık olarak 5 dakika ön inkübe edin.
3. Ekstrakt A içeren her tüpe 0,2 mL Betamyl-3® substrat solüsyonu ekleyin, bir vorteks karıştırıcı üzerinde kısaca karıştırın ve tüpleri 40°C'de tam olarak 10 dakika (ekleme zamanından itibaren) inkübe edin.
4. 10 dakikalık inkübasyon süresinin sonunda multipipet ile 3,0 mL Durdurma Reaktifi ekleyin ve tüp içeriğini karıştırın.
5. Distile suya karşı 400 nm'de reaksiyon solüsyonlarının ve kör reaktifin absorbansını okuyun (bkz. Kontroller ve Önlemler, 2).

 α -Amilaz Testi:

1. 3,0 mL seyreltilmiş Ceralpha® Tampon A'ya (reaktif 3) 0,2 mL Ekstrakt A ekleyerek malt ekstraktını tekrar seyreltin.
2. 0,2 mL Özüt B alikotlarını doğrudan 12 mL cam test tüplerinin dibine dağıtın ve içeriği 40°C'de yaklaşık 5 dakika ön inkübe edin.
3. Ceralpha® substrat solüsyonunu 40°C'de yaklaşık 5 dakika ön inkübe edin.
4. Seyreltilmiş malt ekstraktı içeren her bir tüpe 0,2 mL Ceralpha® substrat solüsyonu ekleyin, bir vorteks karıştırıcıda kısaca karıştırın ve tüpleri 40°C'de tam olarak 10 dakika (ekleme zamanından itibaren) inkübe edin.
5. 10 dakikalık inkübasyon süresinin sonunda 3,0 mL Durdurma Reaktifi ekleyin ve tüp içeriğini karıştırın.
6. Distile suya karşı 400 nm'de reaksiyon solüsyonlarının ve kör reaktifin absorbansını okuyun (bkz. Kontroller ve Önlemler, 2).