

TEST PROSEDÜRÜ:**Yöntem 1. ~ 0,5 g numuneyi analiz etme prosedürü.**

(a) **Yaklaşık olarak** tartın. 30 x 84 mm (40 mL) polipropilen tüpe [C(t)] üçüncü ondalık basamağa kadar düzeltilmiş 0,5 g numune. Ağırlığı kaydedin. Her tüpe 20 x 6 mm karıştırma çubuğu [C(o)] ekleyin.

(b) **Tampon eklenmesi.**– Örneği 0,5 mL %95 v/v EtOH (veya IMS) ile ıslatın ve her tüpe 17,5 mL maleat tamponu [B(a)] ekleyin. Tüpleri kapatın ve bir su banyosunda 2mag Mixdrive 15® dalgıç manyetik karıştırıcıya [C(d)] yerleştirin ve 170 rpm'de karıştırarak 5 dakikada içeriğin 37°C'ye dengelenmesini sağlayın.

(c) **PAA/AMG solüsyonu ile inkübasyon.**– 2,5 mL PAA/AMG solüsyonu [A(1)] ekleyin, tüplerin kapağını kapatın ve reaksiyon solüsyonlarını 37°C'de ve 170 rpm'de 2mag Mixdrive 15® dalgıç manyetikte inkübe edin karıştırıcı NOT: Bu enzim hazırlığının [A(1)] (NH₄)₂SO₄ süspansiyonu kullanılıyorsa, 1 mL enzim süspansiyonu ve 1,5 mL sodyum maleat tamponu [B(a)] ekleyin.

Yöntem 2. ~ 1,0 g numuneyi analiz etme prosedürü (AOAC Yöntemi 2017.16 için kullanılan inkübasyon düzenlemesini kullanarak)

(a) **Yaklaşık olarak** tartın. Üçüncü ondalık basamağa kadar düzeltilmiş 1,0 g numune 250 mL'lik bir Fisherbrand cam® şişesine [C(p)]. Ağırlığı kaydedin. Her bir şişeye 30 x 6 mm'lik bir karıştırma çubuğu [C(o)] ekleyin (Şekil 3, sayfa 12).

(b) **Tampon eklenmesi.**– Örneği 1,0 mL %95 v/v EtOH (veya IMS) ile ıslatın ve her şişeye 35 mL maleat tamponu [B(a)] ekleyin. Şişeleri kapatın ve bir su banyosunda [C(c)] 2mag Mixdrive 15® dalgıç manyetik karıştırıcıya [C(d)] yerleştirin ve 170 rpm'de karıştırarak 5 dakika boyunca içeriklerin 37°C'ye dengelenmesini sağlayın.

(c) **PAA/AMG solüsyonu ile inkübasyon.**– 5 mL PAA/AMG solüsyonu [A(1)] ekleyin, şişeleri kapatın ve reaksiyon solüsyonlarını 37°C'de ve 170 rpm'de 2mag Mixdrive 15® dalgıç manyetikte inkübe edin karıştırıcı NOT: Bu enzim hazırlığının [A(1)] (NH₄)₂SO₄ süspansiyonunu kullanıyorsanız, 2 mL enzim süspansiyonu ve 3 mL sodyum maleat tamponu [B(a)] ekleyin.