

A. MANUEL TEST PROSEDÜRÜ :

- **Dalga boyu** : 340 nm
- **Küvet** : 1 cm ışık yolu (cam veya plastik)
- **Sıcaklık** : ~25°C
- **Nihai Hacim** : 2,62 mL
- **Numune Solüsyonu** : Küvet başına 0,2-7,0 µg amonyak (0,1-2,0 mL numune hacminde)
- **Havaya karşı okuma** : (ışık yolunda küvet olmadan) veya suya karşı okuyun

Pipette into cuvettes	Blank	Sample
distilled water (at ~ 25°C)	2.10 mL	2.00 mL
sample	-	0.10 mL
solution 1 (buffer)	0.30 mL	0.30 mL
solution 2 (NADPH)	0.20 mL	0.20 mL
Mix*, read the absorbances of the solutions (A ₁) after approx. 2 min and start the reactions by addition of:		
suspension 3 (GIDH)	0.02 mL	0.02 mL
Mix* and read the absorbance of the solutions (A ₂) at the end of the reaction (~ 5 min). If the reaction has not stopped after 5 min, continue to read the absorbances at 1 min intervals until the absorbances either remain the same, or increase constantly over 1 min**.		

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

** bu "sürünme" oranı numune için köre göre daha yüksekse, absorbanları (numune ve kör) süspansiyon 3'ün eklendiği zamana kadar tahmin edin.

B. OTO ANALİZÖR TEST PROSEDÜRÜ :**NOTLAR:**

1. Amonyak için Otomatik Analizör Tahlil Prosedürü, tek noktali standart veya tam kalibrasyon eğrisi kullanılarak gerçekleştirilebilir.
2. Amonyak tayini için uygulanan her bir numune grubu için, aynı reaktif grubu kullanılarak eş zamanlı olarak tek noktali bir standart veya bir kalibrasyon eğrisi gerçekleştirilmelidir.

Reaktif hazırlama şu şekilde yapılır:

R1 Hazırlama :

Component	Volume
distilled water	60 mL
solution 1 (buffer)	12 mL
bottle 2 (NADPH)	8 mL (after adding 12 mL of H ₂ O to bottle 2)
Total volume	80 mL

R2 Hazırlama :

Component	Volume
distilled water	6.8 mL
solution 1 (buffer)	0.5 mL
suspension 3 (GIDH)	0.7 mL
Total volume	8.0 mL

C. MİKROPLAKA TEST PROSEDÜRÜ :

NOTLAR:

1. Amonyak için Mikroplaka Tahlil Prosedürü, tek noktali bir standart veya tam bir kalibrasyon eğrisi kullanılarak gerçekleştirilebilir.
2. Amonyak tayini için uygulanan her bir numune grubu için, aynı reaktif grubu kullanılarak eş zamanlı olarak tek noktali bir standart veya bir kalibrasyon eğrisi gerçekleştirilmelidir.

- Dalga boyu : 340 nm
- Mikroplaka : 96 oyuklu (örn. şeffaf düz dipli, cam veya plastik)
- Sıcaklık : ~25°C
- Nihai Hacim : 0,262 mL
- Doğrusallık : Kuyu başına 0,1-0,7 µg amonyak (0,01-0,2 mL numune hacminde)

Pipette into wells	Blank	Sample	Standard
distilled water	0.210 mL	0.200 mL	0.200 mL
sample solution	-	0.010 mL	-
standard solution	-	-	0.010 mL
solution 1 (buffer)	0.030 mL	0.030 mL	0.030 mL
solution 2 (NADPH)	0.020 mL	0.020 mL	0.020 mL
Mix*, read the absorbances of the solutions (A ₁) after approx. 2 min and start the reactions by addition of:			
suspension 3 (GIDH)	0.002 mL	0.002 mL	0.002 mL
Mix* and read the absorbances of the solutions (A ₂) at the end of the reaction (approx. 5 min). If the reaction has not stopped after 5 min, continue to read the absorbances at 1 min intervals until the absorbances increase constantly over 1 min**.			

* örneğin mikroplaka çalkalayıcı, mikroplaka okuyucuda çalkalama işlevi veya tekrarlanan aspirasyon (örn. 50-100 µL hacme ayarlanmış bir pipetör kullanarak) kullanarak.

** bu "sürünme" oranı numune için kör numuneden daha yüksekse, numune absorbanslarını süspansiyon 3'ün eklendiği zamana kadar tahmin edin.