

A. MANUEL TEST PROSEDÜRÜ :

- Dalga boyu : 340 nm
- Küvet : 1 cm ışık yolu (cam veya plastik)
- Sıcaklık : ~25°C
- Nihai Hacim : 2,24 mL
- Numune Solüsyonu : Küvet başına 0,5-30 µg D-laktik asit (0,10-1,50 mL numune hacminde)
- Havaya karşı okuma : (ışık yolunda küvet olmadan) veya suya karşı okuyun

Pipette into cuvettes	Blank	Sample
distilled water (~ 25°C)	1.60 mL	1.50 mL
sample	-	0.10 mL
solution 1 (buffer)	0.50 mL	0.50 mL
solution 2 (NAD ⁺)	0.10 mL	0.10 mL
suspension 3 (D-GPT)	0.02 mL	0.02 mL
Mix* and read the absorbances of the solutions (A ₁) after approx. 3 min and start the reactions by addition of:		
suspension 4 (D-LDH)	0.02 mL	0.02 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 either remain the same, or increase constantly over 1 min** (Figure 1, page 14).		

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

** bu "sürünme" oranı, numune için şahitten daha yüksekse, absorbansları (numune ve kör) süspansiyon 4'ün eklendiği zamana geri tahmin edin.

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

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

Reaktif hazırlama şu şekilde yapılır:

R1 Hazırlama :

Component	Volume
bottle 1 (buffer)	5 mL
bottle 2 (NAD ⁺)	1 mL (after adding 5.5 mL of H ₂ O to bottle 2)
bottle 3 (D-GPT)	0.2 mL
distilled water	12.85 mL
Total volume	19.05 mL

R2 Hazırlama :

Component	Volume
bottle 4 (D-LDH)	0.2 mL
distilled water	2.2 mL
Total volume	2.4 mL

C. MİKROPLAKA TEST PROSEDÜRÜ :**NOTLAR:**

1. D-laktik asit için Mikroplaka Tahsil Prosedürü, tek noktalı bir standart veya tam bir kalibrasyon eğrisi kullanılarak gerçekleştirilebilir.
2. D-laktik asit tayini için uygulanan her bir numune grubu için, aynı reaktif grubu kullanılarak eş zamanlı olarak tek noktalı bir standart veya bir kalibrasyon eğrisi gerçekleştirilmelidir.

- **Dalga boyu** : 340 nm
- **Mirolaka** : 96 oyuklu (örn. şeffaf düz dipli, cam veya plastik)
- **Sıcaklık** : ~25°C
- **Nihai Hacim** : 0,224 mL
- **Doğrusallık** : Kuyu başına 0,5-3,0 µg D-laktik asit (0,01-0,15 mL numune hacminde)

Pipette into wells	Blank	Sample	Standard
distilled water	0.160 mL	0.150 mL	0.150 mL
sample solution	-	0.010 mL	-
standard solution	-	-	0.010 mL
solution 1 (buffer)	0.050 mL	0.050 mL	0.050 mL
solution 2 (NAD ⁺)	0.010 mL	0.010 mL	0.010 mL
suspension 3 (D-GPT)	0.002 mL	0.002 mL	0.002 mL
Mix* and read the absorbances of the solutions (A ₁) after approx. 3 min and start the reactions by addition of:			
suspension 4 (D-LDH)	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 remain the same or 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.