

**A. MANUEL TEST PROSEDÜRÜ :**

- **Dalga boyu** : 492 nm
- **Küvet** : 1 cm ışık yolu (cam veya plastik)
- **Sıcaklık** : ~25°C
- **Nihai Hacim** : 2,87 mL
- **Numune Solüsyonu** : Küvet başına 1,0-20 µg D-sorbitol artı ksilitol (0,10-2,00 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)	0.50 mL	0.50 mL
solution 2 (NAD <sup>+</sup> /INT)	0.20 mL	0.20 mL
suspension 3 (Diaphorase)	0.02 mL	0.02 mL
Mix* and read the absorbances of the solutions (A <sub>1</sub> ) after approx. 2 min. Repeat the measurement after another 2 min. If a change in absorbance greater than 0.010 is observed, the sample must be treated to remove reducing substances (see "interference" section on page 2). Start the reactions immediately by addition of:		
solution 4 (SDH)	0.05 mL	0.05 mL
Mix* and read the absorbances of the solutions (A <sub>2</sub> ) at the end of the reaction (approx. 15 min). If the reaction has not stopped after 20 min, continue to read the absorbances at 5 min intervals until the absorbances increase constantly over 5 min** (see Figures 1 and 2, page 13).		

\* 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) solüsyon 4'ün (SDH) eklendiği zamana kadar tahmin edin.

**NOTLAR:**

INT ve INT içeren reaksiyon sistemi ışığa duyarlıdır. Sonuç olarak, reaksiyonlar karanlıkta gerçekleştirilmelidir (örneğin, fotometre kapağı kapalıyken spektrofotometre küvet bölmesinde).

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

1. D-sorbitol/ksilitol için Otomatik Analizör Tahlil Prosedürü, tek noktalı bir standart veya tam bir kalibrasyon eğrisi kullanılarak gerçekleştirilebilir.
2. D-sorbitol/ksilitol tayini için uygulanan her 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
distilled water	34.5 mL
solution 1 (buffer)	10.0 mL
solution 2 (NAD <sup>+</sup> /INT)	4.0 mL (after adding 6 mL of H <sub>2</sub> O to bottle 2)
suspension 3 (Diaphorase)	0.4 mL
Total volume	48.9 mL

**R2 Hazırlama :**

Component	Volume
solution 4 (SDH)	6.1 mL (after adding 6.1 mL of H <sub>2</sub> O to bottle 4)
Total volume	6.1 mL

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

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

- **Dalga boyu** : 492 nm
- **Mirolaka** : 96 oyuklu (örn. şeffaf düz dipli, cam veya plastik)
- **Sıcaklık** : ~25°C
- **Nihai Hacim** : 0,287 mL
- **Doğrusallık** : Kuyu başına 0,1-2 µg D-sorbitol/ksilitol (0,01-0,20 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)	0.050 mL	0.050 mL	0.050 mL
solution 2 (NAD <sup>+</sup> /INT)	0.020 mL	0.020 mL	0.020 mL
suspension 3 (Diaphorase)	0.002 mL	0.002 mL	0.002 mL
Mix* and read the absorbances of the solutions (A <sub>1</sub> ) after approx. 2 min and start the reactions by addition of:			
solution 4 (SDH)	0.005 mL	0.005 mL	0.005 mL
Mix* and read the absorbances of the solutions (A <sub>2</sub> ) at the end of the reaction (approx. 15 min). If the reaction has not stopped after 15 min, continue to read the absorbances at 5 min intervals until the absorbances increase constantly over 5 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 solüsyon 4'ün eklendiği zamana kadar tahmin edin.