

**A. MANUEL TEST PROSEDÜRÜ:**

- **Dalga boyu** : 340 nm
- **Küvet** : 1 cm ışık yolu (cam veya kapaklı plastik)
- **Sıcaklık** : ~ 20-25°C
- **Nihai Hacim** : 2,57 mL
- **Numune Solüsyonu** : Küvet başına 0,25-12 µg etanol (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 (~ 25°C)	2.10 mL	2.00 mL
sample	-	0.10 mL
solution 1 (buffer)	0.20 mL	0.20 mL
solution 2 (NAD <sup>+</sup> )	0.20 mL	0.20 mL
solution 3 (Aldehyde dehydrogenase)	0.05 mL	0.05 mL
Mix* and read the absorbances of the solutions (A <sub>1</sub> ) after approx. 2 min and start the reactions by addition of:		
suspension 4 (Alcohol dehydrogenase)	0.02 mL	0.02 mL
Mix* and read the absorbances of the solutions (A <sub>2</sub> ) 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 mikropilaka çalkalayıcı, mikropilaka 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 4'ün eklendiği zamana kadar tahmin edin.

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

1. Etanol için Otomatik Analizör Tahlil Prosedürü, tek noktalı standart veya tam kalibrasyon eğrisi kullanılarak gerçekleştirilebilir.
2. Etanol 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 Hazırlığı :**

Component	Volume
distilled water	20.85 mL
solution 1 (buffer)	2.4 mL
solution 2 (NAD <sup>+</sup> )	2.4 mL (after adding 12.4 mL of H <sub>2</sub> O to bottle 2)
solution 3 (Al-DH)	0.6 mL
Total volume	26.25 mL

**R2 Hazırlığı :**

Component	Volume
distilled water	3.2 mL
suspension 4 (ADH)	0.25 mL
Total volume	3.45 mL

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

1. Etanol için Mikroplaka Tahsil Prosedürü, tek noktali standart veya tam kalibrasyon eğrisi kullanılarak gerçekleştirilebilir.
2. Etanol tayini için uygulanan her 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** : 0,257 mL
- **Doğrusallık** : Kuyu başına 0,1-1,2 µg etanol (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)	0.020 mL	0.020 mL	0.020 mL
solution 2 (NAD <sup>+</sup> )	0.020 mL	0.020 mL	0.020 mL
solution 3 (Al-DH)	0.005 mL	0.005 mL	0.005 mL
Mix* and read the absorbances of the solutions (A <sub>1</sub> ) after approx. 2 min and start the reactions by addition of:			
suspension 4 (ADH)	0.002 mL	0.002 mL	0.002 mL
Mix* and read the absorbances of the solutions (A <sub>2</sub> ) 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 4'ün eklendiği zamana kadar tahmin edin.