

**A. MANUEL TEST PROSEDÜRÜ :**

- Dalga boyu : 340 nm
- Küvet : 1 cm ışık yolu (cam veya plastik)
- Sıcaklık : ~25°C
- Nihai Hacim : 2,74 mL
- Numune Solüsyonu : Küvet başına 1,0-100 µg sitrik asit (0,20-1,0 mL numune hacminde)
- Havaya karşı okuma : (ışık yolunda küvet olmadan) veya suya karşı okuyun

Pipette into cuvettes	Blank	Sample
distilled water (at ~ 25°C)	2.00 mL	1.80 mL
sample	-	0.20 mL
solution 1 (buffer)	0.50 mL	0.50 mL
solution 2 (NADH/PVP)	0.20 mL	0.20 mL
suspension 3 (L-MDH/D-LDH)	0.02 mL	0.02 mL
Mix*, read the absorbances of the solutions (A <sub>1</sub> ) after approx. 4 min and start the reactions by addition of:		
solution 4 (CL)	0.02 mL	0.02 mL
Mix* and read the absorbance of the solutions (A <sub>2</sub> ) at the end of the reaction (~ 5 min).		

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

**B. OTO ANALİZÖR TEST PROSEDÜRÜ :**

Reaktif hazırlama şu şekilde yapılır:

**R1 Hazırlama :**

Component	Volume
distilled water	51.5 mL
solution 1 (buffer)	13 mL
bottle 2 (NADH/PVP)	5 mL (after adding 16 mL of H <sub>2</sub> O to bottle 2)
suspension 3 (L-MDH/D-LDH)	0.5 mL
Total volume	70 mL

**R2 Hazırlama :**

Component	Volume
bottle 4 (CL)	Add 7 mL of water to bottle 4
Total volume	7 mL

**C. MİKROPLAKA TEST PROSEDÜRÜ :**

- Dalga boyu : 340 nm
- Mirolplaka : 1 cm ışık yolu (cam veya plastik)
- Sıcaklık : ~25°C
- Nihai Hacim : 0,274 mL
- Doğrusallık : Kuyu başına 0,1-10 µg sitrik asit (0,02-0,10 mL numune hacminde)

Pipette into wells	Blank	Sample	Standard
distilled water	0.200 mL	0.180 mL	0.180 mL
sample solution	-	0.020 mL	-
standard solution	-	-	0.020 mL
solution 1 (buffer)	0.050 mL	0.050 mL	0.050 mL
solution 2 (NADH/PVP)	0.020 mL	0.020 mL	0.020 mL
suspension 3 (L-MDH/D-LDH)	0.002 mL	0.002 mL	0.002 mL
Mix*, read the absorbances of the solutions ( $A_1$ ) after approx. 4 min and start the reactions by addition of:			
solution 4 (CL)	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 2 min intervals until the absorbances increase constantly over 2 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.