

# RACTOPAMINA

AMOSTRA DE TECIDO

## EXTRAÇÃO



Verificar abaixo o preparo do Tampão de diluição para utilização no passo de extração

Separar uma amostra homogênea em aspecto e cor, sem gordura. Amostra com pedaço de gordura pode afetar na qualidade do seu resultado



Cortar um pedaço da amostra homogênea e colocar no triturador, Após o uso do triturador, deve-se lavar com água e sabão neutro e secar com papel absorvente para a próxima amostra

Na balança de precisão, pesar 1 grama de amostra homogeneizada para um tubo de centrífuga com tampa. Adicionar 4 ml de acetonitrila, e agitar bem em vortex

Misture por inversão, 30 minutos

Centrifugar (10 minutos, 2000 x g)



Transfira 1 mL de sobrenadante para um novo tubo e evapore no concentrador até secar sob um fluxo suave de nitrogênio, ou ar comprimido à 50°C

Reconstituir o resíduo de ractopamina impregnado no tubo em 0.5 mL do tampão de diluição e agite bem em vortex

Uma alíquota de 50 µL é diluída com 50µL de tampão de diluição.

Use 25 µl de amostra diluída no teste ELISA



# RACTOPAMINA

AMOSTRA DE TECIDO

## PREPARO DE REAGENTES



Deixar os Reagentes atingir a temperatura ambiente

Faça o mapa do Ensaio



Separe o número de cavidades a serem utilizadas

Tampão de diluição (dilution buffer, 4x concentrado) o tampão de diluição está 4x concentrado. Antes da diluição (20 mL de tampão + 60 mL de água destilada) o tampão concentrado deve estar em temperatura ambiente e ser agitado completamente. O tampão concentrado pode apresentar precipitação do conteúdo. Agite bem antes da diluição com água destilada. O tampão diluído 4 vezes pode ser armazenado em refrigerador (+2°C a +8°C) até a data de expiração indicada no rótulo do kit



Prepare a Solução de lavagem, concentrado 20 vezes. Para cada tira são utilizados 40 mL de tampão de lavagem diluído (2 mL de tampão de lavagem + 38 mL de água destilada) e deixe a lavadora pronta para o uso.



Reconstitua o frasco do conjugado liofilizado (Ractopamina – HRP) com 5 mL de tampão de diluição (dilution buffer), agite completamente e mantenha protegido da luz até o momento do uso. Para armazenamento prolongado, faça alíquotas e armazene a -20°C.

# RACTOPAMINA

AMOSTRA DE TECIDO

## ENSAIO



Pipete 100  $\mu$ L do padrão zero em duplicata para o branco. Pipete 25  $\mu$ L do padrão zero em duplicata, 25  $\mu$ L de cada uma das soluções padrão em duplicata 25  $\mu$ L de cada solução de amostra em duplicata nos poços restantes da microplaca, 75  $\mu$ L de conjugado em todos os poços, exceto o branco



Sele a microplaca e agite por 1 minuto



Incube a placa por 30 minutos, em temperatura ambiente (20°C – 25°C) no escuro

Remova a solução da microplaca e lave 3 vezes com o tampão de lavagem (rinsing buffer).

Pipete 100  $\mu$ L de solução de substrato em cada poço.



Incube a placa por 30 minutos em temperatura ambiente (20°C – 25°C) no escuro

Adicione 100  $\mu$ L de solução stop em cada poço



Leia os valores de absorbância imediatamente em 450 nm

Utilize o fator 5 para amostras de tecido

# RACTOPAMINA

AMOSTRA DE TECIDO

## OBSERVAÇÕES



Não inicie o ensaio antes de confirmar os volumes e procedimento na protocolo de ensaio enviado junto com o kit. Eventualmente o ensaio é atualizado e mudanças são comuns.

Tenha certeza que a pipeta esteja calibrada



Sugerimos a utilização de uma repipetadora e ou pipeta multicanal para adicionar os reagentes ao "mesmo tempo" e para lavagem mais adequada.



Não encoste a pipeta na cavidade durante o ensaio

Cuidado com o arrasto e contaminação durante pipetagem, lavagem, e homogeneização.



Tenha em mente que o ensaio se limita a faixa de detecção da curva e ao Limite Mínimo de Detecção (LOD)

Verifique o certificado de controle de qualidade

# RACTOPAMINA

AMOSTRA DE TECIDO

CONTATO

Estamos a disposição, segue o nosso contato:



11 2386-3963



info@hhub.com.br



hhub.com.br