

## Introdução

- . Esse documento descreve os procedimentos para extração e testes com Café Verde para ocratoxina.
- . Verificar o Manual do Kit ROSA Ocratoxina quantitativo para informações adicionais

## Configuração da calibração

**Para este novo procedimento é necessário inserir no Leitor ROSA-M as constantes de calibração abaixo no Leitor ROSA-M:**

Passo 1: Selecione o canal OCHRA configurado para o modo 3-linha (OCHRA tem que estar piscando) e selecione a MATRIX 03 (ver tabela).

Passo 2: Entre no menu para configuração da calibração do Leitor ROSA-M pressionando "ESC" seguido da tecla "4".

Passo 3: Digite a senha (PASSWORD) "2001" seguido da tecla "ENTER"

Passo 4: Digite as constantes de calibração conforme informado abaixo seguido sempre da tecla "ENTER" para gravar o valor e seguir para a próxima constante:

	A	B	C*	THR	FS	ON	UNT**
MATRIX 03	3881	8	-12093	0	30	1	2

Passo 5: Entre novamente no menu para configuração da calibração (ver passo 2) para confirmar se as alterações foram inseridas corretamente

\* Selecione a tecla "SEARCH" para alterar o sinal (+ ou -) da constante "C".

\*\* Configuração da constante "UNT" somente disponível para a versão 2.01H ou superior do CHIP do EPROM Leitor ROSA. Contate a equipe da Charm na Hexis para mais informações ([clubcharm@hexis.com.br](mailto:clubcharm@hexis.com.br)) ou (11) 4589-2600.

## Extração e Preparação de amostras

### PASSO 1

- Pipete 1,0 ml da Solução Tampão OCHRAQ no microtubo limpo e vazio para cada amostra.
- Rotule os microtubos caso seja necessário.

### PASSO 2

- Obtenha uma amostra moída representativa e misture homogeneizando-a.
- Pese de 10g a 50g de amostra moída e adicione a um frasco com tampa limpo e vazio para extração.

### PASSO 3

- Adicionar ao frasco contendo a amostra, **3 vezes o peso em volume de metanol 70%**.
- Exemplo: Para **50g de amostra adicionar 150ml de metanol 70%**.

### PASSO 4

- Agite vigorosamente por 1 minute; não exceda 2 minutos.

### PASSO 5

- Aguardar decantar (Pelo menos 1 minuto) para obter o extrato da amostra.
1. Caso existam partículas suspensas ainda, realize uma centrifugação ou filtração para retirar as partículas do extrato da amostra.
    - Para filtrar, posicionar um papel filtro Whatman 2V ou papel filtro equivalente em um funil, coloque o extrato no interior do funil, e colete o extrato filtrado.
    - Para centrifugar, transfira o extrato da amostra (1,0ml – 1,5ml utilizando uma pipeta de transferência) para um microtubo e centrifugue por 10 seg para obter um extrato purificado.
- Utilize o extrato até 30 minutos da decantação, ou até 2 horas se centrifugar ou filtrar.

### PASSO 6

- Pipete **100ul do extrato** (decantado, filtrado ou centrifugado) do PASSO 5 em um microtubo com o **1,0 ml de Solução Tampão OCHRAQ** (pré dispensado no PASSO 1)
- Agite bem (Agite vigorosamente ou utilize um Vortex) e rotule; Esse é a seu **Extrato Diluído 1**.

Use o Extrato Diluído até 6h após a preparação.

## Procedimento de incubação e Interpretação dos resultados

### PASSO 7

1. Siga o Procedimento de incubação no Manual do kit ROSA Ocratoxina quantitativo no passo do **Teste OCRAQ – Procedimento de incubação**.
2. Siga o Procedimento de interpretação dos resultados no Manual do kit ROSA Ocratoxina quantitativo na sessão de **Interpretação Digital dos resultados utilizando o Leitor ROSA-M**. Leia os resultados no canal OCHRA (modo 3-linha - piscando) utilizando a MATRIX 03