


aoxlab	Procedimiento de determinación de β -glucanos AOXLAB S.A.S	Identificación: PROC-TC-100
		Revisión: 6
		Inicio de vigencia: 2024-04-18

Procedimiento de determinación de β -glucanos

AOXLAB S.A.S.


	Procedimiento de determinación de β-glucanos AOXLAB S.A.S	Identificación: PROC-TC-100
		Revisión: 6
		Inicio de vigencia: 2024-04-18

DOCUMENTO CONTROLADO
PROC-TC-100 Procedimiento de determinación de β -glucanos
Copia controlada No.: 1

	Nombre	Puesto o función	Firma	Fecha
Elaboró:	Mariana Toro Rúa	Analista Laboratorio		2024-04-15
Revisó:	Angela P. Patiño Pérez	Directora de Calidad		2024-04-18
Aprobó:	Laura S. Guerra Foronda	Director Técnico		2024-04-18
Localización del documento:		Plataforma SGC		


Control de Cambios

Estado	Fecha de inicio de vigencia	Revisión	Descripción del cambio realizado	Realizó	Revisó	Aprobó
Obsoleto	2019/08/23	1	Ninguno (versión original).	SABU	WFRP	YELP
Obsoleto	2020-08-27	2	Se corrigió la referencia al método normalizado	DPP	YELP	YELP
Obsoleto	2021-03-01	3	Se modifica el alcance del método. Se cambiaron los colores y el logo	DPP	YELP	YELP
Obsoleto	2021-08-30	4	Se incorpora la directriz de registrar el tiempo de incubación	DPP	YELP	YELP
Obsoleto	2023-06-01	5	Se modifica la referencia bibliográfica al documento normativo. Se modifican los criterios para el control de calidad analítico	DPP	APPP	DPP
Vigente	2024-04-15	6	Se modifican según el método de referencia β -Glucan Assay Kit (Yeast and Mushroom) K-YBGL 08/23	MTR	APPP	LSGF

	Procedimiento de determinación de β-glucanos AOXLAB S.A.S	Identificación: PROC-TC-100
		Revisión: 6
		Inicio de vigencia: 2024-04-18

ÍNDICE

1.1	Objetivo.....	4
1.2	Alcance.....	4
2.	DEFINICIONES Y NOTACIONES.....	4
2.1	Definiciones.....	4
2.2	Notaciones.....	6
3.	REFERENCIAS.....	7
4.	DESARROLLO.....	8
4.1	Equipos de medición.....	8
4.2	Condiciones generales.....	8
4.2.1	Revisión general.....	8
4.2.2	Estabilización.....	8
4.3	Verificación de equipos.....	10
4.4	Manejo de la muestra.....	10
4.5	Medidas de seguridad.....	10
4.6	INSTRUCCIONES DE ENSAYO.....	10
4.6.1	REACTIVOS Y/O SOLUCIONES.....	10
4.6.2	EJECUCIÓN DEL ENSAYO.....	12
4.6.2.1	Determinación de glucanos totales (α-glucanos+β-glucanos), D-glucosa en oligosacáridos, sacarosa y D-glucosa libre.....	12
4.6.2.2	Determinación de α-glucanos (fitoglucógeno y almidón), D-glucosa en sacarosa y D-glucosa libre.....	13
4.6.3	CÁLCULOS.....	14
4.7	ASEGURAMIENTO DE LA CALIDAD.....	15
4.8	REGISTROS.....	15
5.	RESPONSABILIDADES.....	16
	Director técnico.....	16
	Director de Calidad.....	17
	Líder de Laboratorio.....	17
	Analista.....	17
6.	FORMATOS RELACIONADOS.....	18
7.	ANEXOS.....	18

	Procedimiento de determinación de β-glucanos AOXLAB S.A.S	Identificación: PROC-TC-100
		Revisión: 6
		Inicio de vigencia: 2024-04-18

OBJETIVO Y ALCANCE.

1.1 Objetivo.

Describir los pasos para realizar la determinación de β -glucanos según procedimiento β -Glucan Assay Kit (Yeast and Mushroom) K-YBGL 08/23 Megazyme [1] y los requisitos establecidos por la norma ISO/IEC 17025:2017 [2].

1.2 Alcance

Prueba o ensayo	Norma o método de referencia	Técnica o Método
Determinación de β -glucanos	AOAC 995.16 [5], Glucan Assay Kit (Yeast and Mushroom) K-YBGL 08/23 Megazyme [1]	Espectrofotométrico

Este método se aplica a las siguientes matrices:

- Preparaciones de levaduras, preparaciones de hongos y otros materiales.

El intervalo de trabajo del método es de 0g/100 g a 98g/100g.

2. DEFINICIONES Y NOTACIONES.

2.1 Definiciones.

Calibración [4].

Operación que, bajo condiciones especificadas, en un primer paso, establece una relación entre los valores de las magnitudes con su incertidumbre de medición provista por patrones de medición y las indicaciones correspondientes con incertidumbres de medición asociadas y, en segundo paso, usa esta información para establecer una relación para obtener un resultado de medición de una indicación.


Ensayo/prueba [3].

Determinación de una o más características de acuerdo con un procedimiento

Procedimiento [3].

Forma especificada para llevar a cabo una actividad o un proceso.

B-glucanos [1].

	Procedimiento de determinación de β-glucanos AOXLAB S.A.S	Identificación: PROC-TC-100
		Revisión: 6
		Inicio de vigencia: 2024-04-18

Los β-glucanos son polisacáridos con variedad de funciones biológicas. Son el mayor componente de la pared celular, y actúan como almacenamiento de carbohidratos y en ocasiones cumplen un papel protector en sitios específicos dando respuesta a estímulos tales como heridas.

Según el enlace glucosídico pueden ser α-glucanos o β-glucanos (Figura 1).

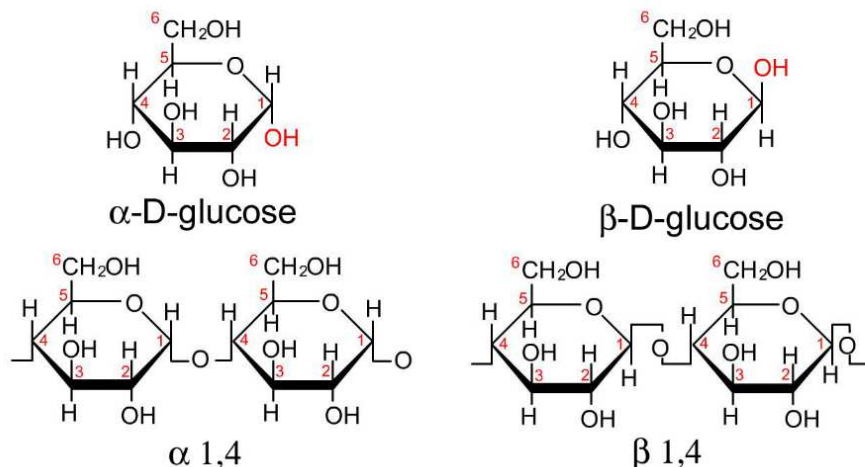


Figura 1. Estructura de los α-glucanos y β-glucanos

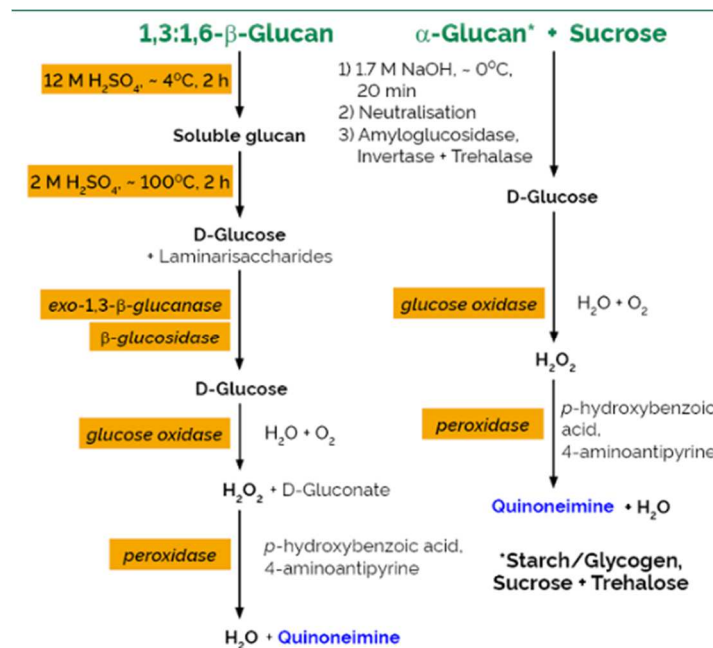
Los 1,3:1,6-β-D-glucanos, los 1,3-β-D-glucanos y los α-glucanos se solubilizan en H₂SO₄ 12 M helado y después se hidrolizan hasta casi completarse en H₂SO₄ 2M.

A continuación, los fragmentos de glucano restantes se hidrolizan cuantitativamente en glucosa utilizando una mezcla de exo-1,3-β-glucanasa y β-glucosidasa altamente purificadas. La D-glucosa liberada se mide entonces con el reactivo GOPOD. Así se obtiene una medida del glucano total.

Los α-glucanos presentes en el almidón, las maltodextrinas, la sacarosa y la trehalosa se degradan mediante incubación con amiloglucosidasa, invertasa y trehalasa. La D-glucosa libre y la D-glucosa liberada durante la hidrólisis se miden a continuación mediante el reactivo GOPOD.

El β-glucano se calcula indirectamente como la diferencia entre el glucano total y el α-glucano.

aoxlab	Procedimiento de determinación de β-glucanos AOXLAB S.A.S	Identificación: PROC-TC-100
		Revisión: 6
		Inicio de vigencia: 2024-04-18



El método descrito emplea amiloglucosidasa, invertasa y trehalasa para hidrolizar los α-glucanos que se encuentran en el almidón, las maltodextrinas, la sacarosa y la trehalosa. Si una muestra contiene α-glucanos que no son hidrolizados por las enzimas descritas anteriormente, se producirá una sobreestimación del contenido de β-glucano. Este procedimiento no es adecuado para el análisis de β-glucano de levadura/setas en presencia de otros β-glucanos, por ejemplo, celulosa (1,4-β-D-glucanos)


2.2 Notaciones.

Para propósitos de este documento, se hacen las siguientes consideraciones:

“Laboratorio”: se refiere al laboratorio AOXLAB S.A.S.


“Servicios”: para referir a los servicios de ensayo que el Laboratorio ofrece.

“Ítem”: se refiere a los objetos o materiales bajo ensayo.

	Procedimiento de determinación de β-glucanos AOXLAB S.A.S	Identificación: PROC-TC-100
		Revisión: 6
		Inicio de vigencia: 2024-04-18

3. REFERENCIAS.

- [1] Megazyme. Mushroom and yeast beta-gucan. Assay procedure. β-Glucan Assay Kit (Yeast and Mushroom) K-YBGL 08/23
- [2] International Organization for Standardization. (2023). General requirements for the competence of testing and calibration laboratories / Requisitos generales para la competencia de los laboratorios de ensayo y de calibración. (ISO standard No.17025:2017)
- [3] International Organization for Standardization. (2023). Quality management systems -- Fundamentals and vocabulary. (ISO standard No. 9000:2015)
- [4] VIM: 2012, International vocabulary of metrology -- Basic and general concepts and associated terms.
- [5] Official Methods of Analysis of AOAC INTERNATIONAL (2023) 22nd Ed., AOAC INTERNATIONAL, Gaithersburg, MD, USA, Official Method 995.16
- [6] USP. Beta Glucano In: USP–NF. Rockville, MD: USP; Jun 1, 2023.

	Procedimiento de determinación de β-glucanos AOXLAB S.A.S	Identificación: PROC-TC-100
		Revisión: 6
		Inicio de vigencia: 2024-04-18

4. DESARROLLO

4.1 Equipos de medición

Para realizar el ensayo se utilizan los siguientes equipos y componentes clave:

Equipos	Especificación
Balanza analítica	Resolución de 0.1 mg
Baño María	Calentamiento a 40°C
Plancha de calentamiento	Calentamiento a 100°C
Centrífuga	Velocidad mínima de 3575 RPM
Vortex	Agitación para tubos falcon
Espectrofluorímetro	Lectura a 510 nm

4.2 Condiciones generales

4.2.1 Revisión general.

Al recibirse la muestra en el Laboratorio, ésta es inspeccionada con el fin de verificar que las condiciones de cantidad, empaque y preservación se mantienen, conforme lo indicado en el procedimiento PROC-TC-008 "Procedimiento de aseguramiento de integridad de los ítems bajo servicio".


Antes de iniciar el análisis, se debe verificar que se cuenta con mínimo 5 gramos de muestra para realizar este análisis.

En caso de que la muestra no presente alguna de estas condiciones, realizar la observación en el FOR-TC- 154 "Formato para el registro de datos de β -glucanos", e informar de inmediato al líder comercial a través del Líder de laboratorio.

4.2.2 Estabilización.

Los ítems de ensayo, patrones y controles de calidad deben atemperarse con suficiente antelación de tal manera que se encuentren en equilibrio térmico con el ambiente en el cual se ejecutarán los ensayos.

La balanza analítica y otros equipos electrónicos que realicen mediciones de alguna magnitud correspondiente a condiciones de influencia en la ejecución del ensayo deben encenderse por lo menos media hora antes de su uso. Así mismo, deben verificarse los equipos, de acuerdo con lo establecido en el numeral 4.3

	Procedimiento de determinación de β-glucanos AOXLAB S.A.S	Identificación: PROC-TC-100
		Revisión: 6
		Inicio de vigencia: 2024-04-18

De acuerdo con las instrucciones del Kit, la conservación de los reactivos se describe a continuación:

Botella 1(x2): exo-1,3-β-Glucanasa más β-Glucosidasa suspensión de sulfato de amonio, 2,0 mL. Conservar a 4°C. Consulte la fecha de caducidad en la etiqueta individual.

Botella 2: Solución de amiloglucosidasa más invertasa en glicerol al 50% (v/v), 20 mL. Conservar por debajo de -10 °C. Véase la fecha de caducidad en cada etiqueta. NOTA: Si se almacena a 4 °C la caducidad de este producto disminuirá a ≥ 2 años.

Botella 3: Tampón reactivo GOPOD. Tampón (50 mL, pH 7,4). ácido p-hidroxibenzoico y azida sódica (0,09%). Conservar a 4°C. Véase la fecha de caducidad en cada etiqueta.

Botella 4: Enzimas reactivas GOPOD. Glucosa oxidasa más peroxidasa y 4-aminoantipirina. Polvo liofilizado. Conservar por debajo de -10°C. Véase la fecha de caducidad en cada etiqueta.


Frasco 5: Solución patrón de D-Glucosa (5 mL, 1,00 mg/mL)

en ácido benzoico al 0,2% (p/v).

Conservar cerrado a temperatura ambiente. Consulte la fecha de caducidad en la etiqueta individual.

Frasco 6: Preparación de β-glucano de levadura de control (~ 2 g contenido de β-glucano indicado en la etiqueta del frasco). Conservar cerrado a temperatura ambiente. Consulte la fecha de caducidad en la etiqueta individual.

Frasco 7: Suspensión de trehalasa (5 mL). Conservar a 4°C. Véase la fecha de caducidad en la etiqueta individual.

	Procedimiento de determinación de β-glucanos AOXLAB S.A.S	Identificación: PROC-TC-100
		Revisión: 6
		Inicio de vigencia: 2024-04-18

4.3 Verificación de equipos.

Antes de iniciar el ensayo, debe verificarse que el estado de funcionamiento de los equipos sea adecuado. Esto puede llevarse a cabo revisando que cuenten con la etiqueta de mantenimiento vigente y que estos no tengan alguna etiqueta que lo identifique como "Fuera de servicio". Además, en el caso en el cual se lleve el control de uso, deben registrarse los últimos registros consignados en el formato FOR-TC-017, con el propósito de verificar que no se han registrado fallas en el funcionamiento. Si algún equipo es utilizado para la medición de alguna magnitud de influencia en el ensayo, este debe estar calibrado. Por tanto, se debe verificar la etiqueta de calibración adherida a este, y comprobar que se encuentre vigente.

Así mismo, debe verificarse que se haya realizado y registrado la verificación diaria de la balanza analítica en el formato FOR-TC-005

Además de lo anterior, debe verificarse la fecha de expiración de los patrones, materiales de referencia y controles de calidad empleados en el ensayo con el fin de evitar el uso de materiales vencidos.

El espectrofluorímetro debe encenderse y ajustarse a los parámetros de medida, acondicionando el sistema al menos 30 minutos antes de realizar la lectura.

4.4 Manejo de la muestra.

Para la identificación, manejo, transporte, almacenamiento y descarte de la muestra, se siguen las instrucciones dadas en el procedimiento PROC-TC-008 Procedimiento de aseguramiento de integridad de las muestras bajo servicio.

Al tomar de la porción de análisis, la muestra debe estar a temperatura ambiente y correctamente homogeneizada. Sí es líquida, mezclar hasta homogeneidad aparente mediante agitación magnética, y con la ayuda de un gotero o una pipeta tomar la cantidad necesaria de muestra, mientras se continúa con la agitación.

Sí la muestra es sólida, moler o triturar en su totalidad hasta homogeneidad aparente.


4.5 Medidas de seguridad.

Durante el análisis tener en cuenta que se debe seguir el procedimiento aquí descrito sin modificar ningún parámetro.

Tener en cuenta las instrucciones dadas en el reglamento interno de trabajo PROC-GC-015 Reglamento Interno AOXLAB S.A.S.

4.6 INSTRUCCIONES DE ENSAYO

4.6.1 REACTIVOS Y/O SOLUCIONES

	Procedimiento de determinación de β-glucanos AOXLAB S.A.S	Identificación: PROC-TC-100
		Revisión: 6
		Inicio de vigencia: 2024-04-18

4.6.1.1 Ácido sulfúrico 95-97% (H₂SO₄)

4.6.1.2 Ácido acético glacial 100% (CH₃COOH)

4.6.1.3 Hidróxido de sodio > 99.0% (NaOH)

4.6.1.4 Kit de reactivos Megazyme K-YBGL (7 botellas)

4.6.1.5 Agua Tipo 1

4.6.1.6 Ácido sulfúrico 12M

En una campana de extracción adicione 640 mL de ácido sulfúrico 95-97% a 300 mL de agua destilada. Enfríe y lleve a volumen de 1000 mL.

4.6.1.7 Buffer de acetato de sodio (200mM, pH 4.5)

A 900 mL de agua destilada, adicione 11.6 mL de ácido acético glacial y ajuste el pH a 4.5 con solución hidróxido de sodio 4M. Ajuste a volumen de 1000 mL con agua destilada.

4.6.1.8 Buffer de acetato de sodio (1.2M, pH 3.8)

A 800 mL de agua destilada, adicione 69.6 mL de ácido acético glacial y ajuste el pH a 3.8 con solución hidróxido de sodio 4M. Ajuste a volumen de 1000 mL con agua destilada.

4.6.1.9 Hidróxido de sodio (1.7M)

A 800 mL de agua destilada, adicione 68 g de hidróxido de sodio, disuelva por agitación y lleve a volumen de 1000 mL con agua destilada.

4.6.1.10 Hidróxido de sodio (8M)

En una campana de extracción, adicione 320 g de hidróxido de sodio a 700 mL de agua destilada, disuelva por agitación y ajuste a volumen de 1000 mL con agua destilada.


4.6.1.11 Hidróxido de sodio (4M)

En una campana de extracción, adicione 160 g de hidróxido de sodio a 700 mL de agua destilada, disuelva por agitación y ajuste a volumen de 1000 mL con agua destilada.

4.6.1.12 Botella 1A

Adicione 9 mL de buffer de acetato de sodio pH 4.5 a la botella 1 del kit de Megazyme. Una vez diluido, el reactivo es estable durante ≥ 2 años por debajo de -10°C . Diluir el contenido del segundo vial sólo cuando sea necesario.

4.6.1.13 Botella 3A

	Procedimiento de determinación de β-glucanos AOXLAB S.A.S	Identificación: PROC-TC-100
		Revisión: 6
		Inicio de vigencia: 2024-04-18

Diluya el contenido de la botella 3 a 1000 mL de agua destilada (Solución I). Usar inmediatamente.

4.6.1.14 Botella 4A

Disuelva el contenido de la botella 4 en 20 mL de solución I y transfiera cuantitativamente este contenido al remanente de solución I. Cubra esta solución con papel aluminio y proteja de la luz. Este es el reactivo de determinación de glucosa (reactivo GOPOD). Estable durante ≥ 1 mes a 4°C o ≥ 12 meses por debajo de -10°C.

Si este reactivo debe almacenarse congelado, es preferible dividirlo en alícuotas. No congelar/descongelar más de una vez.

Cuando el reactivo está recién preparado puede ser de color amarillo claro o rosa claro. La solución puede adquirir un color rosa más intenso al almacenarse a 4°C.

La absorbancia de esta solución debe ser inferior a 0,050 cuando se compara con agua destilada.

4.6.1.15 Botella 7A


Utilice el contenido del frasco 7 tal como se suministra. Antes de abrirlos por primera vez, agite los frascos para eliminar las proteínas que puedan haberse depositado en el tapón de goma. Posteriormente, guarde los frascos en posición vertical.

4.6.2 EJECUCIÓN DEL ENSAYO

4.6.2.1 Determinación de glucanos totales (α -glucanos+ β -glucanos), D-glucosa en oligosacáridos, sacarosa y D-glucosa libre.

4.6.2.1.1 Preparación de la muestra

- a. Pese aproximadamente 90 mg de muestra en un tubo falcon de 15 mL.
- b. Adicione 2 mL de ácido sulfúrico 12M frío al tubo falcon. Tápelos y agite vigorosamente en el vortex.
- c. Coloque los tubos en el congelador por 2 horas. En el transcurso de este tiempo agite vigorosamente la muestra por 15 s en vortex cada 30 minutos.
- d. Pasadas las 2 horas adicione 4 mL de agua destilada y agite vigorosamente por 10 s en vortex.
- e. Adicione 6 mL de agua destilada y agite nuevamente por 10 s.
- f. Destape la muestra y llévela a un baño de agua en ebullición. Después de 5 min tape la muestra y deje en el baño por 2 horas.

	Procedimiento de determinación de β-glucanos AOXLAB S.A.S	Identificación: PROC-TC-100
		Revisión: 6
		Inicio de vigencia: 2024-04-18

- g. Pasadas las 2 horas, enfríe a temperatura ambiente y transfiera cuantitativamente la muestra a un balón volumétrico de 100 mL haciendo enjuagues con la solución buffer de acetato de sodio de pH 4.5.
- h. Adicione 6 mL de hidróxido de sodio 8M al balón volumétrico y lleve a volumen con la solución buffer de acetato de pH 4.5. Agite para homogenizar.
- i. Centrifugue el tubo a una velocidad de 1500 g (RCF) o 3575 RPM por 10 min.


4.6.2.1.2 Cuantificación.

- j. Transfiera 0.1 mL del sobrenadante en un tubo falcon de 15 mL.
- k. Adicione 0.1 mL de botella 1A y agite en vortex por 10 s.
- l. Incube la muestra a 40°C por 60 minutos.
 - a. Pasados los 60 min, enfríe a temperatura ambiente y adicione 3 mL de reactivo GOPOD (botella 4A) e incube nuevamente a 40°C por 20 min. Incube la muestra a 40°C por 20 min. Registrar tiempo inicial y final de incubación.
- m. Pasados los 20 min, adicionar 200 µL de la muestra, blanco y estándar en la placa de lectura y determine la absorbancia a una longitud de onda de 510 nm. Realizar este proceso en el menor tiempo posible.

4.6.2.2 Determinación de α-glucanos (fitoglucógeno y almidón), D-glucosa en sacarosa y D-glucosa libre.

4.6.2.2.1 Preparación de la muestra

- b. Pese aproximadamente 100 mg de muestra en un tubo falcon de 15 mL.
- c. Adicione 2 mL de hidróxido de sodio 1.7M y lleve al congelador por 20 min. En el transcurso de este tiempo agite vigorosamente la muestra por 15 s en vortex cada 5 minutos.
- d. Pasados los 20 min adicione 8 mL de buffer de acetato de sodio pH 3.8 e inmediatamente adicionar 0.2 mL de botella 2 [amiloglucosidasa invertasa] y 0,05 mL del frasco 7 [trehalasa], mezclar bien.
- e. Incube la muestra por 60 min a 40°C con agitación cada 10 min por 15 s.

	Procedimiento de determinación de β-glucanos AOXLAB S.A.S	Identificación: PROC-TC-100
		Revisión: 6
		Inicio de vigencia: 2024-04-18

- f. Para muestras que contengan **más del 10% de α-glucanos**, transfiera cuantitativamente la muestra a un balón volumétrico de 100 mL y lleve a volumen con agua destilada.
- g. Centrifugue una porción de muestra a una velocidad de 1500 g (RCF) o 3575 RPM por 10 min.
- h. Para muestra que contengan **menos del 10% de α-glucanos**, centrifugue el tubo a una velocidad de 1500 g (RCF) o 3575 RPM por 10 min.

4.6.2.2 Cuantificación.

- i. Transfiera 0.1 mL del sobrenadante de los pasos g o h del numeral 4.6.2.2.1., según corresponda, en un tubo falcon de 15 mL.
- j. Adicione 0.1 mL de buffer de acetato de sodio pH 5.0 y 3 mL de reactivo GOPOD (botella 4a).
- k. Incube la muestra a 40°C por 20 min. Registrar tiempo inicial y final de incubación.
- l. Pasados los 20 min, adicionar 200 µL de la muestra, blanco y estándar en la placa de lectura y determine la absorbancia a una longitud de onda de 510 nm. Realizar este proceso en el menor tiempo posible.

4.6.3 CÁLCULOS


Para el cálculo de los β-glucanos presentes en la muestra, se hace uso de la plantilla de cálculo SOFT-TC-054 Cuadro de mando para el ensayo de B-glucanos, haciendo uso de las siguientes fórmulas para obtener resultados satisfactorios:

$$F = \frac{100}{Abs_{D-glucosa}}$$

$$Glucanos\ totales = \frac{(Abs_m - Abs_{bk}) \times F \times 90}{W}$$

$$\alpha - glucanos\ totales_{(>10\%)} = \frac{(Abs_m - Abs_{bk}) \times F \times 90}{W} \quad (final\ volumen\ 100\ mL)$$

$$\alpha - glucanos\ totales_{(<10\%)} = \frac{(Abs_m - Abs_{bk}) \times F \times 9.315}{W} \quad (final\ volumen\ 10.35\ mL)$$

	Procedimiento de determinación de β-glucanos AOXLAB S.A.S	Identificación: PROC-TC-100
		Revisión: 6
		Inicio de vigencia: 2024-04-18

$$\beta - glucanos = (Glucanos\ totales) - (\alpha - glucanos)$$

Donde:

F:	Factor de conversión
Abs _{D-glucosa}	Absorbancia promedio del estándar de glucosa
Abs _m :	Absorbancia promedio de la muestra
Abs _{bk} :	Absorbancia promedio del blanco
W:	Peso de la muestra (mg)

4.7 ASEGURAMIENTO DE LA CALIDAD

Para asegurar y controlar la validez de los resultados se preparan y ensayan los siguientes controles en cada lote de análisis:

- **Blanco:** 0.2 mL de buffer acetato de sodio pH 5.0 + 3mL de GOPOD.
- **Estándar de D-glucosa:** 0.1 mL de botella 6 + 0,1 mL de buffer de acetato de sodio pH 5.0 + 3 mL de GOPOD.
- **Control de levadura:** 100 mg de muestra.

Nota 1: El ensayo del Blanco y Estándar de D-glucosa se lleva a cabo realizando los pasos descritos a partir del literal a. del numeral 4.6.2.1.2

Nota 2: El ensayo del control de levadura se le lleva a cabo realizando todo el proceso descrito en los numerales 4.6.2.1y 4.6.2.2. Los resultados de este control deben mostrar que el ensayo se encuentra bajo control estadístico


Nota 3: Las absorbancias de las muestras analizadas no deben ser superiores a las obtenidas para las muestras de control de D-glucosa. Si la absorbancia de la muestra supera los valores de control, diluir más la muestra para conseguir una absorbancia adecuada.

Además de lo anterior, debe realizarse un ensayo de una muestra duplicada por matriz ensayada en cada lote de análisis y un blanco de método. El coeficiente de variación (RSD%) no debe ser superior al 10%

Los resultados obtenidos deben consignarse y analizarse de acuerdo con los lineamientos establecidos en el procedimiento PROC -TC – 077 “Elaboración de gráficos de control”.

4.8 REGISTROS

Los resultados se registran de la siguiente manera:

	Procedimiento de determinación de β-glucanos AOXLAB S.A.S	Identificación: PROC-TC-100
		Revisión: 6
		Inicio de vigencia: 2024-04-18

Los datos serán registrados en el formato FOR-TC-154 “Formato para el registro de datos primarios de β-glucanos”.

Los resultados serán guardados y diligenciados en el SOFT-TC-054 Cuadro de mando para el ensayo de B-glucanos, en la carpeta (L:\LABORATORIO\REGISTROS\REGISTROS RT\Cuadros de Mando\Cuadros de Mando AÑO\ANTIOXIDANTES\B-GLUCANOS)

y en cada carpeta guardar el archivo según se requiera, así:

- Carpeta “Datos primarios”: guardar archivo generado por el espectrofluorímetro con el siguiente nombre “ES-año-100-mes-día-LX-GT” para glucanos totales y “ES-año-100-mes-día-LX-AG” para α -glucanos.
- Carpeta “Reportes Gen 5”: guardar archivo de las absorbancias en formato PDF con el siguiente nombre “ES-año-100-mes-día-LX-GT” para glucanos totales y “ES-año-100-mes-día-LX-AG” para α -glucanos.

ES: espectrofluorímetro

Año: los dos últimos dígitos del año en curso

Mes: número del mes en que se realizó el análisis

Día: día en que se realizó el análisis

X: número de análisis realizado en el día

GT: identifica los resultados de glucanos totales


AG: identifica los resultados de alfa-glucanos (α-glucanos)

BG: identifica los resultados de betaglucanos (β-glucanos)

5. RESPONSABILIDADES.

Director técnico.

- Asegurar la aplicación del presente documento y tomar decisiones en casos especiales no contemplados.
- Revisar y aprobar los informes técnicos una vez han sido revisados por el Líder de Laboratorio.
- Asesorar y orientar los analistas en la resolución de dudas e inconvenientes surgidos durante el desarrollo de los ensayos.
- Realizar o revisar las investigaciones pertinentes a los trabajos no conformes derivados de la ejecución del método y autorizar las indicaciones a seguir.
- Establecer los casos en los cuales se realiza la retención de muestras.
- Aprobar los informes técnicos una vez han sido revisados por el Líder de Laboratorio.

	Procedimiento de determinación de β-glucanos AOXLAB S.A.S	Identificación: PROC-TC-100
		Revisión: 6
		Inicio de vigencia: 2024-04-18

Director de Calidad.


- Asegurar la aplicación del presente documento y tomar decisiones en casos especiales no contemplados.
- Realizar y registrar las investigaciones pertinentes a los trabajos no conformes derivados de la ejecución del método.
- Archivar los registros técnicos relacionados con los ensayos.

Líder de Laboratorio.

- Asegurar la aplicación del presente documento por el personal subordinado o supervisado.
- Revisar los resultados ingresados por el analista, haciendo seguimiento de la trazabilidad del análisis (Cuadros de mando, formato de solicitud de servicio y salvaguardia de muestras, formatos de datos primarios) antes de enviar el informe final al director técnico.
- Realizar la revisión de resultados teniendo en cuenta la normativa vigente si esta aplica.
- Informar al director técnico las desviaciones que se den durante el desarrollo del método.
- Reportar y registrar los trabajos no conformes derivados del análisis al líder de calidad y al director técnico.
- Informar los casos en los que se deben de retener las muestras.
- Supervisar el cumplimiento de las actividades de aseguramiento de calidad.

Analista.

- Seguir todas las instrucciones establecidas en este procedimiento y en el reglamento del laboratorio
- Ingresar y entregar todos los resultados en los tiempos pactados.
- Entregar formatos de datos primarios completamente diligenciados al líder del laboratorio.
- Realizar revisión de datos primarios y cálculos realizados en los cuadros de mandos, informar al líder del laboratorio en caso de observar alguna desviación en los resultados obtenidos teniendo en cuenta las cartas control.
- Registrar los resultados de los ensayos de control de calidad y hacer el análisis de tendencias de estos.
- Realizar la revisión de resultados teniendo en cuenta la normativa vigente si esta aplica.
- Informar al líder de laboratorio las desviaciones que se den durante el desarrollo del método.
- Reportar y registrar los trabajos no conformes derivados del análisis al líder del laboratorio.

	Procedimiento de determinación de β-glucanos AOXLAB S.A.S	Identificación: PROC-TC-100
		Revisión: 6
		Inicio de vigencia: 2024-04-18

- Informar cualquier incidente que suceda durante la realización del método.
- Revisar que los equipos usados en el desarrollo del método tengan mantenimiento, calibración y/o verificación vigente, de acuerdo con el programa de mantenimiento y calibración.

6. FORMATOS RELACIONADOS.

FOR-TC-154 "Formato para el registro de datos primarios de β-glucanos"

SOFT-TC-054 Cuadro de mando para el ensayo de B-glucanos

7. ANEXOS.

En la siguiente dirección web se podrá encontrar información de interés acerca de la metodología empleada, el kit de reactivos utilizado y la hoja de cálculo suministrada por el proveedor:

[*KYBGL_DATA.pdf\(megazyme.com\)](http://www.megazyme.com/KYBGL_DATA.pdf)

Página web: www.megazyme.com/documents/Assay_Protocol/K-YBGL_DATA