



รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

การพัฒนาตัวอย่างอาหารอ้างอิง และการใช้เพื่อประเมินสถานภาพห้องปฏิบัติการ
ในการจัดทำและประเมินฉลากโภชนาการ

(Development of reference materials and their uses for evaluation of
laboratory performance on nutrition labeling evaluation and production)

ผศ.ดร.ครรชิต จุดประสงค์*
รศ.ดร.ประภาศรี ภูวเสถียร นฤมล ปิ่นประไพ
สถาบันโภชนาการ มหาวิทยาลัยมหิดล

*หัวหน้าโครงการวิจัย

มิถุนายน พ.ศ. 2555



รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

การพัฒนาตัวอย่างอาหารอ้างอิง และการใช้เพื่อประเมินสถานภาพห้องปฏิบัติการ
ในการจัดทำและประเมินฉลากโภชนาการ

(Development of reference materials and their uses for evaluation of laboratory
performance on nutrition labeling evaluation and production)

ผศ.ดร.ครรชิต จุดประสงค์*
รศ.ดร.ประภาศรี ภูวเสถียร นฤมล ปิ่นประไพ
สถาบันโภชนาการ มหาวิทยาลัยมหิดล

*หัวหน้าโครงการวิจัย (Email: kunchit.jud@mahidol.ac.th)

สนับสนุนโดยสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย

(ความเห็นในรายงานนี้เป็นของผู้วิจัย สกว.ไม่จำเป็นต้องเห็นด้วยเสมอไป)

กิตติกรรมประกาศ

โครงการวิจัยเรื่อง “การพัฒนาตัวอย่างอาหารอ้างอิง และการใช้เพื่อประเมินสถานภาพห้องปฏิบัติการในการจัดทำและประเมินฉลากโภชนาการ” ที่ได้รับทุนสนับสนุนจากสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ (สกว) ร่วมกับสำนักงานคณะกรรมการการอุดมศึกษา (สกอ) ปีงบประมาณ 2553 ซึ่งเป็นส่วนสำคัญที่สนับสนุนให้โครงการนี้ได้เริ่มต้นดำเนินการและสำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี คณะผู้วิจัยจึงใคร่ขอขอบพระคุณไว้ ณ ที่นี้ นอกจากนี้คณะผู้วิจัยขอขอบคุณบริษัททองการ์เด็น จำกัด ที่เอื้อเฟื้อตัวอย่างถั่วปากอ้าอบเกลือ (salted broad bean) และบริษัทเพรสซิเด็นท์ฟู้ด จำกัด ที่เอื้อเฟื้อตัวอย่างแครกเกอร์ชนิดโฮลวีท (whole wheat cracker) ตลอดจนห้องปฏิบัติการต่างๆ ที่ร่วมโครงการในทั้งสองรอบของกิจกรรม อีกทั้งผู้แทนของแต่ละห้องปฏิบัติการที่ร่วมแสดงความคิดเห็น และอภิปรายเรื่องของการวิเคราะห์สารอาหารที่มีปัญหาต่างๆ และเรื่องการจัดทำฉลากโภชนาการ ในช่วงการประชุมหลังการดำเนินกิจกรรม (post technical meeting) ทั้งสองครั้ง

นอกจากนี้โครงการวิจัยนี้จะไม่สามารถดำเนินการสำเร็จลุล่วงไปได้ ถ้าปราศจากความร่วมมือ ความช่วยเหลือและกำลังใจจากบุคคลต่างๆ ทั้งที่กล่าวมาข้างต้นและอาจจะไม่ได้กล่าวไว้ ณ ที่นี้

คณะผู้วิจัย

บทคัดย่อ

Project Code (รหัสโครงการ): MRG5380021

ชื่อโครงการ: การพัฒนาตัวอย่างอาหารอ้างอิง และการใช้เพื่อประเมินสถานภาพ

ห้องปฏิบัติการในการจัดทำและประเมินฉลากโภชนาการ

Investigator (ชื่อนักวิจัย): ผศ.ดร.ครรชิต จุฑประสงค์

สถาบันโภชนาการ มหาวิทยาลัยมหิดล

E-mail Address: kunchit.jud@mahidol.ac.th

Project Period (ระยะเวลาโครงการ): 15 มิถุนายน 2553 - 14 มิถุนายน 2555

การรับประทานอาหารที่มีประโยชน์ทั้งอาหารสดและอาหารสำเร็จรูป สามารถป้องกันการเกิดโรคไม่ติดต่อเรื้อรังได้ ฉลากโภชนาการบนบรรจุภัณฑ์ที่มีความน่าเชื่อถือช่วยให้ผู้บริโภคสามารถเลือกอาหารที่มีประโยชน์ต่อสุขภาพได้ จากข้อมูลในอดีตชี้ให้เห็นว่าฉลากโภชนาการที่แสดงอยู่บนผลิตภัณฑ์อาหารหลายชนิดยังไม่เป็นไปตามประกาศกระทรวงสาธารณสุขที่ได้กำหนดไว้ ปัจจัยสำคัญที่เกี่ยวข้องน่าจะมาจากห้องปฏิบัติการที่เป็นผู้วิเคราะห์สารอาหารและจัดทำฉลาก ดังนั้น การศึกษานี้จึงมีวัตถุประสงค์ เพื่อศึกษาความสามารถของห้องปฏิบัติการในการวิเคราะห์สารอาหาร บังคับ และการจัดทำฉลากโภชนาการ โดยจัดทำเป็น 2 รอบ รอบแรกใช้ตัวอย่างถั่วปากอ้าอบเกลือ (salted broad bean) รอบที่ 2 ใช้ตัวอย่างแครกเกอร์ชนิดโฮลวีท (whole wheat cracker) เป็นตัวอย่างทดสอบ ในแต่ละครั้งเตรียมตัวอย่างใน 2 รูปแบบคือตัวอย่างที่เตรียมให้เป็นเนื้อเดียวกันโดยผู้จัดโครงการ (homogenised sample) และตัวอย่างในรูปแบบที่จำหน่ายจริงที่เตรียมโดยแต่ละห้องปฏิบัติการ ทำการวิเคราะห์สารอาหารบังคับในการจัดทำฉลากโภชนาการ และนำผลการวิเคราะห์ที่ได้มาจัดทำฉลากโภชนาการที่พร้อมใช้ตามประกาศกระทรวงสาธารณสุข การประเมินความสามารถในการวิเคราะห์สารอาหารของห้องปฏิบัติการ ใช้วิธีทางสถิติโดยใช้คะแนน z-score (ตาม ISO 13528) เป็นเกณฑ์ในการตัดสิน ผลการศึกษาพบว่าห้องปฏิบัติการส่วนใหญ่มีความสามารถดี ($|z\text{-score}| \leq 2$) ในการวิเคราะห์ไขมันทั้งหมด ไขมันอิ่มตัว โปรตีน โซเดียม แคลเซียม เหล็ก ความชื้น และเถ้า ส่วนการวิเคราะห์สารอาหารที่พบว่ายังให้ผลไม่เป็นที่ยอมรับ เนื่องจากมีความแปรปรวนสูงคือ การวิเคราะห์น้ำตาล โยอาหาร วิตามินบี 1 และวิตามินบี 2 สำหรับการประเมินความสามารถในการจัดทำฉลากโภชนาการพบว่า ยังมีการแสดงรูปแบบฉลาก การคำนวณ และการแสดงปริมาณสารอาหารต่อหนึ่งหน่วยบริโภคและสารอาหารต่อปริมาณที่แนะนำให้บริโภคต่อวัน ที่ไม่เป็นไปตามข้อกำหนดตามประกาศกระทรวงสาธารณสุขในการจัดทำฉลากโภชนาการ ข้อมูลที่ได้จากการศึกษานี้สนับสนุนอย่างมากที่จะต้องมีการประเมินความสามารถของห้องปฏิบัติการในการวิเคราะห์สารอาหารบังคับเป็นระยะๆ และมีการจัดการอบรมห้องปฏิบัติการในการจัดทำฉลากโภชนาการอย่างต่อเนื่อง กิจกรรมที่คุ้มค่าและดำเนินการได้เองในประเทศไทย เช่นนี้ สามารถช่วยพัฒนาความสามารถห้องปฏิบัติการในการจัดทำข้อมูลโภชนาการบนฉลากอาหารให้มีคุณภาพและน่าเชื่อถือ

Project Title: Development of reference materials and their uses for evaluation of laboratory performance on nutrition labeling evaluation and production

Investigator (ชื่อหลักวิจัย): Asst. Prof. Kunchit Judprasong
Institute of Nutrition, Mahidol University
E-mail Address: kunchit.jud@mahidol.ac.th

Abstract

Regular consumption of healthy fresh and processed foods could prevent consumers from non-communicable diseases. Reliable nutrient composition data on a food label is important information to assist the consumers in making the right choice for healthy processed foods. Previous studies on nutrition labelling indicated considerable problems of non-complied information based on the Thai Food and Drug Administration (Thai FDA) regulations. The main issue involving the unreliable nutrient information could be the analytical laboratories who take responsibility for developing the nutrient composition data. This study aimed to evaluate the performance of laboratories on analysis (PT) of mandatory nutrients, and the preparation of nutrition labelling. Two rounds of laboratory performance using salted broad bean and whole wheat cracker as test materials were performed. In each PT round, two types of the samples were prepared: by the organiser and by individual laboratories. Participating laboratories were requested to analyse mandatory nutrients for nutrition labelling and to use the obtained data to prepare ready-to-use nutrition information based on the Thai FDA regulations. Laboratory analytical performance was statistically evaluated using z-score (following ISO 13528). Laboratories performed well ($|z\text{-score}| < 2$) on total fat, saturated fat, protein, Na, Ca, Fe, moisture and ash analyses. Unsatisfactory performance was found on analyses of sugars, dietary fibre, vitamin B1 and B2. For the preparation of nutrition information, based on the Thai FDA regulation, the common non-complying performance included declaration of nutrition format, uncorrected calculation, and declared information on nutrient per serving and percent Thai RDI. The findings strongly support a requirement of regular evaluation of laboratory performance and training on nutrition labelling preparation to improve the quality and reliability of the nutrition information on food labels. The cost-effective programmes like this, which can be organised in Thailand, could successfully improve the quality and reliability of laboratory performance on preparation of nutrition labelling.

Keywords(คำหลัก): Nutrition labelling / laboratory performance / mandatory nutrient / Thai FDA regulation

สรุปย่อ “Executive Summary”

ชื่อโครงการ การพัฒนาตัวอย่างอาหารอ้างอิง และการใช้เพื่อประเมินสถานภาพห้องปฏิบัติการในการจัดทำและประเมินผลากโภชนาการ (Development of reference materials and their uses for evaluation of laboratory performance on nutrition labeling evaluation and production)

ชื่อหัวหน้าโครงการวิจัยผู้รับทุน: ผศ.ดร.ครรชิต จุดประสงค์

รายงานในช่วงตั้งแต่วันที่ 15 มิถุนายน 2553 ถึงวันที่ 15 มิถุนายน 2555

วัตถุประสงค์ของโครงการ

ก. จัดทำตัวอย่างอาหารอ้างอิง (food reference material) ประเภทอาหารขบเคี้ยว ซึ่งมีค่าอ้างอิงของสารอาหาร สำหรับใช้ในการควบคุมคุณภาพการวิเคราะห์ของห้องปฏิบัติการ

ข. ประเมินสถานภาพความสามารถของห้องปฏิบัติการในการวิเคราะห์สารอาหารบังคับ และประเมินความสามารถในการจัดทำผลากโภชนาการ ตามประกาศกระทรวงสาธารณสุขฉบับที่ 182/2542 และ 305/2550 โดยการจัดกิจกรรมทดสอบความชำนาญ

ค. จัดประชุมผู้ร่วมโครงการ เพื่อแจ้งผลการประเมิน ระดมความคิดในการหาสาเหตุการเกิดข้อผิดพลาด วางแผนในการแก้ไขข้อบกพร่อง วางแผนในการจัดกิจกรรมที่ต่อเนื่อง เพื่อให้ห้องปฏิบัติการในประเทศไทยมีการพัฒนาคุณภาพการวิเคราะห์ให้ได้มาตรฐานทัดเทียมกัน

สรุปย่อ

การดำเนินงานจัดทำตัวอย่างอาหารอ้างอิง การประเมินสถานภาพการวิเคราะห์สารอาหารบังคับตามมาตรฐานสากล (ISO 17043) และการจัดทำผลากโภชนาการ ตามประกาศกระทรวงสาธารณสุขฉบับที่ 182/2541 และ 305/2550 ของห้องปฏิบัติการวิเคราะห์อาหารในประเทศไทย ห้องปฏิบัติการที่เข้าร่วมโครงการในรอบแรกมี 17 แห่ง ส่วนรอบที่ 2 มีจำนวน 16 แห่ง การดำเนินงานแบ่งเป็น 2 รอบ โดยใช้วิธีการที่เหมือนกัน กิจกรรมทั้งหมดในแต่ละรอบมีรายละเอียดการดำเนินงานคือ การเชิญห้องปฏิบัติการเข้าร่วมโครงการ การเตรียมตัวอย่างทดสอบ การทดสอบความเสถียรของสารอาหาร (stability testing) การส่งตัวอย่างและเอกสารที่เกี่ยวข้องให้ผู้เข้าร่วมโครงการ การกำหนดค่า assigned values ของสารอาหารในตัวอย่างทดสอบ การประเมินความสามารถของห้องปฏิบัติการในการวิเคราะห์สารอาหารบังคับในการจัดทำผลากโภชนาการ (evaluation of laboratory performance or proficiency study) การกำหนดค่า consensus values ของสารอาหารในตัวอย่างอ้างอิง (reference material) ที่เตรียมขึ้น และการประเมินการจัดทำข้อมูลโภชนาการบนฉลากอาหาร การประชุมหลังการดำเนินการ (Post-PT Technical Meeting) และการเขียนรายงานฉบับสมบูรณ์ของ PT-9 (เขียนเป็นภาษาอังกฤษ) และ PT-10 (เขียนเป็นภาษาไทย)

เพื่อให้แต่ละห้องปฏิบัติการมีความเข้าใจมากขึ้น) การศึกษาในรอบแรก (PT-9) เลือกถั่วปากอ้าอบเกลือ (salted broad bean) ซึ่งเป็นตัวแทนอาหารสำเร็จรูปในกลุ่มขนมขบเคี้ยวที่มีโปรตีนและไขมันสูง เป็นตัวอย่างทดสอบ (proficiency test material) ซึ่งดำเนินการเสร็จสิ้นเมื่อเดือนสิงหาคม พ.ศ. 2553 ส่วนในปีที่ 2 (PT-10) ใช้ตัวอย่างขนมปังกรอบผสมข้าวสาลี (whole-wheat cracker) เป็นตัวแทนอาหารสำเร็จรูปในกลุ่มขนมปังกรอบที่มีคาร์โบไฮเดรตและไขมันสูง ดำเนินการเสร็จสิ้นเมื่อเดือนพฤษภาคม พ.ศ. 2555 ในแต่ละรอบของการศึกษาใช้ตัวอย่างทดสอบ 2 รูปแบบคือตัวอย่างที่ผู้วิจัยเตรียมตัวอย่างให้เป็นเนื้อเดียวกัน (homogenized sample) เพื่อนำผลการวิเคราะห์มาจัดทำฉลากโภชนาการ ตามประกาศกระทรวงสาธารณสุขฉบับที่ 182/2541 และตัวอย่างในรูปแบบที่จำหน่ายจริง (commercial packages) ซึ่งห้องปฏิบัติการเป็นผู้เตรียมตัวอย่างเอง เพื่อประเมินกระบวนการจัดทำฉลากโภชนาการทั้งระบบและนำผลการวิเคราะห์มาจัดทำฉลากโภชนาการ ตามประกาศกระทรวงสาธารณสุขฉบับที่ 305/2550

การประเมินสถานภาพการวิเคราะห์ของแต่ละห้องปฏิบัติการทำโดยใช้วิธีทางสถิติคือ robust z-score เพื่อจัดระดับสถานภาพของห้องปฏิบัติการเป็น 3 ระดับคือห้องปฏิบัติการที่มีความสามารถเป็นที่ยอมรับ (satisfactory performance) ห้องปฏิบัติการที่อยู่ระหว่างการยอมรับและไม่ผ่านเกณฑ์ (questionable performance) และห้องปฏิบัติการที่ไม่ผ่านเกณฑ์ (unsatisfactory performance) ผลการศึกษาทั้ง 2 รอบพบว่า ห้องปฏิบัติการมีความสามารถในการวิเคราะห์เป็นที่น่าพอใจ (satisfactory result) คือมีค่า $|z\text{-score}| \leq 2$ ในเรื่องของการวิเคราะห์สารอาหารไขมัน กรดไขมันอิ่มตัว โปรตีน โซเดียม แคลเซียม เหล็ก ธาตุ และความชื้น ในภาพรวมสถานะภาพการวิเคราะห์ของสารอาหารเหล่านี้ได้มีการพัฒนาดีขึ้นมากกว่าการศึกษาที่ผ่านมา อย่างไรก็ตามพบผลการวิเคราะห์ของสารอาหารบางชนิดที่มีความแตกต่างกันมากได้แก่ การวิเคราะห์ใยอาหาร น้ำตาล กรดไขมันชนิดทรานส์ วิตามินบี 1 และ 2 หลังการประเมินความสามารถของห้องปฏิบัติการในแต่ละรอบผู้วิจัยได้จัดให้มีการประชุม (Post-PT Technical Meeting) โดยเชิญผู้แทนของแต่ละห้องปฏิบัติการเข้าร่วมการประชุม มีการแบ่งกลุ่มการอภิปรายแต่ละสารอาหารที่มีปัญหา เพื่อหาสาเหตุและแนวทางการแก้ไข และสรุปประเด็นสำคัญที่น่าจะส่งผลให้เกิดความแตกต่างของผลการวิเคราะห์ ตัวอย่างการแก้ปัญหา เช่น ห้องปฏิบัติการตกลงกันให้มีการวิเคราะห์สารอาหาร ใยอาหาร และน้ำตาล โดยผู้จัดได้ทำการเตรียมตัวอย่างที่สกัดไขมันออกแล้ว (defatted sample) เพื่อลดปัจจัยที่ทำให้เกิดความแตกต่าง พบว่า ได้ผลการวิเคราะห์ที่น่าพอใจ ข้อสรุปจากผลการศึกษาทั้งหมดคือ ห้องปฏิบัติการที่มีความสามารถดีในการวิเคราะห์ทุกสารอาหารตามประกาศฉบับที่ 305/2550 มีเพียง 2 (PT-9) และ 8 (PT-10) จาก 16 และ 17 ห้องปฏิบัติการตามลำดับ และสารอาหารตามประกาศฉบับที่ 182/2542 มีเพียง 3 จาก 17 ห้องปฏิบัติการ ในการศึกษาทั้ง 2 รอบ

ในที่สุดผู้ดำเนินโครงการได้กำหนดค่าอ้างอิง (consensus values) ของสารอาหารบางชนิดในตัวอย่างถั่วปากอ้าอบเกลือ (INMU-17) และในตัวอย่างขนมปังกรอบผสมข้าวสาลี (INMU-18) จากผลการวิเคราะห์ของห้องปฏิบัติการที่ผ่านเกณฑ์การประเมิน สารอาหารที่สามารถกำหนดเป็น consensus values ในตัวอย่างทั้งสองชนิดนี้คือไขมัน กรดไขมันอิ่มตัว โปรตีน ใยอาหาร น้ำตาล

โซเดียม แคลเซียม เหล็ก วิตามินบี 1 ธาตุ และความชื้น ทำให้ได้ตัวอย่างอ้างอิง (reference material) ถั่วปากอ้าอบเกลือและขนมปังกรอบผสมข้าวสาลี มอบให้ห้องปฏิบัติการที่เข้าร่วมโครงการไปใช้ในการแก้ไขข้อบกพร่องตาม ISO 17025 หรือใช้ควบคุมคุณภาพการวิเคราะห์ของห้องปฏิบัติการในระยะสั้น เนื่องจากทั้งสองตัวอย่างมีไขมันสูงและวิตามินบี 1 มีแนวโน้มลดลง

สำหรับการประเมินความสามารถในการจัดทำฉลากโภชนาการพบว่า ยังมีการแสดงรูปแบบฉลาก การคำนวณ และการแสดงปริมาณสารอาหารต่อหนึ่งหน่วยบริโภคและสารอาหารต่อปริมาณที่แนะนำให้บริโภคต่อวัน ที่ไม่เป็นไปตามข้อกำหนดของประกาศกระทรวงสาธารณสุขในการจัดทำฉลากโภชนาการ ข้อมูลที่ได้จากการศึกษาครั้งนี้สนับสนุนให้มีการจัดการอบรมห้องปฏิบัติการที่รับผิดชอบในการจัดทำฉลากโภชนาการอย่างเร่งด่วน เพื่อปรับปรุงคุณภาพและความน่าเชื่อถือของข้อมูลโภชนาการบนฉลากอาหาร

ผศ.ดร. ครรชิต จุฑประสงค์
หัวหน้าโครงการวิจัยผู้รับทุน

Output จากโครงการวิจัยที่ได้รับทุนจาก สกว.

1. ผลงานตีพิมพ์ในวารสารวิชาการนานาชาติ (ระบุชื่อผู้แต่ง ชื่อเรื่อง ชื่อวารสาร ปี เล่มที่ เลขที่ และหน้า) หรือผลงานตามที่คาดไว้ในสัญญาโครงการ
 - Kunchit Judprasong, Prapasri Puwastien, Jirapitcha Boonpor, Naruemol Pinprapai. Laboratory performance on analysis of mandatory nutrients and preparation of nutrition labeling. Food Chemistry. (in press, first submitted on 23 Dec. 2011, revised from reviewers on 15 May 2012).
2. การนำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์
 - **เชิงพาณิชย์**
 - 1) แม้ว่าโครงการนี้ไม่มีตัวอย่างอาหารอ้างอิงที่สามารถจำหน่ายได้ แต่ได้มีการกระจายตัวอย่างซึ่งมีค่าอ้างอิง (consensus value) ของสารอาหารบางชนิด สามารถนำไปใช้วิเคราะห์เพื่อทำ corrective action ของห้องปฏิบัติการตาม ISO 17025
 - 2) โครงการนี้สามารถช่วยให้ห้องปฏิบัติการประหยัดค่าใช้จ่ายในการเข้าร่วมการประเมินกับต่างประเทศ (proficiency testing) หากแต่ละห้องปฏิบัติการต้องเข้าร่วมโครงการที่จัดทำในต่างประเทศจะมีค่าใช้จ่ายต่อห้องปฏิบัติการครั้งละมากกว่า 10,000 บาท (สำหรับการวิเคราะห์ 3-5 สารอาหารเท่านั้น) และยังมีข้อจำกัดเกี่ยวกับชนิดของสารที่ครอบคลุมในแต่ละครั้งด้วย การศึกษานี้ครอบคลุมถึง 12 สารอาหาร บังคับตามประกาศกระทรวงสาธารณสุข
 - **เชิงนโยบาย** (มีการกำหนดนโยบายอิงงานวิจัย/เกิดมาตรการใหม่/เปลี่ยนแปลงระเบียบข้อบังคับหรือวิธีทำงาน)

ผลการศึกษาเกี่ยวกับการประเมินความสามารถในการจัดทำฉลากโภชนาการ ที่ผ่านมารวมทั้งครั้งนี้ ได้มีการนำเสนอข้อมูลให้กับสำนักงานอาหารและยา กระทรวงสาธารณสุข เพื่อสนับสนุนให้มีการจัดการอบรมผู้ประกอบการ ผู้ทำหน้าที่เกี่ยวข้องกับการจัดทำฉลากและห้องปฏิบัติการใน 4 ภาคของประเทศ
 - **เชิงสาธารณะ** (มีเครือข่ายความร่วมมือ/สร้างกระแสความสนใจในวงกว้าง)

เกิดเครือข่ายของห้องปฏิบัติการต่างๆ ที่เข้าร่วมโครงการวิจัย โดยมีการแลกเปลี่ยนเรียนรู้กันด้วยการประชุม Technical meeting จำนวน 2 ครั้ง
 - **เชิงวิชาการ** (มีการพัฒนาการเรียนการสอน/สร้างนักวิจัยใหม่) ผู้วิจัยและทีมงาน
 - 1) ได้รับเชิญเป็นวิทยากร จากสำนักมาตรฐานห้องปฏิบัติการ กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ ในการสัมมนาเรื่อง “เส้นทางการเป็น PT provider ในภูมิภาคเอเชียตะวันออกเฉียงใต้” ณ โรงแรมริชมอนด์ นนทบุรี เมื่อวันที่ 12 และ 13 มกราคม 2554 จำนวนผู้เข้าร่วมประมาณ 30-35 คน จาก 4 หน่วยงาน คือกรมวิชาการเกษตร กรมการข้าว กรมปศุสัตว์ และกรมประมง

- 2) ได้รับเชิญเป็นวิทยากร จากสำนักงานมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ (มกอช.) สำนักรับรองมาตรฐานสินค้าและระบบคุณภาพ ในการอบรมเรื่อง “ขั้นตอนการจัดโปรแกรมทดสอบความชำนาญ” ณ ห้องเกษตร โรงแรมหลุยส์ แทเวอร์น กรุงเทพฯ เมื่อวันที่ 23 กุมภาพันธ์ 2554 จำนวนผู้เข้าร่วมประมาณ 30-35 คน จาก 4 หน่วยงานคือกรมวิชาการเกษตร กรมการข้าว กรมปศุสัตว์ และกรมประมง
- 3) ได้รับเชิญเป็นวิทยากร จากสำนักงานมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ (มกอช.) สำนักรับรองมาตรฐานสินค้าและระบบคุณภาพ ในการอบรมเรื่อง “การเตรียมตัวอย่างสำหรับการจัดโปรแกรมทดสอบความชำนาญ” ณ สถาบันโภชนาการ ม.มหิดล ศาลายา เมื่อวันที่ 18-19 พฤษภาคม 2554 จำนวนผู้เข้าร่วมประมาณ 25-30 คน จาก 4 หน่วยงานคือกรมวิชาการเกษตร กรมการข้าว กรมปศุสัตว์ และกรมประมง
- 4) ได้รับเชิญเป็นวิทยากร จากสำนักงานมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ (มกอช.) สำนักรับรองมาตรฐานสินค้าและระบบคุณภาพ ในการอบรมเรื่อง “สถิติที่ใช้ในการจัดโปรแกรมทดสอบความชำนาญ” ณ สถาบันโภชนาการ ม.มหิดล ศาลายา เมื่อวันที่ 27, 30, 31 พฤษภาคม 2554 จำนวนผู้เข้าร่วมประมาณ 25-30 คน จาก 4 หน่วยงานคือกรมวิชาการเกษตร กรมการข้าว กรมปศุสัตว์ และกรมประมง
- 5) ใช้เป็นส่วนหนึ่งของวิทยานิพนธ์นักศึกษานิพนธ์ปริญญาโท หลักสูตรโภชนศาสตร์ ชื่อจิรพิชชา บุญพอ รหัส 5137421 RANU/M ศึกษาเรื่อง “การประเมินสถานะภาพความถูกต้องของฉลากโภชนาการ และสถานะภาพของห้องปฏิบัติการวิเคราะห์สารอาหารบังคับบนฉลากอาหารสำเร็จรูป” สำเร็จการศึกษาวันที่ 3 มิถุนายน 2554 ซึ่งปัจจุบันได้ไปเป็นนักวิจัยสังกัดกระทรวงสาธารณสุข
- 6) ได้รับเชิญเป็นวิทยากร จากกรมวิทยาศาสตร์บริการ ในการฝึกอบรมเชิงปฏิบัติการเรื่อง “Statistical approach for PT (Testing and Calibration) (APLAC-PTB approved work plan)” ณ กรมวิทยาศาสตร์บริการ เมื่อวันที่ 28-30 พฤษภาคม 2555 จำนวนผู้เข้าร่วมประมาณ 50 คน จากหลากหลายหน่วยงาน
- 7) ได้รับเชิญเป็นที่ปรึกษาให้แก่ห้องปฏิบัติการเคมี ของกรมประมง ด้วยการไปเฝ้าดูการเตรียมตัวอย่างสำหรับตัวอย่างทดสอบความชำนาญ จัดโดยสำนักงานมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ (มกอช.) เมื่อวันที่ 18 พฤษภาคม 2555
- 8) ได้รับเชิญเป็นที่ปรึกษาให้แก่ห้องปฏิบัติการเคมี ของกรมปศุสัตว์ ด้วยการไปเฝ้าดูการเตรียมตัวอย่างสำหรับตัวอย่างทดสอบความชำนาญ จัดโดยสำนักงานมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ (มกอช.) เมื่อวันที่ 7 มิถุนายน 2555

3. อื่นๆ (เช่น ผลงานตีพิมพ์ในวารสารวิชาการในประเทศ การเสนอผลงานในที่ประชุมวิชาการ หนังสือ การจดสิทธิบัตร)

- 1) Kunchit Judprasong, Prapasri Puwastien, Jirapitcha Boonpor, Naruemol Pinprapai. Laboratory performance on analysis of mandatory nutrients and preparation of nutrition labeling. Poster presented at the 9th International Food Data Conference (9th IFDC), Norwich, United Kingdom, Sep. 14-17, 2011.
- 2) Jirapitcha Boonpor, Kunchit Judprasong, Prapasri Puwastien, Prapaisri P Sirichakwal. Evaluation of nutrition information on food packages of ready-to-eat products and laboratory performance on preparation of nutrition information. Poster presented at the 4th Thailand Congress of Nutrition (4th TCN 2010); Sep. 13-15, 2010; BITEC Conference Center, Bangkok, Thailand.

สารบัญ

ส่วนที่

เรื่อง

- 1 การศึกษารอบที่ 1 (PT-9)
- 2 การศึกษารอบที่ 2 (PT-10)
- 3 การประชุมปรึกษาวิชาการ (Technical Meeting) ครั้งที่ 1 (วันที่ 29 มีนาคม พ.ศ. 2553)
- 4 การประชุมปรึกษาวิชาการ (Technical Meeting) ครั้งที่ 2 (วันที่ 28 ตุลาคม พ.ศ. 2553)
- 5 การประชุมปรึกษาวิชาการ (Technical Meeting) ครั้งที่ 3 (วันที่ 22 พฤษภาคม พ.ศ. 2555)
- 6 ภาคผนวก (Manuscript และ การนำเสนอผลงานวิชาการ)

การศึกษารอบที่ 1

(PT-9)

**โครงการประเมินความชำนาญของห้องปฏิบัติการ
วิเคราะห์สารอาหาร ในการจัดทำฉลากโภชนาการ**

**(Development of reference materials and their uses
for evaluation of laboratory performance on nutrition
labeling evaluation and production**



INSTITUTE OF NUTRITION, MAHIDOL UNIVERSITY

Regional ASEANFOODS Centre

Salaya, Putthamonthon, Nakhon Pathom 73170, Thailand

Telephone: +66-2-800 2380, Fax: +66-2- 441-9344

Laboratory Performance Study 9:

*Analysis of mandatory nutrients and
preparation of nutrition labelling*

by

Kunchit Judprasong, Prapasri Puwastien,
Jirapitcha Boonpor and Naruemol Pinprapai

August, 2010



FINAL REPORT

Laboratory Performance Study 9:

*Analysis of mandatory nutrients and
preparation of nutrition labelling*

Kunchit Judprasong, Prapasri Puwastien*
Jirapitcha Boonpor and Naruemol Pinprapai

Institute of Nutrition, Mahidol University
Salaya, Putthamonthon 4, Nakhon Pathom 73170, Thailand
Telephone: +66-2-800-2380, +66-2-441-0217
e-mail: nuppw@mahidol.ac.th*

August 2010

Your laboratory code number is:

CONTENTS

	Page
CONTENT	i
ABBREVIATION	iii
LIST OF TABLES	iv
LIST OF FIGURES	vi
LIST OF APPENDICES	vii
ABSTRACT	1
1. INTRODUCTION	2
SPECIFIC OBJECTIVE	2
2. MATERIALS AND METHODS	3
2.1 Test materials and their preparations	3
2.2 Homogeneity and stability testing of the broad bean powder test materials (INMU–TM17)	3
2.3 Laboratory performance study	4
2.3.1 Participants	4
2.3.2 Distribution of samples and documents	4
2.3.3 Assigned analytical components to be analysed	4
2.3.4 Methods of analysis	4
2.4 Preparation of Nutrition Information for nutrition labelling	5
2.5 Submission of the results	5
2.6 Statistical analysis	5
2.6.1 Homogeneity of test materials	5
2.6.2 Stability of vitamin B ₁ and moisture in INMU-17 test materials	6
2.6.3 Assignment of components values in test materials	6
2.6.4 Evaluation of laboratory performance	7
2.6.5 Presentation of results	8
2.7 Evaluation of performance on preparation of Nutrition Information for nutrition labelling	8
3. RESULTS AND DISCUSSION	
3.1 Preparation of salted broad bean test material	9
3.2 Homogeneity of the salted broad bean powder (INMU-17)	9
3.3 Stability of vitamin B ₁ in broad bean powder test material (INMU-17)	16
3.4 Assigned values of nutrients in salted broad bean test materials: BB and INMU-17	17
3.5 Laboratory performance on analyses of mandatory nutrients for nutrition labelling	19
Total Fat	19
Saturated Fat	20
Trans-fat	25
Protein	26
Dietary fibre	30
Sugars	33

CONTENTS (cont.)

	Page
Sodium	41
Calcium	45
Iron	45
Vitamin B ₁	48
Vitamin B ₂	49
Ash	54
Moisture	58
Summary of laboratory performance on analytical of mandatory nutrients	62
3.6 Consensus values in salted broad bean (BB) and broad bean powder (INMU-17)	65
3.7 Evaluation of laboratory performance on preparation of Nutrition Information	66
3.7.1 Nutrition labeling format	66
3.7.2 Serving size and serving(s) per package	66
3.7.3 Calculation	66
3.7.4 Summary: laboratory performance on preparation of nutrition labelling	71
4. CONCLUSION	72
5. REFERENCES	73
APPENDICES	74

LIST OF ABBREVIATION

<i>Abbreviation</i>	<i>Definition</i>
BB	Salted broad bean
CV	Coefficient of Variance
D_i	The difference between the values of duplicate analysis
ELSD	Evaporative light scattering detector
GC	Gas chromatography
HPLC	High performance liquid chromatography
HORRATs	Horwitz ratio
INMU-17	Institute of Nutrition, Mahidol University; test material no. 17, broad bean powder
LC-MSD	Liquid chromatography/ mass spectrometry detector
MSB	Mean square between
MSW	Mean square within
NIQR	Normalised Inter-Quartile Range
Q1	First quartile (25 th percentile)
Q3	Third quartile (75 th percentile)
RI	Reflective index
RPD	Relative percent difference
RDI	Recommended dairy intake
RSD	Relative standard deviation
RSD_r	Relative standard deviation of repeatability
$pRSD_R$	Predicted relative standard deviation from reproducibility
PT	Proficiency testing
S_i	The sum of the reported values of duplicate analysis
S_s	Between-samples standard deviation (due to sampling)
SD	Standard deviation
SDp	Horwitz predicted standard deviation

LIST OF TABLES

Table		Page
1A	Evaluation of within-laboratory variation by Cochran's maximum range test: moisture, protein and total fat	11
1B	Evaluation of within-laboratory variation by Cochran's maximum range test: dietary fibre, ash, sodium and vitamin B1	12
2A	Summary of homogeneity testing results of broad bean powder (INMU-17), obtained from one-way ANOVA	13
2B	Summary of homogeneity testing results of broad bean powder (INMU-17), obtained from ISO 13528 (2010)	14
2C	Summary of homogeneity testing results of broad bean powder (INMU-17), obtained from HORRAT approach	15
3A	Stability of vitamin B ₁ in broad bean powder (INMU-17)	16
3B	Stability of moisture in broad bean powder (INMU-17)	17
4A	Assigned values of nutrients in salted broad bean: BB and INMU-17, estimated according to ISO 13528	18
4B	New assigned values of sugars (only data from HPLC), dietary fibre and vitamin B ₁ in broad bean powder (INMU-17)	18
5A	Summary results: Total fat in salted broad bean (BB)	21
5B	Summary results: Total fat in broad bean powder (INMU-17)	22
6	Summary results: Saturated fat in broad bean powder (INMU-17)	24
7	Summary results: Trans fat in broad bean powder (INMU-17)	25
8A	Summary results: Crude protein in salted broad bean (BB)	27
8B	Summary results: Crude protein in broad bean powder (INMU-17)	28
9-1	Summary results: Dietary fibre in broad bean powder (INMU-17) (first set of data)	31
9-2	Summary results: Dietary fibre in broad bean powder (INMU-17) (corrected results)	32
10A-1	Summary results: Sugars in salted broad bean (BB) (first set of data)	35
10B-1	Summary results: Sugars in broad bean powder (INMU-17) (first set of data)	36
10A-2	Summary results: Sugars in salted broad bean (BB) (corrected results)	37
10B-2	Summary results: Sugars in broad bean powder (INMU-17) (corrected results)	38
11A	Summary results: Sodium in salted broad bean (BB)	42
11B	Summary results: Sodium in broad bean powder (INMU-17)	43
12	Summary results: Calcium in broad bean powder (INMU-17)	46
13	Summary results: Iron in broad bean powder (INMU-17)	47
14-1	Summary results: Vitamin B ₁ in broad bean powder (INMU-17) (original results)	51
14-2	Summary results: Vitamin B ₁ in broad bean powder (INMU-17) (corrected results)	52

LIST OF TABLES (cont.)

Table		Page
15	Summary results: Vitamin B ₂ in broad bean powder (INMU-17)	53
16A	Summary results: Ash in salted broad bean (BB)	55
16B	Summary results: Ash in broad bean powder (INMU-17)	56
17A	Summary results: Moisture in salted broad bean (BB)	59
17B	Summary results: Moisture in broad bean powder (INMU-17)	60
18	Consensus values of nutrients in broad bean powder (INMU-17) and salted broad bean (BB), obtained from good performance laboratories in PT-9	65
19	Evaluation of performance on declaration of nutrition format for salted broad bean, BB and INMU-17, based on Thai Notification No 305 and 182	67
20	Evaluation of performance on declaration of serving size and serving(s) per package for salted broad bean - (BB) based on Thai Notification No. 305 and for INMU-17 based on Thai Notification No. 182	67
21A	Laboratory performance on calculation and rounding of nutrients per serving and %Thai RDI in salted broad bean (BB).	68
21B	Laboratory performance on calculation and rounding of nutrients per serving and %Thai RDI in broad bean powder (INMU-17)	69
22	Summary of laboratory performance on preparation of nutrition labelling	71

LIST OF FIGURES

Figure		Page
1	Pattern of changes of vitamin B ₁ (A) and moisture (B) in sub samples of INMU-17 test materials during 6 months storage at –20°C	17
2A	z-scores of total fat in salted broad bean (BB)	23
2B	z-scores of total fat in broad bean powder (INMU-17)	23
2C	Youden plot of z-scores of total fat determination	23
3	z-scores of saturated fat in broad bean powder (INMU-17)	25
4A	z-scores of crude protein in salted broad bean (BB)	29
4B	z-scores of crude protein in broad bean powder (INMU-17)	29
4C	Youden plot of z-scores of crude protein determination	29
5	z-scores of dietary fibre in broad bean powder (INMU-17)	33
6A	z-scores of sugars in salted broad bean (BB)	40
6B	z-scores of sugars in broad bean powder (INMU-17)	40
7A	z-scores of sodium in salted broad bean (BB)	44
7B	z-scores of sodium in broad bean powder (INMU-17)	44
7C	Youden plot graphical presentation of sodium	44
8	z-scores of calcium in broad bean powder (INMU-17)	48
9	z-scores of iron in broad bean powder (INMU-17)	48
10	z-scores of vitamin B ₁ in broad bean powder (INMU-17)	53
11A	z-scores of ash in salted broad bean (BB)	57
11B	z-scores of ash in broad bean powder (INMU-17)	57
11C	Youden plot graphical presentation of ash	57
12A	z-scores of moisture in salted broad bean (BB)	61
12B	z-scores of moisture in broad bean powder (INMU-17)	61
12C	Youden plot of moisture values in salted broad bean	61
13A	Bar-chart of z-scores for proficiency testing round 9 (PT-9) in which 17 participants determined mandatory nutrients according to Thai Notification No. 305 (2007) using salted broad bean (BB) as test material	63
13B	Bar-chart of z-scores for proficiency testing round 9 (PT-9) in which 17 participants determined mandatory nutrients according to Thai Notification No. 182 (1998) using broad bean powder (INMU-17) as test material	64
14	Simplified format on nutrition labelling of salted broad bean (BB)	70
15	Full format on nutrition labelling of broad bean powder (INMU-17)	70

LIST OF APPENDICES

<i>Appendix</i>	Topic	Page
1	Names and addresses of PT-9 participating laboratories	74
2	Summary of analytical procedures used among participating laboratories	76
3	Summary results z-score of dietary fibre in breakfast cereal reference material (BRI)	87

FINAL REPORT

Laboratory performance study 9: analysis of mandatory nutrients and preparation of nutrition labelling

Kunchit Judprasong, Prapasri Puwastien, Jirapitcha Boonpor, Naruemol Pinprapai
Institute of Nutrition, Mahidol University, Salaya, Phuthamonthon, Nakorn Pathom, Thailand

ABSTRACT

This study was conducted to assess the performance of laboratories in Thailand on analysis of mandatory nutrients and preparation of Nutrition Information based on the Thai Notifications for Nutrition Labelling - No.182/1998 and 305/2007. The international standard, ISO 17043 (2009) was followed throughout the laboratory performance study. Two types of salted broad bean – as commercial packages (BB) and as homogenised powder (INMU-17) - with no consensus values of components were used as test samples. The studied nutrients included total lipid, saturated fat, trans fat, protein, dietary fibre, sugars, sodium, calcium, iron, vitamin B₁ and B₂, ash and moisture. Seventeen laboratories participated in this study. Test materials were analysed by participants' routine methods. Assigned values of nutrients, as robust mean and robust standard deviation (SD), in each sample were estimated using Algorithm A of ISO 13528. Data obtained from participants were statistically evaluated using robust z-score against assigned values obtained from different approaches. Laboratories with satisfactory, questionable and unsatisfactory results for each nutrient were identified based on robust z-score both within- and between-laboratories. Good performance laboratories ($|z\text{-score}| \leq 2$) were found in more than 80% of participating laboratories for total lipid, saturated fat, protein, sodium, iron, and moisture analyses, whereas for calcium and ash analyses, about 60 to 70% of all laboratories were found satisfactory. The main discrepancies of submitted results included dietary fibre, sugars, vitamin B₁ and B₂. Some possible causes of the discrepancies were discussed at the PT-9 Technical Meeting after the performance evaluation. Repeated analyses of the nutrients were conducted by most of the participants. At the end, consensus values of most nutrients - total lipid, saturated fat, protein, dietary fibre, sugars, sodium, calcium, iron, vitamin B₁, ash and moisture - were established from analytical results of laboratories with good performance. The broad bean INMU-17 with consensus values of nutrients becomes a reference material which can be used for checking laboratory performance and used as a reference for internal quality assurance system. For laboratory performance on preparation of nutrition labelling, the major concern is that 14 out of 17 laboratories retain specific mistakes. The common mistakes involve nutrition format, estimation of serving size and serving per package, which can be easily corrected by an extensive training. This proficiency testing programme indicates the status of overall performance of laboratories responsible for nutritional labeling process in Thailand. Improvement in the performance of the data generators can increase the reliability of the nutritional information on the label which provides direct benefit to the consumers in choosing the appropriate foods for their health.

Corresponding authors:

Prapasri Puwastien, E-mail address: nuppw@mahidol.ac.th
Kunchit Judprasong, E-mail address: nukjp@mahidol.ac.th

1. INTRODUCTION

Voluntary nutrition labelling in Thailand has been implemented since 1998 based on the Thai Notification No. 182, B.E. 2541¹: Nutrition Labelling. The Institute of Nutrition, Mahidol University (INMU) has some concern on the analytical performance of the mandatory nutrient which could affect the reliability of the nutrition information on the labels. Thus, three out of eight proficiency testing rounds on analysis of mandatory nutrients for nutrition labelling were conducted by the Institute of Nutrition, Mahidol University during 1998-2003²⁻⁴. At PT-3 round in 1998², only 4 laboratories in Thailand had facilities for analyses of the specified mandatory nutrients and participated in the laboratory performance study at regional level. The number of laboratories in Thailand who have facilities for analyses of mandatory nutrients was gradually increased to 12 in 2000³ and to 18 laboratories in 2003⁴. However, some of them may not have full facilities for analyses of all mandatory nutrients. Among these three proficiency testing, PT-4 which organised in 2000³ included evaluation of laboratory performance on preparation of Nutrition Information on the package, based on the Thai Notification No. 182, B.E. 2541¹: Nutrition Labelling. Instant noodle was used as one of the test items in the study. The problematic components of analytical performance found at the previous PT studies were total lipid⁵, saturated fat, cholesterol, dietary fibre, sugars, Na, vitamin A, B₁, B₂ and Ca²⁻⁴. During those periods, limit number of laboratories have facilities for analysis of saturated fat, cholesterol, dietary fibre and vitamins. Recently, a new mandatory nutrition labelling - Thai Notification No. 305, B.E. 2550⁶ - as simplified format, was issued for five ready-to-eat food products. According to the questionnaire survey in 2009⁷, 15 out of 17 laboratories have full facilities for analysis of nutrition labelling mandatory nutrients. Besides, 12 out of them have facilities for analysis of trans fatty acid which has not yet been one of mandatory nutrients in Thailand. In January 2010⁷, a survey on correctness of Nutrition Information on food packages (599 labels) according to the Notification No. 305 was conducted at two branches of one of the most popular supermarkets – Tesco Lotus. Nutrition Information on food label of 5 ready-to-eat food products (fried or baked potato chips, fried or baked popcorns, rice crisps or extruded snack, crackers or biscuits, and filling wafer) were examined. It was found that about 93% of the surveyed Nutrition Information has some incorrect information. They are, for example, using Nutrition Facts instead of Nutrition Information, wrong assigned and presented serving size, servings per package, and mistake in calculation of energy and energy from fat per serving as well as rounding number per serving and %Thai RDI. Therefore, the objective of this work was to conduct a laboratory performance on analysis of mandatory nutrients and on preparation of Nutrition Information.

SPECIFIC OBJECTIVE

The specific objective of this study was to assess the performance of laboratories on the analysis of mandatory nutrients according to the Thai Notification No. 182¹ and No. 305⁶ on nutrition labelling. The test materials used were salted broad bean in commercial packages and broad bean powder prepared by the PT provider. The performance on preparation of Nutrition Information on the food label was also evaluated. At the end, broad bean powder with consensus values of nutrients is expected to be worthwhile outcome of this study.

2. MATERIALS AND METHODS

2.1 Test materials and their preparations

Salted broad bean was selected as a representative commercial snack of ready-to-eat food. The same producing lot of about 25 Kg test material was ordered from the producing manufacturer. Two types of packages were requested, 1) as commercial package - 240 packages, 50 g each; 2) as one package of about 10 kg.

2.1.1 Salted broad bean packed in a package as sold in supermarket

The salted broad beans were packed in an aluminum foil package of 50 g; about 240 packages were requested. The organiser, as PT provider, assigned the participants to prepare the laboratory samples using their routine methods and to submit the prepared powder in a package of about 50 g to the PT provider. The prepared samples, namely as salted broad bean (BB), were used for analysis of mandatory nutrients according to the Thai Notification No. 305 (2007)⁶.

2.1.2 Salted broad bean, about 10 Kg, packed in one package

This sample was prepared as fine powder by the PT provider to be used as broad bean powder (INMU-17) as another test material. Ten kilograms of the salted broad bean were homogenised using Robot Coupe food processor until fine particles were obtained. Due to high content of lipid, the powder could not pass through the sieve or could not mix in a V-shape mixer. They were put in a big plastic bag and mixed thoroughly by manual and then packed under vacuum in aluminum foil bags, about 50 g each. The bags of test sample were labeled which included name of test material as broad bean powder INMU-17, date of sample preparation and sample code number. They were then randomly divided into 2 sets - set A and set B. The samples were used for analyses of mandatory nutrients according to the Thai Notification No. 182 (1998)¹. The remained samples are kept in a freezer at -20° C.

2.2 Homogeneity and stability testing of the broad bean powder (INMU-17)

2.2.1 Homogeneity testing

Ten packages of the INMU-17 samples (5 from set A and 5 from set B) were selected at random. Homogeneity of the test material was evaluated by analyses of selected representative nutrients, i.e., protein, ash and moisture (*representatives of proximate composition*), total fat (*an expected problematic nutrient*) and dietary fibre (*representatives of previous problematic nutrients*), sodium (*representative of minerals*), vitamin B₁ (*representative of vitamin and labile nutrient*). Each analysis was performed in two test portions from each package in a random order, in one setting under repeated conditions, i.e. by competent analysts, on the same day(s) using the same set of reagents and conditions. The results obtained were statistically evaluated without removal of any value.

2.2.2 Stability testing

Since vitamin B₁ is the most labile nutrient in the test material, its stability was checked throughout the storage period. Five packages of the INMU-17 test material were randomly selected (3 from Set A and 2 from set B and vice versa in each period) and analysed for vitamin B₁ during 3, 6 and 12 months storage intervals at -20°C. In order to exclude that there might be some leakage of the sample bags, analysis of moisture content was concurrently analysed. At each period, single analysis of the nutrients was performed in each sub-sample.

2.3 Laboratory performance study

Following closely the ISO/IEC 17043⁸, a laboratory performance study on analyses of nutrition labeling mandatory nutrients was conducted as follows.

2.3.1 Participants

An internet questionnaire survey was first carried out to identify laboratories in Thailand who have facilities for analysis of mandatory nutrients for nutrition labelling and would like to participate in the proficiency testing organised by the Institute of Nutrition, Mahidol University. Twenty-two laboratories responded back; 17 out of them would like to attend the PT. However, some of them informed that their laboratories have not yet had full facilities to analyse all assigned nutrients. Names and addresses of participants are presented on **Appendix 1**.

2.3.2 Distribution of samples and documents

Following the Thai Notification for nutrition labeling, twelve commercial packages of salted broad bean (BB) were randomly selected and packed in a box together with two packages of broad bean powder (INMU-17) (package A and B with random number). They were delivered to each participating laboratory by post together with a covered letter and Document 1: "Instruction to participants". The instruction contains a secret laboratory code number assigned to each participating laboratory. Other documents - Document 2: Report forms (with prescribed number of significant digits and unit of expression for each analyte), and Document 3: Questionnaire for method used - were sent electronically as attached files to each participating laboratory.

2.3.3 Assigned analytical components to be analysed

For salted broad bean (BB): participating laboratories were assigned to analyse mandatory nutrients according to the Thai Notification No. 305 (2007)⁶ which includes total fat, protein, sugars, sodium, ash and moisture. Duplicate analysis of each nutrient and report of individual results were requested to be presented in the report form where unit of expression and number of significant decimal places were indicated. Specific request for total fat analysis was also made which included acid digestion before solvent extraction.

For broad bean powder (INMU-17): participating laboratories were assigned to analyse mandatory nutrients according to the Thai Notification No. 182 (1998)¹ which includes total fat, saturated fatty acid, trans fat, protein, dietary fibre, sugars, sodium, vitamin B₁, vitamin B₂, calcium, iron, ash and moisture. Since cholesterol and vitamin A are not found in plant samples, these mandatory components were omitted. Two individual values (value A from package A and value B from package B) of each component were requested to be reported in the report form where unit of expression and number of significant decimal places were indicated. Specific request was made for analysis of total fat - acid digestion before solvent extraction – and of dietary fibre - sample must be defatted before analysis.

2.3.4 Methods of analysis

Participating laboratories were requested to follow sample preparation protocol and analytical methods which have been used routinely. They were requested to submit a summary of the methods used in the **Document 3**. The information provided by participants is very useful for data interpretation, especially when extreme values were identified.

2.4 Preparation of Nutrition Information for nutrition labelling

Each laboratory was requested to prepare a simplified Nutrition Information for nutrition labelling based on the Thai Notification No. 305 (2007)⁶ using the analytical data obtained from salted broad bean (BB), and prepare a full format Nutrition Information based on the Thai Notification No. 182 (1998)¹ using the analytical data obtained from INMU-17. Participating laboratories were requested to follow their routine methods for preparation of the Nutrition Information.

2.5 Submission of the results

All participants were requested to submit the report forms and other documents electronically as attached files within 1.5 mo. after receiving the samples.

2.6. Statistical analysis

2.6.1 Homogeneity of test materials

The data of duplicate values obtained from analysis of each assigned nutrient in INMU-17 samples from homogeneity study were evaluated using Cochran's maximum range test⁹ for within-sample variation (indication of analyst's performance). If the ratio of the maximum range (difference between duplicate data) to the sum of the ranges was less than the Cochran's critical value (0.602 for 10 sets of data, when the number of results per set (n) = 2, the results indicates good precision of the analyst who performs the test of the representative nutrient.

The high fat content in the salted broad bean test material limited the efficiency of sample grinding and sieving which could affect the sample homogeneity. Thus, for checking between sample variations (which indicate sample homogeneity), 3 types of statistical methods based on one-way ANOVA, ISO 13528¹⁰ and % relative standard deviation (%RSD_r) plus professional judgment were applied. For target SD, the Horwitz's equation was used to estimate predicted relative standard deviation (pRSD_R).

Criteria for indication of sample homogeneity

a. One-way ANOVA

One-Way ANOVA: F value (MSB/MSW) should be < critical F-value

where MSB = Mean square between
MSW = Mean square within

b. ISO 13528¹⁰

ISO 13528: $s_s \leq 0.3\hat{\sigma}$

where S_s = Between-samples standard deviation
(due to sampling)
 $\hat{\sigma}$ = Target standard deviation

c. % Relative standard deviation (%RSD)

$$\%RSD = SD \times 100/\text{mean}$$

$$RSD_r/pRSD_R = 0.3-1.3^{11, 12}$$

where: RSD_r = Relative Standard Deviation, within- laboratory from analysis of a nutrient by laboratory who check the sample homogeneity

$pRSD_R$ = Predicted Relative Standard Deviation-between laboratory estimated from Horwitz' equation ($pRSD_R = 2^{1-0.5 \log C}$)

$$RSD_r/pRSD_R = \text{HORRAT}^{12}$$

2.6.2 Stability of vitamin B₁ and moisture in INMU-17 test materials

The results of single analysis of vitamin B₁ and moisture in five random samples of the INMU-17 were evaluated by two classical and two standard statistical methods: 1) comparing the results obtained at each period to the results of mean $\pm$ SD from the homogeneity study at 0 day; 2) using slope and intercept for trend analysis; 3) following ISO 13528¹⁰, compared mean value of the analysed nutrient at each storage period to the mean value at 0 day and 4) following ISO Guide 35¹³, comparing the ratio of slope to the uncertainty of slope with the *t*-critical value.

2.6.3 Assignment of components values in test materialsa. According to ISO 13528¹⁰

Nutrient values of the test materials used in this study were assigned from the participants' analytical data following the ISO 13528. The process starts by removing the known extreme values due to common errors such as using unaccepted analytical methods, misplacement of the decimal points, wrong unit of expression, etc. Then several steps according to ISO 13528 were conducted to modify the extreme values, if any, until the modified mean and standard deviation of each nutrient were steady. Then, the assigned values of the components in the test materials as robust mean $\pm$ robust SD are presented.

b. According to ISO 13528¹⁰ and target standard deviation of Horwitz¹⁴

In some specific cases, variation of a set of analysed data obtained from various laboratories is too large. This occurs frequently for nutrients with low concentration or nutrients with complicated analytical methods, or the test material has some limitation in degree of homogeneity. The high variation can be demonstrated by the high percentage of relative standard deviation ($\%RSD_r$) obtained from the homogeneity study. Then the HORRAT value (RSD_r/RSD_R) is calculated and used to evaluate whether the RSD_r could be accepted. The variation of the nutrient in the test materials could be accepted if the HORRAT value ranged from 0.3 to 1.3. If the HORRAT is out of the range (i.e., as shown for dietary fibre – a component with complicated analytical method), the robust mean derived from the process of the ISO 13528¹⁰ for the particular component will be used as the assigned mean value but the assigned robust SD was replaced by the target SD of Horwitz based on the robust mean value.

$$\text{Horwitz's Predicted Relative Standard Deviation or } pRSD_R = 2^{1-0.5 \log C}$$

where C = fraction concentration of the robust mean

However, in some cases, using of target Horwitz's SD directly may not be possible as it may be too small or too big value, resulted in too few or too many accepted laboratories. An expanded or a strict target SD should be considered, together with a professional judgment. The SD obtained from analysis of the particular nutrient in the homogeneity study must be taken into account at this step. One such case experienced in this study was analytical results of dietary fibre.

2.6.4 Evaluation of laboratory performance

The analytical results of all components submitted by the participating laboratories were evaluated first for within- and then for between-laboratory variations as follows.

2.6.4.1 Within-laboratory variation

For each pair of the results (A and B), the difference between the values was used to evaluate within-laboratory variation by calculation of robust z-score_(within)¹⁵, based on the median and Normalised Inter-Quartile Range (NIQR).

$$z - score_{within} = \frac{(x_{di} - median)}{NIQR}$$

where x_{di} is the difference between the values of A and B from each laboratory $/\sqrt{2}$; median is the median of the difference between the value of A and B obtained from participating laboratories; NIQR (Normalised Inter-quartile Range) is (Quartile 3 - Quartile 1) x 0.7413.

2.6.4.2 Between-laboratory variation

For each pair of results, between-laboratory variation was evaluated by calculation of robust z-score_(between) against assigned values obtained from three approaches as follows.

1) For the first approach, the evaluation was conducted based on the classical assigned values as median $\pm$ NIQR using the following formula,

$$z - score_{within} = \frac{(x_{si} - median)}{NIQR}$$

where x_{si} is the sum of the reported values of A and B of a nutrient per 100 g, obtained from each laboratory, divided by $\sqrt{2}$; median is the median of the x_{si} values; NIQR: Normalised Interquartile Range is (Quartile 3 - Quartile 1) of the x_{si} values multiplied by 0.7413.

2) For the second approach, the mean of the submitted values were evaluated against the assigned values obtained from ISO 13528¹⁰ as robust mean $\pm$ robust SD using the formula as follow.

$$z - score_{between} = \frac{(x - robust\ mean)}{robust\ SD}$$

where x is the average value of reported A and B of a nutrient per 100 g, obtained from each participating laboratory; robust mean is the assigned value of the nutrient per 100 g

according to ISO 13528; robust SD is the standard deviation of the robust mean value according to ISO 13528.

3) In some specific cases where variation of a set of analysed data obtained from various laboratories is too large, for example, data sets of dietary fibre and vitamin B₁ experienced in this study. Laboratory performance on these analyses were evaluated based on the assigned robust mean of the reported values (from ISO 13528¹⁰) and replaced the robust SD by the predicted SD calculated from Horwitz's equation¹⁶.

2.6.4.3 Interpretation of laboratory performance study

Results with an absolute z-score of ≤ 2 were satisfactory and coded as "a". Values with the absolute z-score of $2 < |z\text{-score}| < 3$ were identified as questionable results and coded as "w" for within- or "b" for between-laboratory variation. Values with the absolute z-score of ≥ 3 were identified as unsatisfactory and coded as "ww" (within) or "bb" (between), respectively.

Z-score	Interpretation	Code
$ z\text{-score} \leq 2$	Satisfactory result	"a"
$2 < z\text{-score} < 3$	Questionable result	"w" (within), "b" (between)
$ z\text{-score} \geq 3$	Unsatisfactory result (presented as extreme values)	"ww" or "bb"

2.6.5 Presentation of results

Submitted analytical results of each nutrient analysis from individual laboratories and data on statistical evaluation as z-scores as well as final consensus value for each nutrient are summarised in individual tables. Graphical presentations as bar charts are shown in figures following the tables of each nutrient. Youden plots which is a graphical method to visualise the status of the inter-laboratory data are shown in particular figures but only for total fat, protein, sodium, moisture, and ash because the participating laboratories analysed these nutrients in both BB and INMU-17 which are the salted broad bean and contain close concentrations of the nutrients.

2.7 Evaluation of laboratory performance on preparation of Nutrition Information for nutrition labelling

The correctness of Nutrition Information for nutrition labelling prepared by participating laboratories was evaluated in terms of format, serving size, serving per package, calculation of nutrients per serving and as %Thai RDI, rounding number and declaration of nutrition information. All incorrect information were recorded and summarised.

3. RESULTS AND DISCUSSION

3.1 Preparation of salted broad bean test material

Two sets of salted broad bean were used as test materials in this study. The first set of 12 packages of salted broad bean (BB) in commercial packages as sold in the supermarket was sent to each participating laboratory. This is to simulate the actual process for nutrition labelling preparation at each laboratory. Detailed information on sample preparation and submission of about 50 gram the prepared powder were requested.

Common procedures for preparation of the samples among 17 laboratories included removing salted broad bean from each package and pooled them in a big container. Ten laboratories pooled the samples from 12 packages whereas 4 labs (lab nos. 2, 4, 8, 16) pooled 11 packages and 3 labs (lab nos. 11, 14, 15) pooled only 10 packages. After mixing thoroughly, most laboratories used the total sample except three laboratories (lab nos. 10, 14, 16) took representative amount for grinding. According to the Thai Notification for nutrition labelling, 12 packages of a food product must be used to prepared representative laboratory sample, using the whole or representative samples from each package. After grinding, only one (lab no. 6) out of 17 laboratories sieved the ground sample through sieve no. 10 and repeated grinding until all particles passed through the standard sieve. The others did not mention this step. Due to the fact that the salted broad bean powder contains high fat content, sieving the sample after grinding could be a problem. The prepared samples were kept in aluminum foil bags/zip-locked plastic bag/screwed-cap plastic or glass bottles and left at room temperature (25-30°C) or in a refrigerator or in a freezer until analysis. To ensure the integrity of the dry and high fat sample, an air tight container or a package which can be sealed should be used and the sample should be kept at low temperature, especially when the left-over sample is intended to be used for QC sample after PT programme.

Another set of salted broad bean was prepared as salted broad bean powder (INMU-17) by the PT provider and 2 packages of random samples (A and B) were distributed to each laboratory. The aim in using the INMU-17 sample as one of the test materials was to evaluate the analytical performance of the participating laboratories without involving the incurred variation due to different methods of sample preparation in each lab. Since salted broad bean contains high lipid content - more than 25 g/100 g - grinding about 10 Kg of the test materials by the PT provider using high speed grinder (Robot Coupe food processor) for 1-2 minutes generated some heat with white smoke. Lower the speed and lengthen the period of grinding to maintain sample integrity could produce broad bean powder with some restriction of particle size homogeneity. Since the sample tended to stick together due to the high fat content, sieving of the powder after grinding was omitted in the preparation of INMU-17 broad bean powder by the PT provider. The problem encountered affected, to some extent, the homogeneity of nutrients in the test material. This was discussed in **Section 3.2** below.

3.2 Homogeneity of the salted broad bean powder (INMU-17)

The testing for homogeneity of the INMU-17 test material was conducted by duplicate analysis of representative nutrients in ten strictly random sub-samples. The duplicate values for each nutrient are summarised in **Table 1A and 1B**. The within-sample variation which was evaluated by Cochran's maximum range test (from the difference of the duplicate values of each sample), showed the ratios of the maximum range divided by sum of the ranges of all representative nutrients of less than the Cochran's critical values at 95% confidence level. Thus, the variation of the analytical values of all representative nutrients - moisture, crude protein, total fat, dietary fibre, ash, sodium and vitamin B₁ -

could be accepted. This indicated good precision of the analysts who performed the homogeneity testing of the test materials.

Summaries of homogeneity test results and statistical treatment are shown in **Table 2A to 2C**. Between-sample variation, which used to indicate sample homogeneity, was evaluated using the average of duplicate results of each representative nutrient derived from 10 packages. Evaluation based on one-way ANOVA, the F -values (between-sample variance/within-sample variance – MSB/MSW) for most representative components in the prepared salted broad bean powder (INMU-17) were higher than the critical F -value except for crude protein and vitamin B₁ (**Table 2A**). The results implied that the samples are not sufficiently homogeneous in terms of moisture, total fat, dietary fibre, ash and sodium by one-way ANOVA approach. According to the formula for calculation of the F -value ($=MSB/MSW$), if the values of MSW is much less than the MSB due to the high precision of the analyst, the derived F -value will always be higher than the critical F -values, as the cases in this study. With this limitation, ISO 13528¹⁰ recommended that F -value from ANOVA may not be an appropriate tool for evaluation of homogeneity of a test material; it would be used for calculation of uncertainty measurement of an assigned nutrient value.

Evaluation of sample homogeneity based on ISO 13528¹⁰, the results were consistent with those obtained from one-way ANOVA. The between-samples standard deviation (S_s) for most representative components was more than 0.3 times of the target standard deviation except for crude protein and vitamin B₁ (**Table 2B**). As mentioned earlier that the salted broad bean contains high fat content (about 28 g/100 g), it gave some difficulties and reduced the efficiency of the homogenising process - unable to grind the sample to optimum degree of fine particles without generating heat although we have tried to balance the proper speed and grinding interval to maintain sample integrity. Although we can foresee the problem, the salted broad bean was intently chosen to be the test material for evaluation of the laboratory analytical performance because it is a representative of a real snack in the market. Finally, the relative standard deviation (RSD) approach - a simple but practical statistic – was applied to evaluate the variation of a nutrient analysed within a laboratory (RSD_r) compared to the predicted RSD ($pRSD_R$) (*expected RSD_R which could be obtained from laboratories if the sample is used as a test material for a PT study*). As shown in **Table 2C**, the relative standard deviation of the analytical values for most representative nutrients were ranged from 0.7% for crude protein to 3.1% for sodium which considered as low values and can be generally accepted for within-laboratory variation but a slightly high value was found for dietary fibre (7.3%). The HORRATs ($RSD_r/pRSD_R$)¹² of most components were within acceptable range (0.3-1.3) except that of dietary fibre (2.7). Based on this approach, it could be concluded that the broad bean powder (INMU-17) has sufficient homogeneity to be used as a test material for laboratory performance study. Since all criteria showed that the samples have some limitation in homogeneity for testing of dietary fibre; thus, when samples are used for analytical performance study of dietary fibre, the RSD_r obtained from homogeneity study must be taken into account in estimation of its assigned value.

Table 1A. Evaluation of within-laboratory variation by Cochran's maximum range test: moisture, protein and total fat

No.	Moisture (g/100 g)				Crude protein (g/100 g)				Total Fat (g/100 g)			
	A	B	range ² (R)	R/R-total	A	B	range ² (R)	R/R-total	A	B	range ² (R)	R/R-total
1	2.94	2.96	0.0004	0.04	22.48	22.68	0.040	0.03	28.61	28.00	0.372	0.12
2	2.74	2.79	0.0025	0.28	22.44	22.42	0.000	0.00	28.53	28.68	0.022	0.01
3	2.70	2.67	0.0009	0.10	22.57	22.76	0.036	0.02	28.02	28.26	0.058	0.02
4	2.86	2.83	0.0009	0.10	22.54	22.65	0.012	0.01	28.10	28.21	0.012	0.00
5	2.73	2.73	0.0000	0.00	22.85	22.74	0.012	0.01	26.95	28.00	1.103	0.34
6	2.89	2.91	0.0004	0.04	22.85	22.11	0.548	0.35	28.75	27.84	0.828	0.26
7	2.79	2.76	0.0009	0.10	22.80	22.68	0.014	0.01	27.77	27.56	0.044	0.01
8	2.77	2.78	0.0001	0.01	22.83	22.61	0.048	0.03	27.87	28.19	0.102	0.03
9	2.74	2.69	0.0025	0.28	22.80	21.97	0.689	0.44	27.37	27.62	0.063	0.02
10	2.74	2.76	0.0004	0.04	23.01	22.59	0.176	0.11	25.65	26.43	0.608	0.19
R Total	0.009				1.576				3.212			
N	10				10				10			
Cochran critical value ^(a)	0.602				0.602				0.602			
at 95% confidence level	pass				pass				pass			

^(a) Critical value for Cochran's maximum range test³ for 10 sets of data, number of results per set (n) = 2

Table 1B. Evaluation of within-laboratory variation by Cochran's maximum range test: dietary fibre, ash, sodium and vitamin B₁

No.	Dietary Fibre (g/100 g)				Ash (g/100 g)				Sodium (g/100 g)				Vitamin B ₁ (mg/100 g)			
	A	B	range ² (R)	R/R- total	A	B	range ² (R)	R/R- total	A	B	range ² (R)	R/R- total	A	B	range ² (R)	R/R- total
1	12.86	11.95	0.828	0.47	3.09	3.13	0.0016	0.14	458	461	12.7	0.02	0.26	0.25	0.0001	0.17
2	12.65	12.25	0.160	0.09	2.98	2.94	0.0016	0.14	435	451	230.7	0.36	0.26	0.25	0.0001	0.17
3	13.58	13.32	0.068	0.04	3.01	3.02	0.0001	0.01	476	467	76.4	0.12	0.24	0.24	0.0000	0.00
4	12.55	12.27	0.078	0.04	3.06	3.04	0.0004	0.03	469	479	96.2	0.15	0.24	0.25	0.0001	0.17
5	11.48	11.24	0.058	0.03	3.08	3.07	0.0001	0.01	491	483	65.6	0.10	0.24	0.24	0.0000	0.00
6	13.69	13.41	0.078	0.04	3.06	3.04	0.0004	0.03	448	454	43.8	0.07	0.25	0.24	0.0001	0.17
7	11.58	11.51	0.005	0.00	2.98	2.93	0.0025	0.22	451	452	2.4	0.00	0.24	0.24	0.0000	0.00
8	13.76	13.35	0.168	0.10	3.03	2.97	0.0036	0.31	465	474	89.7	0.14	0.23	0.24	0.0001	0.17
9	13.93	14.43	0.250	0.14	2.95	2.98	0.0009	0.08	450	448	1.3	0.00	0.24	0.25	0.0001	0.17
10	12.39	12.15	0.058	0.03	2.96	2.98	0.0004	0.03	450	446	13.5	0.02	0.24	0.24	0.0000	0.00
R Total			1.751				0.012				632.5				0.0006	
N			10				10				10				10	
Cochran critical value ^(a)			0.602				0.602				0.602				0.602	
at 95% confidence level			pass				pass				pass				pass	

^(a) Critical value for Cochran's maximum range test⁹ for 10 sets of data, number of results per set (n) =2

Table 2A. Summary of homogeneity testing results of broad bean powder (INMU-17), obtained from one-way ANOVA

Parameters	Mean	Standard deviation (SD)	Mean squares within (MSW)	Mean squares between (MSB)	F-value (df=9,10) Critical F-values = 3.02	P-value	Conclusion
Moisture (g/100 g)	2.79	0.08	0.0005	0.0141	31.43	0.0000	Not pass
Crude protein (g/100 g)	22.62	0.15	0.0788	0.0450	0.57	0.7936	Pass
Total fat (g/100 g)	27.82	0.73	0.1606	1.0562	6.58	0.0034	Not pass
Dietary fibre (g/100 g)	12.72	0.93	0.0875	1.7226	19.68	0.0000	Not pass
Ash (g/100 g)	3.02	0.05	0.0006	0.0059	10.13	0.0006	Not pass
Sodium (mg/100 g)	460	14	31.62	409.43	12.95	0.0002	Not pass
Vitamin B ₁ (mg/100 g)	0.24	0.01	0.0000	0.0001	2.89	0.0569	Pass

Table 2B. Summary of homogeneity testing results of broad bean powder (INMU-17), obtained from ISO 13528 (2010)⁹

Parameter	Mean	Standard deviation (SD)	Relative standard deviation (RSD or %CV)	Between-samples standard deviation (Ss)	0.3 of target SD from Horwitz (0.3 SDp)	Conclusion
						$s_s \leq 0.3\hat{\sigma}$
Moisture (g/100 g)	2.79	0.08	3.0	0.083	0.029	Not pass
Crude protein (g/100 g)	22.62	0.15	0.7	0.130	0.170	Pass
Total fat (g/100 g)	27.82	0.73	2.6	0.669	0.202	Not pass
Dietary fibre (g/100 g)	12.72	0.93	7.3	0.904	0.104	Not pass
Ash (g/100 g)	3.02	0.05	1.8	0.051	0.031	Not pass
Sodium (mg/100 g)	460	14	3.1	13.744	6.209	Not pass
Vitamin B ₁ (mg/100 g)	0.24	0.01	2.7	0.005	0.010	Pass

Table 2C. Summary of homogeneity testing results of broad bean powder (INMU-17), obtained from HORRAT approach

Parameter	Mean	Standard deviation (SD)	Relative standard deviation (RSD _r or %CV)	Target RSD from Horwitz' equation pRSD _R ^(a)	HORRAT RSD _r /pRSD _R ^(b)	Conclusion
						Acceptable HORRAT ^(b) (0.3-1.3)
Moisture (g/100 g)	2.79	0.08	3.0	3.4	0.88	Pass
Total fat (g/100 g)	27.82	0.73	2.6	2.4	1.08	Pass
Dietary fibre (g/100 g)	12.72	0.93	7.3	2.7	2.68	Not pass
Ash (g/100 g)	3.02	0.05	1.8	3.4	0.53	Pass
Sodium (mg/100 g)	460	14	3.1	4.5	0.69	Pass

^(a) Horwitz predicted relative standard deviation – between-laboratory variation.

^(b) For inter-laboratory study¹¹: Acceptable HORRAT_(R) ≤ 1 (lower limit = 0.5, upper limit = 2.0); for intra-laboratory study¹²: acceptable HORRAT_(i) = 0.3-1.3 (one half of lower limit to two thirds of the upper limit).

3.3 Stability of vitamin B₁ in broad bean powder test material (INMU-17)

Vitamin B₁ and moisture in the remaining salted broad bean powder (INMU-17, packed under vacuum) were selected as representative nutrients for stability testing during storage at -20°C. The levels of the nutrients in the INMU-17 samples, kept for 0, 3 and 6 months, are summarised in **Table 3A** and **3B**. Pattern of changes in vitamin B₁ and moisture in INMU-17 during 6 months storage is shown in **Figure 1**. Simple method for stability evaluation shows the levels of the nutrients at each period fell within mean $\pm$ 2SD of their respective values analysed on 0 day. For trend analysis, the slopes of the regression line for vitamin B₁ and moisture in INMU-17 are closed to zero, -0.0015 and 0.0041 respectively. The intercept of the regression line for vitamin B₁ and moisture are 0.239 and 2.812, respectively which are closed to their mean values at 0 day (0.241 mg/100 g and 2.80 g/100 g). These indicate the stability of the nutrients throughout the study period. However, the slope of vitamin B₁ showed a slight reduction in trend which probably due to an auto-oxidation caused by the high fat content in the INMU-17.

According to the ISO 13528¹⁰ approach for stability testing, the difference between the mean levels of vitamin B₁ and moisture at each storage compared to the mean values at 0 day should be less than 0.3 times of the target SD ($\hat{\sigma}$, calculate based on Horwitz's equation¹²). The target SD of the mean values at 0 day of vitamin B₁ (0.241 mg/100 g) and moisture (2.80 g/100 g) are 0.034 mg/100 g and 0.096 g/100 g and the derived $0.3\hat{\sigma}$ are 0.010 mg and 0.029 g/100 g, respectively. The mean levels of vitamin B₁ and moisture in INMU-17 after 3 months storage at -20°C were 0.230 and 2.86 g/100 g and after 6 months storage were 0.232 and 2.82 g/100 g, respectively. Although the variation of the mean moisture content at 3 months storage was more than the ISO 13528 stability criteria but later at 6 months the change returned to the acceptable level. This approach shows sufficient stability of vitamin B₁ and moisture in the INMU-17.

The ISO 13528 approach considers only the change of the mean value of a measurand; it does not include the variations derived from sample inhomogeneity and from analysis. Therefore, the ISO guide 35 approach¹³ - slope/uncertainty of slope - was applied. The ratio for vitamin B₁ and moisture was 1.428 and 0.323, respectively. The values were less than *t* critical value of 2.160 (at 95% confident interval, *n*=15, *df* =13). This indicates no statistically significant reduction trends of vitamin B₁ and moisture during 6 months storage compared to at 0 day.

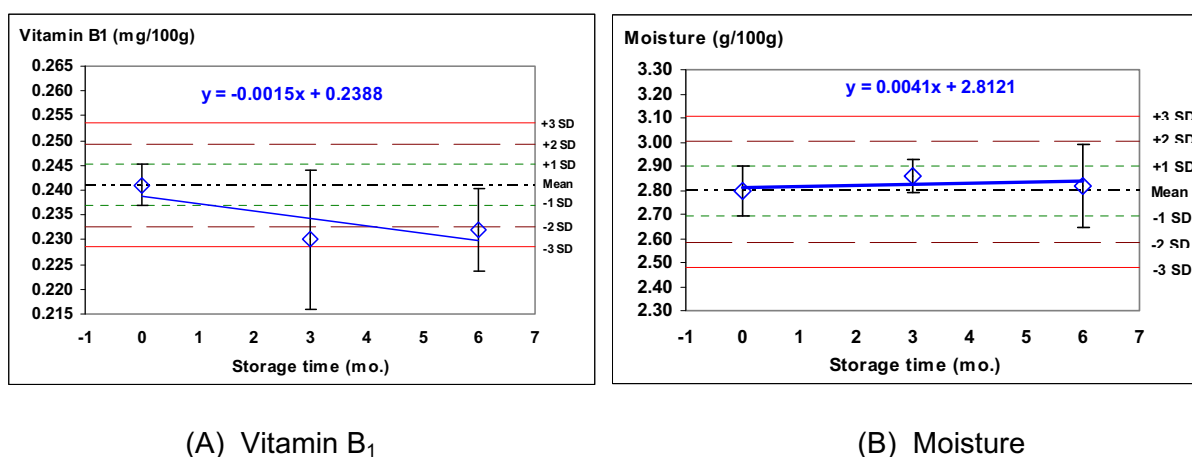
Although the previous PT studies showed sufficient stability of moisture and vitamin B₁ in several matrices of test materials, kept under vacuum at -20°C for more than one year, the stability of these nutrients in the INMU-17 which contains high fat will be followed up every 6 months during storage at -20°C.

Table 3A. Stability of vitamin B₁ in broad bean powder (INMU-17)

Sample No.	Vitamin B ₁ content (mg/100 g) during 6 months storage at -20°C		
	0 day	3 months	6 months
1	0.25	0.23	0.24
2	0.24	0.23	0.24
3	0.24	0.21	0.23
4	0.25	0.23	0.22
5	0.24	0.25	0.23
<i>Mean</i>	<i>0.241</i>	<i>0.230</i>	<i>0.232</i>
<i>SD</i>	<i>0.004</i>	<i>0.014</i>	<i>0.008</i>
<i>%CV</i>	<i>1.7</i>	<i>6.2</i>	<i>3.6</i>

Table 3B. Stability of moisture in broad bean powder (INMU-17)

Sample No.	Moisture content (g/100 g) during 6 months storage at –20°C		
	0 day	3 months	6 months
1	2.95	2.92	2.86
2	2.77	2.89	2.54
3	2.69	2.92	2.97
4	2.85	2.79	2.79
5	2.73	2.77	2.95
Mean	2.80	2.86	2.82
SD	0.10	0.07	0.17
%CV	3.7	2.5	6.1

**Figure 1.** Pattern of changes of vitamin B₁ (A) and moisture (B) in sub-samples of INMU-17 test materials during 6 months storage at –20°C

3.4 Assigned values of nutrients in salted broad bean test materials: BB and INMU-17

According to the Thai Notification No. 305 (BE 2552)⁶, the assigned values of salted broad bean (BB), include total fat, protein total sugars, and sodium, whereas for broad bean powder (INMU-17), followed the Thai Notification No. 182 (BE 2541)¹, the assigned values include total fat, saturate fat, protein, dietary fibre, sugars, vitamin B₁, calcium, and iron. Both presented together with the values of moisture and ash. The assigned values of nutrients in the salted broad bean: BB and INMU-17 were estimated from the results submitted by participants, based on the ISO 13528 (2005)¹⁰. The values, as robust mean (x^*) and robust standard deviation (S^*), were summarised in **Table 4A**. Several measurands, i.e., sugars, dietary fibre, and vitamin B₁, showed robust mean and SD with high %CV.

The PT providers called for a post PT-9 Technical Meeting and discussed about the possible causes of having variable results. Repeat analyses of the problematic components were carried out. The new assigned values of sugars (by HPLC method only) and vitamin B₁ were estimated following ISO 13528¹⁰. Assigned value of dietary fibre was estimated as robust mean $\pm$ Horwitz predicted standard deviation (SDp)¹², as described in **Section 2.6.3 b**. The new assigned values of these nutrients were presented in **Table 4B**. The estimated assigned values were used to evaluate analytical performance of all laboratories by calculation of z-score.

Table 4A. Assigned values of nutrients in salted broad bean: BB and INMU-17, estimated according to ISO 13528.

Samples and measurands	Unit per 100 g	Robust mean	Robust SD	%RSD
<i>Salted broad bean: BB</i>				
Fat	g	27.57	1.06	3.8
Protein (N x 6.25)	g	22.28	0.32	1.4
<i>Sugars (n=17) – all methods</i>	<i>g</i>	<i>1.91</i>	<i>1.09</i>	57.3*
- by HPLC method (n=8)	<i>g</i>	<i>0.97</i>	<i>0.28</i>	28.9*
- by other methods (n=9)	<i>g</i>	<i>2.66</i>	<i>0.36</i>	13.5*
Sodium	mg	388.8	50.8	13.0
Moisture	g	3.90	0.24	6.2
Ash	g	2.94	0.13	4.4
<i>Broad bean powder: INMU 17</i>				
Fat	g	27.95	0.76	2.7
Saturated Fat	g	12.14	0.99	8.1
Protein (N x 6.25)	g	22.62	0.33	1.5
<i>Dietary fibre</i>	<i>g</i>	<i>9.76</i>	<i>2.14</i>	<i>21.9*</i>
<i>Sugars (n=17) – all methods</i>	<i>g</i>	<i>2.13</i>	<i>1.29</i>	<i>60.5*</i>
- by HPLC method (n=8)	<i>g</i>	<i>1.02</i>	<i>0.28</i>	27.2*
- by other methods (n=9)	<i>g</i>	<i>3.05</i>	<i>0.42</i>	<i>13.7*</i>
Sodium	mg	461.8	33.6	7.3
Calcium	mg	39.3	4.9	12.6
Iron	mg	2.96	0.37	12.7
<i>Vitamin B₁</i>	<i>mg</i>	<i>0.23</i>	<i>0.08</i>	34.2*
Moisture	g	3.38	0.38	11.4
Ash	g	3.05	0.08	2.5

* Too high %RSD, not used for evaluation of analytical performance

Table 4B. New assigned values of sugars (only data from HPLC), dietary fibre and vitamin B₁ in broad bean powder (INMU-17)

Sample and measurand	Unit per 100 g	Robust mean	Robust SD	%RSD
<i>Broad bean powder: INMU 17</i>				
Sugars, by HPLC method ^(a)	g	1.03	0.14	13.7
Vitamin B ₁ ^(a)	mg	0.22	0.04	18.4
Dietary fibre ^(b)	g	10.58	0.89 (3SDp)	8.4

^(a) Estimated according to ISO 13528 as robust mean $\pm$ robust SD^(b) Estimated according to ISO 13528 as robust mean $\pm$ 3SDp (Horwitz's predicted SD)

3.5 Laboratory performance on analyses of mandatory nutrients for nutrition

Labelling

PT-9 was organised to check the analytical performance of mandatory nutrients analysis based on the two Thai Notifications on nutrition labeling, No. 182¹ and 305⁶. The participants were laboratories in Thailand only. Seventeen laboratories, five governmental and 12 non-governmental participated in this programme. Few laboratories did not have facilities for analyses of some nutrients, i.e., saturated fat (lab nos. 7 and 8), trans fat (lab nos. 7, 8, 10, 14, 15), vitamin B₁ and B₂ (lab nos. 7 and 14), calcium and iron (lab no. 7). All laboratories submitted the requested information on methods of analysis.

Each laboratory reported 2 values of duplicate results for salted broad bean (BB) and 2 independent results, each from package A and B, for broad bean powder (INMU-17). Laboratory performance – within- and between-laboratory variation – was evaluated by estimation of z-score. For each nutrient, individual data submitted by participants were first evaluated for within-laboratory variation. Then mean values of each nutrient were evaluated against the assigned values, mostly used the assigned values from ISO 13528¹⁰; few used the assigned values of robust mean and Horwitz's predicted SD¹². Laboratories with satisfactory, questionable and unsatisfactory results were identified based on the z-scores of the within- and between-laboratory variations. General observations and comments on the results for each nutrient are presented as follow. A summary of individual results, including statistical parameters, i.e. assigned values and z-score are presented in **Table 5** to **Table 17**, Graphical presentation as bar charts are shown in **Figure 2** to **Figure 12** and as Youden plots are shown only for total fat, protein, sodium, sugars, moisture, and ash in **Figure 2C, 4C, 7C, 11C and 12C**, respectively; these nutrients were analysed in both BB and INMU-17.

Total Fat

A summary of individual results together with statistical data is shown in **Table 5A** and **5B** and **Figure 2A** and **2B**. In the previous studies^{3-5, 17}, total fat has been found to be one of the problematic nutrients due to some laboratories did not included acid digestion prior to solvent extraction for the samples of plant origin. In this study, including of acid digestion prior to solvent extraction was recommended in the instruction to the participants. Sixteen out of 17 laboratories followed the instruction whereas one (lab no. 3) applied acid and alkali digestion prior to solvent extraction (**Appendix 2A**) with hexane for salted broad bean (BB). For broad bean powder (INMU-17) in which saturated fat was requested, lab no. 3 digested and extracted total fat by hexane, then analysed fatty acids by GC and reported total fat by summation of fatty acids from GC analysis.

For salted broad bean-BB (**Table 5A**), 14 laboratories (82%) showed satisfactory results for within- and between-laboratory z-scores (indicated as "a"). Two out of them (lab nos. 7 and 15), used similar methods as the others, reported extreme highest and lowest values, respectively. Lab no. 13 submitted A and B values with highest difference compared to other laboratories, and was considered as questionable ($2 < |z\text{-score}| < 3$) for within-laboratory variation. The relative percent difference (%RPD) from the reported mean values of A and B was 2.2%.

As shown in **Table 5B**, 14 out of 17 laboratories achieved satisfactory results (82%) for broad bean powder (INMU-17). Lab no. 3 reported unsatisfactory low results of total fat; the data obtained by a summation of fatty acids derived from GC. Since lab no. 7 submitted the highest values of fat content in both test materials, this could be indicated that lab no. 7 has a systematic error on fat analysis in broad bean. For within-laboratory variation, lab no. 3 reported unsatisfactory results whereas lab no. 13 reported

questionable results. However, for these cases, the %RPD from the reported mean values of A and B were 3.8 and 2.1%, respectively.

From the Youden plot graphical presentation (**Figure 2C**), it shows that lab nos. 3, 7 and 15 have systematic errors in total fat determination.

The consensus values, as mean $\pm$ SD, of total fat content in salted broad bean (BB) and broad bean powder (INMU-17) derived from good performance laboratories (for both within- and between-laboratory variations, indicated as “a”) are 27.44 ± 0.90 g/100 g (N=14) and 27.94 ± 0.65 g/100 g (N=14), with %CV=3.3 and 2.3, respectively (**Table 18**).

In conclusion, although few outliers were identified, the overall performance of total fat determination in this group of participants can be considered as satisfactory. The consensus values obtained were with low percentage of coefficient variation.

Saturated Fat

Saturated fat was assigned to be analysed in broad bean powder - INMU-17, not in salted broad bean - BB. Fifteen out of 17 laboratories submitted results on saturated fat. A summary of the results is shown in **Table 6** and **Figure 3**. Most laboratories (13 laboratories) used crude fat for saponification and methylation prior to gas chromatography analysis whereas two laboratories (lab nos. 9 and 14) extracted fat with cold extraction method (**Appendix 2B**).

Twelve laboratories showed satisfactory results (80.0%) as indicated by within- and between-laboratory z-scores (indicated as “a”). Lab no. 2 reported questionable high values ($z\text{-score}_{\text{between}} = 2.2$ for between-laboratory performance) with high variation ($z\text{-score}_{\text{within}} = 3.6$ for within-laboratory performance) compared to other laboratories whereas lab nos. 3 and 17 submitted values identified as questionable for within-laboratory variation.

The consensus values, as mean $\pm$ SD, of saturated fat in broad bean powder (INMU-17), derived from good performance laboratories (for both within- and between-laboratory variations, indicated as “a”), is 12.01 ± 0.80 g/100 g (N=12) with %CV=6.7 (**Table 18B**).

In conclusion, although few laboratories were identified as questionable performance, none was identified as unsatisfactory (*bb*) among this group of participants. The overall performance on saturated fat determination markedly improved compared to the previous studies²⁻⁴.

LABORATORY PERFORMANCE STUDY – Round 9**Table 5A. Total fat in salted broad bean: BB**Assigned value estimated according to ISO 13528 as robust mean $\pm$ robust SD = 27.57 $\pm$ 1.06 g/100 g (%CV=3.8, N=17)

Lab code No.	Result		Di (B-A)/√2	Si (A+B)/√2	z-score ⁽¹⁾		z-score Between ⁽²⁾	Conclusion code based on (2)
	A	B			Within	Between ⁽¹⁾		
1	27.59	27.71	0.08	39.10	0.43	0.00	0.07	a
2	26.16	26.59	0.30	37.30	1.53	-1.18	-1.13	a
3	25.84	25.72	-0.08	36.46	-0.43	-1.74	-1.69	a
4	28.00	28.00	0.00	39.60	0.00	0.33	0.41	a
5	27.50	27.72	0.16	39.05	0.78	-0.03	0.04	a
6	26.81	26.52	-0.21	37.71	-1.03	-0.91	-0.85	a
7	31.63	31.19	-0.31	44.42	-1.56	3.50	3.62	bb
8	27.64	27.65	0.01	39.10	0.04	0.00	0.07	a
9	27.21	27.50	0.21	38.69	1.03	-0.27	-0.20	a
10	28.27	28.22	-0.04	39.94	-0.18	0.56	0.64	a
11	26.17	26.38	0.15	37.16	0.75	-1.27	-1.22	a
12	28.26	27.97	-0.21	39.76	-1.03	0.44	0.51	a
13	28.64	29.29	0.46	40.96	2.31	1.23	1.32	w
14	27.72	27.74	0.01	39.22	0.07	0.08	0.15	a
15	22.77	22.57	-0.14	32.06	-0.71	-4.63	-4.63	bb
16	29.29	29.12	-0.12	41.30	-0.60	1.45	1.54	a
17	27.53	27.38	-0.11	38.83	-0.53	-0.18	-0.11	a
No of results	17	17	17	17	"a" = satisfactory result; z-score ≤ 2			
Median	27.590	27.710	0.00	39.10	"w" or "b" = questionable result; 2 < z-score < 3			
Q1	26.81	26.59	-0.12	37.71	"ww" or "bb" = unsatisfactory result; z-score ≥ 3			
Q3	28.26	28.00	0.15	39.76	(w = within lab, b = between lab)			
IQR (Q3-Q1)	1.45	1.41	0.27	2.05	Final consensus value for total fat in BB			
Normalised IQR	1.07	1.05	0.20	1.52	calculated from laboratories with accepted values			
Robust CV (%)	3.90	3.77			=27.44 ± 0.90 g/100g (mean±SD), with N=14, %CV=3.3			

Mean for consensus	Mean (a+b/2)	27.65	27.65
		26.38	26.38
		25.78	25.78
		28.00	28.00
		27.61	27.61
		26.67	26.67
		31.41	
		27.65	27.65
		27.36	27.36
		28.25	28.25
		26.28	26.28
		28.12	28.12
		28.97	
		27.73	27.73
		22.67	
		29.21	29.21
		27.46	27.46
No of results	17	14	
Mean	27.48	27.44	
SD	1.79	0.90	
%CV	6.52	3.29	

No of results	17	14
Mean	27.48	27.44
SD	1.79	0.90
%CV	6.52	3.29

LABORATORY PERFORMANCE STUDY – Round 9**Table 5B. Total fat in broad bean powder: INMU-17**Assigned value estimated according to ISO 13528 as robust mean $\pm$ robust SD = 27.95 $\pm$ 0.76 g/100 g (%CV=2.7, N=17)

Lab code		Result		Di	Si	z-score ⁽¹⁾		z-score	Conclusion
No.		A	B	(B-A)/√2	(A+B)/√2	Within	Between ⁽¹⁾	Between ⁽²⁾	based on (2)
1		28.44	28.46	0.01	40.23	0.08	0.85	0.67	a
2		27.49	27.16	-0.23	38.64	-1.31	-0.80	-0.82	a
3		25.05	26.01	0.68	36.10	3.81	-3.43	-3.20	wwbb
4		27.50	27.50	0.00	38.89	0.00	-0.54	-0.59	a
5		28.01	27.82	-0.13	39.48	-0.75	0.07	-0.04	a
6		26.78	26.73	-0.04	37.84	-0.20	-1.63	-1.58	a
7		29.93	29.90	-0.02	42.31	-0.12	3.00	2.61	b
8		28.35	28.46	0.08	40.17	0.44	0.78	0.61	a
9		28.02	28.17	0.11	39.73	0.60	0.33	0.20	a
10		27.78	27.96	0.13	39.41	0.71	0.00	-0.10	a
11		27.80	27.88	0.06	39.37	0.32	-0.04	-0.14	a
12		27.48	27.98	0.35	39.22	1.98	-0.21	-0.29	a
13		28.12	28.72	0.42	40.19	2.38	0.81	0.63	w
14		27.85	27.57	-0.20	39.19	-1.11	-0.23	-0.31	a
15		27.52	27.47	-0.04	38.88	-0.20	-0.55	-0.60	a
16		29.60	29.32	-0.20	41.66	-1.11	2.33	2.00	a
17		28.72	28.47	-0.18	40.44	-0.99	1.06	0.86	a
No of results				17	17	"a" = satisfactory result; z-score ≤ 2			
Median				27.850	27.960	0.00	39.41	"w" or "b" = questionable result; 2 < z-score < 3	
Q1				27.50	27.50	-0.13	38.89	"ww" or "bb" = unsatisfactory result; z-score ≥ 3	
Q3				28.35	28.46	0.11	40.19	(w = within lab, b = between lab)	
IQR (Q3-Q1)				0.85	0.96	0.24	1.30	Final consensus value for total fat in INMU-17	
Normalised IQR				0.63	0.71	0.18	0.96	calculated from laboratories with accepted values	
Robust CV (%)				2.26	2.55	=27.94 ± 0.65 g/100g (mean±SD), with N=14, %CV=2.3			

No of results	Mean	28.45	28.45
	Mean	27.33	27.33
	SD	25.53	
	%CV	27.50	27.50
Mean for consensus	Mean	27.92	27.92
	Mean	26.76	26.76
	SD	29.92	
	%CV	28.41	28.41
Mean for consensus	Mean	28.10	28.10
	Mean	27.87	27.87
	SD	27.84	27.84
	%CV	27.73	27.73
Mean for consensus	Mean	28.42	
	Mean	27.71	27.71
	SD	27.50	27.50
	%CV	29.46	29.46
Mean for consensus	Mean	28.60	28.60
	Mean	17	14
	SD	27.94	27.94
	%CV	0.98	0.65
Mean for consensus	Mean	3.52	2.33
	Mean		
	SD		
	%CV		

No of results	17	14
Mean	27.94	27.94
SD	0.98	0.65
%CV	3.52	2.33

Mean	(a+b/2)	28.45	28.45
		27.33	27.33
		25.53	
		27.50	27.50
		27.92	27.92
		26.76	26.76
		29.92	
		28.41	28.41
		28.10	28.10
		27.87	27.87
		27.84	27.84
		27.73	27.73
		28.42	
		27.71	27.71
		27.50	27.50
		29.46	29.46
		28.60	28.60

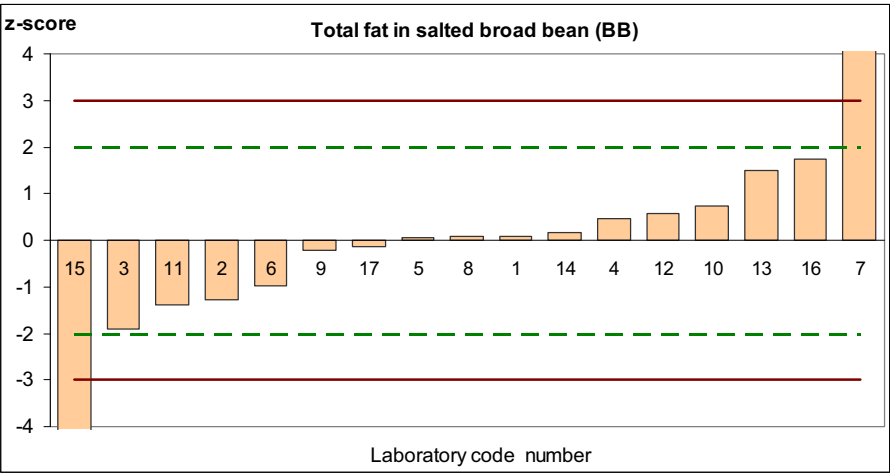


Figure 2A. z-scores of total fat in salted broad bean (BB)

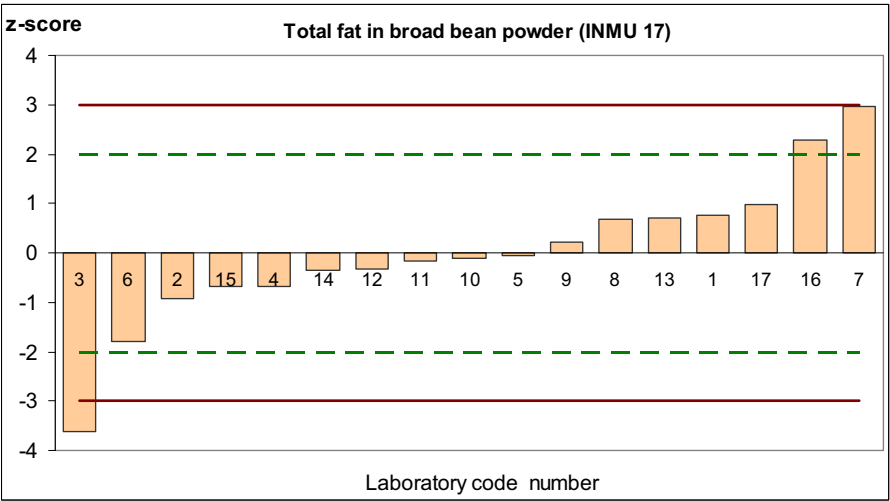


Figure 2B. z-scores of total fat in broad bean powder (INMU-17)

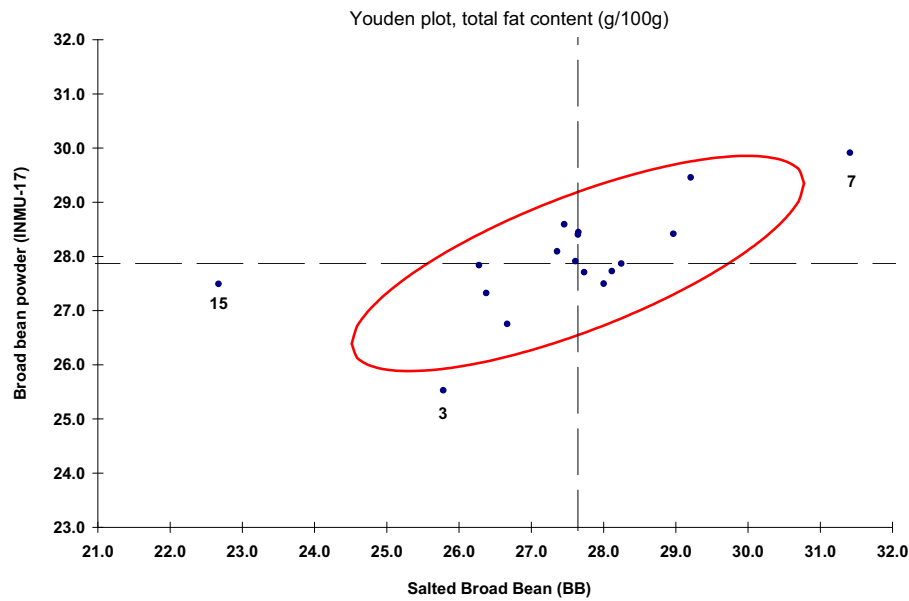


Figure 2C. Youden plot of z-scores (from Table 5A and 5B) of total fat determination

LABORATORY PERFORMANCE STUDY – Round 9

Table 6. Saturated fat in broad bean powder: INMU-17

Assigned value estimated according to ISO 13528 as robust mean $\pm$ robust SD = 12.14 ± 0.99 g/100 g (%CV=8.1, N=15)

Lab code No.	Result		Di	Si	z-score ⁽¹⁾		z-score Between ⁽²⁾	Conclusion code based on (2)
	A	B			Within	Between ⁽¹⁾		
1	11.24	11.43	(A-B)/ $\sqrt{2}$ -0.13	(A+B)/ $\sqrt{2}$ 16.03	-1.10	-1.02	-0.82	a
2	14.59	14.02	0.40	20.23	3.56	1.96	2.19	wwb
3	10.80	11.18	-0.27	15.54	-2.27	-1.36	-1.17	w
4	12.40	12.30	0.07	17.47	0.67	0.00	0.21	a
5	12.50	12.28	0.16	17.52	1.41	0.04	0.25	a
6C	11.44	11.41	0.02	16.16	0.25	-0.93	-0.73	a
9	12.56	12.81	-0.18	17.94	-1.47	0.34	0.55	a
10	12.79	12.81	-0.01	18.10	-0.06	0.45	0.66	a
11	11.57	11.59	-0.01	16.38	-0.06	-0.77	-0.57	a
12	11.73	11.76	-0.02	16.61	-0.12	-0.61	-0.41	a
13	12.75	13.04	-0.21	18.24	-1.72	0.55	0.76	a
14	13.01	12.89	0.08	18.31	0.80	0.60	0.82	a
15	10.31	10.32	-0.01	14.59	0.00	-2.04	-1.85	a
16	11.61	11.59	0.01	16.40	0.18	-0.75	-0.55	a
17	13.36	12.89	0.33	18.56	2.94	0.78	0.99	w
No of results	15	15	15	15	"a" = satisfactory result; z-score ≤ 2			
Median	12.400	12.280	-0.01	17.47	"w" or "b" = questionable result; $2 < \text{z-score} < 3$			
Q1	11.51	11.51	-0.08	16.27	"ww" or "bb" = unsatisfactory result; z-score ≥ 3			
Q3	12.77	12.85	0.08	18.17	(w = within lab, b = between lab)			
IQR (Q3-Q1)	1.27	1.34	0.16	1.90	Final consensus value for sat. fat in INMU-17			
Normalised IQR	0.94	0.99	0.12	1.41	calculated from laboratories with accepted values			
Robust CV (%)	7.56	8.09			= 12.01 ± 0.80 g/100 g (mean $\pm$ SD), with N =12, %CV=6.7			

⁽¹⁾ based on median $\pm$ NIQR;⁽²⁾ based on assigned value, estimated according to ISO 13528

No of results	15	12
Mean	12.17	12.01
SD	1.01	0.80
%CV	8.30	6.69

Mean (a+b/2)	11.34	11.34
	14.31	
	10.99	
	12.35	12.35
	12.39	12.39
	11.43	11.43
	12.69	12.69
	12.80	12.80
	11.58	11.58
	11.75	11.75
	12.90	12.90
	12.95	12.95
	10.32	10.32
	11.60	11.60
	13.13	

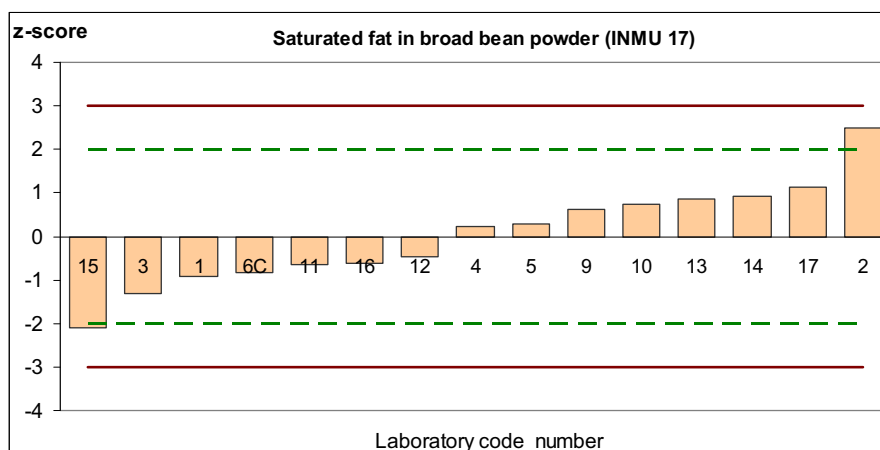


Figure 3. z-scores of saturated fat in broad bean powder (INMU-17)

Trans-fat

Trans fat analysis is one of requested nutrients to be analysed in the broad bean powder - INMU-17. The individual results of trans-fat from each laboratory are shown in [Table 7](#). Three laboratories could not detect any, only trace amounts of trans-fat in the test material was detected in 9 laboratories, ranged from 0.01 to 0.09 g/100 g, the data are presented below without statistical evaluation.

Table 7. Trans fat (g/100 g) in broad bean powder: INMU-17

Lab code No.	Result	
	A	B
1	0.00	0.00
2	0.06	0.06
3	0.02	0.02
4	0.02	0.02
5	0.01	0.01
6	0.08	0.08
9	0.04	0.04
11	0.00	0.00
12	0.00	0.00
13	0.02	0.02
16	0.09	0.09
17	0.04	0.03
No of results	12	12

Protein

Protein content in dry broad bean is about 22 g/100 g¹⁸. All 17 laboratories submitted the protein data. The analytical methods used based on traditional Kjeldahl method with a mixture of K₂SO₄ and CuSO₄ or K₂SO₄ and Se, as catalysts (**Appendix 2C**). Types of catalysts were previously found to have no significant effect on the reported protein content.^{3-5, 17, 19, 20} Based on the N-protein conversion factor proposed by Jones in 1941²¹, the factor of 6.25 was indicated by the PT provider as the factor to convert total nitrogen in broad bean to crude protein.

A summary of the individual results of protein in broad bean test materials (BB and INMU-17) and statistical data are presented in **Table 8A** and **8B**. Graphical presentation of z-scores, estimated based on robust mean and robust SD (ISO 13528) are shown in **Figure 4A** and **4B** and the Youden plot comparing z-scores obtained from BB and INMU-17 is presented in **Figure 4C**.

According to the z-scores for within- and between-laboratory variations, using salted broad bean as test materials, about 82-88% of laboratories conducted good performance in protein analysis. This compared well with the performance of laboratories participated in PT-8¹⁹ which organised at international level.

For within-laboratory performance, two out of 17 laboratories (lab nos.12 and 17) submitted protein values for BB test material with extremely difference between A and B when compared to those submitted by other laboratories. Based on the z-scores_{within}, they were identified as unsatisfactory performance on within-laboratory variation. Difference in degree of sample homogeneity prepared at each laboratory could be one of the factors involved in the discrepancy of the duplicate results. For INMU-17 test material, which was prepared by the PT provider, a less degree of difference between A and B values was found in submitted results by lab nos. 6 and 8.

For between-laboratory performance, lab no. 5, 15 and 17 submitted slightly lower results of protein than the others in BB sample. However the z-scores, evaluated based on the robust mean and robust SD obtained according to ISO 13528, indicated only lab no. 5 as questionable performance for protein analysis; based on the classical evaluation using assigned value of protein from median $\pm$ NIQR, z-score of this lab was just about 3.0. For INMU-17 test material, no unsatisfactory or questionable value of submitted protein was found.

Youden plot of crude protein is shown in **Figure 4C**. A plotted point derived from the protein values of BB and INMU-17 submitted by Lab No. 5 was the only one outside the 95% of the total values submitted by other participants. This can interpret that, compared to other laboratories; lab no. 5 has some error in protein determination.

The consensus value, as mean $\pm$ SD, of protein content in the salted broad bean BB and INMU-17 test materials derived from participating laboratories with accepted values for both within- and between- laboratory variations (indicated as "a") are 22.32 ± 0.30 g/100 g (N=14) and 22.60 ± 0.30 g/100 g (N=15), with %CV=1.1 and 1.3, respectively (**Table 18**).

In conclusion, although few questionable results were identified among participants in this group, the majority of the participants (82%) have good performance on protein determination.

LABORATORY PERFORMANCE STUDY – Round 9**Table 8A. Crude protein** in salted broad bean: **BB**Assigned value estimated according to ISO 13528 as robust mean $\pm$ robust SD = 22.28 $\pm$ 0.32 g/100 g (%CV=1.4, N=17)

Lab code		Result		D_i	S_i	z-score ⁽¹⁾		z-score	Conclusion code
No.		A	B	$(A-B)/\sqrt{2}$	$(A+B)/\sqrt{2}$	Within	Between ⁽¹⁾	Between ⁽²⁾	based on (2)
1		22.01	22.15	-0.10	31.23	-0.87	-1.02	-0.62	a
2		21.90	21.87	0.02	30.95	0.48	-1.69	-1.23	a
3		22.38	22.57	-0.13	31.78	-1.27	0.32	0.60	a
4		22.60	22.70	-0.07	32.03	-0.56	0.92	1.14	a
5		21.47	21.50	-0.02	30.38	0.00	-3.06	-2.46	b
6		22.36	22.40	-0.03	31.65	-0.08	0.00	0.31	a
7		22.59	22.61	-0.01	31.96	0.08	0.75	0.99	a
8		22.52	22.32	0.14	31.71	1.83	0.14	0.43	a
9		22.36	22.61	-0.18	31.80	-1.75	0.36	0.63	a
10		22.33	22.52	-0.13	31.71	-1.27	0.15	0.44	a
11		22.68	22.69	-0.01	32.08	0.16	1.04	1.25	a
12		22.64	22.08	0.40	31.62	4.68	-0.07	0.24	ww
13		22.10	22.20	-0.07	31.32	-0.56	-0.79	-0.41	a
14		22.25	22.05	0.14	31.32	1.83	-0.79	-0.41	a
15		21.67	21.67	0.00	30.65	0.24	-2.42	-1.89	a
16		22.47	22.39	0.06	31.72	0.87	0.17	0.46	a
17		21.43	22.12	-0.49	30.79	-5.24	-2.07	-1.57	ww
No of results		17	17	17	17	"a" = satisfactory result; z-score ≤ 2			
Median		22.360	22.320	-0.02	31.65	"w" or "b" = questionable result; 2 < z-score < 3			
Q1		22.01	22.08	-0.10	31.23	"ww" or "bb" = unsatisfactory result; z-score ≥ 3			
Q3		22.52	22.57	0.02	31.78	(w = within lab, b = between lab)			
IQR (Q3-Q1)		0.51	0.49	0.12	0.56	Final consensus value for protein in BB			
Normalised IQR		0.38	0.36	0.09	0.41	calculated from laboratories with accepted values			
Robust CV (%)		1.69	1.63			=22.32 ± 0.30 g/100 g (mean±SD), with N=14, %CV=1.3			

Mean	22.08	Mean for consensus	22.08
	21.89		21.89
	22.48		22.48
	22.65		22.65
	21.49		
	22.38		22.38
	22.60		22.60
	22.42		22.42
	22.49		22.49
	22.43		22.43
	22.69		22.69
	22.36		
	22.15		22.15
	22.15		22.15
	21.67		21.67
	22.43		22.43
	21.78		
No of results	17		14
Mean	22.24		22.32
SD	0.36		0.30
%CV	1.60		1.32

LABORATORY PERFORMANCE STUDY – Round 9**Table 8B. Crude protein** in broad bean powder: INMU-17Assigned value estimated according to ISO 13528 as robust mean $\pm$ robust SD = 22.62 $\pm$ 0.33 g/100 g (%CV=1.5, N=17)

Lab code		Result		D_i	S_i	z-score ⁽¹⁾		z-score	Conclusion code
No.		A	B	$(B-A)/\sqrt{2}$	$(A+B)/\sqrt{2}$	Within	Between ⁽¹⁾	Between ⁽²⁾	based on (2)
1		22.11	22.24	0.09	31.36	1.20	-1.29	-1.35	a
2		22.33	22.29	-0.03	31.55	-0.07	-0.90	-0.94	a
3		22.50	22.47	-0.02	31.80	0.00	-0.40	-0.41	a
4		22.90	22.90	0.00	32.39	0.22	0.79	0.84	a
5		22.30	22.42	0.08	31.62	1.12	-0.76	-0.79	a
6		22.42	22.84	0.30	32.00	3.37	0.01	0.03	ww
7		22.67	22.47	-0.14	31.92	-1.27	-0.16	-0.15	a
8		22.76	23.17	0.29	32.48	3.30	0.98	1.04	ww
9		22.80	22.65	-0.11	32.14	-0.90	0.29	0.31	a
10		23.13	22.91	-0.16	32.56	-1.42	1.13	1.21	a
11		22.79	22.87	0.06	32.29	0.82	0.59	0.63	a
12		22.60	22.45	-0.11	31.86	-0.90	-0.29	-0.29	a
13		22.27	22.19	-0.06	31.44	-0.37	-1.13	-1.18	a
14		23.16	23.06	-0.07	32.68	-0.52	1.39	1.48	a
15		22.26	22.28	0.01	31.49	0.37	-1.02	-1.06	a
16		22.85	22.81	-0.03	32.29	-0.07	0.59	0.63	a
17		22.60	22.65	0.04	32.00	0.60	0.00	0.01	a
No of results		17	17	17	17	"a" = satisfactory result; z-score ≤ 2			
Median		22.600	22.650	-0.02	32.00	"w" or "b" = questionable result; $2 < \text{z-score} < 3$			
Q1		22.33	22.42	-0.07	31.62	"ww" or "bb" = unsatisfactory result; z-score ≥ 3			
Q3		22.80	22.87	0.06	32.29	(w = within lab, b = between lab)			
IQR (Q3-Q1)		0.47	0.45	0.13	0.66	Final consensus value for protein in INMU-17			
Normalised IQR		0.35	0.33	0.09	0.49	calculated from laboratories with accepted values			
Robust CV (%)		1.54	1.47			=22.60 $\pm$ 0.30 g/100 g (mean $\pm$ SD), with N=15, %CV=1.3			

No of results	17	15
Mean	22.62	22.60
SD	0.29	0.30
%CV	1.29	1.32

Mean	Mean for consensus
22.18	22.18
22.31	22.31
22.49	22.49
22.90	22.90
22.36	22.36
22.63	
22.57	22.57
22.97	
22.73	22.73
23.02	23.02
22.83	22.83
22.53	22.53
22.23	22.23
23.11	23.11
22.27	22.27
22.83	22.83
22.63	22.63

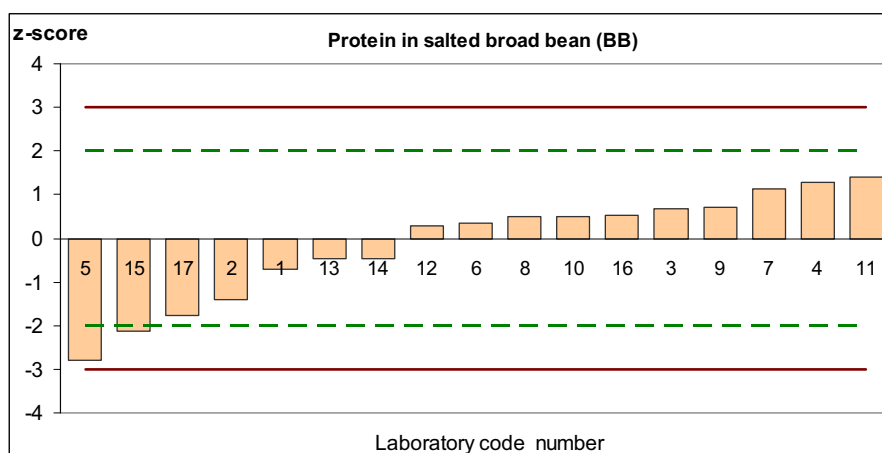


Figure 4A. z-scores of crude protein in salted broad bean (BB)

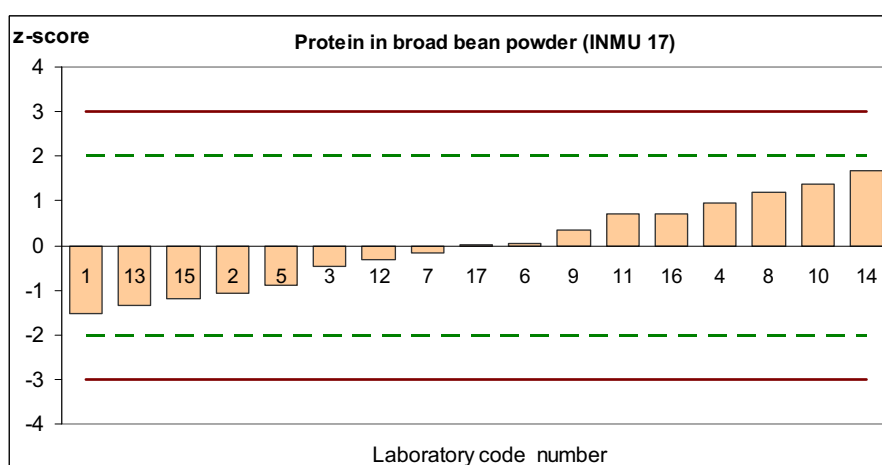


Figure 4B. z-scores of crude protein in broad bean powder (INMU-17)

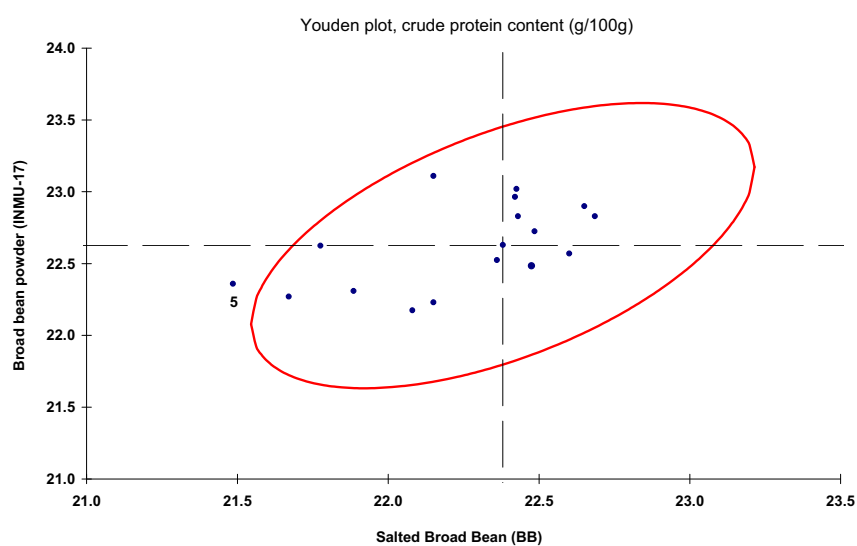


Figure 4C. Youden plot of z-scores (from Table 8A and 8B) of crude protein determination

Dietary fibre

Broad bean powder (INMU-17) which prepared from salted broad bean contains high fat (from frying), high protein and starch. Low amount of sugars was found in most legume seeds (sucrose and oligosaccharides). Laboratories used 0.5-1 g for DF analysis except lab no. 13 used 0.3 g (**Appendix 2D**). Lab no. 15 did not mention the weight of sample for analysis. The PT provider informed the participants to defat the samples before analysis and all laboratories followed the suggestion. Lab nos. 4, 12 and 13 removed both fat and sugars. All participants followed the same method – enzymatic-gravimetric - for total dietary fibre analysis. Lab no. 12 deducted moisture, ash and protein from the residue.

A summary of submitted original data of dietary fibre in broad bean powder (INMU-17) is shown in **Table 9-1**. The original coefficient variation from all laboratories was very high (28.3%) which indicated high variation of the submitted results. The average data varied from the minimum level of 6.06 to the maximum of 15.96 g/100 g. If the data were used to estimate the assigned value according to ISO 13528, the robust mean $\pm$ robust SD would be 8.97 ± 2.36 g/100 g with high variation (%CV = 26.3%) and cannot be accepted. The PT provider decided not to evaluate the results and proposed it to be one of the corrective actions at the PT-9 Technical Meeting.

After discussion on all possibilities which could involve in the discrepancies of the analytical values, the participants agreed to re-analyse the dietary fibre using a new set of INMU-17 test material, together with a reference material of breakfast cereal from BRI (see results in **Appendix 3**). Lab No. 16 confirmed using the same results. Although the test material was defatted and ground into fine particles by the organiser prior to distributing to the participants, high variation of the re-analysed data (indicated by “C” after lab code number) were demonstrated (**Table 9-2**). The average data varied from the minimum level of 7.99 to the maximum level of 13.15 g/100 g. The assigned value estimated from the submitted values according to ISO 13528 was 10.04 ± 1.77 g/100 g; it shows lower % CV (17.7%) than that estimated from the first set of the submitted data. Using assigned values as median $\pm$ NIQR of the robust means and the robust mean $\pm$ robust SD derived from ISO 13528 (both were less strict criteria) to evaluate the submitted data. With the wide range of SD of the assigned values, they evaluated all laboratories as satisfactory performance. These approaches of evaluation could not be accepted because the existing of too wide range of submitted values of dietary fibre (8 to 13 g/100 g). Other approach using Horwitz’s predicted RSD ($pRSD_R$) was applied. The $pRSD_R$ based on the robust mean of 10.04 g/100 g was 2.83. Since the RSD_r derived from homogeneity of the INMU-17 was 7.15; thus the expanded criteria as 3 times of the $pRSD_R$ ($3 \times 2.83 = 8.5\%$) was used for estimation of new assigned value. The robust mean $\pm 3SD_p$ from Horwitz’s equation was 10.04 ± 0.85 (%CV = 8.5%); it was used to evaluate the between-laboratory performance of dietary fibre analysis.

Eight laboratories (50.0%) showed satisfactory results ($|z\text{-score}| \leq 2$) for both within- and between-laboratory z-scores (indicated as “a”). In this round, only lab no. 1C submitted extreme high values, much higher than those submitted in the first set; it was considered as unsatisfactory performance (z-score = 3.66) for dietary fibre analysis. Seven laboratories reported questionable high (lab nos. 2C, 3C, 8C and 13C) and low (lab nos. 4C, 12C, and 16) results for between-laboratory variation (**Table 9-2** and **Figure 5**).

The consensus values, as mean $\pm$ SD, of dietary fiber content in broad bean powder (INMU-17) derived from good performance laboratories (for both within- and between-laboratory variations, indicated as “a”) are 9.78 ± 1.00 g/100 g (N=8), with %CV=10.3 (**Table 18B**).

In conclusion, although data identified as unsatisfactory were submitted before PT-9 Technical Meeting, a lot of improvement in many laboratories was observed after the meeting. Thus, a technical meeting after a laboratory performance programme is recommended especially when there are some problematic nutrients.

LABORATORY PERFORMANCE STUDY – Round 9
Table 9-1. Dietary fibre in broad bean powder: **INMU-17** (first set of data - before PT Technical Meeting)
Assigned value estimated according to ISO 13528 as robust mean $\pm$ robust SD = 8.97 $\pm$ 2.36 g/100 g (%CV=26.3, N=16)

Mean	z-score ⁽¹⁾	
	Within	Performance code
(a+b/2)		
9.11	-0.15	
7.04	-0.40	
12.19	0.65	
7.45	0.26	
6.06	-1.45	
10.04	0.10	
15.96	-1.80	
11.67	-1.00	
10.27	1.28	
9.10	-0.04	
6.52	1.86	
7.75	0.01	
6.56	-0.98	
11.08	6.59	ww
8.14	-0.01	
8.29	2.05	w
16	⁽¹⁾ based on median $\pm$ NIQR of <i>D_i</i>	
9.20		
2.61		
28.33		

Mean
SD
%CV

Lab code No.	Result		<i>D_i</i> (A-B)/ $\sqrt{2}$
	A	B	
1	9.08	9.13	-0.04
2	6.97	7.11	-0.10
3	12.31	12.07	0.17
4	7.50	7.40	0.07
5	5.80	6.32	-0.37
6	10.06	10.02	0.03
8	15.63	16.28	-0.46
9	11.49	11.85	-0.25
10	10.50	10.03	0.33
11	9.09	9.10	-0.01
12	6.86	6.18	0.48
13	7.75	7.74	0.01
14	6.38	6.73	-0.25
15	12.28	9.88	1.70
16	8.14	8.14	0.00
17	8.66	7.91	0.53
No of results	16	16	16
Median	8.870	8.620	0.00
Q1	7.37	7.33	-0.14
Q3	10.75	10.02	0.21
IQR (Q3-Q1)	3.38	2.70	0.35
Normalised IQR	2.51	2.00	0.26
Robust CV (%)	28.25	23.18	

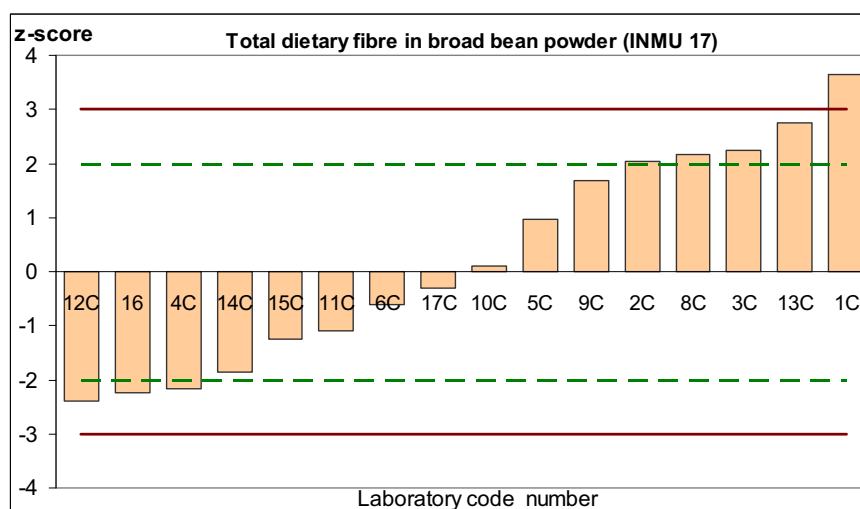


Figure 5. z-scores of dietary fibre in broad bean powder (INMU-17)

Sugars

Salted broad bean (BB) and broad bean powder (INMU-17) contain high fat, protein and carbohydrate (starch). For sugar analysis, they should be defatted using organic solvent and protein should be precipitated, for example by potassium hexacyanoferrate and zinc sulfate, before extraction step. As shown in [Appendix 2E](#), three laboratories included fat removal step (lab nos. 6, 8, 15) and 5 out of 17 (lab nos. 1, 2, 5, 7, 16) included protein precipitation step and only one laboratory (lab no. 9) included both steps in the process. Two main methods used for sugar determination among participants are HPLC with RI detector (lab nos. 3, 4, 8, 11, 12, 15) or ELSD (lab nos. 1, 6) and LANE–EYNON using Fehling’s solution and quantified by volumetric method (lab nos. 2, 5, 7, 10, 13, 16, 17) or by Munson-Walker gravimetric method (lab nos. 9 and 14). The HPLC method can differentiate and quantify individual sugars whereas the Lane-Eynon and Munsen-Walker methods determine total sugars which include mono-, di- and oligosaccharides. Sugars in legume seeds are sucrose and oligosaccharides (galactosyl-sucrose derivative: raffinose, stachyose and verbascose). Amounts of sugars in broad bean or fava bean are: sucrose 1.24 g/100 g, raffinose 0.01 g/100 g, stachyose 0.57 g/100 g; and verbascose 1.50 g/100 g (total = 3.32 g/100 g)²². For nutrition labeling, following the U.S. FDA, the Thai FDA defined the mandatory sugars as a sum of glucose, fructose, sucrose, maltose and lactose.

As expected, laboratories who applied Lane-Eynon and Munsen-Walker methods for sugar analysis reported higher levels of sugars in salted broad bean (BB) and broad bean powder (INMU-17), as shown in [Table 10A-1](#) and [10B-1](#), respectively. In addition, when data were considered together, high variation of results with high percentage of coefficient variation (66.9 and 64.4 respectively) was shown. The PT provider decided not to evaluate the data in these sets and raised it to be one of issues at the post PT-9 meeting. Process of sugar analysis and natural sugars in legume seeds were discussed at the post PT-9 meeting. After the meeting most of the participants, except lab nos. 7 and 12, decided to re-analyse the broad bean powder INMU-17 which was prepared by the PT provider. To reduce the variation of the analysis between laboratories, the organiser defatted and then ground the INMU-17 test material again before distribution. To confirm the above assumption, three laboratories (lab nos. 2, 13 and 16) applied both HPLC and Lane-Eynon method for sugar determination.

New data of sugars submitted after the meeting is shown [Table 10B-2](#) (indicated by “C” after lab code number). The PT provider decided to estimate the assigned value of sugars

from the data which were analysed by HPLC method only. The submitted data of sugars derived from HPLC method submitted in both sets (before and after the PT-9 meeting) were pooled and used for estimation of the assigned value.

The assigned value estimating according to ISO 13528 based on only HPLC method. was 1.03 ± 0.14 g/100 g (CV=13.7%, N=19). Since the same lot of salted broad bean from the same manufacturers were used as the two test materials – BB and INMU 17 - in this study, the estimated assigned value was used to evaluation the data of BB and INMU-17 as shown in **Table 10A-2** and **10B-2**, respectively.

For salted broad bean (BB) (**Table 10A-2**), 5 (lab nos. 1, 3, 6, 8, and 15) out of 8 laboratories who submitted results from HPLC method showed satisfactory results ($|z\text{-score}| \leq 2$) for both within- and between-laboratory z-scores (indicated as “a”). For Lab nos. 2, 5, 7, 9, 10, 13, 14, 16 and 17 submitted extremely high results ($|z\text{-score}| \geq 3$) because they used LANE–EYNON and Munsen-Walker methods, as discussed above, which is not fit for the purpose for nutrition labelling. Among these, lab no. 9, 13 and 14 submitted high results with high variable between A and B values, they were considered as unsatisfactory performance ($|z\text{-score}| \geq 3$) for both within- and between-laboratory variations.

For INMU-17, both sets of results, before and after correction, were evaluated against the assigned value estimated according to ISO 13528 from HPLC data. As shown in **Table 10B-2**, 13 out of 18 data derived from HPLC method classified as satisfactory results ($|z\text{-score}| \leq 2$) for both within- and between-laboratory z-scores (indicated as “a”). It was surprised that lab no. 1 who applied HPLC method for sugar determination submitted acceptable results in data set 1 (before correction) but reported unsatisfactory high results in data set 2 (after correction). Not having calculation to original sample (before defatting) was suspected (same incidence was observed in dietary fibre using the same test material). Although lab nos. 4, 11 and 16C-1 used HPLC method, they reported questionable low results ($2 < |z\text{-score}| < 3$) of sugars. For data from lab code nos. 2 and 2C-2 (precipitation method), 5, 5C, 7, 9, 9C, 10, 10C, 13 and 13C-2 (titration), 14, 14C, 16 and 16C-2 (precipitation method), 17 and 17C submitted extreme high results ($|z\text{-score}| \geq 3$), they analysed sugars by LANE–EYNON and Munsen-Walker methods.

The consensus values (from HPLC method), as mean $\pm$ SD, of sugars content in salted broad bean (BB) and broad bean powder (INMU-17), derived from good performance laboratories (for both within- and between- laboratory variations, indicated as “a”) are 1.03 ± 0.11 g/100 g (N=5, %CV =10.6) and 1.03 ± 0.09 g/100 g (N=13, %CV= 9.1), respectively (**Table 18**). In conclusion, HPLC method is recommended for sugars determination in legume seeds.

LABORATORY PERFORMANCE STUDY – Round 9

Table 10A-1. Sugars in salted broad bean: BB (first set of data - before PT-9 Technical Meeting)

Lab code No.	Result		Di (A-B)/√2	Mean (A+B)/2	z-score ⁽¹⁾		Method used	Reference				
	A	B			Within	Performance code						
1	1.13	1.08	0.04	1.11	1.12		HPLC-ELSD	In house method based on AOAC (2006) 982.14				
2	2.23	2.19	0.03	2.21	0.90		Lane-Eynon	Compendium of Method for Food Analysis (2003)				
3	1.15	1.20	-0.04	1.18	-1.12		HPLC-RI	JAOAC (1992), Vol. 75, No3 , p.443 – 464				
4	0.60	0.60	0.00	0.60	0.00		HPLC-RI	AOAC (2005) 982.14				
5	2.42	2.42	0.00	2.42	0.00		Lane-Eynon	Compendium of method for food analysis (2003), C2,p 84-86				
6	1.01	1.03	-0.01	1.02	-0.45		HPLC-ELSD	AOAC 982.14				
7	6.24	6.25	-0.01	6.25	-0.22		Lane-Eynon-titration					
8	0.94	0.92	0.01	0.93	0.45		HPLC-RI	JAOAC (1992), Vol. 75, No3 , p.443 – 464				
9	3.18	3.33	-0.11	3.26	-3.37	ww	Munson-Walker Gravimetric	AOAC 925.35(B)				
10	2.90	2.80	0.07	2.85	2.25	w	Lane-Eynon-titration	In-house method based on AOAC Official method 968.28 (2007)				
11	0.67	0.66	0.01	0.67	0.22		HPLC-RI	AOAC (2005) 984.12				
12	1.48	1.47	0.01	1.48	0.22		HPLC-RI	In-house method TM-CH-088 based on AOAC(2005), 982.14				
13	2.61	2.41	0.14	2.51	4.50	ww	Lane-Eynon-titration	AOAC(2005) 974.06				
14	2.31	2.48	-0.12	2.40	-3.82	ww	Munson-Walker Gravimetric	AOAC 2005, 925.35(B)				
15	0.92	0.93	-0.01	0.93	-0.22		HPLC-RI	Guideline for Aminex 87 C				
16	2.77	2.71	0.04	2.74	1.35		Lane-Eynon-gravimetric	In-house method based on AOAC (2005),950.50				
17	2.59	2.68	-0.06	2.64	-2.02	w	Lane-Eynon-gravimetric	AOAC(2005) 906.03 925.35				
No of results	17	17	17	17	"w" = questionable result; 2 < z-score < 3 "ww" = unsatisfactory result; z-score ≥ 3 (w = within lab, b = between lab)							
Median	2.230	2.190	0.00	Mean: 2.07								
Q1	1.01	1.03	-0.01	SD: 1.38								
Q3	2.61	2.68	0.03	%CV: 66.9								
IQR (Q3-Q1)	1.60	1.65	0.04	No evaluation of performance on sugars analysis due to high variation of submitted results								
Normalised IQR	1.19	1.22	0.03									
Robust CV	53.19	55.85										

⁽¹⁾ based on median $\pm$ NIQR of difference (D_i)

LABORATORY PERFORMANCE STUDY – Round 9**Table 10B-1. Sugars in broad bean powder: INMU-17 (first set of data - before PT-9 Technical Meeting)**

Lab code No.	Result		D_i	Mean	z-score ⁽¹⁾		Method used	Reference
	A	B			Within	Performance code		
1	0.85	0.94	$(A-B)/\sqrt{2}$ -0.06	(A+B)/2 0.90	-1.35		HPLC-ELSD	In house method based on AOAC (2006) 982.14
2	3.00	3.07	-0.05	3.04	-1.05		Lane-Eynon	Compendium of Method for Food Analysis (2003)
3	1.20	1.31	-0.08	1.26	-1.65		HPLC-RI	JAOAC (1992), Vol. 75, No3 , p.443 – 464
4	0.70	0.70	0.00	0.70	0.00		HPLC-RI	AOAC (2005) 982.14
5	3.06	3.26	-0.14	3.16	-3.00	ww	Lane-Eynon	Compendium of method for food analysis (2003), C2,p 84-86
6	1.12	1.10	0.01	1.11	0.30		HPLC-ELSD	AOAC 982.14
7	6.30	6.29	0.01	6.30	0.15		Lane-Eynon-titration	
8	1.04	0.96	0.06	1.00	1.20		HPLC-RI	JAOAC (1992), Vol. 75, No3 , p.443 – 464
9	3.99	3.34	0.46	3.67	9.74	ww	Munson-Walker Gravimetric	AOAC 925.35(B)
10	3.30	3.10	0.14	3.20	3.00	ww	Lane-Eynon-titration	In-house method based on AOAC Official method 988.28 (2007)
11	0.72	0.75	-0.02	0.74	-0.45		HPLC-RI	AOAC (2005) 984.12
12	1.61	1.61	0.00	1.61	0.00		HPLC-RI	In-house method TM-CH-088 based on AOAC(2005), 982.14
13	2.55	2.23	0.23	2.39	4.80	ww	Lane-Eynon-titration	AOAC(2005) 974.06
14	2.75	2.75	0.00	2.75	0.00		Munson-Walker Gravimetric	AOAC, 2005, 925.35(B)
15	0.96	1.08	-0.08	1.02	-1.80		HPLC-RI	Guideline for Aminex 87 C
16	2.78	2.80	-0.01	2.79	-0.30		Lane-Eynon-gravimetric	In-house method based on AOAC (2005),950.50
17	2.90	2.89	0.01	2.90	0.15		Lane-Eynon-gravimetric	AOAC(2005) 906.03 925.35
No of results	17	17	17	17				
Median	2.550	2.230	0.00	Mean: 2.27				"w" = questionable result; 2 < z-score < 3
Q1	1.04	1.08	-0.05	SD: 1.46				"ww" = unsatisfactory result; z-score ≥ 3
Q3	3.00	3.07	0.01	%CV 64.4				(w = within lab, b = between lab)
IQR (Q3-Q1)	1.96	1.99	0.06					No evaluation of performance on sugars analysis due to high variation of submitted results
Normalised IQR	1.45	1.48	0.05					
Robust CV	56.98	66.15						

⁽¹⁾ based on median ± NIQR of difference (D_i)

Table 10A-2. Sugars in salted broad bean: BB (data set 1 before PT-9 Technical Meeting), used for performance evaluation
Assigned value estimated according to ISO 13528 as robust mean $\pm$ robust SD = 1.03 ± 0.14 g/100 g (%CV=13.7, N=19)

Lab code		Result		D_i	Mean	z-score	z-score	Conclusion code
No.	A	B	$(A-B)/\sqrt{2}$	(A+B)/2	Within	Between ⁽¹⁾	based on (2)	
1 (HPLC)	1.13	1.08	0.04	1.11	1.12	0.54	a	
2 (Lane Eynon)	2.23	2.19	0.03	2.21	0.90	8.40	bb	
3 (HPLC)	1.15	1.20	-0.04	1.18	-1.12	1.04	a	
4 (HPLC)	0.60	0.60	0.00	0.60	0.00	-3.05	bb	
5 (Lane Eynon)	2.42	2.42	0.00	2.42	0.00	9.89	bb	
6 (HPLC)	1.01	1.03	-0.01	1.02	-0.45	-0.06	a	
7 (Lane Eynon)	6.24	6.25	-0.01	6.25	-0.22	37.08	bb	
8 (HPLC)	0.94	0.92	0.01	0.93	0.45	-0.70	a	
9 (Munson-Walker)	3.18	3.33	-0.11	3.26	-3.37	15.83	wwbb	
10 (Lane Eynon)	2.90	2.80	0.07	2.85	2.25	12.95	wbb	
11 (HPLC)	0.67	0.66	0.01	0.67	0.22	-2.59	b	
12 (HPLC)	1.48	1.47	0.01	1.48	0.22	3.17	bb	
13 (Lane Eynon)	2.61	2.41	0.14	2.51	4.50	10.53	wwbb	
14 (Munson-Walker)	2.31	2.48	-0.12	2.40	-3.82	9.71	wwbb	
15 (HPLC)	0.92	0.93	-0.01	0.93	-0.22	-0.74	a	
16 (Lane Eynon)	2.77	2.71	0.04	2.74	1.35	12.16	bb	
17 (Lane Eynon)	2.59	2.68	-0.06	2.64	-2.02	11.42	wbb	
No of results	17	17	17	17	"a" = satisfactory result; z-score ≤ 2			
Median	2.230	2.190	0.00	Mean: 2.07	"w" or "b" = questionable result; $2 < z\text{-score} < 3$			
Q1	1.01	1.03	-0.01	SD: 1.38	"ww" or "bb" = unsatisfactory result; z-score ≥ 3			
Q3	2.61	2.68	0.03	% CV: 66.9	(w = within lab, b = between lab)			
IQR (Q3-Q1)	1.60	1.65	0.04		Final consensus value for sugars in BB			
Normalised IQR	1.19	1.22	0.03		calculated from laboratories with accepted values=1.03 $\pm$ 0.11 g/100 g (mean $\pm$ SD), with N=5, %CV=10.6			
Robust CV	53.19	55.85						

Mean for consensus	
All lab	based on (2)
1.11	1.11
2.21	
1.18	1.18
0.60	
2.42	
1.02	1.02
6.25	
0.93	0.93
3.26	
2.85	
0.67	
1.48	
2.51	
2.40	
0.93	0.93
2.74	
2.64	
No of results	17
Mean	2.07
SD	1.38
%CV	66.86
	10.60

Table 10B-2. Sugars in broad bean powder: **INMU-17** (corrected data, submitted after PT-9 Technical Meeting)
Assigned value estimated according to ISO 13528 as robust mean $\pm$ robust SD = 1.03 ± 0.14 g/100 g (%CV=13.7, N=19)

Lab code No.	Result		D_i	S_i	z-score ⁽¹⁾		z-score Between ⁽²⁾	Conclusion code based on (2)
	A	B			Within	Between ⁽¹⁾		
1 (HPLC)	0.85	0.94	0.06	1.27	1.28	-0.54	-0.95	a
1 C (HPLC)	1.48	1.51	0.02	2.11	0.43	-0.08	3.31	bb
2 (Lane Eynon)	3.00	3.07	0.05	4.29	0.99	1.08	14.26	bb
2 C-1 (HPLC)	1.03	1.03	0.00	1.46	0.00	-0.43	0.01	a
2 C-2 (precipitation)	2.59	2.58	-0.01	3.66	-0.14	0.74	11.06	bb
3 (HPLC)	1.20	1.31	0.08	1.77	1.56	-0.26	1.61	a
3 C (HPLC)	1.09	-	-0.77	0.77	-	-0.80	0.43	a
4 (HPLC)	0.70	0.70	0.00	0.99	0.00	-0.68	-2.34	b
4 C (HPLC)	1.05	1.02	-0.02	1.46	-0.43	-0.43	0.04	a
5 (Lane Eynon)	3.06	3.26	0.14	4.47	2.84	1.17	15.15	wbb
5C (Lane Eynon)	3.01	3.04	0.02	4.28	0.43	1.07	14.19	bb
6 (HPLC)	1.12	1.10	-0.01	1.57	-0.28	-0.37	0.58	a
6 C (HPLC)	1.04	1.03	-0.01	1.46	-0.14	-0.43	0.04	a
7 (Lane Eynon)	6.30	6.29	-0.01	8.90	-0.14	3.53	37.44	bb
8 (HPLC)	1.04	0.96	-0.06	1.41	-1.14	-0.46	-0.21	a
8 C (HPLC)	0.88	0.88	0.00	1.24	0.00	-0.55	-1.06	a
9 (Munson-Walker)	3.99	3.34	-0.46	5.18	-9.23	1.55	18.74	wbbb
9C (Munson-Walker)	4.77	-	-3.37	3.37	-	0.59	26.60	bb
10 (Lane Eynon)	3.30	3.10	-0.14	4.53	-2.84	1.20	15.43	wbb
10C (Lane Eynon)	3.21	-	-2.27	2.27	-	0.00	15.51	bb
11 (HPLC)	0.72	0.75	0.02	1.04	0.43	-0.66	-2.09	b
11 C (HPLC)	0.94	1.07	0.09	1.42	1.85	-0.45	-0.17	a
12 (HPLC)	1.61	1.61	0.00	2.28	0.00	0.00	4.13	bb

⁽¹⁾ based on median $\pm$ NIQR; ⁽²⁾ based on assigned value estimated according to ISO 13528

Mean for consensus		
All	based on (1)	based on (2)
0.90	0.90	0.90
1.50	1.50	
3.04	3.04	
1.03	1.03	1.03
2.59	2.59	
1.26	1.26	1.26
1.09	1.09	1.09
0.70	0.70	
1.04	1.04	1.04
3.16	3.16	
3.03	3.03	
1.11	1.11	1.11
1.04	1.04	1.04
6.30		
1.00	1.00	1.00
0.88	0.88	0.88
3.67	3.67	
4.77	4.77	
3.20	3.20	
3.21	3.21	
0.74	0.74	
1.01	1.01	1.01
1.61	1.61	

continued →

Table 10B-2. Continued**Sugars** in broad bean powder: **INMU-17**Assigned value estimated according to ISO 13528 as robust mean $\pm$ robust SD = 1.03 ± 0.14 g/100 g (%CV=13.7, N=19)

Lab code	Result		Di (B-A)/√2	Si (A+B)/√2	z-score ⁽¹⁾		z-score Between ⁽²⁾	Conclusion code based on (2)	
	A	B			Within	Between ⁽¹⁾			
No.	13 (Lane Eynon)	2.55	2.23	-0.23	3.38	-4.54	0.59	9.68	wwbb
	13 C-1 (HPLC)	1.06	0.93	-0.09	1.41	-1.85	-0.46	-0.24	a
	13 C-2 (Titration)	1.93	2.00	0.05	2.78	0.99	0.27	6.65	bb
	14 (Munson-Walker)	2.75	2.75	0.00	3.89	0.00	0.86	12.24	bb
	14C (Munson-Walker)	2.75	2.75	0.00	3.89	0.00	0.86	12.24	bb
	15 (HPLC)	0.96	1.08	0.08	1.44	1.70	-0.44	-0.06	a
	15C (HPLC)	1.07	-	-0.76	0.76	-	-0.81	0.29	a
	16 (Lane Eynon)	2.78	2.80	0.01	3.95	0.28	0.89	12.52	bb
	16 C-1 (HPLC)	0.71	0.71	0.00	1.00	0.00	-0.67	-2.27	b
	16 C-2 (precipitation)	2.77	2.82	0.04	3.95	0.71	0.90	12.56	bb
17 (Lane Eynon)	2.90	2.89	-0.01	4.09	-0.14	0.97	13.27	bb	
17C (Lane Eynon)	2.97	3.04	0.05	4.25	0.99	1.06	14.05	bb	
No of results		35	31	35	35	"a" = satisfactory result; z-score ≤ 2			
Median		1.610	1.610	0.00	2.27	"w" or "b" = questionable result; 2 < z-score < 3			
Q1		1.04	1.03	-0.04	1.42	"ww" or "bb" = unsatisfactory result; z-score ≥ 3			
Q3		2.94	2.86	0.03	3.95	(w = within lab, b = between lab)			

No of results	No of results	35	34	13
	Mean	2.08	1.96	1.03
	SD	1.30	1.09	0.09
	%CV	62.30	55.51	9.10
Mean for consensus				
All	based on (1)	based on (2)		
2.39	2.39			
1.00	1.00	1.00		
1.97	1.97			
2.75	2.75			
2.75	2.75			
1.02	1.02	1.02		
1.07	1.07	1.07		
2.79	2.79			
0.71	0.71			
2.80	2.80			
2.90	2.90			
3.01	3.01			

Mean for consensus		
All	based on (1)	based on (2)
2.39	2.39	
1.00	1.00	1.00
1.97	1.97	
2.75	2.75	
2.75	2.75	
1.02	1.02	1.02
1.07	1.07	1.07
2.79	2.79	
0.71	0.71	
2.80	2.80	
2.90	2.90	
3.01	3.01	
35	34	13
2.08	1.96	1.03
1.30	1.09	0.09
62.30	55.51	9.10

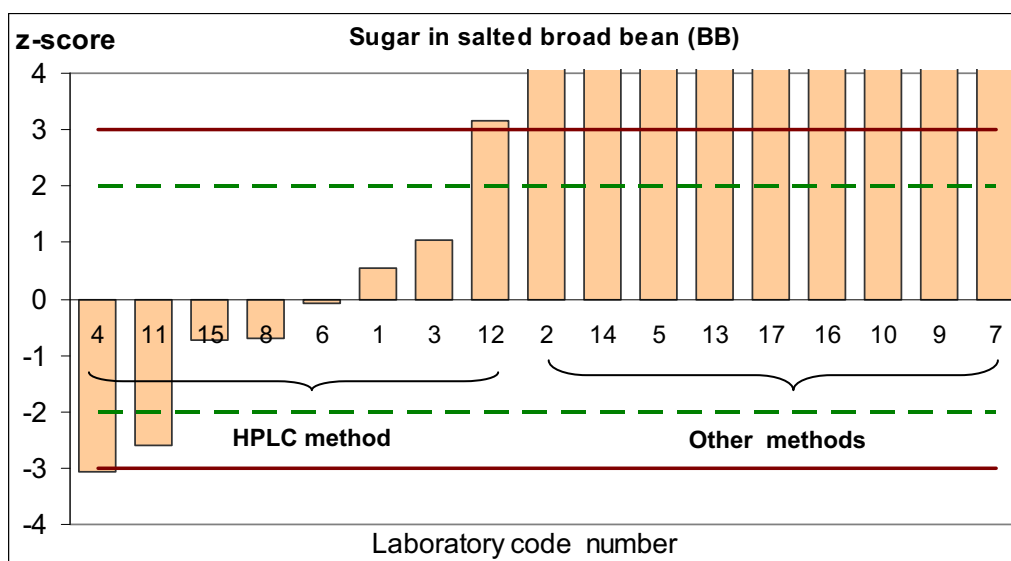


Figure 6A. z-scores of sugars in salted broad bean (BB)

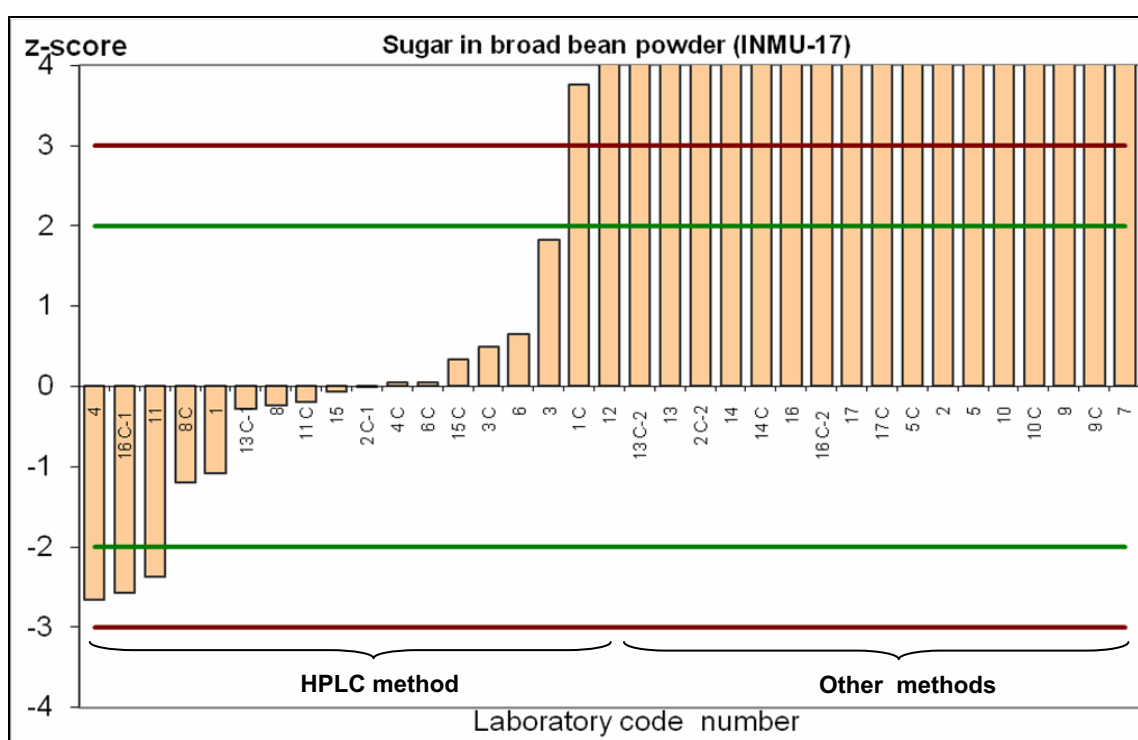


Figure 6B. z-scores of sugars in broad bean powder(INMU-17), data from set 1 (before PT-9 meeting) and set 2 (after PT-9 meeting, lab number with “C”)

Sodium

Sodium in the salted broad bean test materials came from added salts during the process of cooking by frying. In this study twelve packages of commercial salted broad bean were sent to each laboratory; the samples were prepared by each laboratory using various methods whereas a large amount, about 10 kg, of the same test material in one big package was prepared by the PT provider. As expected, the broad bean powder (INMU-17) prepared by the PT provider has higher sodium content and higher degree of sample homogeneity than the samples prepared by each participants (BB), giving assigned values of 461.8 ± 33.6 mg/100 g (with %RSD of 7.3) compared to 388.8 ± 50.8 mg/100 g (with %RSD of 13), respectively (**Table 4**).

Three different methods for sample preparation (wet digestion, dry ashing, microwave digestion) were applied and determine Na by three techniques, AAS (lab nos. 6, 8, 9, 10, 11, 12, 14, 15, 16, 17), ICP-OES (lab nos. 1, 2, 3, 4, 5, 13) and by titration (lab no. 7) (**Appendix 2F**). A summary of the results is shown in **Table 11A** and **11B** and **Figure 7A** and **7B**.

For salted broad bean (BB) (**Table 11A**), 14 laboratories out of 17 (82%) showed satisfactory results ($|z\text{-score}| \leq 2$) for both within- and between-laboratory z-scores (indicated as “a”). Lab nos. 7 and 10 submitted high difference in duplicate values of A and B, compared to other laboratories; they were considered as questionable ($2 < |z\text{-score}| < 3$) for within-laboratory variation. The relative percent differences (%RPD) compared to the reported mean values of A and B were 7.0% and 6.6%, respectively. For between-laboratory z-score, lab no. 12 submitted extreme unsatisfactory result (z-score = 5.3).

As shown in **Table 11B**, 14 out of 17 laboratories achieved satisfactory results (82%) for broad bean powder (INMU-17). For within-laboratory variation, lab nos. 4 and 6 reported questionable results with the %RPD compared to the reported mean values were 3.6 and 5.4%, respectively. For between-laboratory variation, two laboratories (lab nos. 4 and 12) reported extreme unsatisfactory results (z-score=4.6 and 3.8 respectively).

The informative graphical method from Youden plot (**Figure 7C**) showed lab nos. 4 and 12 were subjected to bias – their points were given far out along the major axis of the ellipse, all for the high values. This implies that both laboratories have systematic errors for sodium determination.

The consensus values, as mean $\pm$ SD, of sodium content in salted broad bean (BB) and broad bean powder (INMU-17) derived from good performance laboratories (for both within- and between- laboratory variation, indicated as “a”) are 386 ± 44 mg/100g (N=14) and 452 ± 29 mg/100g (N=14), with %CV=11.5 and 6.5, respectively (**Table 18**).

In conclusion, since few laboratories with unsatisfactory performance were identified, the overall performance on sodium determination of this group of participants can be considered as satisfactory. The consensus values obtained were with low percentage of coefficient variation in broad bean powder (INMU-17). For salted broad bean (BB) which individual set of samples were prepared in individual laboratories, the %CV is much higher.

LABORATORY PERFORMANCE STUDY – Round 9**Table 11A. Sodium** in salted broad bean: **BB**Assigned value estimated according to ISO 13528 as robust mean $\pm$ robust SD = 388.8 $\pm$ 50.5 mg/100 g (%CV=13.0, N=17)

Lab code No.	Result		Di (A-B)/√2	Si (A+B)/√2	z-score ⁽¹⁾		z-score Between ⁽²⁾	Conclusion code based on (2)
	A	B			Within	Between ⁽¹⁾		
1	404	406	-1.4	572.8	-0.42	0.33	0.32	a
2	423	426	-2.1	600.3	-0.52	0.74	0.70	a
3	335	335	0.0	473.8	-0.21	-1.12	-1.06	a
4	476	474	1.4	671.8	0.00	1.78	1.70	a
5	382	376	4.2	536.0	0.42	-0.21	-0.19	a
6C	411	411	0.0	581.2	-0.21	0.46	0.44	a
7	354	330	17.0	483.7	2.28	-0.98	-0.92	w
8	330	319	7.8	458.9	0.93	-1.34	-1.27	a
9	355	351	2.8	499.2	0.21	-0.75	-0.71	a
10	420	393	19.1	574.9	2.59	0.36	0.35	w
11	378	381	-2.1	536.7	-0.52	-0.20	-0.18	a
12	651	661	-7.1	927.7	-1.25	5.54	5.26	bb
13	424	422	1.4	598.2	0.00	0.71	0.67	a
14	396	382	9.9	550.1	1.25	0.00	0.00	a
15	375	375	0.0	530.3	-0.21	-0.29	-0.27	a
16	311	320	-6.4	446.2	-1.14	-1.53	-1.44	a
17	426	410	11.3	591.1	1.45	0.60	0.57	a
No of results	17	17	17	17	"a" = satisfactory result; z-score ≤ 2			
Median	396	382	1.4	550.1	"w" or "b" = questionable result; 2 < z-score < 3			
Q1	355	351	-1.4	499.2	"ww" or "bb" = unsatisfactory result; z-score ≥ 3			
Q3	423	411	7.8	591.1	(w = within lab, b = between lab)			
IQR (Q3-Q1)	68	60	9.2	91.9	Final consensus value for sodium in BB			
Normalised IQR	50	44	6.8	68.1	calculated from laboratories with accepted values			
Robust CV	12.7	11.6			= 386 ± 44 mg/100 g (mean ± SD), with N=14, %CV=11.5			

No of results	17
Mean	400.7
SD	77.9
%CV	19.44
Mean for consensus	405
	425
	335
	475
	379
	411
	342
	325
	353
	407
	380
	656
	423
	389
	375
	316
	418
	14
	386.2
	44.2
	11.46

LABORATORY PERFORMANCE STUDY – Round 9**Table 11B. Sodium** in broad bean powder: **INMU-17**Assigned value estimated according to ISO 13528 as robust mean $\pm$ robust SD = 461.8 $\pm$ 33.6 mg/100 g (%CV=7.3, N=17)

Lab code	Result		Di	Si	z-score ⁽¹⁾		z-score Between ⁽²⁾	Conclusion code based on (2)
	A	B			Within	Between ⁽¹⁾		
No.								
1	464	474	7.1	663.3	0.99	0.20	0.22	a
2	449	434	-10.6	624.4	-1.26	-0.89	-0.60	a
3	404	404	0.0	571.3	0.09	-2.38	-1.72	a
4	604	626	15.6	869.7	2.07	5.99	4.57	wbb
5	464	464	0.0	656.2	0.09	0.00	0.07	a
6	452	477	17.7	656.9	2.34	0.02	0.08	w
7	436	421	-10.6	606.0	-1.26	-1.41	-0.99	a
8	454	443	-7.8	634.3	-0.90	-0.61	-0.40	a
9	446	438	-5.7	625.1	-0.63	-0.87	-0.59	a
10	478	470	-5.7	670.3	-0.63	0.40	0.36	a
11	444	443	-0.7	627.2	0.00	-0.81	-0.54	a
12	590	588	-1.4	833.0	-0.09	4.96	3.79	bb
13	476	476	0.0	673.2	0.09	0.48	0.42	a
14	448	467	13.4	647.0	1.80	-0.26	-0.13	a
15	511	488	-16.3	706.4	-1.98	1.41	1.12	a
16	396	395	-0.7	559.3	0.00	-2.72	-1.97	a
17	482	489	4.9	686.6	0.72	0.85	0.71	a
No of results	17	17	17	17	"a" = satisfactory result; z-score ≤ 2			
Median	454	467	-0.7	656.2	"w" or "b" = questionable result; 2 < z-score < 3			
Q1	446	438	-5.7	625.1	"ww" or "bb" = unsatisfactory result; z-score ≥ 3 (w = within lab, b = between lab)			
Q3	478	477	4.9	673.2				

No of results	No of results	17	14
	Mean	470.4	452.1
	SD	56.4	29.4
	%CV	12.00	6.51

Mean	(a+b/2)	469	Mean for consensus	469
		442		442
		404		404
		615		
		464		464
		465		
		429		429
		449		449
		442		442
		474		474
		444		444
		589		
		476		476
		458		458
		500		500
		396		396
		486		486

No of results	17	14
Mean	470.4	452.1
SD	56.4	29.4
%CV	12.00	6.51

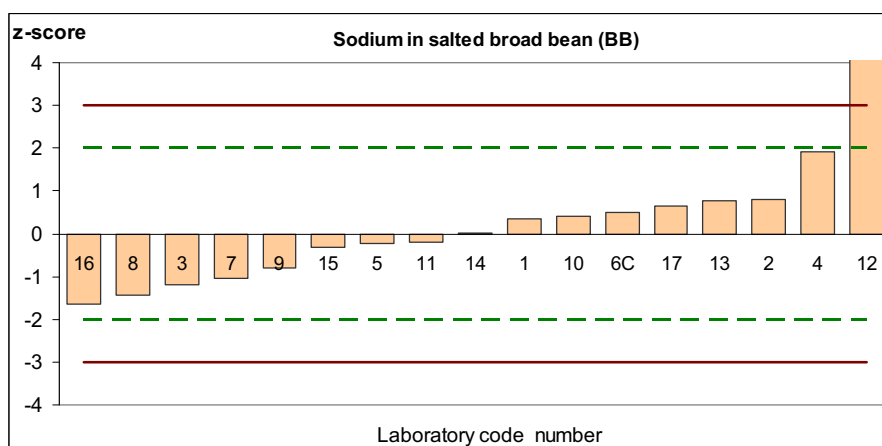


Figure 7A. z-scores of sodium in salted broad bean (BB)

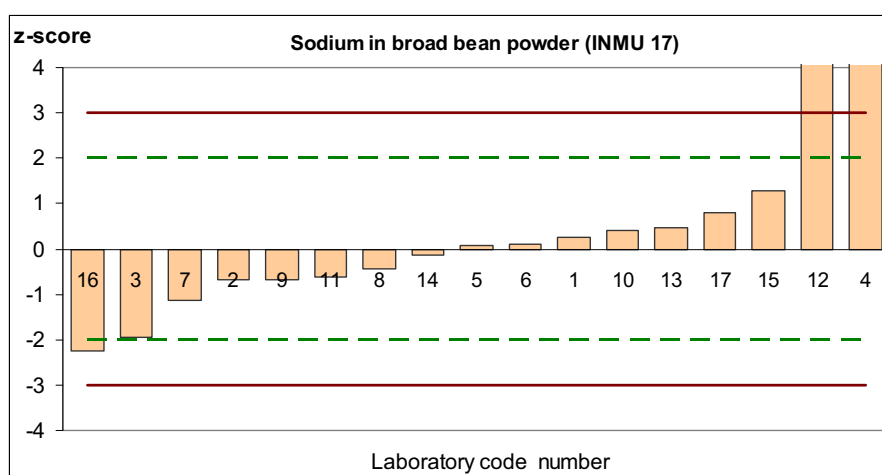


Figure 7B. z-scores of sodium in broad bean powder (INMU-17)

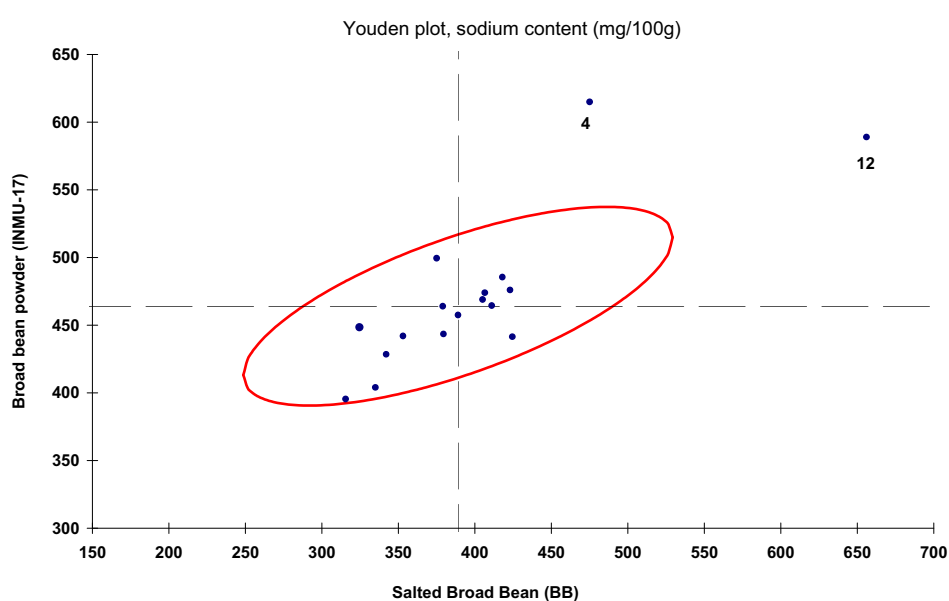


Figure 7C. Youden plot of z-scores (from Table 11A and 11B) of sodium determination

Calcium

Calcium was one of assigned nutrients to be analysed in INMU-17, not in BB test material. A summary of the results is shown in **Table 12** and **Figure 8**. Information from USDA database²³, broad bean contains calcium at the level of 103 mg/100 g; much lower level was found in the salted broad bean test material used in this study. Sixteen out of 17 laboratories submitted results on calcium. The estimated assigned values of the calcium, according to ISO 13528 as robust mean $\pm$ robust SD was 39.3 ± 4.9 mg/100g (%CV=12.6, N=16) (**Table 4**). Ten laboratories showed satisfactory performance (62.5%) as indicated by within- and between-laboratory z-scores (indicated as “a”). Several laboratories have problems on their precision. As can be seen from the results of within-laboratory performance, lab nos. 12, 13, and 14 reported questionable results, ($|z\text{-score}_{\text{within}}| = 2.7$) with %RPD = 4.3, 2.5 and 7.2%, respectively, whereas lab no. 17 reported extreme difference values for A and B ($|z\text{-score}_{\text{within}}| = 8.1$) with high % RPD (19.2%), indicated unsatisfactory precision. For between-laboratory variation, lab no. 12 reported extreme low levels of calcium which indicated as unsatisfactory results ($z\text{-score}_{\text{between}} = -3.2$); lab nos. 10 and 15 submitted questionable highest results. Lab nos. 10, 12 and 15 applied similar methods as others for analytical sample preparation and measurement (**Appendix 2F**), the low level of calcium in the salted broad bean could be responsible for the high variation of the submitted results. Comparing to laboratory performance on calcium determination in PT-7⁴, this PT round showed lower percentage of laboratories with good performance. Very much lower level of calcium in the salted broad bean (less than 40 mg per 100 g), compared to the high levels in milk powder and weaning food (550-700 mg/100 g), is likely to be the cause of the variation in calcium results found in this study.

The consensus values, as mean $\pm$ SD, of calcium in broad bean powder (INMU 17), derived from good performance laboratories (for both within- and between-laboratory variations, indicated as “a”), is 38.8 ± 4.2 mg/100 g (N=10) with %CV=10.8 (**Table 18**).

Iron

Iron was assigned to be analysed in broad bean powder (INMU-17). Information from USDA database, broad bean contains considerable amount of iron (2-3 mg/100 g)²³. Methods used for iron determination presented in **Appendix 2G**. The summary of the submitted results and statistical evaluation is shown in **Table 13** and **Figure 9**. The assigned values of iron estimated from ISO 13528 as robust mean $\pm$ robust SD was 2.96 ± 0.37 mg/100g (%CV = 12.7, N =16) (**Table 4**). Thirteen out of 16 laboratories showed satisfactory performance (81.3%) as indicated by within- and between- laboratory z-scores (indicated as “a”). Lab nos. 8 and 14 reported questionable results for within-laboratory performance ($z\text{-score}_{\text{within}} = 2.3$) with %RPD = 6.2 and 7.2%, respectively. Lab no. 6 reported unsatisfactory performance for duplicate results of A and B (absolute $z\text{-score}_{\text{within}} = 3.4$) with 5.2% RPD. For between-laboratory evaluation, all submitted values were accepted as satisfactory.

The consensus values, as mean $\pm$ SD, of iron in broad bean powder (INMU-17), derived from good performance laboratories (for both within- and between-laboratory variations, indicated as “a”), is 2.87 ± 0.28 g/100 g (N=13) with %CV = 9.7 (**Table 18**).

In conclusion, only one outlier and two questionable performance laboratories for within- and no outlier for between-laboratory variation were found in this PT round on iron determination. The overall performance on iron determination can be considered as satisfactory. Compared to the previous PT rounds^{4, 19}, the performance on iron determination in this round is much improved.

LABORATORY PERFORMANCE STUDY – Round 9**Table 12. Calcium** in broad bean powder: **INMU-17**Assigned value estimated according to ISO 13528 as robust mean $\pm$ robust SD = 39.3 ± 4.9 mg/100 g (%CV=12.6, N=16)

Lab code No.	Result		Di (A-B)/√2	Si (A+B)/√2	z-score ⁽¹⁾		z-score Between ⁽²⁾	Conclusion code based on (2)
	A	B			Within	Between ⁽¹⁾		
1	42	42	0.0	59.4	1.35	0.66	0.55	a
2	36	36	0.0	50.9	1.35	-0.78	-0.66	a
3	36	36	0.0	50.9	1.35	-0.78	-0.66	a
4	48	47	-0.7	67.2	0.00	1.98	1.67	a
5	42	40	-1.4	58.0	-1.35	0.42	0.35	a
6	41	41	0.0	58.0	1.35	0.42	0.35	a
8	38	37	-0.7	53.0	0.00	-0.42	-0.36	a
9	34	33	-0.7	47.4	0.00	-1.38	-1.17	a
10	51	50	-0.7	71.4	0.00	2.70	2.27	b
11	39	39	0.0	55.2	1.35	-0.06	-0.06	a
12	23	24	0.7	33.2	2.70	-3.78	-3.19	wbb
13	39	40	0.7	55.9	2.70	0.06	0.05	w
14	43	40	-2.1	58.7	-2.70	0.54	0.45	w
15	51	50	-0.7	71.4	0.00	2.70	2.27	b
16	35	34	-0.7	48.8	0.00	-1.14	-0.97	a
17	40	33	-4.9	51.6	-8.09	-0.66	-0.56	ww
No of results	16	16	16	16	"a" = satisfactory result; z-score ≤ 2			
Median	39.50	39.50	-0.7	55.5	"w" or "b" = questionable result; 2 < z-score < 3			
Q1	36.00	35.50	-0.7	50.9	"ww" or "bb" = unsatisfactory result; z-score ≥ 3			
Q3	42.25	41.25	0.0	58.9	(w = within lab, b = between lab)			
IQR (Q3-Q1)	6.25	5.75	0.7	8.0	Final consensus value for calcium in INMU-17			
Normalised IQR	4.63	4.26	0.5	5.9	calculated from laboratories with accepted values			
Robust CV	11.73	10.79			=38.8±4.2 mg/100g (mean±SD), with N=10,%CV=10.8			

Mean (a+b/2)	Mean for consensus
42	42
36	36
36	36
48	48
41	41
41	41
38	38
34	34
51	
39	39
24	
40	
42	
51	
35	35
37	
No of results	10
Mean	38.8
SD	4.2
%CV	10.85

Mean (a+b/2)	Mean for consensus
42	42
36	36
36	36
48	48
41	41
41	41
38	38
34	34
51	
39	39
24	
40	
42	
51	
35	35
37	
No of results	16
Mean	39.4
SD	6.7
%CV	17.04
	10.85

LABORATORY PERFORMANCE STUDY – Round 9**Table 13. Iron** in broad bean powder: **INMU-17**Assigned value estimated according to ISO 13528 as robust mean $\pm$ robust SD = 2.96 ± 0.37 mg/100 g (%CV = 12.7, N =16)

Lab code No.	Result		Di $(A-B)/\sqrt{2}$	Si $(A+B)/\sqrt{2}$	z-score ⁽¹⁾		z-score Between ⁽²⁾	Conclusion code based on (2)
	A	B			Within	Between ⁽¹⁾		
1	3.38	3.30	0.06	4.72	0.21	1.03	1.03	a
2	2.57	2.44	0.09	3.54	0.90	-1.43	-1.20	a
3	2.61	2.60	0.01	3.68	-0.76	-1.14	-0.94	a
4	3.16	3.08	0.06	4.41	0.21	0.38	0.44	a
5	2.77	2.78	-0.01	3.92	-1.04	-0.63	-0.48	a
6	3.40	3.58	-0.13	4.94	-3.39	1.47	1.43	ww
8	3.80	3.57	0.16	5.21	2.28	2.05	1.95	w
9	2.56	2.51	0.04	3.59	-0.21	-1.34	-1.12	a
10	3.20	3.12	0.06	4.47	0.21	0.50	0.55	a
11	2.72	2.72	0.00	3.85	-0.90	-0.80	-0.63	a
12	2.55	2.62	-0.05	3.66	-1.87	-1.19	-0.99	a
13	3.17	3.12	0.04	4.45	-0.21	0.46	0.51	a
14	3.13	2.90	0.16	4.26	2.28	0.07	0.16	w
15	3.10	3.01	0.06	4.32	0.35	0.19	0.27	a
16	2.74	2.78	-0.03	3.90	-1.45	-0.68	-0.52	a
17	3.02	2.91	0.08	4.19	0.62	-0.07	0.02	a
No of results	16	16	16	16	"a" = satisfactory result; z-score ≤ 2			
Median	3.06	2.91	0.05	4.23	"w" or "b" = questionable result; 2 < z-score < 3			
Q1	2.69	2.70	0.00	3.81	"ww" or "bb" = unsatisfactory result; z-score ≥ 3			
Q3	3.18	3.12	0.07	4.45	(w = within lab, b = between lab)			
IQR (Q3-Q1)	0.49	0.43	0.07	0.65	Final consensus value for iron in INMU-17			
Normalised IQR	0.36	0.32	0.05	0.48	calculated from laboratories with accepted values			
Robust CV	11.75	10.85			=2.87±0.28 mg/100g (mean±SD), with N=13, %CV=9.7			

Mean (a+b/2)	Mean for consensus
3.34	3.34
2.51	2.51
2.61	2.61
3.12	3.12
2.78	2.78
3.49	
3.69	
2.54	2.54
3.16	3.16
2.72	2.72
2.59	2.59
3.15	3.15
3.02	
3.06	3.06
2.76	2.76
2.97	2.97
No of results	16
Mean	2.97
SD	0.35
%CV	11.83
	9.69

Mean	Mean for consensus
(a+b/2)	
3.34	3.34
2.51	2.51
2.61	2.61
3.12	3.12
2.78	2.78
3.49	
3.69	
2.54	2.54
3.16	3.16
2.72	2.72
2.59	2.59
3.15	3.15
3.02	
3.06	3.06
2.76	2.76
2.97	2.97
No of results	16
Mean	2.97
SD	0.35
%CV	11.83
	9.69

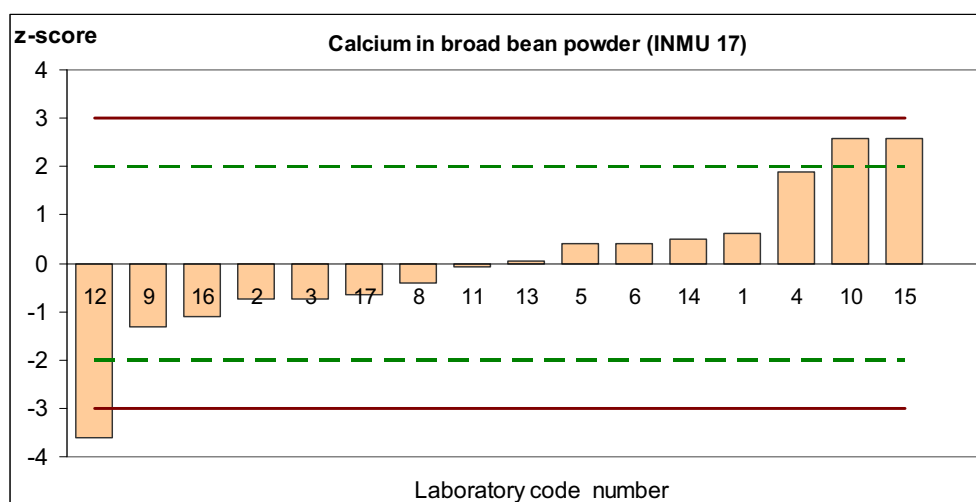


Figure 8. z-scores of calcium in broad bean powder (INMU-17)

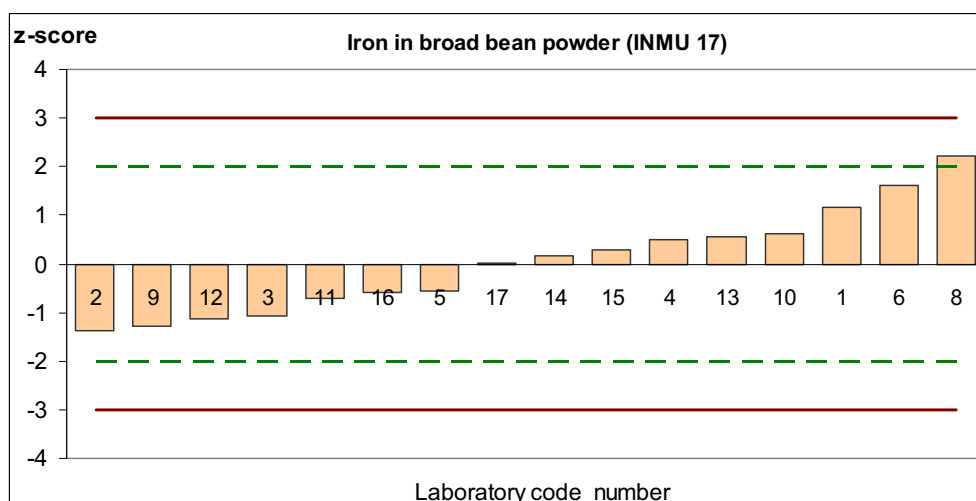


Figure 9. Z-scores of iron in broad bean powder (INMU-17)

Vitamin B₁

Information from USDA database²³, vitamin B₁ in raw broad bean mature seeds is 0.56 mg/100g. Loss of the vitamin is expected in the product that passes through heating process, e.g., salted broad bean – the test material in this study. Participants were requested to analyse the vitamin in the test material (INMU-17) within two weeks of receipt. Fifteen out of 17 laboratories submitted results of vitamin B₁. Most laboratories (10 out of 15) extracted the vitamin from the sample using diluted hydrochloric acid and heat, followed by enzyme hydrolysis to obtain free thiamin (**Appendix 2H**). Lab no. 10 who reported the highest values of the vitamin used formic, heat and enzyme hydrolysis whereas lab no. 15 who was one of the two laboratories who reported the lowest level of vitamin B₁ used perchloric acid; these acids are not commonly used for sample digestion in vitamin analysis. Then different treatments on the vitamin extract were conducted by different laboratories. For example, lab no. 9 purified the vitamin by passing through a cation exchange column prior to oxidise it to thiochrome, then its fluorescence was

measured by spectrofluorometer. Other three laboratories (lab nos. 8, 13 and 16) measured the thiochrome by spectrofluorometer without purification step. Most laboratories (lab nos. 2, 3, 4, 5, 11, 12, 17) applied pre-column oxidation (thiamin is oxidised by $K_3Fe(CN)_6$ in the presence of strong alkali to yield thiochrome which is extracted into isobutanol before measuring the thiochrome by HPLC with fluorescent detector), only two laboratories (lab nos. 1 and 6) applied post-column oxidation. For the pre-column derivatisation, the solution have to be injected immediately after thiochrome formation²⁴. Lab nos. 2, 4, 12, 17 who applied pre-column oxidation reported much lower levels of thiamin compared to the others. Lab no. 10 measured the vitamin directly by LC-MS and lab no. 15 who used perchloric acid for extraction of vitamin B₁, also measured the vitamin directly using HPLC with UV detector which is not specific for the vitamin. Wide variation of the submitted values of vitamin B₁, from the minimum of 0.10 (lab nos. 4 and 15) to the maximum of 0.56 mg/100 g (lab no. 10) was observed. A summary of the results and preliminary evaluation which could not be accepted is presented in **Table 14-1**. The PT provider proposed the analysis of vitamin B₁ to be discussed at the PT-9 Technical Meeting. Critical control points at each analytical step which could affect the final results were discussed. It was found that only one laboratory (lab no. 6) has regularly checked the purity or the true concentration of the vitamin standard after preparation. Method for checking the purity of the vitamin standard was provided to all participants^{25, 26}. Thus, the participants agreed to do some corrective action and repeat the analysis using a new set of INMU-17 as the test material.

A summary of the new set of submitted data (except for lab nos. 9 and 12 who confirmed using their data in the first set) together with the statistical evaluation is presented in **Table 14-2** and **Figure 10**. It was noticed that lab no. 1 reported variable results of the highest values (0.41 and 0.37 mg/100g), lab no. 4, (similar level to lab no. 12) still reported low values of the vitamin and lab no.15 reported the lowest results in this set. The data was re-evaluated using the z-score based on the assigned values derived from the classical method as median $\pm$ NIQR and the z-score based on robust mean $\pm$ robust SD (0.22 ± 0.04 mg/100 g) of the new submitted according to ISO 13528. Laboratories who measured the thiochrome by spectrofluorometer ((lab nos. 8C and 13C (used diluted acid only for vitamin extraction), 9, and 16C)) reported the vitamin B₁ levels within the range of most of laboratories who extracted the vitamin by diluted acid + heat + enzyme hydrolysis and measured the thiochrome by HPLC with FLD detector. Lab no. 1 was identified as extreme high values and lab nos. 4C and 12 as questionable results. Lab no. 15C was identified as laboratory with extreme low values by classical robust z-score, however based on a lesser strict criteria of ISO 13528¹⁰, it was identified as laboratory with questionable results.

The consensus value, as mean $\pm$ SD, of vitamin B₁ in the broad bean powder (INMU-17) derived from good performance laboratories (for both within- and between-laboratory variations, indicated as “a”) are 0.23 ± 0.02 mg/100 g (N=11) with %CV = 8.6 (**Table 18B**). The value corresponds very well with that obtained from good performance laboratories evaluated based on the median $\pm$ NIQR of the submitted values.

Vitamin B₂

Information from USDA database²³, vitamin B₂ content in raw, dry broad bean is 0.33 mg/100 g. The vitamin is sensitive to light, it is stable during heating process through normal cooking if light is excluded²⁵. In the process of riboflavin determination, food sample is heated to 95-100°C or autoclaved at 121-123°C with 0.1 N HCl to precipitate

protein and to completely liberate the natural forms of the vitamin which combined with protein. Determination of riboflavin by fluorometric method includes a specified step to remove the interfering fluorescent substances using potassium permanganate²⁷.

Appendix 2I presents various methods used for vitamin B₂ analysis in this study. Lab no. 9 included the step to remove the interfering substance. Apart from lab no. 9, lab nos. 8, 13, and 16 who measured fluorescence of riboflavin by spectrofluorometry may include this step in their sample preparation but has not mentioned it in the questionnaire for method used. They reported similar high range of the vitamin, 0.25-0.33 mg/100 g (**Table 15A**). Lab no. 15 who used HClO₄ for sample preparation and protein precipitation and measured the vitamin by HPLC with UV detector also reported the values in this range (0.21 mg/100g). Others laboratories (except lab no. 5) prepared the samples for vitamin B₂ similar to that of vitamin B₁ but not include oxidation step. Those who measured the riboflavin by HPLC with fluorescence detector (lab nos. 1, to 6, 11, 12 and probably L-17) reported a wide range of vitamin B₂, ranging from the minimum of 0.06 mg/100 g (lab nos. 1 and 17) to the maximum of 0.22 mg/100 g (Lab No. 2). Lab no. 10 who extracted the sample with formic acid, heat and enzyme hydrolysis and measured the vitamin (suspected) by LC-MS (no mention), reported low vitamin level (0.09 mg/100g). At the PT-9 Technical Meeting, it was found that only one laboratory (lab no. 6) has checked the true concentration of the vitamin standard after preparation. The participants (except lab no. 9 who confirmed using the same results) agreed to re-analyse the vitamin in the new set of INMU-17.

In the new data set, most laboratories submitted similar levels of vitamin B₂ as in the first set, except lab nos. 10C (measured by LC-MS?) and 17C submitted much higher levels, 0.25 and 0.23 mg/100g respectively (**Table 15 B**) which fell in the same range of values reported by laboratories who measured the vitamin by spectrofluorometry. The new set of submitted results did not improve the degree of variation of the data. It is likely that the difference in analytical methods used – spectrofluorometry vs. HPLC - is one of the main factors involving in the difference of the submitted data. Nature of the test material – salted broad bean - , i.e., high in protein and fat and low in vitamin B₂ could be other factors involving in the discrepancies of the results obtained from different laboratories.

Due to limited information on methods of analysis and the high variation of the submitted data, the organiser decided not to evaluate the data on vitamin B₂ in the salted broad bean test material submitted in this study. Detailed information on the different methods of vitamin B₂ analysis among different laboratories should be discussed before participating in the next PT study on vitamin B₂ analysis.

LABORATORY PERFORMANCE STUDY – Round 9

Table 14-1. Vitamin B₁ in broad bean powder: INMU-17 (original results, data submitted before PT Technical Meeting)
Assigned value estimated according to ISO 13528 as robust mean $\pm$ SDp = 0.213 $\pm$ 0.032 mg/100 g (%CV = 15.2, N =15)

Lab code No.	Result		Di	Si	z-score ⁽¹⁾		z-score Between ⁽²⁾	z-score Between ⁽³⁾	Conclusion code based on (3)
	A	B			Within	Between ⁽¹⁾			
1	0.27	0.27	0.00	0.38	0.00	0.57	0.70	1.76	a
2	0.15	0.15	0.00	0.21	0.00	-0.80	-0.77	-1.94	a
3	0.21	0.20	0.01	0.29	1.35	-0.17	-0.10	-0.24	a
4	0.10	0.09	0.01	0.13	1.35	-1.44	-1.45	-3.64	bb
5	0.23	0.23	0.00	0.33	0.00	0.11	0.21	0.53	a
6	0.27	0.27	0.00	0.38	0.00	0.57	0.70	1.76	a
8	0.22	0.22	0.00	0.31	0.00	0.00	0.09	0.22	a
9	0.22	0.22	0.00	0.31	0.00	0.00	0.09	0.22	a
10	0.56	0.55	0.01	0.78	1.35	3.85	4.19	10.57	bb
11	0.23	0.22	0.01	0.32	1.35	0.06	0.15	0.37	a
12	0.14	0.14	0.00	0.20	0.00	-0.92	-0.89	-2.25	b
13	0.33	0.32	0.01	0.46	1.35	1.21	1.37	3.46	bb
15	0.10	0.11	-0.01	0.15	-1.35	-1.31	-1.31	-3.30	bb
16	0.26	0.25	0.01	0.36	1.35	0.40	0.52	1.30	a
17	0.13	0.14	-0.01	0.19	-1.35	-0.98	-0.95	-2.41	b
No of results	15	15	15	15	"a" = accepted value; z-score $\leq$ 2				
Median	0.220	0.220	0.00	0.31	"w" or "b" = questionable; 2 < z-score < 3				
Q1	0.15	0.15	0.00	0.21	"ww" or "bb" = outliers; z-score $\geq$ 3				
Q3	0.27	0.26	0.01	0.37	(w = within lab, b = between lab)				
IQR (Q3-Q1)	0.12	0.12	0.01	0.17	Final consensus value for vitamin B₁ in INMU-17				
Normalised IQR	0.09	0.09	0.01	0.12	cannot calculated due to high variation of data				
Robust CV	40.4	38.7			(CV = 16.3%).				

No of results	15	14	9
Mean	0.23	0.20	0.23
SD	0.11	0.07	0.04
%CV	49.5	33.65	16.32

⁽¹⁾ based on median $\pm$ NIQR; ⁽²⁾ based on assigned value estimated according to ISO 13528 (0.213 $\pm$ 0.082 mg%); ⁽³⁾ based on robust mean $\pm$ SDp

LABORATORY PERFORMANCE STUDY – Round 9**Table 14-2. Vitamin B₁ in broad bean powder: INMU-17** (corrected results, data submitted after PT Technical Meeting)Assigned value estimated according to ISO 13528 as robust mean $\pm$ robust SD = 0.222 $\pm$ 0.041 mg/100 g (%CV=18.4, N=15)

Lab code No.	Result		D _i	S _i	z-score ⁽¹⁾		z-score	Conclusion code based on (2)
	A	B			Within	Between ⁽¹⁾		
1 C	0.41	0.37	$(A-B)/\sqrt{2}$ 0.03	$(A+B)/\sqrt{2}$ 0.55	3.60	6.12	4.10	wwbb
2 C	0.21	0.23	-0.01	0.31	-1.80	0.00	-0.06	a
3 C	0.21	0.20	0.01	0.29	0.90	-0.54	-0.42	a
4 C	0.14	0.14	0.00	0.20	0.00	-2.88	-2.01	b
5 C	0.21	0.22	-0.01	0.30	-0.90	-0.18	-0.18	a
6 C	0.27	0.27	0.00	0.38	0.00	1.80	1.17	a
8 C	0.26	0.24	0.01	0.35	1.80	1.08	0.68	a
9	0.22	0.22	0.00	0.31	0.00	0.00	-0.06	a
10 C	0.25	0.24	0.01	0.35	0.90	0.90	0.56	a
11 C	0.23	0.22	0.01	0.32	0.90	0.18	0.07	a
12	0.14	0.14	0.00	0.20	0.00	-2.88	-2.01	b
13 C	0.23	0.25	-0.01	0.34	-1.80	0.72	0.43	a
15 CC	0.10	0.11	-0.01	0.15	-0.90	-4.14	-2.87	b
16 C	0.26	0.25	0.01	0.36	0.90	1.26	0.80	a
17 C	0.22	0.22	0.00	0.31	0.00	0.00	-0.06	a
No of results	15	15	15	15	"a" = satisfactory result; z-score $\leq$ 2			
Median	0.220	0.220	0.00	0.31	"w" or "b" = questionable result; 2 < z-score < 3			
Q1	0.21	0.21	0.00	0.30	"ww" or "bb" = unsatisfactory result; z-score $\geq$ 3			
Q3	0.26	0.25	0.01	0.35	(w = within lab, b = between lab)			
IQR (Q3-Q1)	0.05	0.04	0.01	0.05	Final consensus value for B ₁ in INMU-17			
Normalised IQR	0.03	0.03	0.01	0.04	calculated from laboratories with accepted			
Robust CV	15.2	11.8			=0.23 $\pm$ 0.02 mg/100 g (mean $\pm$ SD), with N=11, %CV=8.6			

⁽¹⁾ based on median $\pm$ NIQR; ⁽²⁾ based on assigned value estimated according to ISO 13528

Mean (a+b/2)	Mean for consensus	
	based on ⁽¹⁾	based on ⁽²⁾
0.39		
0.22	0.22	0.22
0.21	0.21	0.21
0.14		
0.22	0.22	0.22
0.27	0.27	0.27
0.25	0.25	0.25
0.22	0.22	0.22
0.25	0.25	0.25
0.23	0.23	0.23
0.14		
0.24	0.24	0.24
0.11		
0.26	0.26	0.26
0.22	0.22	0.22
No of results	15	11
Mean	0.22	0.23
SD	0.07	0.02
%CV	29.6	8.59

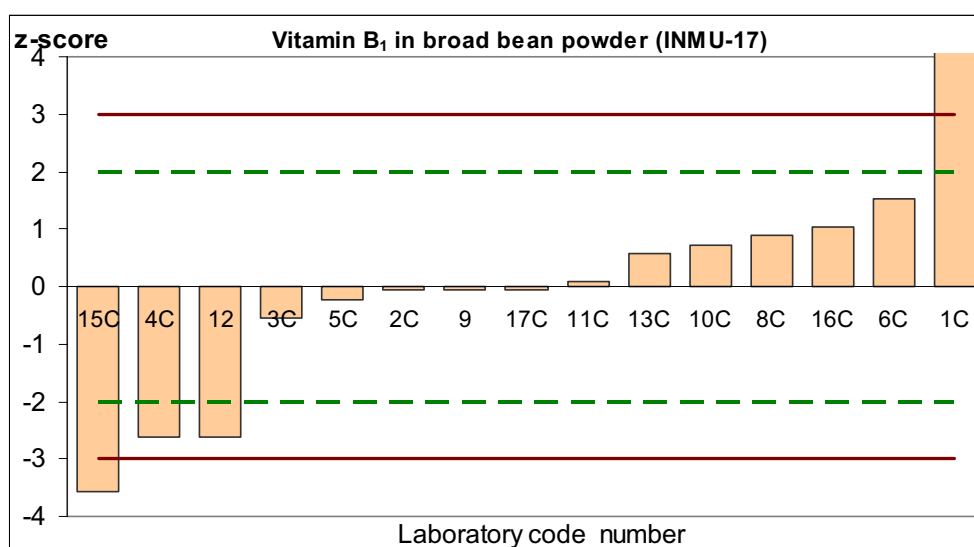


Figure 10. z-scores of vitamin B₁ in broad bean powder (INMU-17)

LABORATORY PERFORMANCE STUDY – Round 9

Table 15. Vitamin B₂ in broad bean powder: INMU-17

A. Original results

Lab code No.	Result	
	A	B
1	0.06	0.06
2	0.22	0.23
3	0.07	0.07
4	0.11	0.11
5	0.13	0.14
6	0.09	0.09
8	0.29	0.30
9	0.33	0.38
10	0.09	0.09
11	0.08	0.08
12	0.07	0.07
13	0.25	0.24
15	0.21	0.24
16	0.25	0.26
17	0.06	0.06
No of results	15	15
Mean	0.15	0.16
SD	0.09	0.10
Robust CV (%)	107.8	111.2

B. Corrected results

Lab code No.	Result	
	A	B
1 C (HPLC-FLD)	0.07	0.07
2 C (HPLC-FLD)	0.19	0.21
3 C (HPLC-FLD)	0.07	0.07
4 C (HPLC-FLD)	0.07	0.08
5 C (HPLC-FLD)	0.16	0.16
6 C (HPLC-FLD)	0.10	0.10
8 C (Spectrofluorometry)	0.30	0.28
9 (Spectrofluorometry)	0.33	0.38
10 C (LC-MS?)	0.25	0.25
11 C (HPLC-FLD)	0.08	0.08
12 C (HPLC-FLD)	0.09	0.09
13 C (Spectrofluorometry)	0.24	0.26
15 C (HPLC-UV)	0.21	0.22
16 C (Spectrofluorometry)	0.25	0.26
17 C (HPLC?)	0.23	0.23
No of results	15	15
Mean	0.18	0.18
SD	0.09	0.10
Robust CV (%)	62.4	60.0

Ash and Moisture

Although ash and moisture are not mandatory nutrients for Nutrition Information on the label, they are used to calculate carbohydrate by difference. Thus, all 17 laboratories analysed these components.

Ash

Summary of results for ash in salted broad bean (BB) is shown in **Table 16A** and **Figure 11A**. All laboratories used similar method for ash analysis as shown in **Appendix 2J**. Ten laboratory (58.8 %) out of 17 showed satisfactory results for both within- and between-laboratory z-scores (indicated as “a”). Three laboratories (lab nos. 10, 12 and 13) were identified as unsatisfactory precision ($|z\text{-score}| \geq 3$). However, the relative percent difference (%RPD) from the reported mean values of A and B for lab nos. 10 and 12 was only 2.0 % but that of lab no. 13 was quite extreme, %RPD was about 12. Lab nos. 5, 8 and 11 reported questionable ($2 < |z\text{-score}| < 3$) results for within-laboratory variation and lab no. 16 reported questionable for between-laboratory variation.

As shown in **Table 16B** and **Figure 11B**, 14 out of 17 laboratories achieved satisfactory results (82.4 %) for ash determination in broad bean powder (INMU-17). Only lab no. 13 reported highest difference in A and B with 5 % RPD. The results were considered as unsatisfactory for within-laboratory variation. Since the unsatisfactory results were submitted for both test materials, lab no. 13 has less precision when compared to the others. For between-laboratory performance, lab no. 16 reported highest value and was identified as extreme high values ($z\text{-score} = 3.2$). Lab no. 14 reported questionable results.

From the Youden plot (**Figure 11C**), it shows that lab nos. 14 and 16 have systematic error in ash determination.

As shown in **Table 18**, the consensus values, as mean $\pm$ SD, of ash content in salted broad bean - BB and INMU-17 test materials, derived from good performance laboratories (for both within- and between-laboratory variations, indicated as “a”), are 2.89 ± 0.10 g/100 g (N=10) and 3.03 ± 0.07 g/100 g (N=14), with %CV = 3.6 and 2.2, respectively.

LABORATORY PERFORMANCE STUDY – Round 9**Table 16A. Ash** in salted broad bean (BB)Assigned value estimated according to ISO 13528 as robust mean $\pm$ robust SD = 2.94 ± 0.13 g/100 g (%CV=4.4, N=17)

Lab code	Result		Di	Si	z-score ⁽¹⁾		z-score Between ⁽²⁾	Conclusion code based on (2)
	A	B			Within	Between ⁽¹⁾		
No.								
1	3.03	3.02	-0.01	4.28	-0.67	0.55	0.69	a
2	2.96	2.96	0.00	4.19	0.00	0.10	0.18	a
3	2.82	2.82	0.00	3.99	0.00	-0.86	-0.90	a
4	2.84	2.82	-0.01	4.00	-1.35	-0.80	-0.82	a
5	3.04	3.08	0.03	4.33	2.70	0.80	0.96	w
6	3.03	3.01	-0.01	4.27	-1.35	0.52	0.65	a
7	2.83	2.82	-0.01	4.00	-0.67	-0.83	-0.86	a
8	2.83	2.79	-0.03	3.97	-2.70	-0.93	-0.98	w
9	2.70	2.71	0.01	3.83	0.67	-1.66	-1.79	a
10	2.92	2.98	0.04	4.17	4.05	0.03	0.11	ww
11	2.86	2.89	0.02	4.07	2.02	-0.48	-0.48	w
12	2.85	2.79	-0.04	3.99	-4.05	-0.86	-0.90	ww
13	2.93	3.29	0.25	4.40	24.28	1.14	1.35	ww
14	2.97	2.96	-0.01	4.19	-0.67	0.14	0.22	a
15	2.95	2.94	-0.01	4.16	-0.67	0.00	0.07	a
16	3.24	3.24	0.00	4.58	0.00	2.04	2.35	b
17	2.84	2.85	0.01	4.02	0.67	-0.69	-0.71	a
No of results	17	17	17	17	"a" = satisfactory result; z-score ≤ 2			
Median	2.920	2.940	0.00	4.16	"w" or "b" = questionable result; 2 < z-score < 3			
Q1	2.84	2.82	-0.01	4.00	"ww" or "bb" = unsatisfactory result; z-score ≥ 3			
Q3	2.97	3.01	0.01	4.27	(w = within lab, b = between lab)			
IQR (Q3-Q1)	0.13	0.19	0.01	0.28	Final consensus value for ash in BB			
Normalised IQR	0.10	0.14	0.01	0.20	calculated from laboratories with accepted values			
Robust CV	3.30	4.79			=2.89+0.10 g/100g (mean+SD), with N=10, %CV=3.6			

No of results	17	10
Mean	2.93	2.89
SD	0.13	0.10
%CV	4.56	3.60

LABORATORY PERFORMANCE STUDY – Round 9**Table 16B. Ash** in broad bean powder (INMU-17)Assigned value estimated according to ISO 13528 as robust mean $\pm$ robust SD = 3.05 ± 0.08 g/100 g (%CV=2.5, N=17)

Lab code No.	Result		Di (A-B)/√2	Si (A+B)/√2	z-score ⁽¹⁾		z-score Between ⁽²⁾	Conclusion code based on (2)
	A	B			Within	Between ⁽¹⁾		
1	3.13	3.14	-0.01	4.43	-0.54	1.42	1.15	a
2	3.12	3.14	-0.01	4.43	-0.81	1.35	1.08	a
3	2.97	2.96	0.01	4.19	0.00	-1.12	-1.08	a
4	3.00	3.00	0.00	4.24	-0.27	-0.60	-0.62	a
5	3.11	3.04	0.05	4.35	1.62	0.52	0.36	a
6	3.08	3.03	0.04	4.32	1.08	0.22	0.10	a
7	3.06	3.02	0.03	4.30	0.81	0.00	-0.10	a
8	3.06	3.12	-0.04	4.37	-1.89	0.75	0.56	a
9	2.95	2.92	0.02	4.15	0.54	-1.57	-1.47	a
10	3.03	3.02	0.01	4.28	0.00	-0.22	-0.29	a
11	3.09	3.08	0.01	4.36	0.00	0.67	0.49	a
12	2.98	3.03	-0.04	4.25	-1.62	-0.52	-0.55	a
13	3.11	2.97	0.10	4.30	3.51	0.00	-0.10	ww
14	3.22	3.22	0.00	4.55	-0.27	2.70	2.26	b
15	2.93	2.93	0.00	4.14	-0.27	-1.65	-1.54	a
16	3.32	3.27	0.04	4.66	1.08	3.82	3.24	bb
17	2.98	3.02	-0.03	4.24	-1.35	-0.60	-0.62	a
No of results	17	17	17	17	"a" = satisfactory result; z-score ≤ 2			
Median	3.060	3.030	0.01	4.30	"w" or "b" = questionable result; 2 < z-score < 3			
Q1	2.98	3.00	-0.01	4.24	"ww" or "bb" = unsatisfactory result; z-score ≥ 3			
Q3	3.11	3.12	0.03	4.37	(w = within lab, b = between lab)			
IQR (Q3-Q1)	0.13	0.12	0.04	0.13	Final consensus value for ash in INMU-17			
Normalised IQR	0.10	0.09	0.03	0.09	calculated from laboratories with accepted values			
Robust CV	3.15	2.94			=3.03 + 0.07 g/100 g (mean+SD), with N=14, %CV=2.2			

Mean	Mean for consensus
3.14	3.14
3.13	3.13
2.97	2.97
3.00	3.00
3.08	3.08
3.06	3.06
3.04	3.04
3.09	3.09
2.94	2.94
3.03	3.03
3.09	3.09
3.01	3.01
3.04	
3.22	
2.93	2.93
3.30	
3.00	3.00
No of results	17
Mean	3.06
SD	0.10
%CV	3.13

No of results	17	14
Mean	3.06	3.03
SD	0.10	0.07
%CV	3.13	2.16

Mean	(a+b/2)	3.14	Mean for consensus	3.14
		3.13		3.13
		2.97		2.97
		3.00		3.00
		3.08		3.08
		3.06		3.06
		3.04		3.04
		3.09		3.09
		2.94		2.94
		3.03		3.03
		3.09		3.09
		3.01		3.01
		3.04		
		3.22		
		2.93		2.93
		3.30		
		3.00		3.00

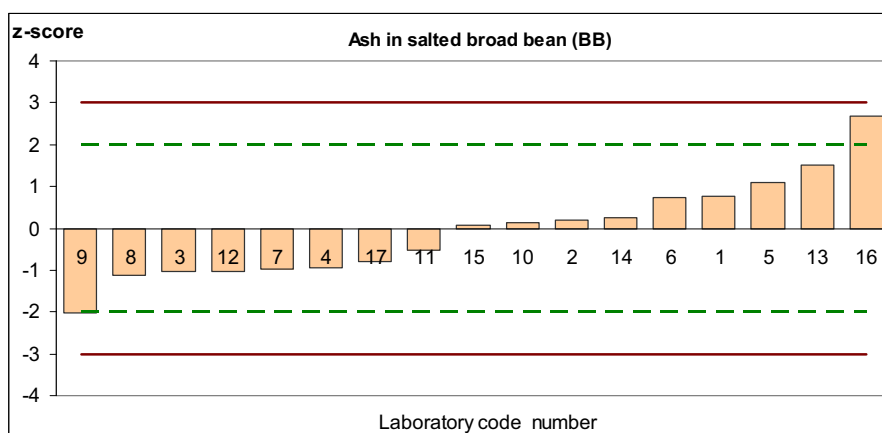


Figure 11A. z-scores of ash in salted broad bean (BB)

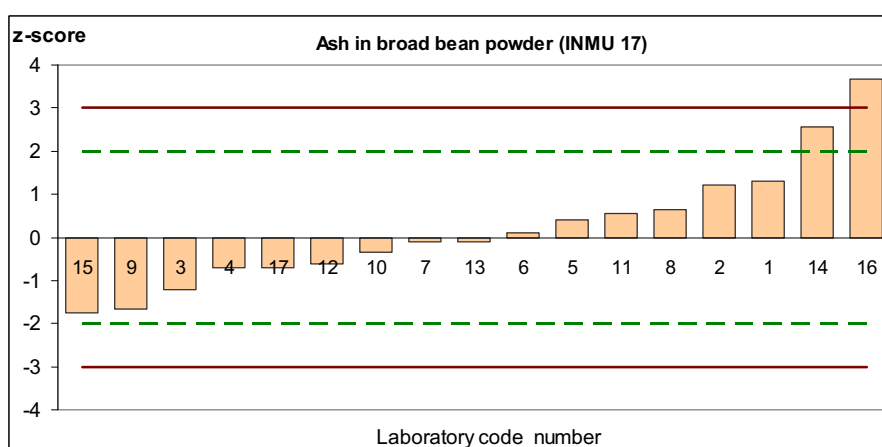


Figure 11B. z-scores of ash in broad bean powder (INMU-17)

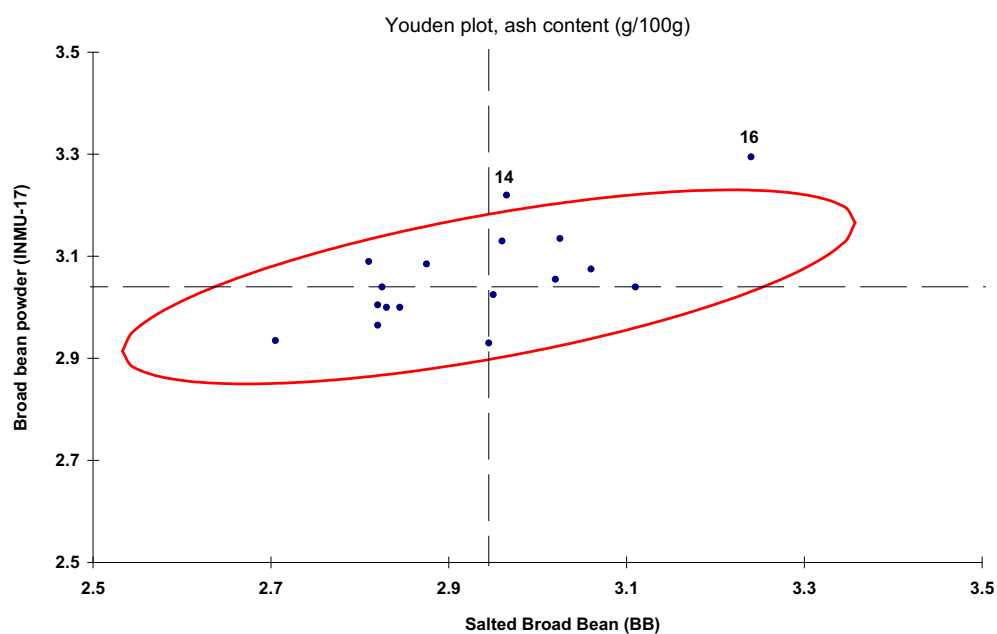


Figure 11C. Youden plot of z-scores (from Table 16A and 16B) of ash determination

Moisture

Moisture was analysed in both samples, BB and INMU-17. Most laboratories used standard AOAC methods; few (lab nos. 1, 5 and 10) used in-house methods based on the AOAC for moisture determination ([Appendix 2K](#)). The methods included drying the samples in a hot-air oven at $100 \pm 3^\circ\text{C}$ (lab nos. 1, 5, 6, 9, 13, 14, 17) for 3-5 h or until constant weight except Lab No. 5 applied for 16 h or at $125\text{--}135^\circ\text{C}$ for 1 to 2 h (lab nos. 2, 7, 11, 15) or drying the sample using vacuum oven at $95\text{--}100^\circ\text{C}$ for 5 h (lab nos. 3, 4, 8, 10, 12, 16). Since all methods used are based on AOAC methods and no strict method for moisture determination was specified for nutrition labeling, we decided to evaluate the submitted results together. The submitted results and evaluation for sample BB and INMU-17 were presented in [Table 17A](#) and [17B](#), respectively. The assigned values of moisture in the respective test materials, estimated from the results submitted by participants according to ISO 13528 as robust mean $\pm$ robust SD, were 3.90 ± 0.24 g/100g (%CV=6.2, N=17) and 3.38 ± 0.38 g/100g (%CV=11.4, N=17). Distribution of z-scores obtained was graphically presented in [Figure 12A](#) and [12B](#), respectively.

For BB sample, no within-laboratory variation was found among participants. Three out of 17 laboratories (lab nos. 1, 6 and 7) were identified as questionable performance by z-score between, they analysed moisture at $100 \pm 3^\circ\text{C}$ and $125\text{--}135^\circ\text{C}$ hot-air oven. Lab no. 10 applied vacuum oven at 98°C , 5 h for drying, submitted extreme low-values for both test materials which was identified as systematic error by Youden's plot ([Figure 12C](#)). For sample INMU-17, lab nos. 10 (vacuum oven at 98°C) and 13 (using hot-air oven at 103°C) showed unsatisfactory precision ($|z\text{-score}_{\text{within}}| \geq 3$), submitted extreme different values between A and B, with RPD of 8 and 18, respectively.

The consensus values, as mean $\pm$ SD, of moisture in salted broad bean - BB and INMU-17 test materials, derived from good performance laboratories (76.5 and 82.4%, respectively) for both within- and between-laboratory variations, are 3.97 ± 0.20 g/100g (N=13) with %CV=5.0 and 3.39 ± 0.31 g/100g (N=14) with %CV=9.1, respectively ([Table 18](#)).

LABORATORY PERFORMANCE STUDY – Round 9**Table 17A. Moisture** in salted broad bean (**BB**)Assigned value estimated according to ISO 13528 as robust mean $\pm$ robust SD = 3.90 ± 0.24 g/100 g (%CV=6.2, N=17)

Lab code	Result		Di	Si	z-score ⁽¹⁾		z-score Between ⁽²⁾	Conclusion code based on (2)	Mean (a+b/2)	Mean for consensus		
	A	B			Within	Between ⁽¹⁾						
No.												
1	3.42	3.38	-0.03	4.81	-0.67	-1.98	-2.04	b	3.40			
2	4.22	4.28	0.04	6.01	1.01	1.60	1.45	a	4.25	4.25		
3	4.15	4.09	-0.04	5.83	-1.01	1.05	0.92	a	4.12	4.12		
4	3.85	3.78	-0.05	5.40	-1.18	-0.23	-0.33	a	3.82	3.82		
5	3.78	3.69	-0.06	5.28	-1.52	-0.57	-0.66	a	3.74	3.74		
6C	3.33	3.41	0.06	4.77	1.35	-2.11	-2.16	b	3.37			
7	4.41	4.48	0.05	6.29	1.18	2.42	2.26	b	4.45			
8	3.79	3.81	0.01	5.37	0.34	-0.30	-0.39	a	3.80	3.80		
9	3.78	3.82	0.03	5.37	0.67	-0.30	-0.39	a	3.80	3.80		
10	2.76	2.79	0.02	3.92	0.51	-4.62	-4.60	bb	2.78			
11	4.35	4.39	0.03	6.18	0.67	2.11	1.95	a	4.37	4.37		
12	3.86	3.84	-0.01	5.44	-0.34	-0.08	-0.19	a	3.85	3.85		
13	3.92	3.96	0.03	5.57	0.67	0.30	0.18	a	3.94	3.94		
14	3.87	3.87	0.00	5.47	0.00	0.00	-0.11	a	3.87	3.87		
15	3.91	3.91	0.00	5.53	0.00	0.17	0.06	a	3.91	3.91		
16	4.23	4.18	-0.04	5.95	-0.84	1.41	1.27	a	4.21	4.21		
17	4.00	4.00	0.00	5.66	0.00	0.55	0.43	a	4.00	4.00		
No of results	17	17	17	17	"a" = satisfactory result; z-score ≤ 2					No of results	17	13
Median	3.870	3.870	0.00	5.47	"w" or "b" = questionable result; 2 < z-score < 3					Mean	3.86	3.97
Q1	3.78	3.78	-0.03	5.37	"ww" or "bb" = unsatisfactory result; z-score ≥ 3					SD	0.40	0.20
Q3	4.15	4.09	0.03	5.83	(w = within lab, b = between lab)					%CV	10.48	5.05
IQR (Q3-Q1)	0.37	0.31	0.06	0.45	Final consensus value for moisture in BB							
Normalised IQR	0.27	0.23	0.04	0.34	calculated from laboratories with accepted values							
Robust CV	7.09	5.94			=3.97 + 0.20 g/100 g (mean+SD), with N=13, %CV=5.0							

⁽¹⁾ based on median $\pm$ NIQR;⁽²⁾ based on assigned value estimated according to ISO 13528

LABORATORY PERFORMANCE STUDY – Round 9**Table 17B. Moisture** in broad bean powder (INMU-17)Assigned value estimated according to ISO 13528 as robust mean $\pm$ robust SD = 3.38 ± 0.38 g/100 g (%CV=11.4, N=17)

Lab code No.	Result		Di	Si	z-score ⁽¹⁾		z-score Between ⁽²⁾	Conclusion code based on (2)
	A	B			Within	Between ⁽¹⁾		
1	3.22	3.23	0.01	4.56	0.58	-0.22	-0.41	a
2	3.72	3.67	-0.04	5.23	-0.58	1.00	0.81	a
3	3.29	3.32	0.02	4.67	0.96	-0.01	-0.20	a
4	3.85	3.81	-0.03	5.42	-0.39	1.35	1.16	a
5	3.26	3.36	0.07	4.68	2.31	0.00	-0.19	w
6C	2.88	2.89	0.01	4.08	0.58	-1.10	-1.30	a
7	3.68	3.64	-0.03	5.18	-0.39	0.91	0.72	a
8	3.10	3.00	-0.07	4.31	-1.54	-0.67	-0.87	a
9	3.11	3.06	-0.04	4.36	-0.58	-0.58	-0.78	a
10	1.87	2.02	0.11	2.75	3.28	-3.54	-3.74	wwbb
11	3.64	3.61	-0.02	5.13	-0.19	0.82	0.63	a
12	3.88	3.77	-0.08	5.41	-1.73	1.34	1.15	a
13	3.79	4.55	0.54	5.90	15.03	2.23	2.04	wwb
14	3.12	3.16	0.03	4.44	1.16	-0.44	-0.63	a
15	3.52	3.52	0.00	4.98	0.39	0.54	0.35	a
16	3.53	3.50	-0.02	4.97	-0.19	0.53	0.34	a
17	3.17	3.15	-0.01	4.47	0.00	-0.39	-0.58	a
No of results	17	17	17	17	"a" = satisfactory result; z-score ≤ 2			
Median	3.290	3.360	-0.01	4.68	"w" or "b" = questionable result; $2 < \text{z-score} < 3$			
Q1	3.12	3.15	-0.03	4.44	"ww" or "bb" = unsatisfactory result; z-score ≥ 3			
Q3	3.68	3.64	0.02	5.18	(w = within lab, b = between lab)			
IQR (Q3-Q1)	0.56	0.49	0.05	0.74	Final consensus value for moisture in INMU-17			
Normalised IQR	0.42	0.36	0.04	0.55	calculated from laboratories with accepted values			
Robust CV	12.62	10.81			= 3.39 ± 0.31 g/100 g (mean $\pm$ SD), with N=14, %CV=9.1			

⁽¹⁾ based on median $\pm$ NIQR; ⁽²⁾ based on assigned value estimated according to ISO 13528

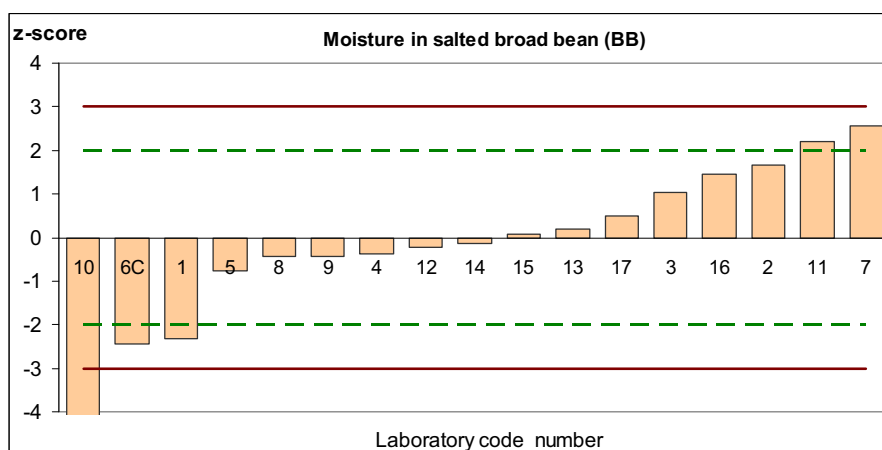


Figure 12A. z-scores of moisture in salted broad bean - BB

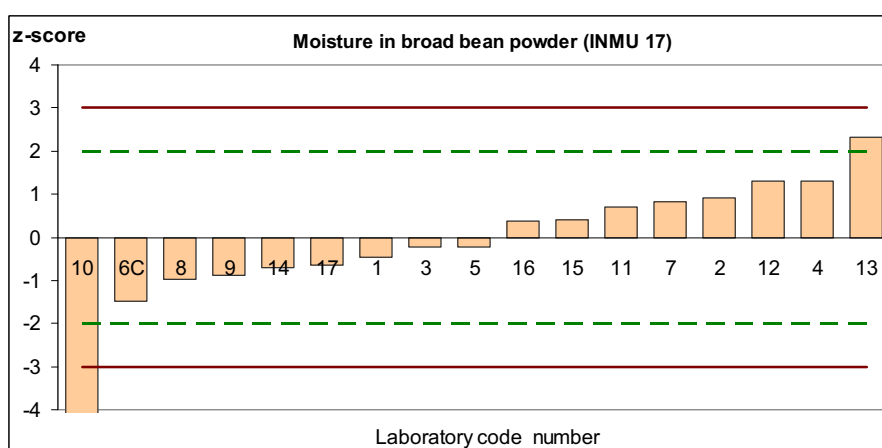


Figure 12B. z-scores of moisture in salted broad bean - INMU-17

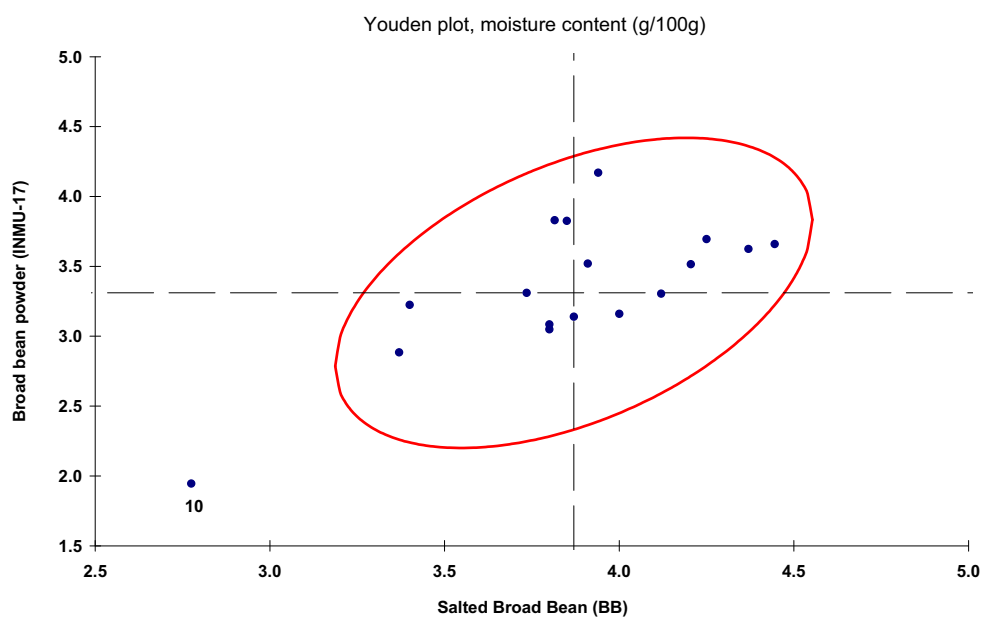


Figure 12C. Youden plot of z-scores (from Table 17A and 17B) of moisture determination

Summary of laboratory performance on analytical of mandatory nutrients

A. As z-scores obtained from salted broad bean - BB test materials

Robust z-scores, indicator of laboratory analytical performance of participating laboratories on analyses of all mandatory nutrients (according to the Thai Notification No. 305 (2007), using salted broad bean (BB) as test material are plotted as bar-charts in **Figure 13A**. Lab nos. 3 and 8 are among 17 laboratories who showed good performance ($|z\text{-score}_{\text{between}}| \leq 2$) for analyses of all mandatory nutrients. Three laboratories (lab nos. 1, 6, 11) showed questionable performance ($2 < |z\text{-score}_{\text{between}}| < 3$) on analysis of one nutrient - lab no. 1 and 6 on moisture analysis, lab no. 11 on sugar analysis. The bar chart shows analytical performance of two labs who submitted both questionable and unsatisfactory results: lab no. 7 was identified as questionable performance on moisture and lab no. 16 on ash determination; lab no. 7 shows unsatisfactory on fat and both laboratories on sugar analysis. Unsatisfactory analytical performance among this group of participants (lab nos. 2, 4, 5, 7, 9, 10, 12, 13, 14, 16 and 17) is clearly demonstrated on sugar analysis by this bar chart. Four laboratories (three (lab nos. 1, 6, 7) submitted questionable and one (lab no. 10) submitted unsatisfactory results) have problem on moisture analysis.

B. As z-scores obtained from broad bean powder – INMU17 test materials

Using broad bean powder (INMU-17) as test material, laboratory performance on analysis (as z-scores) of all mandatory nutrients according to the Thai Notification No.182/1998 is shown in **Figure 13B**. Although only 37 % of laboratories demonstrated good performance in sugar analysis, this presentation could not include performance on sugar determination because two methods of analysis were used by some laboratories. Five out of 17 laboratories (lab nos. 5, 6, 9, 11 and 17) had good performance ($|z\text{-score}_{\text{between}}| \leq 2$) for analyses of all mandatory nutrients. If z-scores of sugars in INMU-17 is included, only two of them (lab nos. 6 and 11) are considered as completely good performance. Lab nos. 5, 9 and 17 determined sugars by other methods (Lane-Eynon or Munson-Walker gravimetric methods) not by HPLC method. Eleven laboratories (lab nos. 2, 3, 4, 7, 8, 10, 12, 13, 14, 15, and 16) showed questionable performance ($2 < |z\text{-score}_{\text{between}}| < 3$) on some nutrient analysis - lab nos. 2, 3, 4, 8, 12, 13 and 16 on dietary fibre analysis, lab nos. 7 and 16 on total fat analysis, lab nos. 12, 13 and 15 on vitamin B₁ analysis, lab nos. 10 and 15 on calcium analysis, lab no. 2 on saturated fat and lab no. 14 on ash analysis. Unsatisfactory analytical performance ($|z\text{-score}_{\text{between}}| \geq 3$) on one nutrient (lab no. 3 on total fat; lab no. 4 on sodium, and lab no. 16 on ash) and on two nutrients (lab nos. 1 on dietary fibre and vitamin B₁; lab no. 10 on moisture and vitamin B₁; and lab no. 12 on sodium and calcium analysis) was found.

Since INMU-17 test material was prepared by the PT provider, variation due to sample homogeneity which could contribute to the variation of the submitted data from each participant is minimum, thus, the performance on this test material should indicate the real status of laboratory performance better than using BB test material.

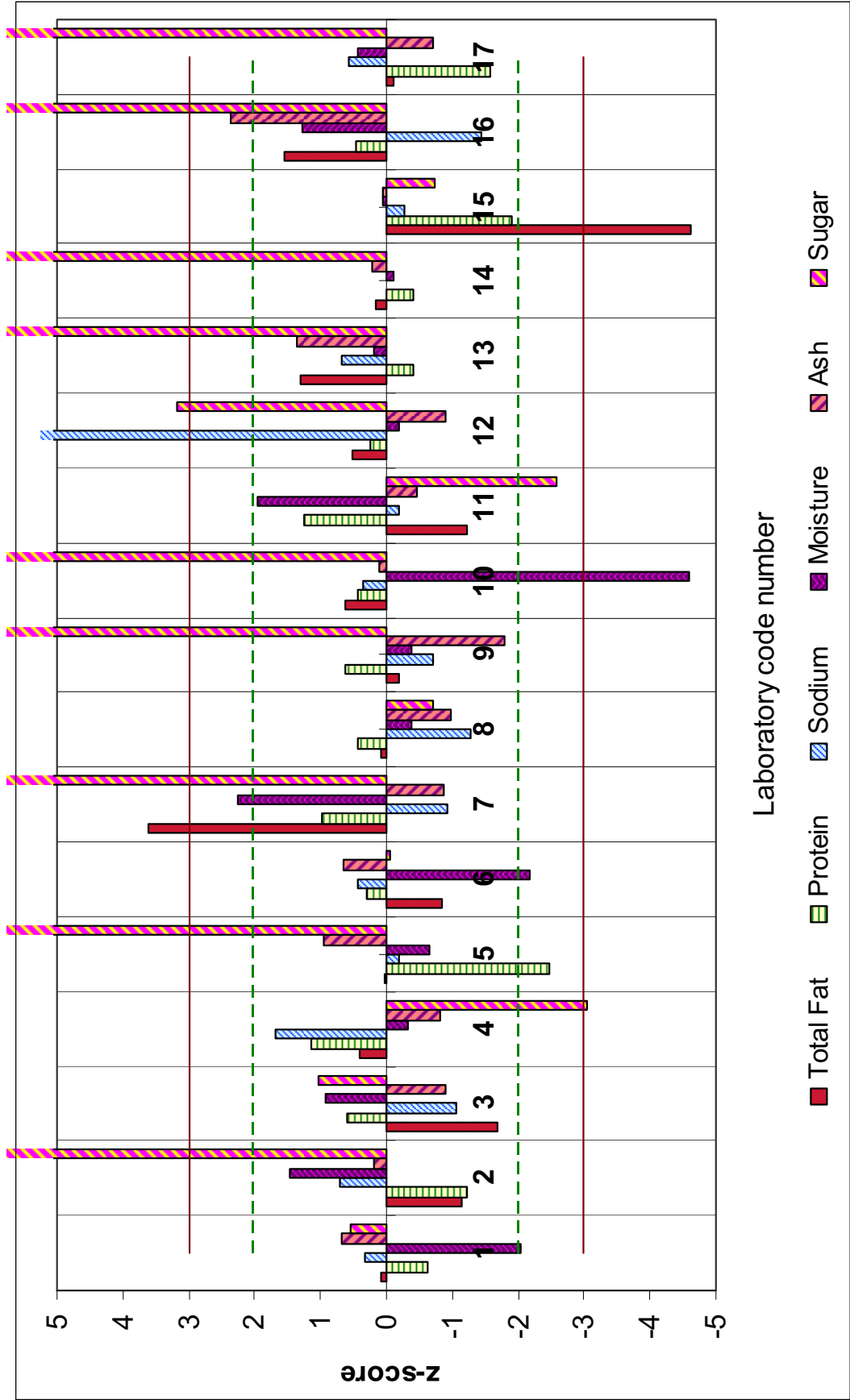


Figure 13A. Bar-chart of z-scores for proficiency testing round 9 (PT-9) in which 17 participants determined mandatory nutrients according to Thai Notification No. 305 (2007) using salted broad bean (BB) as test material.

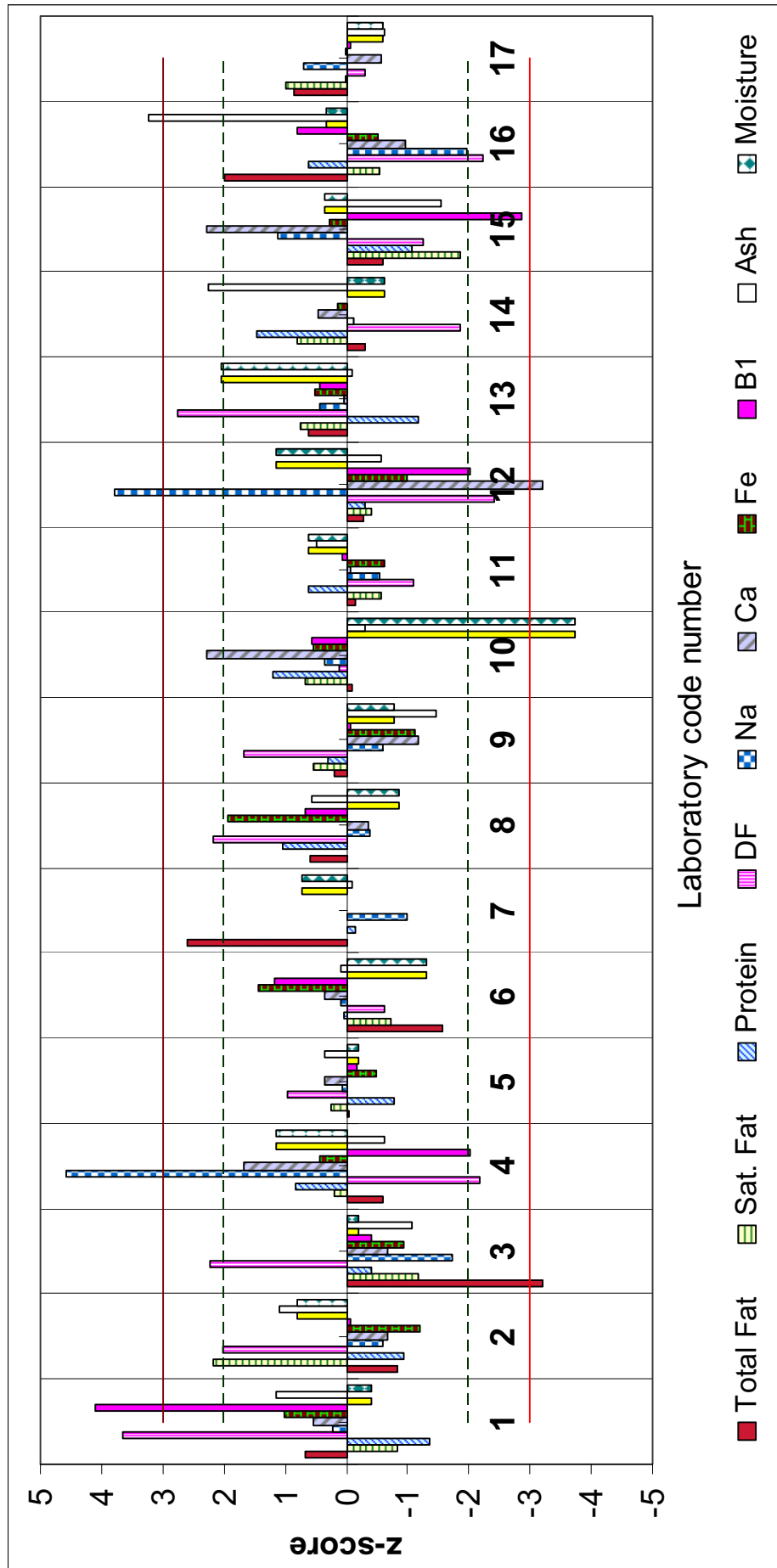


Figure 13B. Bar-chart of z-scores for proficiency testing round 9 (PT-9) in which 17 participants determined mandatory nutrients according to Thai Notification No. 182 (1998) using broad bean powder (INMU-17) as test material.

3.6 Consensus values in salted broad bean (BB) and broad bean powder (INMU-17)

After evaluation of analytical performance of participating laboratories, consensus values of all mandatory nutrients (except trans fat and vitamin B₂) according to Thai Notification No. 182 (1998) for broad bean powder (INMU-17) were developed from participating laboratories with good performance (with z-score values for both within- and between-laboratory variations ≤ 2 , indicated as “a”. The values as mean $\pm$ SD are presented in **Table 18**. The broad bean powder (INMU-17) with consensus values of nutrients becomes a reference material for future laboratory performance study or a quality control sample for internal quality control system and/or as a test material for method validation.

For salted broad bean (BB) test material, the consensus values of mandatory nutrients, according to Thai Notification No. 305 (2007), which include total fat, protein, sugars, sodium, ash and moisture were developed by the same protocol as INMU-17. The consensus values as mean $\pm$ SD are provided as **information only** for participating laboratories. This is because the BB test material was prepared at each individual laboratory without checking homogeneity and stability.

Table 18. Consensus values of nutrients in salted broad bean (BB) and broad bean powder (INMU-17), obtained from good performance laboratories in PT-9

Nutrients	Unit (per 100 g)	Consensus values (Mean $\pm$ SD)	
		Broad bean powder (INMU-17)	Salted broad bean (BB) For information only
Total Fat	g	27.94 $\pm$ 0.65 N=14 ⁽¹⁾ , %CV ⁽²⁾ =2.3	27.44 $\pm$ 0.90 N=14, %CV=3.3
Saturated Fat	g	12.01 $\pm$ 0.80 N=12, %CV=6.7	NA ⁽³⁾
Trans fat	g	Not available due to too low concentration	NA
Protein (N x 6.25)	g	22.60 $\pm$ 0.30 N=15, %CV =1.3	22.32 $\pm$ 0.30 N=14, %CV =1.3
Dietary Fibre	g	9.78 $\pm$ 1.00 N=8, %CV=10.3	NA
Sugars	g	1.03 $\pm$ 0.09 N=13, %CV=9.1	1.03 $\pm$ 0.11 N=5, %CV=10.6
Vitamin B ₁	mg	0.23 $\pm$ 0.02 N=11, %CV=8.6	NA
Vitamin B ₂	mg	Not available due to high variation	NA
Sodium	mg	452 $\pm$ 29 N=14, %CV=6.5	386 $\pm$ 44 N=14, %CV=11.5
Calcium	mg	39 $\pm$ 4 N=10, %CV=10.8	NA
Iron	mg	2.87 $\pm$ 0.28 N=13, %CV=9.7	NA
Ash	g	3.03 $\pm$ 0.07 N=14, %CV=2.2	2.89 $\pm$ 0.10 N=10, %CV=3.6
Moisture	g	3.39 $\pm$ 0.31 N=14, %CV=9.1	3.97 $\pm$ 0.20 N=13, %CV=5.0

⁽¹⁾ N = Number of laboratories, identified as “satisfactory performance”

⁽²⁾ CV = Coefficient Variation

⁽³⁾ NA = Not analysed

3.7 Evaluation of laboratory performance on preparation of Nutrition Information

Participating laboratories were assigned to prepare Nutrition Information from analytical data of nutrients derived from two test materials of salted broad bean (BB and INMU-17). The data of BB test material was used to prepare Nutrition Information according to the Thai Notification No. 305 B.E. 2550 (2007)⁶ and that of the INMU-17 test material was used for preparation of Nutrition Information according to the Thai Notification No. 182 B.E. 2541 (1996)¹.

To investigate the current performance of the participating laboratories, the Nutrition Information of the short and the full formats submitted by participants as such were evaluated in terms of format, serving size and serving per package, calculation on nutrients per serving and % Thai RDI, rounding number, and declaration of nutrition information. However, to take immediate action in improving the performance, the PT provider responded promptly to those who had made some mistakes. Comments and suggestion were sent by e-mails to each participant and they were allowed to submit new documents until the labels were completely correct. A summary of performance is presented in **Table 19 to 21**.

Seventeen laboratories submitted the assigned nutrition labels to the PT provider. The detailed performance on each parameter is as follows

3.7.1 Nutrition labeling format: As shown in **Table 19**, 8 out of 17 laboratories prepared correct format. The detailed incorrect format submitted by the other 9 laboratories were: lab no. 6 included saturated fatty acid, cholesterol and dietary fibre in the simplified format; lab no. 7 used Nutrition Facts instead Nutrition Information in the full format; lab no. 4 used dash line for the whole frame and no lines to separate each section of information; some laboratories did not follow the regulation for the thickness of the horizontal lines which separate each section of information (lab nos. 8, 9, 12, 15, 16), and some used the characters to declare nutrients without bold or bold at the wrong characters (lab nos. 5, 9).

3.7.2 Serving size and serving(s) per package: The net weight of each test material is 50 g and according to the Thai Notification No. 182, a reference amount customarily consumed for a snack is 30 g. Thus the most appropriate serving size for the product should be ½ bag (25 g) and the servings per bag should be 2. Seven out of 17 laboratories (41%) prepared correct serving size and serving(s) per bag (serving size: ½ bag (25 g), servings per bag: 2) (**Table 20**). The descriptions of the incorrect information submitted by other 10 laboratories were, for example, some laboratories strictly indicated the serving size to be equal to the given reference amount (30 g) guided in the Thai Notification or used the whole package (50 g) as requested or suggested by a customer; some did not present the household unit and its weight in the brackets, but presented only the weight (30 or 50 g). The mistake of the presented serving size would carry on to the mistake on indication of serving(s) per bag. For example, when the estimated serving size was declared as ½ bag (30 g) (which is not correct because the net weight of the product is 50 g, ½ bag should be 25 g) resulted in “serving per bag: about 2” or declared as 1/3 cup (30 g) resulted in “serving per bag: about 2” or declared as serving size: 50 g resulted in “serving per bag: 1. These declarations are not appropriate or not correct (**Table 20**).

3.7.3 Calculation: The performance on calculation which includes amount of nutrients per serving, % Thai RDI, and application of rounding number, it was found that 9 out of 17 laboratories (53%) performed them correctly (**Table 21A** and **21B**). Lab no. 3 made a mistake on rounding the amount of saturated fatty acid and lab no.6 on the amount of protein per serving. Lab no. 10 calculated %Thai RDI of protein which should not be done unless the laboratory has information on protein quality and has corrected the amount of protein according to its quality. Lab no. 4 calculated sugars per serving as percent Thai RDI which is not required in the regulation due to no Thai RDI (as weight amount per day)

available for sugars. However, both laboratories did not declare the information on their nutrition labelling. For total energy, 15 out of 17 laboratories (88%) calculated total energy per serving from the amount per 100 g; 2 laboratories (lab nos. 6 and 14) calculated from the amounts of fat, protein and carbohydrate per serving before rounding. The obtained data (after rounding) may not agree completely well with the data calculated from the amounts of fat, protein and carbohydrate per serving which are rounded and declared on the labels (as performed in three laboratories - lab nos. 4, 13 and 16). Although the above ways of calculation are allowed but it should be rechecked with the data calculated from the amounts of the responding nutrients declared per serving which are seen and could be recalculated by the consumers. Lab no. 15 made a mistake on both labels for BB and INMU-17, using energy data per 100 g to declare energy per serving. Examples of simplified and full format of nutrition labelling with declared Nutrition Information of salt broad bean are shown in **Figures 14 and 15**.

Table 19. Evaluation of performance on declaration of nutrition format for salted broad bean, BB and INMU-17, based on Thai Notification No 305 and 182

Lab code number	Nutrition format ^(a)	Detailed information of mistake/error
1, 2, 3, 10, 11, 13, 14, 17	√	
4, 5, 6, 7, 8, 9, 12, 15, 16	X	- Included saturated fat, cholesterol and dietary fibre in the simplified format (lab no. 6) - Used Nutrition Fact instead the full format (lab no. 7) - Used dash line for frame and no lines to separate each section of information (lab no. 4), and the horizontal lines inside the frame did not follow the regulation (lab no. 8, 9, 12, 15, 16), - Characters not bold or bold at the wrong ones (lab no. 5, 9)

^(a) Evaluated from the first set of submitted data (before correction)

Table 20. Evaluation of performance on declaration of serving size and serving(s) per package for salted broad bean - (BB) based on Thai Notification No. 305 and for INMU-17 based on Thai Notification No. 182

Lab code number	Serving size ^(a)	Evaluation ^(b)	Serving(s) per bag	Evaluation ^(b)
2, 6, 9, 12, 14, 16, 17	1/2 bag (25 g)	√	2	√
13	1/2 bag (30 g)	X	About 2	X
8	1/3 cup (30 g)	NA ^(c)	About 2	NA ^(c)
3, 10	1 bag (50 g)	X	1	X
1, 5, 7	30 g	X	Number of serving per container: about 2 (Lab 1)	X
			About 2 times (Lab 5), 1.7 (Lab 7)	X
4, 11, 15	50 g	X	1	X

^(a) Net weight of a package of salted broad bean (BB) is 50 g

^(b) Evaluated from the first set of submitted data (before correction)

^(c) Not appropriate

Table 21A. Laboratory performance on calculation and rounding of nutrients per serving and %Thai RDI in salted broad bean (BB). Evaluation based on the Thai Notification No. 305 (B.E. 2550)

Lab code No.	Serving size	Energy (Kcal)		Fat (g)		Protein (g)		CHO by difference (g)		Sugars (g)		Na (mg)	
		Per serving		Per serving	%Thai RDI	Per serving	%Thai RDI	Per serving	%Thai RDI	Per serving	%Thai RDI	Per serving	%Thai RDI
1	30	150	8	12	7	13	4	0	120	5			
2	25	130	7	11	5	11	4	<1	105	4			
3	50	250	13	20	11	22	7	<1	170	4			
4	50	260	14	22	11	22	7	0 (0%) ^(a)	240	10			
5	30	150	8	12	6	13	4	<1	115	5			
6	25	130	7	11	6	11	4	0	105	4			
7	30	160	9	14	7	12	4	2	105	4			
8	30	150	8	12	7	13	4	0	100	4			
9	25	130	7	11	6	11	4	<1	90	4			
10	50	260	14	22	11 (22%) ^(a)	22	7	1	200	8			
11	50	250	13	20	11	22	7	0	190	8			
12	25	130	7	11	6	11	4	0	160	7			
13	30	150 (160) ^(b)	9	14	7	13	4	<1	125	5			
14	25	130	7	11	6	11	4	<1	95	4			
15	50	490 (240) ^(b)	11	17	11	24	8	0	190	8			
16	25	130	7	11	6	10	3	<1	80	3			
17	25	130	7	11	5	11	4	<1	105	4			

Note: All evaluation was performed based on the first set of submitted data (before correction)

^(a) Calculated as % Thai RDI but participants did not declared on the Nutrition Information (data could not be used for declaration. For protein, if one wants to declared as % Thai RDI, protein quality must be taken into account. For sugars, no recommended amount per day is given in the Thai Notification, so no declaration on sugars as % Thai RDI. On the Nutrition Information, there is already %Thai RDI from carbohydrate).

^(b) Data in the brackets is the correct calculated and rounded data.

Table 21B. Laboratory performance on calculation and rounding of nutrients per serving and %Thai RDI in broad bean powder (INMU-17). Evaluation based on the Thai Notification No. 182 (B.E. 2541)

Lab code No.	Serving size	Energy Kcal		Energy - fat Kcal		Fat g		Sat. Fat g		Protein g		CHO by difference g		Total DF g		Sugars g		Na mg		Vit. B ₁ mg	Vit. B ₂ mg	Ca mg	Fe mg
		Per serving	Per serving	Per serving	Per serving	Per serving	%Thai RDI	Per serving	%Thai RDI	Per serving	%Thai RDI	Per serving	%Thai RDI	Per serving	%Thai RDI	Per serving	%Thai RDI	Per serving	%Thai RDI	%Thai RDI	%Thai RDI	%Thai RDI	%Thai RDI
1	30	160	80	9	14	3.5	18	7	13	4	12	0	140	6	0	6	0	140	6	6	0	<2	6
2	25	130	60	7	11	3.5	18	6	11	4	8	<1	110	5	2	4	0	110	5	2	4	0	4
3	50	250	120	13	20	5.5 (6) ^(b)	25	11	23	8	24	<1	200	8	6	2	2	200	8	6	2	2	8
4	50	260 (250) ^(b)	120	14	22	6	30	11	21	7	16	0	310	13	4	4	0	310	13	4	4	4	10
5	30	150	80	8	12	3.5	18	7	13	4	8	<1	140	6	2	2	<1	140	6	4	2	<2	6
6	25	130	60	7	11	2	10	6.57 (5.65→6) ^(b)	11	4	12	0	115	5	3	0	0	115	5	4	0	0	6
7	30	160	80	9	14	NA ^(c)	NA	7	12	4	NA	2	130	5	NA	2	NA	130	5	NA	NA	NA	NA
8	30	160	80	9	14	NA	NA	7	13	4	20	0	135	6	5	0	0	135	6	4	6	0	8
9	25	130	60	7	11	3	15	6	11	4	12	<1	110	5	3	<1	<1	110	5	4	6	0	4
10	50	260	130	14	22	6	30	12 (24%) ^(a)	22	7	20	2	240	10	5	2	2	240	10	20	2	4	10
11	50	250	130	14	22	6	30	11	21	7	20	0	220	9	5	0	0	220	9	8	2	2	10
12	25	130	60	7	11	3	15	6	11	4	8	0	150	6	2	0	0	150	6	2	0	0	4
13	30	150 (160) ^(b)	80	9	14	4	20	7	13	4	8	<1	140	6	2	<1	<1	140	6	6	4	0	6
14	25	130	60	7	11	3	15	6	11	4	8	<1	115	5	2	<1	<1	115	5	NA	NA	0	6
15	50	510 (260) ^(b)	120	14	22	7	35	11	22	7	NA	<1	250	10	NA	<1	<1	250	10	35	6	2	10
16	25	120 (130) ^(b)	70	7	11	3	15	6	10	3	8	<1	100	4	2	<1	<1	100	4	4	4	0	4
17	25	130	60	7	11	3.5	18	6	11	4	8	<1	120	5	2	<1	<1	120	5	2	0	0	4

Note: All evaluation was performed based on the first set of submitted data (before correction)

^(a) Calculated as % Thai RDI but participants did not declare on the Nutrition Information (data could not be used for declaration. For protein, if one wants to declare as % Thai RDI, protein quality must be taken into account. For sugars, no recommended amount per day is given in the Thai Notification, so no declaration on sugars as % Thai RDI. On the Nutrition Information, there is already %Thai RDI from carbohydrate)

^(b) Data in the brackets is the correct calculated and rounded data

^(c) Not analysis

ข้อมูลโภชนาการ							
หนึ่งหน่วยบริโภค: 1/2 ของ (25 กรัม)							
จำนวนหน่วยบริโภคต่อชิ้น: 2							
คุณค่าทางโภชนาการต่อหนึ่งหน่วยบริโภค							
พลังงานทั้งหมด 130 กิโลแคลอรี							
ร้อยละของปริมาณที่แนะนำให้ทาน*							
ไขมันทั้งหมด	7	ก.			11	%	
โปรตีน	6	ก.					
คาร์โบไฮเดรตทั้งหมด	10	ก.			3	%	
น้ำตาล	น้อยกว่า 1	ก.					
โซเดียม	80	มก.			3	%	

* ร้อยละของปริมาณสารอาหารที่แนะนำให้บริโภคต่อวันสำหรับคนไทยอายุตั้งแต่ 6 ปีขึ้นไป (Thai RDI) โดยคิดจากความต้องการพลังงานวันละ 2,000 กิโลแคลอรี

Figure 14. Simplified format on nutrition labelling of salted broad bean (BB)

ข้อมูลโภชนาการ							
หนึ่งหน่วยบริโภค: 1/2 ของ (25 กรัม)							
จำนวนหน่วยบริโภคต่อชิ้น: 2							
คุณค่าทางโภชนาการต่อหนึ่งหน่วยบริโภค							
พลังงานทั้งหมด 130 กิโลแคลอรี (พลังงานจากไขมัน 60 กิโลแคลอรี)							
ร้อยละของปริมาณที่แนะนำให้ทาน*							
ไขมันทั้งหมด	7	ก.			11	%	
ไขมันอิ่มตัว	3.5	ก.			18	%	
กรดไขมันทรานส์	0	ก.					
คอเลสเตอรอล	0	มก.				%	
โปรตีน	6	ก.					
คาร์โบไฮเดรตทั้งหมด	10	ก.			3	%	
ใยอาหาร	2	ก.			8	%	
น้ำตาล	น้อยกว่า 1	ก.					
โซเดียม	100	มก.			4	%	
ร้อยละของปริมาณที่แนะนำให้ทาน*							
วิตามินเอ	0	%	วิตามินบี 1	4	%		
วิตามินบี 2	4	%	แคลเซียม	0	%		
เหล็ก	4	%					
* ร้อยละของปริมาณสารอาหารที่แนะนำให้บริโภคต่อวันสำหรับคนไทยอายุตั้งแต่ 6 ปีขึ้นไป (Thai RDI) โดยคิดจากความต้องการพลังงานวันละ 2,000 กิโลแคลอรี							
ความต้องการพลังงานของแต่ละบุคคลแตกต่างกัน ผู้ที่ออกกำลังกายวันละ 2,000 กิโลแคลอรี ควรได้รับสารอาหารต่างๆดังนี้							
ไขมันทั้งหมด	น้อยกว่า	65	ก.				
ไขมันอิ่มตัว	น้อยกว่า	20	ก.				
คอเลสเตอรอล	น้อยกว่า	300	มก.				
คาร์โบไฮเดรตทั้งหมด		300	ก.				
ใยอาหาร		25	ก.				
โซเดียม	น้อยกว่า	2,400	มก.				
พลังงาน (กิโลแคลอรี) ต่อกรัม : ไขมัน = 9; โปรตีน = 4; คาร์โบไฮเดรต = 4							

Figure 15. Full format on nutrition labelling of broad bean powder (INMU-17)

Summary: laboratory performance on preparation of nutrition labelling

A summary of laboratory performance on preparation of nutrition label is shown in **Table 22**. Three laboratories (lab nos. 2, 14, 17) out of 17 laboratories (18%) are identified as good performance on preparation of nutrition labelling; they submitted correct information for all evaluated parameters. Lab nos. 11 and 12 completed the label with only one mistake on serving size and/or serving per bag and on format, respectively. Lab nos. 4 and 15 were identified as unsatisfactory performance, having some mistakes in all parameters. Format and serving size and/or serving per bag are two common errors experienced in this group of laboratories. For immediate action to improve the performance, laboratories that had made some mistakes were requested by the organiser to correct the submitted information. Finally, all of them were able to perform correct nutrition labelling.

Table 22. Summary of laboratory performance on preparation of nutrition labelling

Lab code number	Parameters for evaluation		
	Format	Serving size and/or serving(s) per bag	Calculation and rounding
1	√	X	√
2	√	√	√
3	√	X	X
4	X	X	X
5	X	X	√
6	X	√	X
7	X	X	√
8	X	X	√
9	X	√	√
10	√	X	X
11	√	X	√
12	X	√	√
13	√	X	X
14	√	√	√
15	X	X	X
16	X	√	X
17	√	√	√
Sum of laboratories for each error (X)	9	10	7

Note: All evaluation was performed based on the first set of submitted data (before correction)

4. CONCLUSION AND RECOMMENDATION FROM LABORATORY PERFORMANCE ROUND-9 (PT-9)

- a. PT-9 is the fourth PT rounds with the objective to evaluate the performance of laboratories on analysis of mandatory nutrients for nutrition labeling and the second PT rounds which included the performance on preparation of the nutrition information on the label. In addition, this PT round included the study on the mandatory nutrients which specified in two Thai Notifications (Nos. 182 and 305) for Nutrition labeling. Thus, the study is quite complicated, tedious, and time consuming.
- b. The selected salted broad bean test materials are good representative of commercial snacks for real practices. They contain high levels of protein and fat which could make problems on sample preparation and some nutrient analyses. Participants could have real experience and share them to other laboratories during PT-9 Technical Meeting.
- c. For food samples similar to the salted broad bean, attention must be paid to the step of sample preparation since its homogeneity could affect some analysis. Appropriate amounts of sample should be concerned for each nutrient analysis, i.e., the minimum sample used for each analysis should not be less than one gram.
- d. Several laboratories have problems on moisture determination, the AOAC method for moisture analysis in legumes and seeds should be followed carefully.
- e. Analytical performance of laboratories on some mandatory nutrients which were identified as problematic nutrients in previous studies are very much improved in this PT round. They are analyses of fat, saturated fat, sodium, calcium and iron. However, other four problematic mandatory nutrients on analyses are still existed; they are dietary fibre, sugars, vitamin B₁ and B₂. Corrective actions and technical communication and collaboration among laboratories are required before further participating in the next proficiency testing. Regular participating in the PT programme which includes these nutrients analyses could indicate the improvement of the performance.
- f. For analysis of sugars, although LANE–EYNON and Munsen-Walker methods are the AOAC standard methods, they may not be appropriate for some food matrices, i.e., legume, nuts, seeds, tubers which contain oligosaccharides. Method with better selectivity is recommended, i.e., HPLC, GC.
- g. Working on food sample with high fat and protein, similar to the salted broad bean, removing of these components should facilitate and improve the analytical quality of sugars, dietary fibre and probably vitamin B₁ and B₂.
- h. For trans-fat, although it has not yet been one of the mandatory nutrients in Thai Notification for nutrition labeling, more attention should be given on the analysis and it should be included in future PT study with appropriate test material.
- i. The broad bean powder (INMU-17) with consensus values of nutrients derived from this PT-9 becomes a reference material which can be used for corrective action, checking laboratory performance, used as a reference for development of assigned values in an in-house quality control sample, and/or as a test material for method validation.
- j. For preparation of nutrition labeling, it would be a disappointing if a laboratory has a good performance on analysis of mandatory nutrients but not being able to perform the correct nutrition labeling. Thus, an extensive training in the preparation of nutrition labeling should be attended, especially for the new staff.

REFERENCES

1. Administration of Food and Drug and Ministry of Public Health, Notification of the Ministry of Public Health (N0. 182) B.E. 2541 (1998) Re: Nutrition Labelling, Ed. (1998).
2. Puwastien P., Sungpuag P. and Judprasong K., Laboratory performance study III, External Analytical Quality Control Programme (1998) for Nutrition Labelling, Ed. Institute of Nutrition, Mahidol University, Nakhon Pathom (1999).
3. Puwastien P. and Raroengwichit M., Summary Report: Laboratory performance study IV, Ed. Institute of Nutrition, Mahidol University, Nakhon Pathom (2000).
4. Puwastien P., Pinprapai N., Judprasong K. and Sungpuag P., FINAL REPORT Laboratory Performance study 7: analysis of mandatory nutrients for nutrition labelling, Ed. Institute of Nutrition, Mahidol University, Nakhon Pathom (2003).
5. Puwastien P., Sungpuag P. and Judprasong K., Proficiency testing III; External Analytical Quality Control Programme (1998) for Nutrition Labelling., Ed. Institute of Nutrition, Mahidol University, Nakhon Pathom (1998).
6. Administration of Food and Drug and Ministry of Public Health, Notification of Ministry of Public Health (No. 305) B.E. 2550 (2007) Re. Labeling of some kinds of ready-to-eat foods, Ed. (2007).
7. Boonpor J., Puwastien P., Judprasong K., Tanjor S. and Sirichakwal P.P., Evaluation of nutrition information on food packages of ready-to-eat products, Ed. Institute of Nutrition, Mahidol University, Phuthamonthon 4, Salaya, Nakhon Pathom 73170, Thailand, Nakhon Pathom (2010).
8. ISO/IEC 17043, *Conformity assessment-General requirements for proficiency testing*. Geneva, Switzerland (2010).
9. ISO 5725, *Precision of test methods – Determination of repeatability and reproducibility by interlaboratory tests*. (1981).
10. ISO 13528: 2005(E), *Statistical methods for use in proficiency testing by interlaboratory comparisons*. Geneva, Switzerland (2005).
11. http://www.aoac.org/dietsupp6/Dietary-Supplement-web-site/HORRAT_SLV.pdf, *Definitions and calculations of HORRAT values from intralaboratory data* [28 March 2010].
12. Horwitz W. and Albert R., The Horwitz Ratio (HorRat): A Useful Index of Method Performance with Respect to Precision. *Journal of AOAC International* **89**:1095-1109 (2006).
13. ISO Guide35, *Reference materials- General and statistical principles for certification*. Geneva, Switzerland (2006).
14. Horwitz W, Albert R and Deutsch M J, Precision parameters of methods of analysis required for nutrition labelling. Part II. Macro elements. *J AOAC Inter.* 227–239 (1992).
15. National Association of testing Authorities (NATA), *New statistics for NATA's proficiency testing programmes*. Australia (1996).
16. ISO Guide 43-1, *Proficiency testing by inter-laboratory comparisons – Part 1: Development and operation of proficiency testing schemes*. (1997).
17. Puwastien P., Pinprapai N. and Judprasong K., Laboratory performance study V: Main nutrients analysis, Ed. Institute of Nutrition, Mahidol University, Nakhon Prathom (2001).
18. Puwastien P., Raroengwichit M., Sungpuag P. and Judprasong K., *Thai Food Composition Tables*. Institute of Nutrition, Mahidol University, Bangkok, Thailand (1999).
19. Puwastien P., Judprasong K. and Pinprapai N., Development of rice reference material and its use for evaluation of analytical performance of food analysis laboratories. *Journal of Food Composition and Analysis* **22**:453–462 (2009).
20. Torelm I., Interlaboratory Variance in Analysis of Major Nutrients in Foods. *Journal of Food Composition and Analysis* **7**:2-22 (1994).
21. Jones D.B., Factors for converting percentages of nitrogen in foods and feeds into percentages of proteins, Ed. Washington, D.C. (1941).
22. Dvořák R., Pechová A., Pavlata L., Klejdus B., Kovařík K., Dostálová J., Culkova J., Filípek J., And Svajdlenka E. V. C, *Reduction in the content of antinutritional substances in fava bean (Vicia faba) by different treatments*. http://www.crpa.it/media/documents/crpa/www/Progetti/R-Innova-P/biblio/05_0135.pdf [28 March 2010].
23. USDA, USDA National Nutrient Database for Standard Reference, Ed. (2009).
24. Arellaa F., Lahélyb S., Bourguignonc J. B. and Hasselmann C., Liquid chromatographic determination of vitamins B1 and B2 in foods. A collaborative study *Food Chemistry* **56**:81-86 (1996).
25. Ball G.F.M., *Water-soluble vitamin assays in human nutrition*. Chapman and Hall, London (1994).
26. Augustin J., Klein B., Becker D. and Venugopal P.B., *Methods of vitamin assay*. John Wiley & Sons, New York (1985).
27. Horwitz W., *Official Methods of Analysis of AOAC International, 17th ed., Vol. 2., Riboflavin Fluorometric Methods* 970.65 Ch. 45 pp. 9-10. (2000).

APPENDICES

Appendix 1. Names and address of participants in PT- 9

Contact person / Address	Tel. No.	Fax No.	E-mail address
นันทยา จงใจเทศ กองโภชนาการ กรมอนามัย กระทรวงสาธารณสุข ตำบลตลาดขวัญ อำเภอเมือง จังหวัดนนทบุรี 11000	0-2968-7619	0-2968-7616	nuntaya@health.moph.go.th, s_jutharat@hotmail.com
นิภาภรณ์ ลักษณโสมยา สำนักคุณภาพและความปลอดภัยอาหาร กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ ถนนติวานนท์ อำเภอเมือง จังหวัดนนทบุรี 11000	02-951-0000 ext 98332	0-2-951-1023	niphaporn.l@dmsc.mail.go.th
บังอร บุญชู (นางนุช เมธียนต์พิริยะ) โครงการวิทยาศาสตร์ชีวภาพ กรมวิทยาศาสตร์บริการ ถนนพระรามที่ 6 เขตราชเทวี กรุงเทพฯ 10400	0-2201-7203 02-201-7195 (นางนุช)	0-2689-8652	bangorn@dss.go.th, nongnuchm@hotmail.com, nmaytee@dss.go.th
พงศธร สังข์เผือก สถาบันโภชนาการ มหาวิทยาลัยมหิดล 25/25 ถนนพุทธมณฑล 4 ตำบลศาลายา อำเภอพุทธมณฑล จังหวัดนครปฐม 73170	02-800-2380 Ext. 317	02-441-9344	grpsp@mucc.mahidol.ac.th
ธนิดา พิมพ์มา บริษัท ห้องปฏิบัติการกลาง (ประเทศไทย) จำกัด สาขากรุงเทพ 50 ถนนพหลโยธิน แขวงลาดยาว เขตจตุจักร กรุงเทพฯ 10900	02-940-5993 ext.210	02-940-5993 ext. 200	thanida@centrallabthai.com
ปรียาพร แจ้งการกิจ อุตสาหกรรมพัฒนามูลนิธิเพื่อสถาบันอาหาร 2008 ซอยอรุณอมรินทร์ 36 ถนนอรุณอมรินทร์ แขวงบางยี่ขัน เขตบางพลัด กรุงเทพฯ 10700	0-2886-8088 ext. 5100	0-2886-8088-103	preeyaporn@nfi.or.th
บุญญฤทธิ์ สุดดี บริษัท ห้องปฏิบัติการกลาง (ประเทศไทย) จำกัด สาขาสุมทราคร 23/13 หมู่ที่ 9 ตำบลโคกขาม อำเภอเมือง จังหวัดสมุทรสาคร 74000	0-3485-7710-15	0-3485-7709	punyarit@centrallabthai.com
เปรมรัตน์ จิตหาญ ศูนย์บริการประกันคุณภาพอาหาร สถาบันค้นคว้าและพัฒนาผลิตภัณฑ์อาหาร ม.เกษตรศาสตร์ ตูโป.ณ. 1043 ปทผ.เกษตรศาสตร์ ม.เกษตรศาสตร์ จตุจักร กรุงเทพฯ 10903	0-2942-8629-35 ext.821	0-2942-7601	ifprj@ku.ac.th
วิลาลย์ พงษ์พิทักษ์ ปารมี เพ็งปรีชา (mineral) ศูนย์ทดสอบและมาตรวิทยา สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และ เทคโนโลยีแห่งประเทศไทย นิคมอุตสาหกรรมบางปู ซอย 1 ถนนสุขุมวิท อำเภอเมือง จังหวัดสมุทรปราการ 10280	0-2323-1672-80	02-323-1904	vilaval@tistr.or.th, tlckung@yahoo.com, paramee@tistr.or.th (mineral)

Appendix 1. Names and address of participants in PT- 9 (continued)

Contact person / Address	Tel. No.	Fax No.	E-mail address
ฐานิตา สายพิน ทัศนีย์ รัตนกุลวงศ์ ALS Laboratory Group (Thailand) Co., Ltd 615 อาคารจิตต์อุทัย ถนนรามคำแหง แขวงหัวหมาก เขตบางกะปิ กรุงเทพฯ 10240	0-2715-8700	0-2374-4040	Thanita.Saipin@alsglobal.com, Tasanee.Ratanakulwad@alsglobal.com
ปณณิสรา เตือประโคน (สุวรรณ ทองเนียม) บริษัท ไทย อกริ ฟู้ดส์ จำกัด (มหาชน) 155/1 หมู่ที่ 1 ถนนเทพารักษ์ 1 อำเภอบางเสาธง จังหวัดสมุทรปราการ 10540	02-315-4171-76 Ext 113	02-706-3521	poonnisa@thaiagri.com, s_thongnium@hotmail.com
ภัทรวรรณ วรณเจริญ บริษัท รับตรวจสินค้าโพ้นทะเล จำกัด 12-14 เย็นอากาศ ซอย 3 ถนนเย็นอากาศ แขวงช่องนนทรี เขตยานนาวา กรุงเทพฯ 10120	02-286-4120 Ext.111	02-287-5106	pattarawan@omicnet.com
วิไล ภัทรปัญญากุล ประมวล แก้วขาว (Minerals) บริษัท แอนาไลติกอล ลาบอราทอรีส์ เซอร์วิส จำกัด 611/277-279 ซอยวัดจันทรีใน ถนนเจริญกรุง แขวงบางโคล่ เขตบางคอแหลม กรุงเทพฯ 10120	02-689-8164-5	02-689-8652	alslab@samarts.com
ยวดี ฤทธิ์ประคองเชาว์ บริษัท เคมีแล็บ เซอร์วิสเซล (ประเทศไทย) จำกัด 282 อาคารบี 3 ซอยศูนย์วิจัย 4 ถนนพระรามที่ 9 แขวงบางกะปิ เขตห้วยขวาง กรุงเทพฯ 10310	02-7196-488-92	02-719-6483	yuwadeer@chemlab.com.my
สุรทิน จุฬโฬาร (ผู้ประสานงาน) ศิริรักษ์ กมลวิบุรณ์ (ผู้ให้ข้อมูล) นเรศน์ ปัญญานนทชัย ห้องปฏิบัติการบริษัท เอสจีเอส (ประเทศไทย) จำกัด 41/23 ซอยถนนพระรามที่ 3 (59) ถนนพระรามที่ 3 แขวงช่องนนทรี เขตยานนาวา กรุงเทพฯ 10120	02-294-7485-86 02-683-0541-9	02-294-7484 02-683-0758	surathin.chula-o-larn@sgs.com, siriruk.kamonwiboon@sgs.com, narate.panyanontachai@sgs.com
สุภาวดี วิจารณ์ กรกช ไชยพล บริษัท เข้าทีเอสดี เอเชียนลาบอราทอรีส์ จำกัด 256/1 ซอยสันนิบาตเทศบาล ถนนรัชดาภิเษก แขวงจันทระเกษม เขตจตุจักร กรุงเทพฯ 10900	0-2939-1131-3	0-2512-3821	supawadee@seallab.co.th, korakot@seallab.co.th
ณัชชา สีแก้วน้ำใส บริษัท ศูนย์ปฏิบัติการและวิจัยทางการแพทย์และเกษตรแห่ง เอเชีย จำกัด (AMARC) 361, 361,361/1-2 ลาดพร้าว ซอย 122 (แยก 25) เขตวังทองหลาง กรุงเทพฯ 10310	02-934-2381-3 Ext. 312	02-934-0661 Ext. 514	palm_ns@hotmail.com

APPENDIX 2. Analytical procedures used among participating laboratories

A. Total fat analysis

Sample weight g (lab #)	Acid / Alkali Hydrolysis (lab #)	Drying Temperature/ time (lab #)	Extraction solvent & time (lab #)	Evaporation of solvent Temperature/ time (lab #)	Measurement (lab #)	Quality control sample (lab #)	References (lab #)
0.5-0.6 g (L-6)	- Diluted HCl (L-2, 4, 11, 12, 13, 14, 15, 16)	- 80 °C / 30 min (L-12)	- Diethyl ether / Petroleum ether (L-2, 5, 7, 8, 9, 12, 13, 14, 16, 17) / 15 min (L-7)	- 40-80 °C (L-2, 14) / 2 h (L-14)	- Gravimetric (L-13, 14)	- Flour (L-4)	- In house method based on AOAC (2005) 989.05 (L-1)
0.3-1.0 g (L-7)		- 100-105 °C (L-1, 6, 13, 17) / 30 min (L-1) 1 h (L-6)	- Ethanol, ether, petroleum ether (L-11)	- 60-70 °C / 20-30 min (L-9, 17)	- Soxtec (L-1, 6, 10, 15)	- QCM, Soybean (L-6, 9, 11)	- AOAC (2005) 922.06 (L-2, 5, 4, 8, 9, 11, 12, 15, 16, 17)
1 g (L-9, 10, 16)	- 3M HCl (L-10)	- 103±2 °C (L-17)	- Petroleum ether (L-1, 6, 10, 15) / 80 min (L-6), 110 min (L-1), 2 h (L-15)	- 95-100 °C (L-3, 4, 13) / 1 h (L-3, 4)	- Mojornior tube (L-17)	- Cornflake (L-13)	
1-1.5 g (L-17)	- HCl (L-1, 5, 6, 8, 9)	- Microwave set at defrost / 1 h (L-10)	- Ethyl alcohol + ethyl ether, 1 min + pet. ether 1 min (L-4)	- 100±2 °C (L-1, 6, 7, 8, 11, 12, 16) / 10 min (L-1) / 1 h (L-6, 7, 8, 11, 12)	- GC (L-3)	- Cereal Soy (L-17)	- AOAC(2005) 933.05 For Salted board bean (L-3)
2 g (L-1, 3, 5, 8)	- Conc. HCl (L-7, 17)		- Hexane / 45 min(L-3)	2 h (L-16)			- AOAC(2005) 996.06 For Board Bean powder (L-3)
2-5 g (L-2, 4, 11, 12, 13, 14, 15)	- HCl/ NH ₄ OH (L-3)			- 103 °C / 2 h (L-10)			- AOAC (2005) 948.15 (L-6, 13)
							- AOAC 2005, 954.02 (Acid Hydrolysis) (L-7)
							- In-house method based on ISO 1443:1973 (L-10)

B. Saturated fat analysis

Sample weight g (lab #)	Extraction (crude fat or cold extraction) (lab #)	Methods/Chemicals Saponification and Methylation (lab #)	Measurement (lab #)	Quality control sample (lab #)		References (lab #)
				Yes	No	
- 0.02–0.07 g (L-3, 6)	- Crude fat (L-1, 2, 3, 4, 5, 6, 11, 12, 13, 15, 16)	- Saponification: - HCl + Ethanol (L-2, 3) - NaOH in Methanol (L-5, 9, 11, 14, 15)	GC-FID (all labs, except L-7, 8 – not analysed)	- 0.558±0.047 (L-1)	L-2, 4, 5, 10, 12, 14, 15, 16	- In house method based on Compendium of Methods for Food Analysis, Thailand (2003) (L-1, 14)
- 0.1–0.3 g (L-2, 4, 5, 10, 11, 12, 13, 14, 15)	- Cold extraction (L-9, 14)	- Methylation: - BF ₃ (L-11, 15) - BF ₃ and Toluene (L-2, 3, 16, 17) - BF ₃ in Methanol (L-5, 9, 10, 13, 14)		- QCM -soybean (L-11)		- Compendium of Methods for food Analysis (2003), P2-33 to P2-36) (L-5);
- 0.5–1g (L-1, 9, 16, 17)				- Milk powder (L-3, 6)		- AOAC (2005) 996.06 (L-2, 3, 16, 17)
				- Peanut Butter (L-13)		- In house method based on AOAC(2005) 963.22, 996.06 (L-4)
				- Shredded pork (L-17)		- AOAC 969.73, 963.22 (L-6)
				- Soybean oil (L-9)		- AOAC (1995) 963.22, AOAC- IUPAC method 16th ed. (L-9)
						- AOAC (2005) 991.39 (L-11)
						- AOAC (2005) (L-12, 15)

C. Protein (N x 6.25) analysis

Sample weight g (lab #)	Catalyst (lab #)	Acid Digestion (lab #)	Distillation and Receiver solution (lab #)	Quantitation by (Titrate with) (lab #)	Quality control sample (lab #)		References (lab #)
					yes	No	
- ≤ 0.5 g (L-2, 3, 7, 8, 14, 5, 16,)	- Kjeltabs: K ₂ SO ₄ + CuSO ₄ ·5H ₂ O (L-2, 8, 5, 6, 9, 10, 15, 16, 17)	- Conc. H ₂ SO ₄ (L-1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 13, 14, 15, 16, 17)	Distillation - Add H ₂ O before distillation (L-2, 3, 4, 17) - Distillation: - NaOH 40% (L-2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 13, 14) - NaOH 50% (L-16, 17) - Excess NaOH (L-11)	- ~0.1 N HCl (L-1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 14, 15) - 0.05 M H ₂ SO ₄ (L-16) - 0.1 N H ₂ SO ₄ (L-17) - 0.1 N NaOH (L-13)	- Cereal product (L-1) - In-house RM-feed (L-2) - Full-fat soy flour (L-3) - Soybean flour (L-4, 9) - Milk powder (L-6, 8, 11) - Cereal soy (L-17) - Tryptophan, check efficiency of digestion step and (NH ₄) ₂ SO ₄ to check efficiency of distillation (L-7) - Egg powder (L-13) - Acetanilide (L-10)	L-5, 14, 15, 16	- In house method based on AOAC (2005) 991.20 (L-1, 4, 8, 9) - In-house method based on AOAC (2007) 991.20 (L-10) - AOAC (2005), 991.20 (L-11) - AOAC (2005) 981.10 (L-2, 3, 7, 14) - In house Method based on AOAC (2000) 981.10 (L-5) - In-house method TM- CH-017 based on AOAC(2005), 981.10 (L-12) - AOAC 991.20, 981.10 (L-6) - AOAC (2005) 930.29 (L-15) - In-house method based on AOAC (2005) 984.13A (L-16) - AOAC (2005) 935.39 (L-17)
- ≤ 1.5 g (L-4, 6, 9, 10, 15, 11, 12, 13, 17)	- Kjeltabs: K ₂ SO ₄ + Se ₂ tablets (L-1, 3, 4, 7, 11, 12, 13)	- Digestion unit Foss (L-12)	Receiver solution : - 1% Boric acid (L-9) - 2% Boric acid (L-6) - 3 % Boric acid (L-5) - 4% Boric acid (L-1, 2, 3, 4, 7, 8, 14, 15, 16, 17, 11) - 0.08 N H ₂ SO ₄ (L-13) - Boric acid (L-10), using Kjeltac - Using Teketor 2200 (L-12)				
- 2 g (L-1)							

D. Dietary fibre analysis

Sample weight g (lab #)	Pre-treatment, if any: de-fat, de-sugar (lab #)	Enzymes and conditions used (lab #)	Determination/calculation (lab #)	References (lab #)
- 0.3 g (L-13) - 0.5-1 g (L-1, 2, 3, 4, 5, 6, 8, 9, 10, 11, 12, 14, 16, 17) - 10 g (L-15)	- De-fat (L-1, 8, 9, 16, 17)	- α -Amylose, 100 $\pm$ 5°C, 30 min/15 min (L-6, 14, 15); protease, 60°C, 30 min - Amyloglucosidase, 60°C, 25-30 min (L-2, 3, 5, 6, 8, 9, 10, 11, 13, 14, 15, 16, 17,)/not specify temp and time (L-1, 5, 12; not specify time (L-4) - no information on enzyme treatment (L-8).	- Calculated by deduction of ash and protein from the residue (L-1, 2, 3, 4, 5, 6, 8, 9, 10, 11, 13, 14, 16, 17) - Calculated by deduction of protein, ash and blank from the residue (L-15) - Calculated by deduction moisture, ash and protein from the residue (L-12)	- In house method based on AOAC (2005) 985.29 (L-1, 2, 3, 4, 5, 11, 14, 16, 17) - AOAC (2005) 985.29 (L-6, 8, 9, 10)
	- De-fat by soxhlet/Soxtec (L-2,3), hexane-3 times(L-5), petroleum ether (L-6, 10), diethyl ether : petroleum ether (L-14), twice (L-15)			
	- De-fat, then dried in an oven (L-11)/at 120° C about 2 h (L-15); grinded using a mortar (L-11)			
	De-fat and de-sugar before analysis (L-4, 12, 13)			

E. Sugars analysis

Sample weight g (lab #)	Pre-treatment, if any e.g., de-fat, de-sugar (lab #)	Extraction Reagents and conditions (lab #)	Instrument and detector e.g., HPLC-RI, ELSD (lab #)	Quality control sample (lab #)		Reference (lab #)
				Yes, specify	No	
- 1-2 g (L-1, 9,15)	- De-fat (L-6, 8, 15- dissolved first in warm water)	- Extract with 85% ethanol at 60°C (L-6); water (L-3, - hot, 8, 14, 15); 60% ethanol at 80°C (L-4, 11 – add ZnSO ₄); water+ethanol 1:1 (L- 12)	- HPLC-ELSD (L-6, 1)	- Cereal product, std sugars fructose, glucose, sucrose (L-1);	L-2, 3, 4, 7, 8, 15, 16,	- In house method based on AOAC (2006) 982.14 (L-1)
- 5 g (L-3, 4, 6, 11, 12, 14, 16)	- Precipitate protein or de- protein (L-1, 2 – with added water (+ convert sugars) L-5, 16 - dissolved first in water)		- HPLC-RI (L-3, 4, 8, 11, 12, 15			- Compendium of method for food analysis (2003), C2, p 84-86 (L-2, 5)
- 2-3 g (L-13)				- Guava juice (6)		- JAOAC (1992), Vol. 75, No3 , p.443 – 464 (L-3)
- 5-10 g (L-5)	- De-protein (lead acetate) + convert sugars (L-7)			- Cereal (Nesvita) (L-9)		- AOAC (2005) 982.14 (L-4, 6)
- 7 g (L-8)	- Defat + de-protein (L-9)	- Copper sulfate+alkaline tartrate solutions (L- 5);	- Cu ppt or react with Fehling's Solution (L-2, 5, 7, 10, 16)	- Flour (L-11)		- AOAC 2005, 925.35(B) (L-9, 14)
- 5-20 g (L-2)				- QC sample (L-12)		- In-house method based on AOAC (2007) 968.28 (L-10)
- 10 g (L-10, 17)	- Not included (L-3, 4, 11, 12, 7, 10, 13, 14, 17)		- Gravimetric method (L-9, 14, 17)	- Milk powder (L-13)		- AOAC (2005) 984.12 (L-11)
- 25 g (L-7)			- Back titration (L-10, 13)	- Bread crumbs (L-14)		- In-house method based on AOAC(2005), 982.14 (L-12)
				- Cereal Soy (L-17)		- AOAC(2005) 974.06 (L-13)
						- Guideline for Aminex 87 C (L-15)
						- In-house method based on AOAC (2005).950.50 (L-16)
						- AOAC (2005) 906.03+ 925.35 (L-17)
						- None (L-7, 8)

F. Sodium and calcium analysis (except Lab 7)

Sample weight g (lab #)	Dry ashing or wet digestion (Temperature, chemical, time) (Lab #)	Measurement (AAS, ICP-OES, ICP-MS) (Lab #)	Quality control sample (Lab #)		References (Lab #)
			Yes	No	
- 0.5 g (L-2, 3, 12) - 1 g (L-1, 5, 6, 9, 11, 13 (Na), 14, 15, 16) - 1.5 g (L-4) - 2 g (L-10, 13 (Ca), 17) - 2 – 3 g (L-7)	Wet digestion (L-1, 3, 4, 7 (Na only), 11, 15) with - HNO ₃ + HCl (L-3) - HNO ₃ + HClO ₄ (L-1, 4, 11, 15) - Conc HNO ₃ (L-7) at 60°C, 30 min → 120°C, 30 min → 150°C, 30 min → 180°C, 30 min → 200°C until clear solution (L-1)/200°C 90 min (L-4) no detailed information (L-3, 7, 11, 15)	- ICP-OES (L-1, 2, 3, 4, 5, 13); - AAS (L-6, 8, 9, 10, 11, 12, 14, 15, 16, 17); - Titration, calculate for Na (L-7) - No report for Ca (L-7)	1. Used of RMs: Cereal product (L-1), Fish Meal (L-3), RM-Na/Ca for checking standard curve (L-15), milk powder (L-6), soybean powder (L-9), QC check standard (L-10), QC sample (L-12), dry milk (L-13), bread powder (L-14), SRM 1846 Infant formula (L-16), cereal soy (L-17)	L-2, 4, 7 (Na)	-
	Dry ashing (L-6, 8, 9, 10, 13, 14, 16, 17) at 525°C (L-10)/550°C (L-6, 9, 14, 16, 17); add HCl & CsCl (10-Na only)/1:1 HNO ₃ (L-14)/1:3 HCl+conc.HNO ₃ (L-16); for 2 h (L-14)/3 h (L-6, 17)/4 h (L-9, 16)/ overnight (L-10), no information (L-8, 13)				
	Microwave (L-2, 5, 12) -HNO ₃ + H ₂ O ₂ (L-2, 5) -Conc. HNO ₃ + H ₂ O ₂ → clear +add CsCl for Na)/add LaCl for Ca (L-12) Step1: 180 °C, 10 min (L-5) Step2: 180 °C, 20 min (L-5) Step1: 200 °C 1000 Watt, 10 min (L-2) Step2: 200 °C 1000 Watt, 20 min (L-2)		2. Use % Recovery and % RPD (L-5); method blank, duplicate analysis (L-10)		

G. Iron analysis

Sample weight g (lab #)	Dry ashing or wet digestion (Temperature, chemical, time) (lab #)	Measurement (AAS, ICP- OES, ICP-MS) (lab #)	Quality control sample (lab #)		References (lab #)
			Yes	No	
- 0.5 g (L-2, 3, 12) - 1 – 1.5 g (L-1, 4, 5, 6, 9, 10, 14, 15) - 2 g (L-13, 17) - 3 g (L-16) - 5 g (L-11)	Wet digestion (L-1, 3, 4, 6, 11, 15) with - HNO ₃ + HCl (L-3) - HNO ₃ + HClO ₄ (L-1, 4, 6, 11, 15) at 60 °C, 30 min → 120 °C, 30 min → 150 °C, 30 min → 180 °C, 30 min → 200 °C until clear solution (L-1) / 200 °C 90 min (L-4) / 110 °C, 6 hrs (6) No information (L-3, 11, 15) Dry ashing (L-8, 9, 10, 13, 14, 16, 17) At 450 °C, HCl (L-10) / 500 °C with 1:3 HCl + conc. HNO ₃ (L-16) / 550 °C (L-9, 14, 17), with 1:1 HNO ₃ (L-14) / for 2 h (L-14) / 3 h (L-17) / 4 h (L-9, 16) / overnight (L-10) / no information (L-8, 13) Microwave (L-2, 5, 12) HNO ₃ + H ₂ O ₂ (L-2, 5, 12) Step1: 200 °C 1000 Watt, 10 min (L-2) Step2: 200 °C 1000 Watt, 20 min (L-2) Step1: 180 °C, 10 min (L-5) Step2: 180 °C, 20 min (L-5) No detailed information (L-12)	ICP-OES (L-1, 2, 3, 4, 5, 6, 13); AAS (L-8, 9, 10, 11, 12, 14, 15, 16, 17)	1. Use of RMs: cereal product (L-1), Fish Meal (L-3), RM-Fe for checking standard curve (L-15), soybean powder (L-6, 9); QC sample (L-12), dry milk (L-13), bread powder (L-14), cereal soy (L-17) 2. Use % Recovery and % RPD (L-5); duplicate analysis, % recovery, method blank (L-10); duplicate and % recovery (L-16)	L-2, 4, 16	- In house method based on AOAC (2005) 999.10 (L-1) - AOAC (2005) 984.27 (L-3, 4) - In house Method based on AOAC (2005) 948.27 by ICP-OES (L-5) - AOAC 985.35 (AAS); 984.27 (ICP) (L-6) - AOAC 985.35 (L-8) - AOAC 985.35 (L-9) - AOAC Official method 999.11 (2007) (L-10) - AOAC (2005) 968.08 (L-11) - In-house method TM-CH-076 based on AOAC(2005), 999.10 (L-12) - AOAC 975.03 (L-15) - In-house method based on AOAC (2005) 985.35 (L-16) - AOAC (2006.) 975.03 985.35 (L-17)

H. Vitamin B₁ analysis (no facilities: Lab 7 and Lab 14)

Sample weight g (lab #)	Extraction (lab #)	Determination (HPLC or other methods (please give detail) (lab #)	Quality control sample (lab #)		Reference (lab #)
			Yes, specify	No	
- 0.5 g (L-13) - 1.5 g (L-8) - 2 -3 g (L-5, 6, 9, 10, 11, 16) - 2-5 g (L-2) - 5 g (L-1, 3, 4, 12, 15) - no information (L-17)	Diluted acid digestion (0.1 M HCl) (L-1, 8, 13); 0.1 N HCl + heat + takadiase, fluorescent derivetisation potassium hexacyano Ferratec III (oxidization of vitamin B1), extract to Isobutyl alcohol before injection to HPLC (L-2, 4, 11, 12, 17); 0.1 N HCl + heat + enzyme takadiastase, pre-column oxidation by alkali potassium cyanide (L-3, 5); 0.1 N HCl + heat + enzyme takadiastase (L-6); acid digestion (1% formic acid), heat - incubate at 80°C, 30 min - , enzyme Taka-Amylase A. (L-10); digest with H ₂ O+HClO ₄ , mixed for 1 h, add 6 M KOH, pH 3.3 ± 0.3, make up 25 ml , allow to cool and precipitate at 4-8 °C (L-15); 0.1N HCl,+ heat, enzyme hydrolysis, pass through Bio-Rex 70 column (L-9); acid digestion (0.1N HCl), heat (autoclave 121°C, 15 min), enzyme digestion with Taka-diaastase (45°C/ 3 hr) (L-16)	HPLC- Fluorescence detector (FLD), AQS C18, with post column oxidation using alkali ferrocyanide (K ₃ Fe(CN) ₆ in NaOH) (L-1, 6) Pre-column oxidation, then HPLC- Fluorescence Detector (L-2, 3, 4, 5, 11, 12, 17); Determination by LC-MS, Mobile Phase A: 2.6 mL of HFBA + 50 mL ACN + 950 mL water B: 2.6 mL of HFBA + 500 mL water + 500 mL ACN (L-10); No step of thiamin oxidation, HPLC-UV, HAS (hexane sulfonate), MeOH (L-15) Spectrofluorometer: thiamin is oxidised to thiochrome, intensity of fluorescence was measured by spectrofluorometer, proportional to thiamin concentration (L-8, 9, 13, 16);	Cereal product (L-1), Milk powder (L-3, 6, 13, 16), SRM 1846 (L-4), Brown rice (L-9) Instrument blk Solvent blk Sample duplicate (L-10), CerealSoy (L-17)	None (L-2, 5, 8, 12, 15)	- 1) Food Chemistry, (2008), 106, 1209-1217, 2) Water-soluble Vitamin Analysis in Human Nutrition, Chapman & Hall, London, Tokyo, Melbourne. First edition, 1994, 3) J. Chromatography A, 2000, 881, 267-284 (L-1) - AOAC (2005) 942.23 (L-2) - Food Chem (1996), Vol. 65, No. 1, P. 81-86 (L-3) - AOAC 942.23, 957.17 (L-5, 6) - In house method based on AOAC (2005) 953.17, 970.65 (L-4, 17) - AOAC 986.27 (L-8, 9) - In-house method based on AOAC (2005), 986.27 (L-12) - Journal AOAC, Vol. 75, No.3, 1992 (L-15) - AOAC(2005), 942.23/ 970.65 (L-13) - In-house method based on AOAC (2005) 942.23 and 953.17 (L-16); no ref (L-10)

I. Vitamin B₂ analysis (no facilities: L-7, L-14)

Sample weight g (lab #)	Extraction (lab #)	Determination (HPLC or other methods (please give detail) (lab #)	Quality control sample (lab #)		Quality control sample (lab #)
			Yes, specify	No	
- 0.5 g (L-13)	- Diluted HCl, filter through cellulose acetate, inject to HPLC (L-1);	- HPLC-FLD: Column : AQS C18, mobile phase : H ₂ O : ACN : MeOH (80 : 10 : 10) (L-1)	- Cereal product (L-1)	None	- Ref No. 1) and 2) of vitamin B1 (L-1)
- 1.5 g (L-8)-1.8 g (L-9)	- 0.1 N HCl + heat + Takadiastase (L-2, 3, 4, 6, 11, 12, 17)	- HPLC FLD, mobile phase : 0.5 M CH ₃ COONa:MeOH = 50:50 (L-2)	- milk powder (L-3, 11, 13)	(L-2 ,5, 8, 10, 12, 15)	- J. Agric Food Chem (1984) (L-2)
- 5 g (L-1, 3, 4, 12)	- 0.1 N HCl; HCl and Takadiastase; derivatization: potassium hexacyanoferrate (III), NaOH and isobutyl Alcohol (L-5)	- HPLC- FLD, Column : Restek C18, mobile phase : 30% methanol, Inertsil ODS-3 (L-3)	- In-house RM milk powder (L-6, 16);		- In-house method based on AOAC (2005) 953.17, 970.65 (L-4)
- 2-3 g (L-5, 6, 10, 11, 16)	- Digest with 1% Formic acid, at 80°C, 30 min; filter with filter paper no. 541 (L-10)	- HPLC – FLD, Column : µBondapak C, mobile phase : MeOH/H ₂ O (L-4); HPLC-FLD, mobile phase - methanol : DI Water (L-5)	- SRM 1846 (L-4)		- J. Agric food Chem (1984) 32, 1326-31) (L-5)
- 2-5 g (L-2)	- Digest with H ₂ O→HClO ₄ same as vit B1 (L-15)	- HPLC, FLD (L-6)	- Spike matrix sample (L-10)		- AOAC 942.23, 957.17 (L-6)
- 13 g (L-15)	- 0.1 N HCl (L-8, 13)	- No information, suspect by LC-MS (L-10)	- Cereal soy (L-17)		- JAOAC (1995) Vol.76 No. 5 (L-11)
	- 0.1N HCl, remove Interference by KMnO ₄ (L-9)	- HPLC-FLD, column: µBondapak C18, mobile phase - methanol:H ₂ O (L-11)	- Soybean flour (L-9)		- In-house method based on J. chromatogr.A 795 (1998) (L-12)
	- Digestion with 0.1N HCl/ autoclave 121°C, 30 min (L-16)	- HPLC (L-17)			- JAOAC, Vol. 75, No.3, 1992 (L-15)
		- Measure fluorescence by Spectrofluorometer (L-8, 9, 13, 16)			- AOAC(2005) (L-17)
					- AOAC 970.65 (L-8, 9)
					- AOAC(2005), 942.23/ 970.65 (L-13)
					- In-house method based on AOAC (2005) 970.65 (L-16)

J. Ash analysis

Sample weight g (lab #)	Pre-treatment (drying, charring) (lab #)	Temperature (°C)/time (min) (lab #)	Instrument / Measurement (lab #)	Quality control sample (lab #)		References (lab #)
				yes	No	
1-3 g (L-1, 2, 3, 4, 5, 6, 8, 9, 10, 11, 12, 15, 16, 17)	Charring (L-1, 3, 4, 8, 14) Charring on a hot plate (L-2, 5, 6, 7, 9, 10, 11)	Temperature: - 550°C (L-1, 2, 3, 5, 6, 14, 7, 9, 10, 11, 12, 15, 16, 17) - 525 °C (L-4, 8)	Muffle Furnace - All (L-1- 17)/ Gravimetric Method	- Cereal product (L-1) - Full Fat Soy Flour (L-3) - Mung bean (L-4) - QCM 9 (L-6) - Soy bean powder (L-9) - QCM-Soybean (L-11) - Egg powder (L-13) - Cereal Soy (L-17)	L- 1, 2, 3, 5, 6, 14, 7, 9, 10, 11	- In house method based on AOAC (2008) 938.08 (L-1) - AOAC (2005) 920.153 (L-2) - AOAC (2005) 923.03 (L-3, 6, 7, 9, 11, 12) - In-house method based on AOAC (2005) 923.03 (L-16) - In-house method based on AOAC Official method 923.03 (2007) (L-10) - AOAC (2005) 950.49 (L-4) - AOAC 950.49 (L-8) - AOAC 2005, 920.153 (L-14) - AOAC 930.30 (L-15) - AOAC(2005) 950.49 (L-17)
3-5 g (L-4, 7, 13)		Time: 2hr. (L-4, 14, 11, 12) 3 hr. (L-3) 4hr. (L-1, 2, 5, 9, 16) 5 hr. (L-8, 15) 6 hr. (L-7) 8 hr. (L-17)				

K. Moisture analysis

Sample weight g (lab #)	Temperature of oven (°C) (lab #)	Period for drying (h) (lab #)	Instrument for drying (lab #)	Quality control system (lab #)		References (lab #)
				Use, type of QC sample	No	
- 2 g (L-1, 2, 3, 4, 5, 7, 8, 9, 10, 12, 14, 15, 16); - 2-5 g (L-6, 11, 13), - 1.5-2 g (L- 17)	- Hot air oven 100-105 °C (L-1, 5, 9, 13, 14, 17); 130 ± 5 °C (L-2, 7, 11, 15) - Vacuum oven: 70 °C (L-6); 98 °C (L-10) 95-100 °C (L-3, 4, 16) 100 °C, 100 mmHg (L-8) 100 °C/133 mbar (L-12) 98 – 100 °C (L-16)	- 1h (L-7); 2 h (L-2, 11, 15; 2h + 0.5-1 h (L-6, 9) - 3 h (L-14); 4 h (L-1, 13 – till constant wt), 5 h (L-3, 4, 8, 10, 12, 16); 16 h (L-5) - No information (L- 17)	- Hot air Oven (L-1, 2, 5, 6C, 9, 11, 13, 14, 15, 17); - Vacuum oven (L-3, 4, 6, 8, 10, 12, 16)	- cereal product (L-1) - starch (L-7); - milk powder (L-6, 9) - egg powder (L-13) - cereal soy (L- 17)	L-2, 3, 4, 5, 8, 10, 11, 12, 14, 15, 16	- In house method based on AOAC (2008) 925.45 (L-1) - AOAC (2005) 950.46 B (L-2) - 925.09 (L-3, 12) - 925.40 (L-4, 8, 17) - Method based on AOAC2005) 950.46 (L-5) - 952.08 (L-6) - 925.10 (L-7, 13) - 920.116 (L-9) - In-house method based on AOAC (2007) 934.01 (L-10) - 945.39 A (L-11) - 945.15 (L-14) - 930.15(L-15) - 925.40 (L-16)

Appendix 3. Dietary fibre in breakfast cereal reference material (BRI): summary of individual results and z-scores of

Lab code No.	Result		Mean (a+b/2)	z-score ⁽¹⁾	Conclusion code	Mean from good laboratories
	A	B				
1	10.95	11.71	11.33	3.06	bb	
2	10.39	10.21	10.30	1.00	a	10.30
3	10.25		10.25	0.90	a	10.25
4	8.29	8.38	8.34	-2.93	b	
5	10.50	9.97	10.24	0.87	a	10.24
6	8.65	8.75	8.70	-2.20	b	
8	9.50		9.50	-0.60	a	9.50
10	11.31		11.31	3.02	bb	
11	8.81	8.78	8.80	-2.01	b	
12	8.18	8.32	8.25	-3.10	bb	
13	10.59		10.59	1.58	a	10.59
14	10.91	11.03	10.97	2.34	b	
15	8.37		8.37	-2.86	b	
16	10.01	10.42	10.22	0.83	a	10.22
17	9.88	9.37	9.63	-0.35	a	9.63
No of results	15	10	15	"a" = satisfactory result; z-score ≤ 2		7
Mean	9.77	9.69	9.79	"b" = questionable result; 2 < z-score < 3		10.10
SD	1.07	1.16	1.08	"bb" = unsatisfactory result; z-score ≥ 3		0.39
%CV	10.90	11.99	11.05	(b = between lab)		3.88

⁽¹⁾ based on assigned mean value of dietary fibre provided by BRI $\pm$ 3SDp from Horwitz's equation = 9.8 ± 0.5 g/100 g (%CV=5.1) .

BRI: Bread Research Institute of Australia by Mr. David Mugford is kindly provided this reference material for ASEANFOODS to be used for checking performance on dietary fibre analysis. The assigned value of dietary fibre given is the mean value (9.8 g per 100g) from 12 laboratories.

การศึกษารอบที่ 2

(PT-10)

**โครงการประเมินความชำนาญของห้องปฏิบัติการ
วิเคราะห์สารอาหาร ในการจัดทำฉลากโภชนาการ**

**(Development of reference materials and their uses
for evaluation of laboratory performance on nutrition
labeling evaluation and production**



INSTITUTE OF NUTRITION, MAHIDOL UNIVERSITY
Regional ASEANFOODS Centre

Salaya, Putthamonthon, Nakhon Pathom 73170, Thailand
Telephone: +66-2-800 2380, Fax: +66-2- 441-9344

Laboratory Performance Study 10:

การประเมินความสามารถของห้องปฏิบัติการในการ
วิเคราะห์สารอาหารบังคับและจัดทำฉลากโภชนาการ

*(Analysis of mandatory nutrients and
preparation of nutrition labelling)*

by

Kunchit Judprasong, Prapasri Puwastien,
Jirapitcha Boonpor and Naruemol Pinprapai

May, 2012



FINAL REPORT

Laboratory Performance Study 10:

Analysis of mandatory nutrients and preparation of nutrition labelling

Kunchit Judprasong*, Prapasri Puwastien**
Jirapitcha Boonpor and Naruemol Pinprapai

Institute of Nutrition, Mahidol University
Salaya, Putthamonthon 4, Nakhon Pathom 73170, Thailand
Telephone: +66-2-800-2380, +66-2-441-0217
e-mail: kunchit.jud@mahidol.ac.th*
prapasri.puw@mahidol.ac.th**

May 2012

Your laboratory code number is:

สารบัญ

	หน้า
สารบัญ	i
คำย่อ	iv
สารบัญตาราง	v
สารบัญภาพ	viii
สารบัญเอกสารแนบท้าย	x
บทคัดย่อ	1
1. บทนำ	3
2. วิธีการศึกษา (MATERIALS AND METHODS)	3
2.1 ตัวอย่างทดสอบ และการเตรียมตัวอย่าง	4
2.2 การทดสอบความเป็นเนื้อเดียวกัน (homogeneity study) ของสารอาหารในตัวอย่างทดสอบ (cracker powder, INMU-18)	5
2.3 การทดสอบความคงตัวของสารอาหาร (stability study) ในตัวอย่างทดสอบ (cracker powder, INMU-18)	6
2.4 การประเมินความสามารถของห้องปฏิบัติการ (Laboratory performance study)	6
2.4.1 ห้องปฏิบัติการที่เข้าร่วมโครงการ	6
2.4.2 การส่งตัวอย่างและเอกสาร	7
2.4.3 การกำหนดสารอาหารที่ต้องวิเคราะห์	7
2.4.4 วิธีวิเคราะห์	8
2.5 การจัดทำฉลากโภชนาการ	8
2.6 การส่งผลการทดสอบ	8
2.7 การประเมินผลทางสถิติ (Statistical evaluation)	8
2.7.1 การศึกษาความเป็นเนื้อเดียวกันของตัวอย่างทดสอบ	8
2.7.2 การศึกษาความคงตัวของวิตามินบี 1 และความชื้นในตัวอย่าง INMU-18	10
2.7.3 การหาค่า assigned value	10
2.7.4 การประเมินความสามารถห้องปฏิบัติการในการวิเคราะห์สารอาหาร	11
2.7.5 การแสดงผลของการประเมิน	13
2.8 การประเมินความสามารถห้องปฏิบัติการในการจัดทำฉลากโภชนาการ	14

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
3. ผลการศึกษา และอภิปรายผล (RESULTS AND DISCUSSION)	
3.1 การเตรียมตัวอย่างทดสอบ	14
3.2 การทดสอบความเป็นเนื้อเดียวกันของตัวอย่าง cracker powder (INMU-18)	15
3.3 การทดสอบความคงตัวของวิตามินบี 1 และความชื้นในตัวอย่าง cracker powder	23
3.4 การหาค่า assigned values ของสารอาหารในตัวอย่างทดสอบ	24
3.5 การประเมินความสามารถห้องปฏิบัติการ	29
3.5.1 ไขมันทั้งหมด (Total Fat)	29
3.5.2 กรดไขมันอิ่มตัว (Saturated Fat)	34
3.5.3 กรดไขมันชนิดทรานส์ (trans fatty acid)	36
3.5.4 โปรตีน (Protein)	37
3.5.5 ใยอาหาร (Dietary fibre)	42
3.5.6 น้ำตาล (Sugars)	44
3.5.7 โซเดียม (Sodium)	46
3.5.8 แคลเซียม (Calcium)	51
3.5.9 เหล็ก (Iron)	53
3.5.10 วิตามินบี 1 (Vitamin B ₁ , thiamin)	56
3.5.11 วิตามินบี 2 (Vitamin B ₂ , riboflavin)	58
3.5.12 ความชื้น (Moisture)	60
3.5.13 เถ้า (Ash)	64
3.5.14 สรุปผลการประเมินความสามารถห้องปฏิบัติการ	68
3.5.15 Consensus values ในตัวอย่าง whole wheat cracker และ cracker powder (INMU-18)	69
3.6 การประเมินความสามารถในการจัดทำฉลากโภชนาการ	73
3.6.1 รูปแบบฉลากโภชนาการ	73
3.6.2 การกำหนดหนึ่งหน่วยบริโภค และจำนวนหน่วยบริโภคต่อภาชนะบรรจุ	74

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
3.6.3 การคำนวณและการแสดงคุณค่าทางโภชนาการต่อหนึ่งหน่วยบริโภค	74
3.6.4 สรุปผลการประเมินความชำนาญของห้องปฏิบัติการในการจัดทำ ฉลากโภชนาการ	79
4. เอกสารอ้างอิง	83
5. เอกสารแนบท้าย	85

คำย่อ

<i>Abbreviation</i>	<i>Definition</i>
CV	Coefficient of Variance
D_i	The difference between the values of duplicate analysis
ELSD	Evaporative light scattering detector
GC	Gas chromatography
HPLC	High performance liquid chromatography
HORRATs	Horwitz ratio
INMU-18	Institute of Nutrition, Mahidol University; test material no. 18, cracker powder
LC-MSD	Liquid chromatography/ mass spectrometry detector
MSB	Mean square between
MSW	Mean square within
NIQR	Normalised Inter-Quartile Range
Q1	First quartile (25 th percentile)
Q3	Third quartile (75 th percentile)
RI	Reflective index
RPD	Relative percent difference
RDI	Recommended dairy intake
RSD	Relative standard deviation
RSD_r	Relative standard deviation of repeatability
$pRSD_R$	Predicted relative standard deviation from reproducibility
PT	Proficiency testing
S_i	The sum of the reported values of duplicate analysis
S_s	Between-samples standard deviation (due to sampling)
SD	Standard deviation
SDp	Horwitz predicted standard deviation

สารบัญตาราง

ตาราง		หน้า
1A	การประเมินความแปรปรวนที่เกิดจากผู้วิเคราะห์ โดยวิธี Cochran's maximum range test: moisture, protein, total fat and saturated fat	16
1B	การประเมินความแปรปรวนที่เกิดจากผู้วิเคราะห์ โดยวิธี Cochran's maximum range test: dietary fibre, ash and vitamin B ₁	17
1C	การประเมินความแปรปรวนที่เกิดจากผู้วิเคราะห์ โดยวิธี Cochran's maximum range test: calcium, sodium and iron	18
2A	ผลการประเมินความเป็นเนื้อเดียวกันของตัวอย่าง โดยสถิติ one-way ANOVA	20
2B	ผลการประเมินความเป็นเนื้อเดียวกันของตัวอย่าง โดยสถิติตามมาตรฐาน ISO 13528	21
2C	การประเมินความเป็นเนื้อเดียวกันของตัวอย่างโดยใช้ relative standard deviation (RSD)	23
3A	ผลการศึกษาความคงตัวของวิตามินบี 1 ในตัวอย่าง cracker powder ตามวิธีที่ระบุใน ISO 13528	25
3B	ผลการศึกษาความคงตัวของความชื้น ในตัวอย่าง cracker powder ตามวิธีที่ระบุใน ISO 13528	27
4A	ค่า assigned values ของสารอาหารต่างๆ ในตัวอย่าง whole wheat cracker และ INMU-18 ดำเนินการตาม ISO 13528	28
4B	ค่า assigned values ใหม่ของน้ำตาล ใยอาหาร เหล็ก และวิตามินบี 1 ในตัวอย่าง whole wheat cracker และ INMU-18	29
5A	ผลการประเมินความสามารถในการวิเคราะห์ไขมันในตัวอย่าง whole wheat cracker	31
5B	ผลการประเมินความสามารถในการวิเคราะห์ไขมันในตัวอย่าง cracker powder	32
6	ผลการประเมินความสามารถในการวิเคราะห์กรดไขมันอิ่มตัวในตัวอย่าง cracker powder	35

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตาราง		หน้า
7	ผลการประเมินความสามารถในการวิเคราะห์กรดไขมันชนิดทรานส์ในตัวอย่าง cracker powder	37
8A	ผลการประเมินความสามารถในการวิเคราะห์โปรตีนในตัวอย่าง whole wheat cracker	39
8B	ผลการประเมินความสามารถในการวิเคราะห์โปรตีนในตัวอย่าง cracker powder	40
9	ผลการประเมินความสามารถในการวิเคราะห์ใยอาหารในตัวอย่าง cracker powder	43
10	น้ำตาลในตัวอย่าง whole wheat cracker และ cracker powder (INMU-18) ที่ได้รับจากห้องปฏิบัติการต่างๆ	45
11A	ผลการประเมินความสามารถในการวิเคราะห์โซเดียมในตัวอย่าง whole wheat cracker	48
11B	ผลการประเมินความสามารถในการวิเคราะห์โซเดียมในตัวอย่าง cracker powder	49
12	ผลการประเมินความสามารถในการวิเคราะห์แคลเซียมในตัวอย่าง cracker powder	52
13	ผลการประเมินความสามารถในการวิเคราะห์เหล็กในตัวอย่าง cracker powder	55
14	ผลการประเมินความสามารถในการวิเคราะห์วิตามินบี 1 ในตัวอย่าง cracker powder	57
15	ผลการประเมินความสามารถในการวิเคราะห์วิตามินบี 2 ในตัวอย่าง cracker powder	59
16A	ผลการประเมินความสามารถในการวิเคราะห์ความชื้นในตัวอย่าง whole wheat cracker	61
16B	ผลการประเมินความสามารถในการวิเคราะห์ความชื้นในตัวอย่าง cracker	62
17A	ผลการประเมินความสามารถในการวิเคราะห์เถ้าในตัวอย่าง whole wheat	65

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตาราง		หน้า
17B	ผลการประเมินความสามารถในการวิเคราะห์ได้ในตัวอย่าง cracker powder	66
18	ค่า consensus values ของสารอาหารต่างๆ ในตัวอย่าง whole wheat cracker และ cracker powder (INMU-18) ที่ได้มาจากห้องปฏิบัติการที่ผ่านเกณฑ์การประเมิน	72
19	สรุปผลการประเมินความชำนาญของห้องปฏิบัติการในการจัดทำฉลากโภชนาการ	78
20	ข้อมูลโภชนาการที่แสดงบนฉลากโภชนาการแบบย่อของแต่ละห้องปฏิบัติการ	80
21	ข้อมูลโภชนาการที่แสดงบนฉลากโภชนาการแบบเต็มของแต่ละห้องปฏิบัติการ	81

สารบัญภาพ

รูป/	หน้า
1	ผลการศึกษาความคงตัวของวิตามินบี 1 ในตัวอย่าง cracker powder ในช่วงการเก็บ 3 และ 6 เดือน
2	ผลการศึกษาความคงตัวของวิตามินซี ในตัวอย่าง cracker powder ในช่วงการเก็บ 3 และ 6 เดือน
2A	z-scores ของไขมันทั้งหมดในตัวอย่าง whole wheat cracker
2B	z-scores ของไขมันทั้งหมดในตัวอย่าง cracker powder (INMU-18)
2C	Youden plot ของการวิเคราะห์ไขมันทั้งหมด
3	z-scores ของกรดไขมันอิ่มตัวในตัวอย่าง cracker powder
4	การกระจายตัวของกรดไขมันชนิดทรานส์ในตัวอย่าง cracker powder
5A	z-scores ของโปรตีนในตัวอย่าง whole wheat cracker
5B	z-scores ของโปรตีนในตัวอย่าง cracker powder
5C	Youden plot ของการวิเคราะห์โปรตีน
6	z-scores ของใยอาหารในตัวอย่าง cracker powder
7	การกระจายตัวของน้ำตาลของแต่ละห้องปฏิบัติการ
7B	z-scores of sodium in broad bean powder
7C	Youden plot ของการวิเคราะห์โซเดียม
8A	z-scores ของโซเดียมในตัวอย่าง whole wheat cracker
8B	z-scores ของโซเดียมในตัวอย่าง cracker powder
8C	Youden plot ของการวิเคราะห์โซเดียม
9	z-scores ของแคลเซียมในตัวอย่าง cracker powder
10	z-scores ของเหล็กในตัวอย่าง cracker powder
11	z-scores ของวิตามินบี 1 ในตัวอย่าง cracker powder

สารบัญภาพ (ต่อ)

รูป	หน้า
12	การกระจายตัวของการวิเคราะห์วิตามินบี 2 ของแต่ละห้องปฏิบัติการ
13A	z-scores ของความชื้นในตัวอย่าง whole wheat cracker
13B	z-scores ของความชื้นในตัวอย่าง cracker powder
13C	Youden plot ของการวิเคราะห์ความชื้น
14A	z-scores ของเถ้าในตัวอย่าง whole wheat cracker
14B	z-scores ของเถ้าในตัวอย่าง cracker powder
14C	Youden plot ของการวิเคราะห์เถ้า
15	กราฟแห่งของการประเมินความสามารถห้องปฏิบัติการของสารอาหารบังคับตามประกาศกระทรวงฉบับที่ 305 (2550) โดยใช้ตัวอย่าง whole wheat cracker เป็นตัวอย่างทดสอบ
16	กราฟแห่งของการประเมินความสามารถห้องปฏิบัติการของสารอาหารบังคับตามประกาศกระทรวงฉบับที่ 182 (2542) โดยใช้ตัวอย่าง cracker powder (INMU-18) เป็นตัวอย่างทดสอบ
17	ฉลากโภชนาการแบบเต็ม ของตัวอย่าง cracker powder
18	ฉลากโภชนาการแบบย่อ ของตัวอย่าง whole wheat cracker

สารบัญเอกสารแนบท้าย

เอกสารแนบท้าย	หน้า
1 แนวทางปฏิบัติสำหรับผู้เข้าร่วมโครงการ	85
2-1 แบบฟอร์มแสดงผลตัวอย่างอาหาร: whole wheat cracker	87
2-1 (ต่อ) ข้อมูลโภชนาการแบบย่อตามประกาศฉบับที่ 305 (พ.ศ. 2550)	88
2-2 แบบฟอร์มแสดงผลตัวอย่างอาหาร: cracker powder	89
2-2 (ต่อ) ข้อมูลโภชนาการแบบเต็มตามประกาศฉบับที่ 182 (2541)	90
3 แบบสำรวจวิธีการเตรียมตัวอย่างและวิธีทดสอบที่ใช้	91
4 วิธีวิเคราะห์ที่ใช้ในแต่ละห้องปฏิบัติการ	97

บทคัดย่อ

การรับประทานอาหารที่มีประโยชน์ทั้งอาหารสดและอาหารสำเร็จรูป สามารถป้องกันการเกิดโรคไม่ติดต่อเรื้อรังได้ ฉลากโภชนาการบนบรรจุภัณฑ์ที่มีความน่าเชื่อถือช่วยให้ผู้บริโภคสามารถเลือกอาหารที่มีประโยชน์ต่อสุขภาพได้ จากข้อมูลในอดีตชี้ให้เห็นว่า ฉลากโภชนาการที่แสดงอยู่บนผลิตภัณฑ์อาหารหลายชนิดยังไม่เป็นไปตามประกาศกระทรวงสาธารณสุขที่ได้กำหนดไว้ ปัจจัยสำคัญที่เกี่ยวข้องน่าจะมาจากห้องปฏิบัติการที่เป็นผู้วิเคราะห์สารอาหารและจัดทำฉลาก ดังนั้นการศึกษานี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาความสามารถของห้องปฏิบัติการในการวิเคราะห์สารอาหารบังคับ และการจัดทำฉลากโภชนาการ โดยตัวอย่างทดสอบที่ใช้คือ แครกเกอร์ชนิดโฮลวีทในรูปแบบที่จำหน่าย และที่เตรียมเป็นผงละเอียดมีความเป็นเนื้อเดียวกัน โดยกำหนดให้ห้องปฏิบัติการที่เข้าร่วมกิจกรรมทำการวิเคราะห์สารอาหารบังคับในการจัดทำฉลากโภชนาการ และนำผลการวิเคราะห์ที่ได้ มาจัดทำฉลากโภชนาการที่พร้อมใช้ ตามประกาศกระทรวงสาธารณสุข การประเมินความสามารถในการวิเคราะห์สารอาหารของห้องปฏิบัติการ ใช้วิธีทางสถิติโดยใช้คะแนน z-score (ตาม ISO 13528) เป็นเกณฑ์ในการตัดสิน สำหรับตัวอย่างแครกเกอร์ชนิดโฮลวีท พบว่าห้องปฏิบัติการมีความสามารถดี ($|z\text{-score}| \leq 2$) ในการวิเคราะห์ไขมันทั้งหมด โปรตีน โซเดียม ความชื้น และเถ้า ในขณะที่ตัวอย่างแครกเกอร์แบบผง พบว่าห้องปฏิบัติการมีความสามารถดีในการวิเคราะห์สารอาหารดังกล่าวข้างต้น รวมทั้งการวิเคราะห์ไขมันอิ่มตัว โยอาหาร แคลเซียม และเหล็กด้วย ส่วนการวิเคราะห์สารอาหารที่พบว่ายังให้ผลไม่เป็นที่ยอมรับ เนื่องจากมีความแปรปรวนสูงคือ การวิเคราะห์วิตามินบี1 วิตามินบี 2 กรดไขมันชนิดทรานส์ และน้ำตาล สำหรับการประเมินความสามารถในการจัดทำฉลากโภชนาการพบว่า ยังมีการแสดงรูปแบบฉลาก การคำนวณ และการแสดงปริมาณสารอาหารต่อหนึ่งหน่วยบริโภคและสารอาหารต่อปริมาณที่แนะนำให้บริโภคต่อวัน ที่ไม่เป็นไปตามข้อกำหนดของประกาศกระทรวงสาธารณสุขในการจัดทำฉลากโภชนาการ ข้อมูลที่ได้จากการศึกษารังนี้สนับสนุนให้มีการจัดการอบรมห้องปฏิบัติการที่รับผิดชอบในการจัดทำฉลากโภชนาการอย่างเร่งด่วน เพื่อปรับปรุงคุณภาพและความน่าเชื่อถือของข้อมูลโภชนาการบนฉลากอาหาร

ABSTRACT

Regular consumption of healthy fresh and processed foods could prevent consumers from non-communicable diseases. Reliable nutrient composition data on a food label is important information to assist the consumers in making the right choice for healthy processed foods. Previous studies on nutrition labelling indicated considerable problems of non-complied information based on the Thai Food and Drug Administration (Thai FDA) regulations. The main issue involving the unreliable nutrient information could be the laboratories who take responsibility for developing the nutrient composition data. This study aimed to investigate the performance of laboratories on analysis of mandatory nutrients, and the preparation of nutrition labelling. For laboratory performance, whole wheat cracker and cracker powder were used as test materials. Participating laboratories were requested to analyse mandatory nutrients for nutrition labelling and to use the obtained data to prepare ready-to-use nutrition information based on the Thai FDA regulations. Laboratory analytical performance was statistically evaluated using z-score (following ISO 13528). For whole wheat cracker, good laboratory performance ($|z\text{-score}| \leq 2$) was found satisfactory performance on analyses of total fat, protein, sodium, moisture, and ash. Whereas, cracker powder was found on the analyses of those nutrients as well as the analyses of saturated fat, dietary fibre, calcium, and iron. Unsatisfactory performance was found on analyses of vitamin B1 and B2, trans-fat, and sugars. For the preparation of nutrition information, the common non-complying performance, based on the Thai FDA regulation, included declaration of nutrition format, uncorrected calculation, and declared information on nutrient per serving and percent Thai RDI. The findings strongly support a requirement of a training programme for responsible laboratories, to improve the quality and reliability of the nutrition information on food labels.

KEY WORDS: Nutrition labelling / Laboratory performance /

Mandatory nutrient / Thai FDA Regulation

Corresponding authors:

Kunchit Judprasong, E-mail address: kunchit.jud@mahidol.ac.th

Prapasri Puwastien, E-mail address: prapasri.puw@mahidol.ac.th

1. บทนำ

สถาบันโภชนาการ (Institute of Nutrition, Mahidol University, INMU) มีความตระหนักในเรื่องของความถูกต้องของข้อมูลสารอาหารที่แสดงในฉลากโภชนาการบนฉลากอาหาร ซึ่งต้องดำเนินการเป็นไปตามประกาศกระทรวงสาธารณสุขฉบับที่ 182 พ.ศ. 2541 (1) และประกาศฉบับที่ 305 พ.ศ. 2550 (2) เป็นอย่างมาก สถาบันฯจึงได้ดำเนินการประเมินความสามารถของห้องปฏิบัติการ (proficiency testing, PT) ในการวิเคราะห์สารอาหารและจัดทำฉลากโภชนาการ ในช่วงปี 2541-2554 ทำการประเมินความสามารถของห้องปฏิบัติการในเรื่องดังกล่าวไปแล้ว ทั้งหมด 4 ครั้ง (PT-3, PT-4, PT-7 และ PT-9) จาก PT ทั้งหมด 9 ครั้ง สำหรับ PT-3 ที่จัดในปี 2541 มีเพียง 4 ห้องปฏิบัติการจากประเทศไทยที่เข้าร่วมโครงการ ในปี 2543 (PT-4) จำนวนห้องปฏิบัติการที่เข้าร่วมโครงการมีเพิ่มขึ้นเป็น 12 แห่ง ในปี 2546 (PT-7) จำนวนห้องปฏิบัติการมีความแตกต่างกัน เช่นมีประมาณ 28 ห้องปฏิบัติการสำหรับการวิเคราะห์สารอาหารหลัก ในขณะที่มีเพียง 8-10 ห้องปฏิบัติการเท่านั้นที่วิเคราะห์กรดไขมัน โคเลสเตอรอล น้ำตาล และใยอาหารได้ และเพิ่มเป็น 18 แห่งในปี 2553 (PT-9) อย่างไรก็ตามห้องปฏิบัติการบางแห่งยังไม่ได้ดำเนินการวิเคราะห์สารอาหารบังคับครบทุกตัวตามประกาศ การศึกษา PT-4 ในปี 2543 ให้ความรู้ถึงสำเนียงรูปเป็นตัวอย่างทดสอบในการประเมินความสามารถห้องปฏิบัติการในการจัดทำฉลากโภชนาการนั้น การวิเคราะห์สารอาหารที่พบว่ามีปัญหา คือ ไขมัน ไขมันอิ่มตัว ใยอาหาร น้ำตาล โซเดียม แคลเซียม วิตามินเอ ปี 1 และปี 2 ทั้งนี้เนื่องมาจากในช่วงเวลาดังกล่าว มีห้องปฏิบัติการจำนวนไม่มากที่สามารถวิเคราะห์ไขมันอิ่มตัว โคเลสเตอรอล และใยอาหารได้ อีกทั้งตัวอย่างทดสอบไม่มีโคเลสเตอรอล แต่มีใยอาหาร น้ำตาล แคลเซียม และวิตามินน้อยมาก ต่อมาปี 2550 ได้มีการประกาศ ฉบับที่ 305 เรื่องการบังคับให้มีแสดงฉลากโภชนาการในผลิตภัณฑ์อาหารสำเร็จรูป ซึ่งเป็นฉลากโภชนาการอย่างย่อ ในปี 2552 จึงได้มีการสำรวจห้องปฏิบัติการในประเทศไทยในการวิเคราะห์สารอาหารเพื่อจัดทำฉลากโภชนาการ พบว่ามีห้องปฏิบัติการทั้งหมด 15 จาก 17 แห่ง ที่สามารถวิเคราะห์สารอาหารบังคับทั้งหมดได้ และมี 12 แห่งที่สามารถวิเคราะห์กรดไขมันชนิดทรานส์ได้ อย่างไรก็ตามสารอาหารชนิดนี้ยังไม่ได้เป็นสารอาหารบังคับที่จะต้องแสดงบนฉลากโภชนาการของไทย ในเดือนมกราคม 2553 ได้มีการสำรวจความถูกต้องในการจัดทำฉลากโภชนาการ บนฉลากอาหารในห้างสรรพสินค้าเทสโก้โลตัส 2 แห่งคือสาขาศาลายา และสาขาสีปิ้งเกล้า จำนวน 599 ฉลาก โดยอ้างอิงตามประกาศฉบับที่ 305 พ.ศ. 2550 ผลิตภัณฑ์อาหารสำเร็จรูปทั้ง 5 กลุ่มได้แก่ มันฝรั่งแผ่นแบบอบหรือทอด ข้าวโพดอบกรอบ ขนมขบเคี้ยวที่ทำมาจากข้าว แครกเกอร์หรือบิสกิต และเวเฟอร์สอดไส้ต่างๆ ผลการสำรวจพบว่าการแสดงฉลากโภชนาการที่ไม่สอดคล้องกับประกาศ สูงถึงร้อยละ 93 ได้แก่ การระบุปริมาณหนึ่งหน่วยบริโภค การคำนวณพลังงาน และพลังงานจากไขมัน การปัดเลขต่อหนึ่งหน่วยบริโภคและต่อร้อยละของปริมาณที่แนะนำให้บริโภคต่อ

วัน (% Thai Recommended Daily Intake) เป็นต้น ข้อมูลในการจัดทำฉลากโภชนาการได้มาจากการวิเคราะห์สารอาหารต่างๆ ในห้องปฏิบัติการ จากนั้นนำข้อมูลที่ได้จากการวิเคราะห์ไปประเมินและคำนวณเพื่อจัดทำเป็นฉลากโภชนาการ ดังนั้นการหาสาเหตุของปัญหาในการแสดงฉลากโภชนาการไม่ถูกต้อง จึงจำเป็นต้องเริ่มจากที่มาของข้อมูลจากห้องปฏิบัติการ ร่วมกับการประเมินความถูกต้องในการนำข้อมูลไปจัดทำฉลากโภชนาการ

ดังนั้นการศึกษาค้นคว้าจึงมีวัตถุประสงค์เพื่อประเมินความสามารถห้องปฏิบัติการ สำหรับการวิเคราะห์สารอาหารบังคับของฉลากโภชนาการตามประกาศกระทรวงสาธารณสุข ฉบับที่ 182 และ 305 โดยใช้ตัวอย่าง whole wheat cracker เป็นตัวอย่างทดสอบเพื่อประเมินความสามารถของห้องปฏิบัติการในการวิเคราะห์สารอาหาร และการจัดทำฉลากโภชนาการ

2. วิธีการศึกษา (MATERIALS AND METHODS)

2.1 ตัวอย่างทดสอบ และการเตรียมตัวอย่าง

การศึกษาค้นคว้าครั้งนี้เลือกใช้ตัวอย่าง whole wheat cracker เป็นตัวแทนในการศึกษา เนื่องจากเป็นตัวอย่างที่อยู่ในกลุ่มอาหารพร้อมบริโภค (ready-to-eat food) ชนิดหนึ่งที่ถูกบังคับให้แสดงฉลากโภชนาการ เมื่อพิจารณาจากฐานข้อมูลทางโภชนาการพบว่าน่าจะมีความหลากหลายของสารอาหาร เช่นมีไขมันสูง ไขมันอิ่มตัวสูง โยอาหาร และวิตามินบี 1 เป็นต้น ตัวอย่างทดสอบเป็นผลิตภัณฑ์บิสซิท ไฮลวิท แครกเกอร์ (Bissin® whole wheat crackers) จากบริษัทไทยเพรซิเดนทึฟู้ดส์ จำกัด (มหาชน) กรุงเทพฯ ที่ผลิตในชุดเดียวกัน โดยผู้จัดซื้อให้ทางบริษัทฯ ส่งตัวอย่างในขนาดบรรจุเป็น 2 รูปแบบตามวัตถุประสงค์ของการศึกษา คือ 1) บรรจุในรูปแบบที่จำหน่ายตามท้องตลาดคือ ซองละ 30 กรัม จำนวน 300 ซอง และ 2) บรรจุในถุงขนาดใหญ่จำนวน 5 กิโลกรัม จำนวน 2 ถุง โดยมีรายละเอียดตัวอย่างและการเตรียมเพื่อนำไปใช้ดังนี้

2.1.1 รูปแบบที่จำหน่ายตามท้องตลาด

Whole wheat crackers ที่จำหน่ายอยู่ในห้างสรรพสินค้า บรรจุในซองออลูมิเนียมฟอยล์ ขนาดบรรจุซองละ 30 กรัม จำนวน 6 ซองบรรจุอยู่ในกล่องกระดาษขนาด 180 กรัม ผู้จัดได้ขอให้บริษัทผู้ผลิตทำการบรรจุตัวอย่างดังกล่าวในซองออลูมิเนียมฟอยล์ในขนาดบรรจุ 30 กรัมจำนวน 300 ซองโดยไม่มีการแสดงฉลากใดๆ หลังจากนั้นสุ่มตัวอย่างแบบไม่เจาะจง เพื่อแบ่งตัวอย่างเป็น 2 กลุ่มคือ กลุ่ม A และ กลุ่ม B และให้รหัสตัวอย่างแต่ละกลุ่ม ในการจัดทำฉลากโภชนาการนั้น มีการกำหนดให้ต้องทำการสุ่มตัวอย่าง จำนวน 12 บรรจุภัณฑ์จากตัวอย่างที่ผลิตขึ้น เพื่อให้เป็นตัวแทนของผลิตภัณฑ์ที่ใช้ในการวิเคราะห์ ดังนั้นผู้จัดจึงทำการสุ่มตัวอย่างแบบไม่เจาะจงจำนวน 12 ซองโดยสุ่ม 6 ซองจากรหัส A และ 6 ซองจากรหัส B บรรจุลงในถุงพลาสติก โดยแสดงฉลากที่มีรายละเอียดดังนี้คือ ชื่อตัวอย่าง

(whole wheat cracker) วันที่บรรจุตัวอย่าง และรหัสตัวอย่าง แล้วบรรจุลงกล่องเพื่อเตรียมจัดส่งให้กับห้องปฏิบัติการที่เข้าร่วมโครงการต่างๆ ทางไปรษณีย์ต่อไป เตรียมตัวอย่างเช่นเดียวกันทั้งหมด 25 ชุด ตัวอย่าง whole wheat cracker นี้ ใช้เป็นตัวอย่างทดสอบในการประเมินความสามารถในการวิเคราะห์สารอาหารและประเมินการจัดทำฉลากโภชนาการฉบับย่อ ตามประกาศกระทรวงสาธารณสุข ฉบับที่ 305 (2)

2.1.2 ตัวอย่างที่บรรจุในถุงขนาดใหญ่

ตัวอย่างนี้ผู้จัดทำเป็นผู้เตรียมตัวอย่างให้เป็นเนื้อเดียวกัน และบรรจุในซองอลูมิเนียมฟอยด์ โดยใช้ชื่อตัวอย่างทดสอบว่า cracker powder (INMU-18) ทั้งนี้เพื่อขจัดปัจจัยอันเนื่องมาจากการเตรียมตัวอย่างที่อาจต่างกันของแต่ละห้องปฏิบัติการ ใช้เป็นตัวอย่างทดสอบสำหรับการประเมินการวิเคราะห์อีกรูปแบบหนึ่งซึ่งไม่รวมการเตรียมตัวอย่าง ผู้จัดทำเป็นผู้เตรียมตัวอย่างโดยนำตัวอย่างทั้งหมด 10 กิโลกรัมมาทยอยปั่นให้ละเอียดด้วยเครื่องปั่นอาหารความแรงสูง (Robot Coupe®, Germany) เนื่องจากตัวอย่างนี้มีปริมาณไขมันสูง ทำให้ไม่สามารถร่อนตัวอย่างที่บดแล้วผ่านตะแกรงขนาดที่ต้องการได้ (sieve mesh หมายเลข 60 หรือขนาด 250 ไมครอน) จึงทำการกระจายตัวอย่างโดยการร่อนผ่าน sieve mesh No. 8, 10 และ 16 (ขนาด 2.36, 2.0 และ 1.0 มิลลิเมตร ตามลำดับ) ซึ่งทำให้ตัวอย่างมีขนาดที่สม่ำเสมอพอสมควร ตัวอย่างที่ผ่านการบดและร่อนแล้วนำมาผสมให้เข้ากันอีกครั้งโดยใช้วิธี quartering technique บรรจุในถุงพลาสติก 4 ถุง ปิดให้สนิท นำตัวอย่างแต่ละถุงมาบรรจุในซองอลูมิเนียมฟอยด์ของละประมาณ 50 กรัม ตัดฉลากที่มีรายละเอียดดังนี้คือ ชื่อตัวอย่างคือ cracker powder (INMU-18) วันที่บรรจุตัวอย่าง และรหัสตัวอย่าง ทำการสุ่มตัวอย่างเพื่อศึกษาความเป็นเนื้อเดียวกัน จำนวน 10 ซอง ตัวอย่างสำหรับส่งให้แต่ละห้องปฏิบัติการนั้นแบ่งออกเป็น 2 ชุดคือชุด A สำหรับรายงานผลเป็นค่า A และชุด B สำหรับรายงานผลเป็นค่า B ตัวอย่างที่เหลือจากการส่งให้ห้องปฏิบัติการเก็บไว้ในตู้แช่แข็ง -20°C เพื่อใช้ในการศึกษาความคงตัวของสารอาหาร ตัวอย่างที่เหลือเมื่อจบการศึกษาอาจใช้เป็นตัวอย่างอาหารมาตรฐานต่อไป (reference material) ตัวอย่าง INMU-18 นี้ใช้เป็นตัวอย่างทดสอบในการประเมินความสามารถในการวิเคราะห์สารอาหาร และประเมินการจัดทำฉลากโภชนาการแบบเต็ม ตามประกาศกระทรวงสาธารณสุขฉบับที่ 182 (1)

2.2 การทดสอบความเป็นเนื้อเดียวกัน (homogeneity study) ของสารอาหารในตัวอย่าง

ทดสอบ (cracker powder, INMU-18)

เนื่องจากตัวอย่างทดสอบ INMU 18 เตรียมโดยผู้จัดทำโครงการ จึงต้องทำการทดสอบความเป็นเนื้อเดียวกันของตัวอย่างโดยทำการสุ่มตัวอย่างทดสอบ cracker powder (INMU-18) อย่างไม่เจาะจง

จำนวน 10 ซอง จากตัวอย่าง ชุด A 5 ซองและจากชุด B 5 ซอง วิเคราะห์สารอาหารที่เป็นตัวแทนของแต่ละกลุ่มสารอาหารได้แก่

- วิเคราะห์โปรตีน เถ้า และความชื้น เพื่อเป็นตัวแทนของสารอาหารหลัก
- วิเคราะห์ไขมัน และกรดไขมันอิ่มตัว เพื่อเป็นตัวแทนของสารอาหารที่คาดว่าจะมีปัญหา
- วิเคราะห์ใยอาหาร เนื่องจากเป็นสารอาหารที่มีปัญหาจากการศึกษาที่ผ่านมา
- วิเคราะห์โซเดียม และแคลเซียมเพื่อเป็นตัวแทนของแร่ธาตุปริมาณมาก
- วิเคราะห์เหล็ก เพื่อเป็นตัวแทนของแร่ธาตุปริมาณน้อย
- วิเคราะห์วิตามินบี 1 เพื่อเป็นตัวแทนของวิตามิน และเป็นสารที่ไม่คงตัว

ในการวิเคราะห์สารอาหารแต่ละชนิด ให้ชั่งตัวอย่างจากแต่ละซอง แบบไม่เจาะจง ตัวอย่างละ 2 กรัม ดำเนินการวิเคราะห์ตัวอย่างที่ชั่งไว้แล้วอย่างไม่เจาะจง โดยวิเคราะห์ในวันเดียวกันหรือในชุดของการวิเคราะห์เดียวกัน โดยผู้วิเคราะห์ที่ทำอยู่เป็นประจำ ใช้วิธี สารเคมี สภาวะแวดล้อม และเครื่องมือในชุดเดียวกัน ผลการวิเคราะห์ที่ได้ทั้งหมดนำไปประเมินผลทางสถิติโดยไม่มีการตัดค่าหนึ่งค่าใดที่แตกต่าง (outlier) ออกจากกลุ่ม

2.3 การทดสอบความคงตัวของสารอาหาร (stability study) ในตัวอย่างทดสอบ (cracker powder, INMU-18)

เนื่องจากวิตามินบี 1 เป็นวิตามินที่ละลายในน้ำ สลายตัวได้ง่ายเมื่อสัมผัสกับความชื้นหรือออกซิเจน ผู้จัดจึงเลือกวิตามินบี 1 เป็นสารอาหารที่ใช้เป็นตัวแทนของการศึกษาความคงตัวของสารอาหารในตัวอย่างทดสอบ โดยสุ่มตัวอย่างทดสอบ cracker powder (INMU-18) อย่างไม่เจาะจงจำนวน 5 ซอง (จากซอง A จำนวน 2-3 ซอง จากซอง B จำนวน 2-3 ซอง) ในแต่ละช่วงเวลาของการศึกษา ทำการวิเคราะห์วิตามินบี 1 โดยวิเคราะห์ 1 ซ้ำ ในแต่ละซอง ก่อนการเก็บตัวอย่าง (0 เดือน) และหลังจากเก็บตัวอย่างไว้ในที่ช่องแช่แข็ง -20°C เป็นเวลา 3, 6 และ 12 เดือน นอกจากนั้นในแต่ละช่วงเวลาได้ทำการวิเคราะห์ความชื้นเพื่อตรวจสอบการรั่วซึมที่อาจเกิดขึ้นและติดตามดูแนวโน้มของการเปลี่ยนแปลงความชื้นของตัวอย่างทดสอบ

2.4 การประเมินความสามารถของห้องปฏิบัติการ (Laboratory performance study)

การประเมินความสามารถของห้องปฏิบัติการสำหรับการวิเคราะห์สารอาหารบังคับที่แสดงในฉลากโภชนาการนั้นได้ดำเนินการตามมาตรฐานสากล ISO/IEC 17043 (3)

2.4.1 ห้องปฏิบัติการที่เข้าร่วมโครงการ

ก่อนดำเนินโครงการ ผู้จัดได้ทำการสอบถามห้องปฏิบัติการที่มีการวิเคราะห์และจัดทำฉลากโภชนาการ ห้องปฏิบัติการดังกล่าวได้เคยเข้าร่วมการศึกษา PT-9 ก่อนหน้านี้แล้ว ได้รับการยืนยัน

จากห้องปฏิบัติการในการเข้าร่วมการศึกษาในครั้งนี้ (PT-10) จำนวน 16 แห่งจาก 17 แห่ง เช่นเดียวกับการศึกษาใน PT-9 ยังมีห้องปฏิบัติการที่ยังไม่สามารถวิเคราะห์สารอาหารบังคับได้ทั้งหมด รายชื่อ และที่อยู่ของห้องปฏิบัติการที่เข้าร่วมโครงการ PT-10 แสดงอยู่ในภาคผนวกที่ 1

2.4.2 การส่งตัวอย่างและเอกสาร

ส่งตัวอย่าง 2 รูปแบบที่เตรียมในข้อ 2.1.1 และ 2.1.2 ให้กับห้องปฏิบัติการที่เข้าร่วมโครงการต่างๆ ทางไปรษณีย์ พร้อมทั้งเอกสารต่างๆ ได้แก่ เอกสารหมายเลข 1 เรื่องขั้นตอนการปฏิบัติงานสำหรับห้องปฏิบัติการ ซึ่งได้ระบุรหัสลับของแต่ละห้องปฏิบัติการด้วย สำหรับเอกสารหมายเลข 2 เรื่องแบบฟอร์มรายงานผลการวิเคราะห์และการแสดงฉลากโภชนาการ และ เอกสารหมายเลข 3 เรื่องวิธีการวิเคราะห์ที่ใช้ในแต่ละห้องปฏิบัติการ ได้ทำการจัดส่งและให้ตอบกลับทางอิเล็กทรอนิกส์ (e-mail) เพื่อป้องกันการผิดพลาดจากการถ่ายโอนข้อมูล

2.4.3 การกำหนดสารอาหารที่ต้องวิเคราะห์

1) ตัวอย่าง whole wheat cracker กำหนดให้ห้องปฏิบัติการที่เข้าร่วมโครงการวิเคราะห์สารอาหารบังคับสำหรับจัดทำฉลากโภชนาการตามประกาศฉบับที่ 305 พ.ศ. 2550 (2) ซึ่งประกอบด้วยไขมันทั้งหมด โปรตีน น้ำตาล โซเดียม เถ้า และความชื้น โดยให้ทำการวิเคราะห์แต่ละสารอาหาร 2 ซ้ำ และรายงานค่าทั้งสองในแบบฟอร์มรายงานผล (เอกสารหมายเลข 2) ซึ่งได้มีการระบุหน่วย และจำนวนทศนิยมไว้ให้แล้ว สำหรับการวิเคราะห์ไขมันได้แนะนำให้มีการย่อยสลายตัวอย่างด้วยกรด (acid digestion) ก่อนการสกัดด้วยตัวทำละลายไขมัน

2) ตัวอย่าง cracker powder (INMU-18) กำหนดให้ห้องปฏิบัติการที่เข้าร่วมโครงการวิเคราะห์สารอาหารบังคับสำหรับจัดทำฉลากโภชนาการตามประกาศ ฉบับที่ 182 พ.ศ. 2542 (1) ซึ่งประกอบด้วยไขมันทั้งหมด กรดไขมันอิ่มตัว กรดไขมันชนิดทรานส์ โปรตีน โยอาหาร น้ำตาล โซเดียม วิตามินบี 1 วิตามินบี 2 แคลเซียม เหล็ก เถ้า และความชื้น การศึกษาครั้งนี้ไม่รวมการวิเคราะห์โคเลสเตอรอล และวิตามินเอ (เนื่องจากตัวอย่างทดสอบไม่มีส่วนประกอบของอาหารที่มาจากสัตว์ จึงไม่มีสารอาหารทั้ง 2 ชนิดนี้) โดยกำหนดให้ทำการวิเคราะห์สารอาหารต่างๆ ในตัวอย่างทดสอบของ A และให้รายงานเป็นค่าวิเคราะห์ของตัวอย่าง A และในตัวอย่างทดสอบของ B และรายงานเป็นค่าวิเคราะห์ของตัวอย่าง B ลงผลในแบบฟอร์มรายงานผล (เอกสารหมายเลข 2) ซึ่งได้มีการระบุหน่วย และจำนวนทศนิยมไว้ให้แล้ว สำหรับการวิเคราะห์ไขมันผู้จัดได้แนะนำให้มีการย่อยสลายตัวอย่างด้วยกรด (acid digestion) ก่อนการสกัดด้วยตัวทำละลายไขมัน และสำหรับการวิเคราะห์ใยอาหารนั้น ผู้จัดแนะนำให้ทำการสกัดไขมัน (de-fat) ออกจากตัวอย่างก่อนทำการวิเคราะห์

2.4.4 วิธีวิเคราะห์

ผู้จัดขอให้ห้องปฏิบัติการที่เข้าร่วมโครงการใช้วิธีการเตรียมตัวอย่าง และวิธีวิเคราะห์ที่ใช้อยู่เป็นประจำ (routine methods) โดยขอให้แต่ละห้องปฏิบัติการให้รายละเอียดวิธีการวิเคราะห์ต่างๆ โดยย่อ และให้ข้อมูลการควบคุมคุณภาพที่มีการแก้ไข เพิ่มเติม จากข้อมูลที่เคยให้ไว้ในเอกสารหมายเลข 3 ของการศึกษาครั้งที่ผ่านมา (PT-9) ข้อมูลเหล่านี้ใช้ประกอบในการหาเหตุผล อธิบายผลการประเมินความสามารถในการวิเคราะห์สารอาหารของห้องปฏิบัติการต่อไป

2.5 การจัดทำฉลากโภชนาการ

หลังจากที่ห้องปฏิบัติการทำการวิเคราะห์สารอาหารต่างๆ เสร็จแล้ว ผู้จัดขอให้แต่ละห้องปฏิบัติการนำผลการวิเคราะห์ที่ได้ไปจัดทำฉลากโภชนาการ สำหรับผลวิเคราะห์จากตัวอย่าง whole wheat cracker ให้จัดทำฉลากโภชนาการอย่างย่อตามประกาศ ฉบับที่ 305 พ.ศ. 2550 (2) และผลวิเคราะห์จากตัวอย่าง cracker powder (INMU-18) ให้จัดทำฉลากโภชนาการแบบเต็มตามประกาศ ฉบับที่ 182 พ.ศ. 2542 (1) โดยให้ใช้วิธีการและแบบฟอร์มการรายงานผลและการแสดงฉลากตามรูปแบบที่แต่ละห้องปฏิบัติการใช้อยู่

2.6 การส่งผลการทดสอบ

ผู้จัดขอให้แต่ละห้องปฏิบัติการส่งเอกสารที่เกี่ยวข้อง และผลการวิเคราะห์ในรูปแบบฟอร์มต่างๆ โดยส่งเป็นไฟล์แนบ (attached files) ทางอิเล็กทรอนิกส์ (e-mail) โดยกำหนดให้ส่งผลหลังจากวันที่ได้รับตัวอย่างเป็นเวลา 1.5 เดือน

2.7 การประเมินผลทางสถิติ (Statistical evaluation)

2.7.1 การศึกษาความเป็นเนื้อเดียวกันของตัวอย่างทดสอบ

ประเมินความเป็นเนื้อเดียวกันของตัวอย่าง INMU-18 ที่เตรียมโดยผู้จัด จากข้อมูลที่ได้จากการวิเคราะห์สารอาหาร 2 ซ้ำโดยใช้ “Cochran's maximum range test” (4, 5) ในการประเมินความแปรปรวนที่เกิดจากตัวอย่างภายในของเดียวกัน (within-sample variation) ซึ่งเป็นการประเมินความสามารถของผู้ที่ทำการวิเคราะห์ หากอัตราส่วนระหว่างค่าสูงสุดของความต่างที่เกิดจากการทำซ้ำเทียบกับผลรวมของความต่างทั้งหมด น้อยกว่าค่าที่ได้จากตาราง Cochran's critical value (เช่นเมื่อมีข้อมูล 10 ชุดๆ ละ 2 ซ้ำ Cochran's critical value มีค่า = 0.602) แสดงว่าผู้ที่ทำการวิเคราะห์ตัวอย่างสำหรับการศึกษาความเป็นเนื้อเดียวกันมีความเที่ยง (good precision)

เนื่องจากตัวอย่างทดสอบ INMU-18 นี้มีปริมาณไขมันค่อนข้างมากทำให้ไม่สามารถตรวจสอบความละเอียดของตัวอย่างโดยผ่านตะแกรงร่อนขนาด 250 ไมครอน ซึ่งอาจมีผลต่อความเป็นเนื้อเดียวกันของตัวอย่างได้ ดังนั้นเพื่อแสดงความมั่นใจในการตัดสินความเป็นเนื้อเดียวกันของตัวอย่าง

ทดสอบระหว่างของที่แปรจุ (between sample variations) จึงได้ทำการประเมินผลสารอาหารที่วิเคราะห์ได้โดยใช้วิธีทางสถิติ 3 วิธีคือ 1) one-way ANOVA 2) ใช้สถิติการทดสอบความเป็นเนื้อเดียวกันที่ระบุอยู่ใน ISO 13528 (6) และ 3) ใช้การพิจารณาจาก % relative standard deviation (%RSD_r) ร่วมกับการใช้ความรู้และประสบการณ์ (professional judgment) โดยใช้ค่า predicted relative standard deviation (pRSD_R) จาก Horwitz's equation เป็นค่า target SD โดยมีเกณฑ์การพิจารณาตามลำดับดังนี้

a. One-way ANOVA

One-Way ANOVA: ค่า F value (MSB/MSW) ต้อง < critical F-value

โดยที่ MSB = Mean square between

MSW = Mean square within

b. Based on ISO 13528 (6)

ISO 13528: $s_s \leq 0.3\hat{\sigma}$

โดยที่ S_s = Between-samples standard deviation (due to sampling)

$\hat{\sigma}$ = Target standard deviation

c. Percentage of relative standard deviation (%RSD)

$\%RSD_r = SD \times 100/\text{mean}$

HORRAT (7) = $RSD_r/pRSD_R$

โดยที่เกณฑ์การยอมรับ HORRAT (Horwitz's Ratio) อยู่ในช่วง 0.3-1.3 (7, 8)

RSD_r = Relative standard deviation ที่ได้จากการวิเคราะห์สารอาหารสำหรับการตรวจสอบความเป็นเนื้อเดียวกัน

$pRSD_R$ = Predicted relative standard deviation ที่คำนวณได้จาก Horwitz's equation

$pRSD_R = 2^{1-0.5 \log C}$

2.7.2 การศึกษาความคงตัวของวิตามินบี 1 และความชื้นในตัวอย่าง INMU-18

ประเมินความคงตัวของสารอาหารในตัวอย่างทดสอบ INMU-18 จากผลการวิเคราะห์วิตามินบี 1 และความชื้น จากตัวอย่างทดสอบ 5 ซองๆ ละ 1 กรัม โดยการใช้สถิติ 3 วิธีคือ 1) เปรียบเทียบผลที่ได้จากการศึกษาในช่วงเวลาต่างๆ กับค่า $\text{mean} \pm 2\text{SD}$ ที่ได้จากการศึกษาความเป็นเนื้อเดียวกัน 2) ใช้ค่า slope และค่า intercept ที่ได้จากการสมการเส้นตรงของปริมาณสารอาหารในช่วงเวลาต่างๆ เพื่อวิเคราะห์หาลำแนวโน้ม (trend analysis) และ 3) ใช้สถิติการทดสอบความเป็นเนื้อเดียวกันที่ระบุอยู่ใน ISO 13528 (6) ด้วยการเทียบค่าที่ได้จากการวิเคราะห์สารอาหารในช่วงเวลาที่เก็บตัวอย่างในระยะเวลาต่างๆ เปรียบเทียบกับค่าวิเคราะห์ที่ได้จากการศึกษาความเป็นเนื้อเดียวกัน ณ วันที่เริ่มต้น

2.7.3 การหาค่า assigned value

a. วิธีการตาม ISO 13528 (6)

นำผลการวิเคราะห์ของสารอาหารต่างๆ ในตัวอย่างทดสอบ ที่ได้มาจากห้องปฏิบัติการมาเข้ากระบวนการหาค่า assigned value ตามวิธีที่ระบุไว้ใน ISO 13528 (Algorithm A ใน Annex C) เริ่มจากการไม่นำค่าที่เกิดจากความผิดพลาดต่างๆ เช่น การระบุเทคนิคที่ผิดตำแหน่ง การรายงานหน่วยผิดพลาด เป็นต้น มาใช้ในการกำหนดค่า assigned value จากนั้นทำการเรียงค่าที่วิเคราะห์ได้จากแต่ละห้องปฏิบัติการจากน้อยไปหามาก แล้วใช้กระบวนการทางสถิติที่กำหนดใน Algorithm A หลายขั้นตอน ซึ่งแต่ละขั้นตอนมีการกำหนดค่าความแปรปรวนที่ยอมรับ หากมีค่าวิเคราะห์ที่มากหรือน้อยซึ่งอยู่นอกเกณฑ์ที่ยอมรับ จะมีกระบวนการให้ค่าที่ปรับปรุงใหม่ แล้วทำซ้ำต่อไปเรื่อยๆ จนกระทั่งได้ค่า mean และค่า standard deviation ที่คงที่หรือมีการเปลี่ยนแปลงน้อยมากๆ ค่า mean และ standard deviation ที่ได้กำหนดเป็นค่า assigned robust mean $\pm$ robust SD สำหรับการประเมินผลการวิเคราะห์ของห้องปฏิบัติการที่เข้าร่วมโครงการต่อไป

b. วิธีการตาม ISO 13528 (6) และหาค่า target standard deviation จาก Horwitz (9)

ในกรณีที่ผลการวิเคราะห์จากห้องปฏิบัติการต่างๆ มีความแปรปรวนมาก โดยเฉพาะในกรณีที่ตัวอย่างทดสอบมีสารอาหารบางอย่างในปริมาณน้อย หรือบางครั้งวิธีวิเคราะห์ที่ต่างกันทำให้เกิดความแปรปรวนได้ หรือตัวอย่างมีข้อจำกัดในเรื่องของความเป็นเนื้อเดียวกัน (ซึ่งจะเห็นได้จากค่าของ relative standard deviation (%RSD) ที่ได้จากการศึกษาความเป็นเนื้อเดียวกัน ถ้าค่า HORRAT (คำนวณได้จากอัตราส่วนของ RSD_r เทียบกับ RSD_R) อยู่ในช่วง 0.3-1.3 สามารถใช้วิธีในข้อ a ในการกำหนดค่า assigned value ได้ แต่ถ้าค่า HORRAT ของสารอาหารใดมีค่ามากกว่า 1.3 จะนำค่า

robust mean ที่ได้มาจากการคำนวณตาม ISO 13528 (6) มากำหนดค่า target SD จากสมการของ Horwitz

$$\text{Horwitz's Predicted Relative Standard Deviation หรือ } pRSD_R = 2^{1-0.5 \log C}$$

โดยที่ค่า C = fraction concentration ของสารอาหารที่ได้จาก robust mean ค่า C นั้นเป็นค่าที่ไม่มีหน่วย เช่นเมื่อค่าความเข้มข้นมีค่าเท่ากับ 2 กรัมต่อ 100 กรัม ค่า C จะมีค่า = $2/100 = 0.02$ เป็นต้น

อย่างไรก็ตามในบางกรณีการใช้ค่า target Horwitz's SD โดยตรงนั้นอาจไม่เหมาะสมเนื่องจากค่านี้อาจมากหรือน้อยเกินไป ทำให้การประเมินผลความสามารถ (laboratory evaluation) มีจำนวนห้องปฏิบัติการที่ผ่านเกณฑ์มากเกินไปทั้งๆ ที่มีความแปรปรวนมาก (ดูจากค่า RSD_R) จึงควรมีการกำหนดลดค่า target SD ลง หรือบางครั้งมีจำนวนห้องปฏิบัติการที่ผ่านเกณฑ์น้อยมากเกินไปทั้งๆ ที่ค่า RSD_R ยังอยู่ในเกณฑ์ต่ำของช่วงที่ยอมรับได้ ซึ่งในกรณีนี้ควรมีการขยายค่าของ target SD เช่นเป็น 2 หรือ 3 SD ตามความเหมาะสม โดยให้มีค่า %CV ยังอยู่ในช่วงที่ยอมรับได้ ทั้งนี้ต้องมีการใช้ประสบการณ์ของคณะผู้จัด ช่วยในการตัดสินใจ (professional judgment) ค่าของ SD ที่ได้จากการศึกษาความเป็นเนื้อเดียวกันต้องนำมาใช้ในการพิจารณาในครั้งนี้ด้วย ตัวอย่างของสารอาหารที่เห็นได้ชัดจากการศึกษาครั้งที่ผ่านมา (PT-9) คือใยอาหาร

2.7.4 การประเมินความสามารถห้องปฏิบัติการในการวิเคราะห์สารอาหาร

ประเมินผลการวิเคราะห์สารอาหารทั้งหมดที่ได้จากห้องปฏิบัติการต่างๆ โดยใช้การประเมินทางสถิติ 2 วิธีคือ ประเมินความสามารถการวิเคราะห์ภายในห้องปฏิบัติการ (within-laboratory performance) และประเมินความสามารถการวิเคราะห์ระหว่างห้องปฏิบัติการ (between-laboratory performance) ดังต่อไปนี้คือ

2.7.4.1 Within-laboratory performance

ประเมินความสามารถภายในห้องปฏิบัติการในการวิเคราะห์สารอาหาร โดยประเมินความแตกต่างระหว่างค่าสารอาหารแต่ละชนิดที่ได้จากการวิเคราะห์ตัวอย่าง 2 ซอง คือ ค่า A (จากการวิเคราะห์ตัวอย่างของ A) และค่า B (จากการวิเคราะห์ตัวอย่างของ B) ซึ่งได้รับจากแต่ละห้องปฏิบัติการ เทียบค่าความแตกต่างของสารอาหารนั้นกับค่ากลาง (median) และค่า Normalised Inter-Quartile Range (NIQR) ของความแตกต่างจากห้องปฏิบัติการทั้งหมด โดยการใช้สถิติ robust z-score_{within} (10)

$$z - score_{within} = \frac{(x_{di} - median_{di})}{NIQR_{di}}$$

โดยที่ x_{di} เป็นความแตกต่างระหว่างค่าของการวิเคราะห์ใน 2 ซองของแต่ละห้องปฏิบัติการ $[(A-B)/\sqrt{2}]$

$median_{di}$ เป็นค่ากลางของ x_{di} ที่ได้จากทุกห้องปฏิบัติการ

$NIQR_{di}$ (Normalised Inter-quartile Range) = (ค่าที่ Quartile 3 – ค่าที่ Quartile 1) x 0.7413

2.7.4.2 Between-laboratory performance

ประเมินค่าสารอาหารโดยใช้ค่าเฉลี่ยที่วิเคราะห์ได้จากตัวอย่าง 2 ซองของแต่ละห้องปฏิบัติการเทียบกับห้องปฏิบัติการอื่นที่ร่วมโครงการ ด้วยการใช้สถิติ $robust\ z - score_{between}$ ด้วยการเทียบค่าที่วิเคราะห์ได้ของแต่ละสารอาหารกับค่า assigned values ที่ได้กำหนดไว้ในข้อ 2.7.3 ตามความเหมาะสม

1) เทียบค่าวิเคราะห์ได้กับค่า assigned value ที่ได้จาก $median \pm NIQR$ ดังสมการต่อไปนี้คือ

$$z - score_{between} = \frac{(x_{si} - median_{si})}{NIQR_{si}}$$

โดยที่ x_{si} เป็นค่าผลรวมของค่าสารอาหารจากการวิเคราะห์ใน 2 ซองของแต่ละห้องปฏิบัติการ $[(A+B)/\sqrt{2}]$

$median_{si}$ เป็นค่ากลางของ x_{si} ที่ได้จากทุกห้องปฏิบัติการ

$NIQR_{si}$ (Normalised Interquartile Range) = (ค่าที่ Quartile 3 – ค่าที่ Quartile 1) x 0.7413

2) เทียบค่าวิเคราะห์ได้กับ assigned value ที่ได้จากการคำนวณตาม ISO 13528 (6) ในรูปของ $robust\ mean \pm robust\ SD$ ดังสมการต่อไปนี้คือ

$$z - score_{between} = \frac{(x - robust\ mean)}{robust\ SD}$$

โดยที่ x เป็นค่าเฉลี่ยของการวิเคราะห์ใน 2 ซองของแต่ละห้องปฏิบัติการ $[(A+B)/2]$

$robust\ mean$ เป็นค่า assigned value ตาม ISO 13528

$robust\ SD$ เป็นค่า assigned standard deviation ตาม ISO 13528

3) ในบางกรณีค่าที่วิเคราะห์ได้จากห้องปฏิบัติการต่างๆ มีความแตกต่างกันมาก เช่นในการวิเคราะห์ใยอาหาร และวิตามินบี 1 ของการศึกษาครั้งที่ผ่านมา (PT-9) มีผลให้ห้องปฏิบัติการ

ผ่านการประเมินทั้งหมด แต่พบว่าค่า $\text{mean} \pm \text{SD}$ ของสารอาหารที่ได้จากห้องปฏิบัติการที่ให้ผลอยู่ในเกณฑ์ที่ยอมรับ (consensus value) มีช่วงที่กว้างมากคือมีค่า %CV เกินกว่าเกณฑ์ที่ยอมรับได้ ดังนั้นจึงใช้ค่า assigned value ในรูปของ robust mean ที่ได้จากการคำนวณตาม ISO 13528 (6) แต่แทนค่าของ robust SD ด้วยการใส่ค่าที่เหมาะสมกว่าคือใช้ค่า predicted SD ที่คำนวณมาจาก RSD_R ของ Horwitz's equation (11) เพื่อใช้ในการประเมินความสามารถของห้องปฏิบัติการ ดังสมการต่อไปนี้คือ

$$z\text{-score}_{\text{between}} = \frac{(x - \text{robust mean})}{\text{predicted SD}}$$

2.7.4.3 การแปลผลการศึกษาความสามารถห้องปฏิบัติการ

ค่าของ absolute z-score ที่น้อยกว่าหรือเท่ากับ 2 หมายถึงความสามารถห้องปฏิบัติการได้ผลการประเมินเป็นที่น่าพอใจ ซึ่งแสดงด้วยสัญลักษณ์ “a” ค่าของ absolute z-score ที่มากกว่า 2 แต่น้อยกว่า 3 หมายถึงผลการวิเคราะห์เป็นที่น่าสงสัย แสดงด้วยสัญลักษณ์ “w” สำหรับการประเมิน within-laboratory performance หรือ “b” สำหรับการประเมิน between-laboratory performance ค่าของ absolute z-score ที่มากกว่าหรือเท่ากับ 3 หมายถึงผลการวิเคราะห์ไม่เป็นที่น่าพอใจ และแสดงด้วยสัญลักษณ์ “ww” สำหรับการประเมิน within-laboratory performance หรือ “bb” สำหรับการประเมิน between-laboratory performance ดังแสดงในตารางต่อไปนี้

Z-score	การแปลผล (Interpretation)	รหัส (Code)
$ z\text{-score} \leq 2$	ผลเป็นที่น่าพอใจ Satisfactory result	“a”
$2 < z\text{-score} < 3$	ผลเป็นที่น่าสงสัย Questionable result	“w” (within), “b” (between)
$ z\text{-score} \geq 3$	ผลไม่เป็นที่น่าพอใจ Unsatisfactory result (เป็นค่า extreme values)	“ww” (within), “bb” (between)

2.7.5 การแสดงผลของการประเมิน

ผลการวิเคราะห์ของสารอาหารแต่ละชนิด ซึ่งแต่ละห้องปฏิบัติการรายงานมาให้ผู้จัดรวมทั้งผลของการประเมินทางสถิติในรูปของ z-score ทั้ง within- และ between-laboratory performance และการคำนวณค่า consensus value ของแต่ละสารอาหารจากห้องปฏิบัติการที่ผ่านเกณฑ์การประเมินทั้ง within- และ between-laboratory performance แสดงอยู่ในตารางของแต่ละ

สารอาหาร และแต่ละตัวอย่างทดสอบแยกกัน นอกจากนี้ยังแสดงผลของการประเมินเป็นกราฟแท่งของแต่ละสารอาหารต่างๆ เพื่อประกอบความเข้าใจ สำหรับสารอาหารบางชนิด ได้แก่ total fat, protein, sodium, moisture และ ash ที่มีการวิเคราะห์ในทั้ง 2 ตัวอย่างทดสอบ (whole wheat cracker และ INMU-18) มีการแสดงผลความสัมพันธ์ของผลการประเมินในรูปกราฟที่ชื่อว่า “Youden plots” เพื่อให้ให้เห็นแนวโน้มของการวิเคราะห์ที่เป็น systematic error หรือ random error

2.8 การประเมินความสามารถห้องปฏิบัติการในการจัดทำฉลากโภชนาการ

การประเมินความสามารถในการจัดทำฉลากโภชนาการของแต่ละห้องปฏิบัติการ ได้มีการประเมินในเรื่องของรูปแบบของการแสดงฉลาก (format) การกำหนดและการแสดงข้อมูลหนึ่งหน่วยบริโภค (serving size) จำนวนหน่วยบริโภคต่อภาชนะบรรจุ (serving per package) การคำนวณปริมาณสารอาหารต่อหนึ่งหน่วยบริโภค (nutrient per serving) และต่อร้อยละของปริมาณที่ควรได้รับต่อวัน (%Thai RDI) รวมถึงการปิดเลข และการแสดงผลบนฉลาก บันทึกข้อมูลต่างๆ ที่พบว่าไม่ถูกต้อง และสรุปผลต่างๆ ในตาราง

3. ผลการศึกษา และอภิปรายผล (RESULTS AND DISCUSSION)

3.1 การเตรียมตัวอย่างทดสอบ

การศึกษานี้ใช้ตัวอย่าง whole wheat cracker ในการศึกษา 2 รูปแบบ คือรูปแบบที่จำหน่ายตามท้องตลาด ส่งให้แต่ละห้องปฏิบัติการ เพื่อเตรียมตัวอย่าง วิเคราะห์สารอาหาร และจัดทำฉลากโภชนาการอย่างย่อตามประกาศฯ ฉบับที่ 305 พ.ศ. 2550 (2) ส่วนรูปแบบที่สองผู้จัดเป็นผู้เตรียมตัวอย่างให้เป็นเนื้อเดียวกัน บรรจุเป็นซอง A และ B ส่งให้ห้องปฏิบัติการเพื่อทำการวิเคราะห์สารอาหาร และจัดทำฉลากโภชนาการแบบเต็ม ตามประกาศฯ ฉบับที่ 182 พ.ศ. 2542 (1)

การจัดทำฉลากโภชนาการของไทยตามประกาศฯ มีข้อกำหนดให้ต้องใช้ตัวอย่างทั้งหมดหรือตัวแทนจากแต่ละผลิตภัณฑ์จาก 12 บรรจุภัณฑ์ในปริมาณที่เท่ากัน เพื่อเป็นตัวแทนในการวิเคราะห์ ในศึกษานี้ พบว่ามีห้องปฏิบัติการ 15 แห่งจากทั้งหมด 16 แห่ง ที่มีการเตรียมตัวอย่าง whole wheat cracker จาก 12 ซองตามข้อกำหนด แต่มีห้องปฏิบัติการ 1 แห่ง (lab no. 15) ที่ใช้ตัวอย่างเพียง 10 ซอง และมีห้องปฏิบัติการ 1 แห่ง (lab no. 16) ใช้ตัวแทนของตัวอย่างจากแต่ละซอง มารวมกันในถุงใหญ่ หลังจากนั้นผสมตัวอย่างให้เข้ากันก่อนนำไปปั่นให้ละเอียด เนื่องจาก whole wheat cracker มีปริมาณไขมันสูงทำให้ร้อนผ่านตะแกรงร่อนไม่ได้ อย่างไรก็ตามมีห้องปฏิบัติการ 1 แห่ง (lab no. 6) จากทั้งหมด 16 แห่ง ที่นำมาร่อนผ่านตะแกรงร่อน หมายเลข 10 (2 มิลลิเมตร) จากนั้นห้องปฏิบัติการแต่ละแห่ง นำตัวอย่างที่บดได้มาบรรจุในภาชนะต่างๆ ชนิดกัน ได้แก่ aluminum foil bags, zip-locked

plastic bag, ขวดพลาสติก หรือ ขวดแก้วจุกเกลียว แล้วเก็บไว้ที่อุณหภูมิห้อง (25-30°C) หรือในตู้เย็น หรือใส่ในช่องแช่แข็งเพื่อรอการวิเคราะห์ต่อไป

สำหรับตัวอย่าง cracker powder (INMU-18) ซึ่งเป็นตัวอย่างที่ผู้จัดเตรียมตัวอย่างให้เป็นเนื้อเดียวกัน เนื่องจากตัวอย่างที่มีปริมาณไขมันสูง (ประมาณ 25 กรัมต่อ 100 กรัม) การเตรียมตัวอย่างด้วยเครื่องปั่นความเร็วสูง (Robot Coupe® food processor) ทำให้ตัวอย่างมีลักษณะเกาะตัวเป็นก้อน ไม่สามารถร่อนผ่านตะแกรงตามที่ต้องการคือ 250 ไมครอน (0.25 มิลลิเมตร) ได้ ตัวอย่างนี้จึงไม่สามารถทำการศึกษาการกระจายตัวของตัวอย่าง (particle size distribution) อาจมีผลต่อความเป็นเนื้อเดียวกันของสารอาหารบางอย่างได้ ซึ่งจะแสดงและอภิปรายผลในหัวข้อต่อไป

3.2 การทดสอบความเป็นเนื้อเดียวกันของตัวอย่าง cracker powder (INMU-18)

3.2.1 การประเมินความแปรปรวนของสารอาหารภายในตัวอย่างเดียวกัน (within-sample variation) โดยใช้สถิติ “Cochran's maximum range test” (4, 5) แสดงผลใน ตารางที่ 1A ถึง 1C พบว่าทุกสารอาหารมีค่าสัดส่วนของค่าสูงสุดของความต่างที่เกิดจากการทำซ้ำ (maximum range) เมื่อเทียบกับผลรวมของความต่างทั้งหมด (sum of the ranges) น้อยกว่าค่า Cochran's critical values ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% แสดงว่าตัวอย่างที่ศึกษาไม่มีความแปรปรวนของสารอาหารที่ทดสอบทั้งหมด ภายในตัวอย่างเดียวกัน หรืออีกนัยหนึ่งคือผู้ที่ทำการวิเคราะห์ตัวอย่างสำหรับการศึกษาความเป็นเนื้อเดียวกันมีความเที่ยง (good precision) ในการวิเคราะห์ ความแปรปรวนที่เกิดจากการวิเคราะห์ไม่มีผลหรือมีผลน้อยมากและไม่มีความสำคัญต่อผลการประเมินความเป็นเนื้อเดียวกันของตัวอย่างทดสอบซึ่งจะดำเนินในขั้นตอนต่อไป

3.2.2 การประเมินความเป็นเนื้อเดียวกันของตัวอย่างทดสอบ (sample homogeneity, between-sample variation)

เนื่องจากตัวอย่าง whole wheat cracker มีปริมาณไขมันค่อนข้างสูง (ประมาณ 28 กรัม/100 กรัม) ทำให้ยากต่อการเตรียมตัวอย่างให้เป็นเนื้อเดียวกัน และไม่สามารถร่อนตัวอย่างที่บดแล้วผ่านตะแกรงร่อนที่ต้องการตรวจสอบความละเอียดได้ ดังนั้นการบดตัวอย่างที่ไม่ละเอียดมากพอ อาจมีผลต่อความเป็นเนื้อเดียวกันของตัวอย่างได้ ตัวอย่างชนิดนี้จึงเป็นตัวแทนของขนมขบเคี้ยวที่พบได้ทั่วไป คาดว่าห้องปฏิบัติการต่างๆ คงจะต้องประสบปัญหาในการเตรียมและวิเคราะห์ตัวอย่างเช่นกัน ทางผู้จัดจึงเลือก whole wheat cracker เป็นตัวอย่างทดสอบ ในการประเมินความสามารถของปฏิบัติการในครั้งนี้ การประเมินความความแปรปรวนของสารอาหารระหว่าง 10 ซองของตัวแทนตัวอย่างทดสอบทั้งหมด เพื่อแสดงความเป็นเนื้อเดียวกัน ใช้วิธีทางสถิติ 3 วิธี ผลการวิเคราะห์และการประเมินแสดงในตารางที่ 2A ถึง 2C

ตารางที่ 1A. การประเมินความแปรปรวนที่เกิดจากผู้วิเคราะห์โดยใช้วิธี Cochran's maximum range test: moisture, protein, total fat and saturated fat

No.	Moisture (g/100g)			Total protein g/100g			Total fat (g/100g)			Saturated fat (g/100g)		
	A	B	Range ² (R)	R/R-total	A	B	Range ² (R)	R/R-total	A	B	Range ² (R)	R/R-total
1	1.98	2.01	0.001	0.003	8.28	8.37	0.008	0.208	28.27	28.54	0.073	0.038
2	1.84	1.71	0.016	0.051	8.34	8.37	0.001	0.023	28.46	28.56	0.010	0.005
3	1.95	1.60	0.122	0.391	8.38	8.39	0.000	0.003	28.07	27.93	0.020	0.010
4	1.80	1.71	0.008	0.025	8.36	8.36	0.000	0.000	28.25	27.69	0.314	0.164
5	1.67	1.98	0.101	0.326	8.27	8.42	0.023	0.577	28.37	28.20	0.029	0.015
6	1.66	1.55	0.011	0.037	8.41	8.44	0.001	0.023	27.17	28.18	1.020	0.533
7	1.75	1.92	0.029	0.092	8.39	8.45	0.004	0.092	27.89	28.23	0.116	0.060
8	1.81	1.67	0.019	0.061	8.42	8.42	0.000	0.000	27.84	27.91	0.005	0.003
9	1.89	1.94	0.002	0.008	8.44	8.42	0.000	0.010	28.36	28.83	0.221	0.115
10	1.85	1.80	0.002	0.007	8.36	8.41	0.003	0.064	27.37	27.70	0.109	0.057
R Total	0.311						0.039	1.915				0.295
N	10						10	10				10
Cochran critical value ^(a)	0.602						0.602	0.602				0.602
at 95% confidence level	pass						pass	pass				pass

^(a) critical value for Cochran's maximum variance test for 10 sets of data, when the number of results per set (n) =2, given in the ISO 5725-2 (1994), Accuracy (trueness and precision) of measurement methods and results Part 2: Basic method for the determination of repeatability and reproducibility of a standard measurement method (5)

ตารางที่ 1B. การประเมินความแปรปรวนที่เกิดจากผู้วิเคราะห์ โดยวิธี Cochran's maximum range test: dietary fibre, ash and vitamin B₁

No.	Dietary Fibre (g/100g)				Ash (g/100g)				Vitamin B ₁ (mg/100g)			
	A	B	Range ² (R)	R/R-total	A	B	Range ² (R)	R/R-total	A	B	Range ² (R)	R/R-total
1	3.20	3.16	0.002	0.020	1.50	1.52	0.000	0.040	0.08	0.07	0.0001	0.333
2	3.51	3.54	0.001	0.011	1.50	1.48	0.000	0.040	0.07	0.07	0.0000	0.000
3	3.22	3.07	0.023	0.275	1.50	1.49	0.000	0.010	0.07	0.07	0.0000	0.000
4	3.22	3.16	0.004	0.044	1.46	1.51	0.003	0.248	0.07	0.07	0.0000	0.000
5	3.36	3.27	0.008	0.099	1.49	1.51	0.000	0.040	0.07	0.07	0.0000	0.000
6	3.2	3.32	0.014	0.176	1.58	1.53	0.003	0.248	0.06	0.07	0.0001	0.333
7	3.41	3.56	0.023	0.275	1.50	1.47	0.001	0.089	0.06	0.07	0.0001	0.333
8	3.36	3.35	0.000	0.001	1.50	1.48	0.000	0.040	0.07	0.07	0.0000	0.000
9	3.01	3.01	0.000	0.000	1.45	1.48	0.001	0.089	0.07	0.07	0.0000	0.000
10	3.49	3.58	0.008	0.099	1.45	1.49	0.002	0.158	0.07	0.07	0.0000	0.000
R Total	0.082				0.010				0.0003			
N	10				10				10			
Cochran critical value ^(a) at 95% confidence level				0.602	pass				0.602			
				pass					pass			

^(a) critical value for Cochran's maximum variance test for 10 sets of data, when the number of results per set (n) = 2, given in the ISO 5725-2 (1994). Accuracy (trueness and precision) of measurement methods and results Part 2: Basic method for the determination of repeatability and reproducibility of a standard measurement method. (5)

ตารางที่ 1C. การประเมินความแปรปรวนที่เกิดจากผู้วิเคราะห์ โดยวิธี Cochran's maximum range test: calcium, sodium and iron

No.	Calcium (mg/100g)				Sodium (mg/100g)				Iron (mg/100g)			
	A	B	Range ² (R)	R/R-total	A	B	Range ² (R)	R/R-total	A	B	Range ² (R)	R/R-total
1	14.86	14.88	0.000	0.000	394	385	85	0.031	1.21	1.2	0.0001	0.011
2	16.58	15.8	0.608	0.141	356	368	148	0.053	1.2	1.23	0.0009	0.099
3	15.84	16.06	0.048	0.011	406	402	16	0.006	1.19	1.22	0.0009	0.099
4	14.81	14.64	0.029	0.007	394	387	53	0.019	1.32	1.27	0.0025	0.275
5	15.79	15.93	0.020	0.005	370	394	585	0.210	1.25	1.23	0.0004	0.044
6	14.89	15.22	0.109	0.025	382	383	3	0.001	1.17	1.14	0.0009	0.099
7	14.79	15.73	0.884	0.204	405	428	566	0.204	1.22	1.2	0.0004	0.044
8	15.21	14.6	0.372	0.086	403	402	1	0.000	1.16	1.15	0.0001	0.011
9	20.2	18.97	1.513	0.350	449	413	1320	0.475	1.17	1.19	0.0004	0.044
10	14.57	15.43	0.740	0.171	417	417	0	0.000	1.22	1.17	0.0025	0.275
R Total	4.323				2778				0.0091			
N	10				10				10			
Cochran critical value ^(a) at 95% confidence level	0.602				0.602				0.602			
	pass				pass				pass			

^(a) critical value for Cochran's maximum variance test for 10 sets of data, when the number of results per set (n) =2, given in the ISO 5725-2 (1994). Accuracy (trueness and precision) of measurement methods and results Part 2: Basic method for the determination of repeatability and reproducibility of a standard measurement method (5).

1) ประเมินความเป็นเนื้อเดียวกันของตัวอย่างโดยสถิติ one-way ANOVA พบว่า moisture, protein, total fat, ash และ vitamin B₁ มีค่า F -values (between-sample variance/within-sample variance – MSB/MSW) น้อยกว่าค่า critical F -value แสดงว่าตัวอย่างทดสอบมีความเป็นเนื้อเดียวกันสำหรับสารอาหารเหล่านี้ ส่วน saturated fat, dietary fibre, calcium, sodium และ iron ให้ค่า F -values มากกว่า ค่า critical F -value ดังแสดงในตารางที่ 2A แสดงว่าตัวอย่างอาจไม่เป็นเนื้อเดียวกัน ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากข้อจำกัดของการใช้สถิติ one-way ANOVA ซึ่งเห็นได้จากสูตรการคำนวณที่มาจากค่า MSB/MSW ถ้าหากค่า MSW มีค่าน้อยกว่า MSB มาก (แสดงว่าผู้วิเคราะห์มีความเที่ยงมาก) ค่า F -value ที่คำนวณได้มีค่าสูงและมากกว่า critical F -value เสมอ ดังนั้นการใช้สถิติ one-way ANOVA อาจไม่เหมาะสมในการประเมินความเป็นเนื้อเดียวกันของตัวอย่างทดสอบ แต่เหมาะสมสำหรับการนำไปใช้ในการประมาณค่าความไม่แน่นอนที่เกิดขึ้นจากการศึกษาความเป็นเนื้อเดียวกัน ดังที่ปรากฏอยู่ใน ISO guide 35 ดังนั้นผู้จัดจึงคำนึงถึงข้อจำกัดของสถิตินี้ และใช้สถิติวิธีอื่นมาร่วมประเมินความเป็นเนื้อเดียวกันของตัวอย่างด้วย

2) ประเมินความเป็นเนื้อเดียวกันของตัวอย่างโดยใช้สถิติตามมาตรฐาน ISO 13528 (6) และใช้ target standard deviation จาก Horwitz's equation พบว่าค่า between-samples standard deviation (S_s) ของสารอาหารที่ศึกษาส่วนใหญ่มีค่ามากกว่า 0.3 เท่าของ target standard deviation ยกเว้น protein, vitamin B₁ และ iron (ตารางที่ 2B) ในตารางนี้ได้แสดงผลการประเมินที่ใช้ target standard deviation จากการวิเคราะห์สารอาหารเดียวกันของการศึกษา PT-9 เมื่อปี 2553 โดยมี salted broad bean เป็นตัวอย่างทดสอบ ซึ่งเป็นขนมขบเคี้ยวชนิดที่มีไขมันสูงเช่นกัน ผลการประเมินพบว่า มีค่า between-samples standard deviation (S_s) ของตัวอย่างส่วนใหญ่มีค่าน้อยกว่า 0.3 เท่าของ target standard deviation ยกเว้น total fat, calcium และ sodium (ตารางที่ 2B) โดยสรุปอาจกล่าวได้ว่า จากผลการประเมินโดยใช้วิธีทางสถิติ ที่กำหนดใน ISO 13528 แสดงให้เห็นว่า ตัวอย่างมีความเป็นเนื้อเดียวกันของสารอาหารเหล่านี้ คือ moisture, protein, saturated fat, dietary fibre, ash, vitamin B₁ และ iron สำหรับการวิเคราะห์ total fat, calcium และ sodium ตัวอย่างอาจมีความเป็นเนื้อเดียวกันไม่เพียงพอ ทั้งนี้เนื่องจากตัวอย่าง whole wheat cracker มีปริมาณไขมันค่อนข้างสูง (ประมาณ 28 กรัม/100 กรัม) ยากต่อการเตรียมตัวอย่างให้เป็นเนื้อเดียวกัน

ตารางที่ 2A. ผลการประเมินความแปรปรวนเป็นเนื้อเดียวกันของตัวอย่าง โดยสถิติ one-way ANOVA

Parameters	Mean	Sum of squares within (SSw)	Sum of squares between (SSb)	Standard deviation (SD)	Mean squares within (MSw)	Mean squares between (MSb)	F-value (MSb/MSw)	F -value (df = 9,10) Critical F-values = 3.02	P-value	Conclusion
Moisture (g/100g)	1.80	0.1555	0.1926	0.10	0.0155	0.0214	1.38	1.38	0.3117	Passed
Protein (g/100g)	8.39	0.0195	0.0256	0.04	0.0020	0.0028	1.46	1.46	0.2817	Passed
Total fat (g/100g)	28.09	0.9577	2.2371	0.35	0.0958	0.2486	2.60	2.60	0.0767	Passed
Sat fat (g/100g)	19.54	0.1475	0.6800	0.19	0.0147	0.0756	5.12	5.12	0.0088	Not passed
Dietary fibre (g/100g)	3.30	0.0409	0.5591	0.18	0.0041	0.0621	15.19	15.19	0.0001	Not passed
Ash (g/100g)	1.49	0.0051	0.0112	0.02	0.0005	0.0012	2.47	2.47	0.0872	Passed
Vitamin B1 (mg/100g)	0.07	0.0002	0.0001	0.0028	0.00002	0.00002	1.07	1.07	0.4527	Passed
Calcium (mg/100g)	15.74	2.1614	37.5532	1.44	0.2161	4.1726	19.30	19.30	3.5E-05	Not passed
Sodium (mg/100g)	397.71	1388.87	7538.99	20.47	138.887	837.666	6.03	6.03	0.0048	Not passed
Iron (mg/100g)	1.21	0.0046	0.0303	0.04	0.0005	0.0034	7.41	7.41	0.0022	Not passed

ตารางที่ 2B. ผลการประเมินความแม่นยำเป็นเนื้อเดียวกันของตัวอย่าง โดยสถิติตามมาตรฐาน ISO 13528 (6)

Parameters	Mean	Standard deviation (SD)	Relative standard deviation (RSD), %CV	Between-samples standard deviation (Ss)	0.3 of target SD from Horwitz (0.3 SDp)	Conclusion $s_s \leq 0.3\hat{\sigma}$	SD from previous study (PT-9)	0.3 of SD from PT-9	Conclusion $s_s \leq 0.3\hat{\sigma}$
Moisture (g/100g)	1.80	0.10	5.7	0.054	0.020	Not passed	0.31	0.093	Passed
Protein (g/100g)	8.39	0.04	0.4	0.021	0.073	Passed	0.30	0.090	Passed
Total fat (g/100g)	28.09	0.35	1.3	0.276	0.204	Not passed	0.65	0.195	Not passed
Sat fat (g/100g)	19.54	0.19	1.0	0.174	0.150	Not passed	0.80	0.240	Passed
Dietary fibre (g/100g)	3.30	0.18	5.3	0.170	0.033	Not passed	1.00	0.300	Passed
Ash (g/100g)	1.49	0.02	1.7	0.019	0.017	Not passed	0.07	0.021	Passed
Vitamin B1 (mg/100g)	0.07	0.00	4.1	0.001	0.004	Passed	0.02	0.006	Passed
Calcium (mg/100g)	15.74	1.44	9.2	1.406	0.353	Not passed	4.00	1.200	Not passed
Sodium (mg/100g)	397.71	20.47	5.1	18.692	5.483	Not passed	29.00	8.700	Not passed
Iron (mg/100g)	1.21	0.04	3.4	0.038	0.040	Passed	0.28	0.084	Passed

1) สูตรผลตามสถิติมาตรฐาน ISO 13528 โดยใช้ค่า target SD ที่ได้มาจาก Horwitz's equation

2) สูตรผลจากการใช้ค่า target SD ที่ได้มาจากการศึกษา PT-9 ที่ผ่านมา

3) ประเมินความเป็นเนื้อเดียวกันของตัวอย่างด้วยการใช้ relative standard deviation (RSD) ซึ่งเป็นวิธีการที่ไม่ยุ่งยาก เข้าใจได้ง่าย เป็นการประเมินค่าความแปรปรวนของแต่ละสารอาหาร ที่เกิดจากการวิเคราะห์ในห้องปฏิบัติการเดียวกัน (RSD_r) เทียบกับค่า Horwitz's predicted RSD ($pRSD_R$) ซึ่งเป็นค่าประมาณการความแปรปรวนระหว่างห้องปฏิบัติการ จากตารางที่ 2C พบว่าค่าของ RSD_r อยู่ในช่วงตั้งแต่ 1.0% ของไขมันอิ่มตัว ถึง 5.7% ของความชื้น ซึ่งนับว่าเป็นค่าที่ค่อนข้างต่ำ และยอมรับได้โดยทั่วไป ยกเว้น RSD_r ของแคลเซียมที่มีค่าสูงกว่า (9.2%) แต่น้อยกว่า 10% ซึ่งเป็นค่าที่ยอมรับได้โดยทั่วไปสำหรับการวิเคราะห์ minerals และ vitamins เมื่อพิจารณาค่า HORRATs ($RSD_r/pRSD_R$) (7) สารอาหารเกือบทั้งหมดมีค่าอยู่ในเกณฑ์ที่ยอมรับได้ (0.3-1.3) ยกเว้นความชื้น ($HORRAT = 1.57$, ความแปรปรวนนี้จะเกิดจากการที่ตัวอย่างมีความชื้นต่ำมาก 1.8 กรัมต่อ 100 กรัม) และใยอาหาร (1.60) ส่วนการที่ค่า HORRATs ของวิตามินบี 1 และโปรตีน มีค่าน้อยกว่า 0.3 นั้น เนื่องมาจากความแปรปรวนของการวิเคราะห์สารอาหารเหล่านี้มีน้อยมากเมื่อเทียบกับค่า $pRSD_R$ จากเกณฑ์การประเมินนี้สามารถสรุปได้ว่า cracker powder (INMU-18) มีความเป็นเนื้อเดียวกันเพียงพอสำหรับใช้เป็นตัวอย่างทดสอบความสามารถห้องปฏิบัติการได้ ถึงแม้ว่ามีข้อจำกัดของค่าความเป็นเนื้อเดียวกันของความชื้น และใยอาหาร อย่างไรก็ตามเมื่อมีการประมาณค่า assigned value ของสารอาหาร และนำตัวอย่างนี้ไปใช้ในการประเมินความสามารถห้องปฏิบัติการในการวิเคราะห์สารอาหารต่างๆ โดยเฉพาะความชื้น และใยอาหาร จะต้องนำค่า RSD_r ที่ได้จากการประเมินความเป็นเนื้อเดียวกันมาร่วมพิจารณาด้วย

ตารางที่ 2C การประเมินความเป็นเนื้อเดียวกันของตัวอย่างโดยใช้ relative standard deviation (RSD)

Parameters	Mean	Standard deviation (SD)	Relative standard deviation (RSD or %CV)	Target RSD from Horwitz RSDp (b)	HORRAT value RSD/RSDp ^(a)	Acceptable HORRAT ^(a) (0.3-1.3)
Moisture (g/100g)	1.80	0.10	5.7	3.7	1.57	Not passed
Protein (g/100g)	8.39	0.04	0.4	2.9	0.15	Passed
Total fat (g/100g)	28.09	0.35	1.3	2.4	0.52	Passed
Sat fat (g/100g)	19.54	0.19	1.0	2.6	0.39	Passed
Dietary fibre (g/100g)	3.30	0.18	5.3	3.3	1.60	Not passed
Ash (g/100g)	1.49	0.02	1.7	3.8	0.44	Passed
Vitamin B ₁ (mg/100g)	0.07	0.003	4.1	16.9	0.24	Passed
Calcium (mg/100g)	15.74	1.44	9.2	7.5	1.23	Passed
Sodium (mg/100g)	397.71	20.47	5.1	4.6	1.12	Passed
Iron (mg/100g)	1.21	0.04	3.4	11.0	0.31	Passed

^(a) http://www.aoac.org/dietsupp6/Dietary-Supplement-web-site/HORRAT_SLV.pdf; Definitions and calculations of HORRAT values from intralaboratory data.

- For interlaboratory studies: Acceptable HORRAT (R) < 1 (lower limit = 0.5, upper limit = 2.0)

- For intralaboratory studies: acceptable HORRAT (r) 0.3-1.3 (one half of lower limit to two thirds of the upper limit)

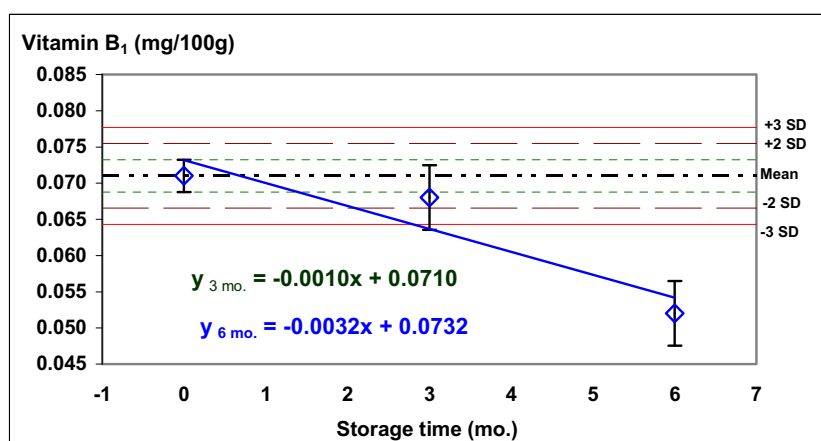
^(b) Horwitz's predicted value

3.3 การทดสอบความคงตัวของวิตามินบี 1 และความชื้นในตัวอย่าง cracker powder

3.3.1 วิตามินบี 1

ผลประเมินความคงตัวของวิตามินบี 1 (ตัวแทนสารอาหารที่สลายตัวได้ง่าย) ในตัวอย่างทดสอบ cracker powder (INMU-18) ที่เก็บในถุงอลูมิเนียมฟอยด์บรรจุด้วยระบบสุญญากาศเก็บไว้ที่ตู้แช่แข็งอุณหภูมิ -20°C ในช่วง 3 และ 6 เดือน แสดงอยู่ในรูปที่ 1 และตารางที่ 3A โดยใช้สถิติ 3 รูปแบบได้ผลดังนี้คือ

1) พบว่าที่ระยะเวลา 3 เดือนค่าของวิตามินบี 1 (0.068 ± 0.004 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัม, CV 6.6%) ยังอยู่ในช่วงของ $\text{mean} \pm 2\text{SD}$ (รูปที่ 1) ของค่าเริ่มต้นที่ได้จากการศึกษาความเป็นเนื้อเดียวกัน (0.071 ± 0.002 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัม, CV 3.1%) ในขณะที่ระยะเวลา 6 เดือนค่าลดลง (0.052 ± 0.004 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัม, CV 8.6%) อยู่ในระดับนอกนอกช่วงของ $\text{mean} \pm 3\text{SD}$



รูปที่ 1 ผลการศึกษาความคงตัวของวิตามินบี 1 ในตัวอย่าง cracker powder ในช่วงการเก็บ 3 และ 6 เดือน

2) เมื่อใช้ค่า slope และ intercept ของสมการเส้นตรงที่ได้จากรูปที่ 1 เพื่อวิเคราะห์หาแนวโน้ม (trend analysis) พบว่าที่ระยะเวลาการเก็บ 3 เดือนค่าของ slope มีค่าลดลงน้อยมาก (slope = -0.001) และค่า intercept ของสมการที่ตัดแกน Y มีค่า 0.071 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัม ซึ่งไม่แตกต่างจากค่าที่ได้จากการศึกษา homogeneity (0.071 ± 0.002 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัม, CV 3.1%) ที่ระยะเวลาการเก็บ 6 เดือนค่าของ slope มีค่าลดลงประมาณ 3 เท่าของระยะการเก็บช่วง 3 เดือน แต่ค่า intercept ของสมการที่ตัดแกน Y มีค่า 0.073 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัม ซึ่งแตกต่างจากค่าวิตามินบี 1 ที่ได้จากการศึกษา homogeneity เล็กน้อย

3) เมื่อใช้สถิติความเป็นเนื้อเดียวกันที่ระบุอยู่ใน ISO 13528 (6) โดยการเทียบค่าที่ได้จากการวิเคราะห์ตัวอย่างที่เก็บในช่วงเวลาต่างๆ กับค่าที่ได้จากการศึกษาความเป็นเนื้อเดียวกัน ณ วันที่เริ่มต้น (ตารางที่ 3A) พบว่าที่ระยะเวลาการเก็บ 3 เดือนค่าความแตกต่างระหว่างค่าที่วิเคราะห์ได้กับค่าที่ได้จากการศึกษาความเป็นเนื้อเดียวกัน ($|x_1 - y| = 0.003$) มีค่าน้อยกว่า 0.3 เท่าของ Horwitz's target SD ($0.3\hat{\sigma} = 0.004$) แสดงว่าผ่านเกณฑ์ คือวิตามินบี 1 ยังมีความคงตัว แต่ที่ช่วงเวลาการเก็บ 6 เดือน ค่าความแตกต่าง ($|x_2 - y| = 0.019$) มีค่ามากกว่า target SD แสดงว่าวิตามินบี 1 มีการลดลงอย่างมีนัยสำคัญ อย่างไรก็ตามค่าของวิตามินบี 1 ในตัวอย่างทดสอบนี้มีปริมาณที่น้อยมาก (0.071 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัม) ในการแสดงฉลากโภชนาการคิดเป็น 0.02 มิลลิกรัมต่อหนึ่งหน่วยบริโภค [1 ช่อ (30 กรัม)] หรือ < 2% ของ Thai RDI การที่สารอาหารมีปริมาณน้อยมากเช่นนี้ ทำให้เกิดความแปรปรวนของค่าที่ได้จากการวิเคราะห์ ดังนั้นเป็นไปได้ที่การเปลี่ยนแปลงของระดับวิตามินที่พบระหว่างการเก็บตัวอย่าง อาจเกิดจากความแปรปรวนจากการวิเคราะห์ในแต่ละช่วงเวลาที่ศึกษา หากต้องการศึกษาความคงตัวเพื่อลดความแปรปรวนของการวิเคราะห์ ควรเลือกใช้วิธีที่เรียกว่า isochronus method คือ

เมื่อถึงระยะเวลาที่ต้องการศึกษา ก็นำตัวอย่างออกจากตู้แช่แข็งที่ -20°C ไปเก็บไว้ที่ตู้แช่แข็ง -40°C ถึง -80°C เมื่อสิ้นสุดระยะเวลาการเก็บจึงนำออกมาวิเคราะห์ในชุดเดียวกัน ซึ่งจะลดความแปรปรวนจากการวิเคราะห์ได้ แต่วิธีนี้มีข้อจำกัดที่ต้องรอให้จบการศึกษา ก่อน จึงจะนำไปวิเคราะห์สารอาหารได้

ตารางที่ 3A ผลการศึกษาความคงตัวของวิตามินบี 1 ในตัวอย่าง cracker powder ตามวิธีที่ระบุใน ISO 13528

ช่วงเวลา	ค่าเฉลี่ย (mg/100g)	ค่าความต่าง ($ x-y $)	Target $\text{SD}_R^* (\hat{\sigma})$	$0.3 \hat{\sigma}$	สรุป $ x-y < 0.3 \hat{\sigma}$
ค่าที่ได้จากการศึกษา	0.071	-	0.012	-	-
ความเป็นเนื้อเดียวกัน (y)					
หลังเก็บที่ -20°C 3 เดือน (x_1)	0.068	0.003	0.012	0.004	Pass
หลังเก็บที่ -20°C 6 เดือน (x_2)	0.052	0.019	0.012	0.004	Not pass

*Horwitz's predicted SD

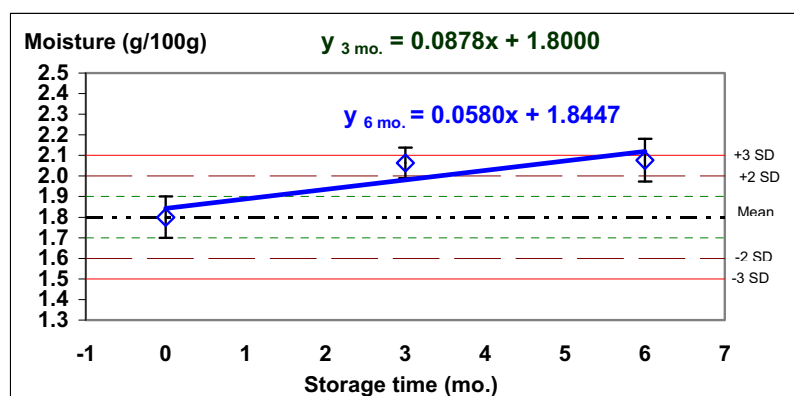
3.3.2 ความชื้น

ผลการประเมินความคงตัวของความชื้นในตัวอย่างทดสอบ cracker powder ในช่วง 3 และ 6 เดือน แสดงอยู่ในรูปที่ 2 และตารางที่ 3B การประเมินความคงตัวด้วยสถิติ 3 แบบเช่นเดียวกับวิตามินบี 1 คือ

1) เปรียบเทียบผลที่ได้จากการวิเคราะห์ความชื้นในช่วงเวลาต่างๆ เปรียบเทียบกับค่าที่ได้จากการศึกษาความเป็นเนื้อเดียวกัน (1.80 ± 0.10 กรัมต่อ 100 กรัม, CV 5.7%) พบว่าที่ระยะเวลา 3 เดือนค่าของความชื้น (2.06 ± 0.07 กรัมต่อ 100 กรัม, CV 3.6%) ยังอยู่ในช่วงของ $\text{mean} \pm 2\text{SD}$ ถึง 3SD (รูปที่ 2) ในขณะที่ระยะเวลา 6 เดือนค่าของความชื้น (2.08 ± 0.10 กรัมต่อ 100 กรัม, CV 5.0%) เพิ่มขึ้นอยู่ในระดับนอกช่วงของ $\text{mean} \pm 3\text{SD}$

2) ใช้ค่าของสมการเส้นตรงที่ได้จากที่ได้จากรูปที่ 2 มาหาค่า slope และค่า intercept พบว่าที่ระยะเวลาการเก็บ 3 เดือนค่า slope ความชื้นมีค่าเพิ่มขึ้นเป็น 0.088 และค่า intercept ที่ตัดแกน Y มีค่า 1.80 ซึ่งไม่แตกต่างจากค่าของ moisture ที่ได้จากการศึกษา homogeneity (1.80 ± 0.10 กรัมต่อ 100 กรัม) แต่ที่ระยะเวลาการเก็บ 6 เดือนค่าของ slope มีค่าเพิ่มขึ้นเป็น 0.058 และตัดแกน Y ที่ค่า moisture 1.84 กรัมต่อ 100 กรัมซึ่งแตกต่างจากค่า moisture ที่ได้จากการศึกษา homogeneity เล็กน้อย

3) ใช้สถิติความเป็นเนื้อเดียวกันที่ระบุอยู่ใน ISO 13528 (6) ด้วยการเทียบค่าที่ได้จากการวิเคราะห์ตัวอย่างที่เก็บในช่วงเวลาต่างๆ เปรียบเทียบกับค่าที่ได้จากการศึกษาความเป็นเนื้อเดียวกัน ณ วันที่เริ่มต้น พบว่าที่ระยะเวลาการเก็บ 3 และ 6 เดือนค่าความแตกต่างระหว่างค่าที่วิเคราะห์ได้กับค่าที่ได้จากการศึกษาความเป็นเนื้อเดียวกัน ($|x-y|$ = 0.263 และ 0.277 ตามลำดับ) แม้ว่าค่า moisture ที่เพิ่มขึ้นจะไม่มาก แต่เมื่อเทียบกับเกณฑ์คือ 0.3 เท่าของ Horwitz's target SD ($0.3\hat{\sigma} = 0.02$) พบว่ามากกว่าเกณฑ์อย่างมาก นั่นคือความชื้นน่าจะมีการเปลี่ยนแปลงตั้งแต่เดือนที่ 3 เมื่อพิจารณาค่าของปริมาณความชื้นที่เปลี่ยนแปลงไปเมื่อเก็บตัวอย่างเป็นเวลา 6 เดือนปริมาณความชื้นที่เพิ่มขึ้นทั้งหมดน้อยมากจาก 1.80 เป็น 2.08 เพิ่มขึ้นเพียง 0.277 กรัมต่อ 100 กรัม ถือว่ายอมรับได้ เพราะน้อยกว่าหรือเท่ากับค่า repeatability limit คือ $2.8 \times S_r$ (repeatability SD จากการทำ homogeneity testing = $2.8 \times 0.1 = 0.28$ กรัมต่อ 100 กรัม) อย่างไรก็ตามตัวอย่างที่ศึกษาบรรจุด้วยระบบสุญญากาศในถุง laminated aluminum foil และทุกตัวอย่างที่นำมาศึกษาและจัดส่งให้ห้องปฏิบัติการอยู่ในสภาพที่ใกล้เคียงกับลักษณะตัวอย่างที่เตรียมในตอนแรก (intact) เนื่องจากการศึกษาครั้งนี้ห้องปฏิบัติการต่างๆ ได้ดำเนินการวิเคราะห์เสร็จสิ้นภายในระยะเวลา 1.5 เดือน ดังนั้นการเปลี่ยนแปลงของความชื้นที่เกิดขึ้น จึงไม่น่าจะส่งผลกระทบต่อการประเมินผลความสามารถของห้องปฏิบัติการ อย่างไรก็ตามตัวอย่างทดสอบนี้มีไขมันสูง จึงไม่มีการเก็บตัวอย่างไว้ใช้ประโยชน์ในการพัฒนาคุณภาพการวิเคราะห์อย่างที่เคยปฏิบัติใน PT ที่ผ่านมา



รูปที่ 2 ผลการศึกษาความคงตัวของความชื้น ในตัวอย่าง cracker powder ในช่วงการเก็บ 3 และ 6 เดือน

ตารางที่ 3B ผลการศึกษาความคงตัวของความชื้น ในตัวอย่าง cracker powder ตามวิธีที่ระบุใน ISO 13528

ระยะเวลาที่ศึกษา	ค่าเฉลี่ย (g/100g)	ค่าความต่าง (x-y)	Target SD _R * ($\hat{\sigma}$)	0.3 $\hat{\sigma}$	สรุป** x-y < 0.3 $\hat{\sigma}$
ค่าที่ได้จากการศึกษา					
ความเป็นเนื้อเดียวกัน (= y)	1.80	-	0.066	-	-
3 เดือน (= x ₁)	2.06	0.263	0.066	0.020	Not pass
6 เดือน (= x ₂)	2.08	0.277	0.066	0.020	Not pass

*Horwitz's predicted SD

** ค่าความแตกต่างระหว่างค่าที่วิเคราะห์ได้กับค่าที่ได้จากการศึกษาความเป็นเนื้อเดียวกัน น้อยกว่าหรือเท่ากับค่า repeatability limit คือ 2.8xSr (repeatability SD จากการการศึกษาคือความเป็นเนื้อเดียวกัน = 2.8 x 0.1 = 0.28 กรัม ต่อ 100 กรัม) นั่นคือปริมาณความชื้นที่เปลี่ยนแปลงไปน้อยมาก ถือว่ายอมรับได้

3.4 การหาค่า assigned values ของสารอาหารในตัวอย่างทดสอบ

ผู้จัดทำหนดให้ห้องปฏิบัติการวิเคราะห์ผลิตภัณฑ์ whole wheat cracker ที่เตรียมตัวอย่างเอง และแสดงข้อมูลสารอาหารต่างๆ ตามประกาศกระทรวงฯ ฉบับที่ 305 พ.ศ. 2552 ซึ่งเป็นฉลากโภชนาการแบบย่อ (2) ข้อมูลและสารอาหารที่ต้องแสดงดังนี้ คือพลังงาน ไขมันทั้งหมด โคเลสเตอรอล (ถ้ามี) โปรตีน น้ำตาล และโซเดียม สำหรับตัวอย่าง cracker powder (INMU-18) ให้วิเคราะห์และแสดงฉลากแบบเต็ม และจัดทำฉลากโภชนาการตามประกาศกระทรวงฯ ฉบับที่ 182 พ.ศ. 2541 (1) ซึ่งรวมถึงข้อมูล พลังงาน พลังงานจากไขมัน ไขมันทั้งหมด กรดไขมันอิ่มตัว โคเลสเตอรอล (ไม่มีในตัวอย่างนี้) โปรตีน โยอาหาร น้ำตาล วิตามินเอ (ไม่มีในตัวอย่างนี้) วิตามินบี 1 วิตามินบี 2 (มีต่ำมากในตัวอย่างนี้ จึงไม่ประเมิน) แคลเซียม และเหล็ก โดยที่ตัวอย่างทดสอบทั้งสองต้องวิเคราะห์ความชื้นและเถ้าด้วย จึงจำเป็นต้องมีการหาค่า assigned value ที่เหมาะสม เพื่อใช้ในการประเมินความสามารถห้องปฏิบัติการโดยดำเนินการตาม ISO 13528 (2005) (6) เพื่อให้ได้ค่า assigned values ซึ่งแสดงเป็นค่า robust mean ($\bar{x}$) และ robust standard deviation (S^*) ดังแสดงในตารางที่ 4A สำหรับสารอาหารบางชนิดได้แก่ น้ำตาล โยอาหาร เหล็ก และวิตามินบี 1 ค่า assigned value ที่ได้นี้ไม่เหมาะสม เนื่องจากผลวิเคราะห์ของสารอาหารเหล่านี้มีการแปรปรวนค่อนข้างสูง ด้วยเหตุผลต่างๆ ทำให้ได้ค่า %RSD สูง ไม่สามารถยอมรับได้ ยกตัวอย่างเช่นการวิเคราะห์น้ำตาล ห้องปฏิบัติการมีการใช้วิธีการที่หลากหลายเช่น HPLC, titration, spectrophotometer เป็นต้น ผู้จัดจึงประเมินค่า assigned values ใหม่โดยใช้ผลวิเคราะห์จากห้องปฏิบัติการที่ใช้วิธี HPLC เท่านั้น โดยกำหนดให้

assigned value ของน้ำตาล ในตัวอย่าง whole wheat cracker และ whole wheat cracker powder (INMU 18) เป็นค่า robust mean $\pm$ 3 เท่าของ Horwitz predicted standard deviation (3 SDp) (7) ซึ่งอธิบายไว้ในหัวข้อ 2.7.3 b ส่วนเหล็ก และวิตามินบี 1 ใช้ค่า robust mean $\pm$ SDp ผู้จัดไม่ประเมินค่าของวิตามินบี 2 เนื่องจากตัวอย่างที่ใช้มีวิตามินนี้ในระดับต่ำมาก ไม่เหมาะสมในการใช้ประเมินการวิเคราะห์วิตามินบี 2 ค่า assigned value ของสารอาหารเหล่านี้แสดงไว้ในตารางที่ 4B ซึ่งนำไปใช้ในการประเมินความสามารถของห้องปฏิบัติการ โดยใช้ค่า z-score ต่อไป

ตารางที่ 4A ค่า assigned values ของสารอาหารต่างๆ ในตัวอย่าง whole wheat cracker และ INMU-18 ดำเนินการตาม ISO 13528

ตัวอย่าง และสารอาหาร	หน่วยต่อ 100 กรัม	Robust mean (x*)	Robust SD (S*)	%RSD
Whole wheat cracker				
Fat	g	27.59	0.92	3.3
Protein (N x 6.25)	g	8.37	0.06	0.7
Sugars	g	1.36	0.68	50.3*
Sodium	mg	483	25	5.2
Moisture	g	3.41	0.38	11.0
Ash	g	1.64	0.07	4.3
Cracker powder: INMU 18				
Fat	g	28.25	0.76	2.7
Saturated Fat	g	19.91	1.42	7.1
Protein (N x 6.25)	g	8.31	0.10	1.1
Dietary fibre	g	3.22	0.43	13.5
Sugars	g	1.28	0.61	47.5*
Sodium	mg	480	27	5.5
Calcium	mg	18.8	1.7	9.2
Iron	mg	1.22	0.24	20.0*
Vitamin B ₁	mg	0.07	0.02	32.7*
Vitamin B ₂	mg	0.024	0.017	70.6*
Moisture	g	2.32	0.35	14.9
Ash	g	1.60	0.06	3.8

*%RSD สูงเกินไป ไม่นำมาใช้ในการประเมินความสามารถห้องปฏิบัติการ

ตารางที่ 4B ค่า assigned values ใหม่ของน้ำตาล โยอาหาร เหล็ก และวิตามินบี 1 ในตัวอย่าง whole wheat cracker และ INMU-18

ตัวอย่าง และสารอาหาร	หน่วยต่อ 100 กรัม	Robust mean (x*)	Robust SD (S*)	%RSD
<i>Whole wheat cracker</i>				
Sugars ^(a)	g	1.36	0.16 (3 SDp)	11.5
<i>Cracker powder: INMU 18</i>				
Dietary fibre ^(a)	g	3.22	0.32	10.1
Sugars ^(a)	g	1.28	0.15	11.6
Iron ^(b)	mg	1.22	0.13	11.0
Vitamin B ₁ ^(c)	mg	0.066	0.011	17.0

^(a) คำนวณ robust mean ตาม ISO 13528 แสดงในรูปของ robust mean $\pm$ 3SDp (Horwitz's predicted SD)

^(b) คำนวณ robust mean ตาม ISO 13528 แสดงในรูปของ robust mean $\pm$ SDp

^(c) ใช้เฉพาะค่าที่ได้จากการวิเคราะห์ด้วย HPLC คำนวณ robust mean ตาม ISO 13528 แสดงในรูปของ robust mean $\pm$ SDp

3.5 การประเมินความสามารถห้องปฏิบัติการ

3.5.1 ไขมันทั้งหมด (Total Fat)

เพื่อให้การสกัดไขมันออกจากตัวอย่างอย่างสมบูรณ์ ผู้จัดจึงแนะนำให้ทำการย่อยด้วยกรดก่อนการสกัดด้วยตัวทำละลายไขมัน ซึ่งทุกห้องปฏิบัติการได้ปฏิบัติตาม ดังแสดงในเอกสารแนบท้าย

หมายเลข 4A ผลการประเมินความสามารถการวิเคราะห์ระหว่างห้องปฏิบัติการ (between-laboratory performance) ของไขมันทั้งหมดในตัวอย่าง whole wheat cracker และ cracker powder (INMU-18) จาก 16 ห้องปฏิบัติการ แสดงในตารางที่ 5A และ 5B และแสดงเป็นกราฟแท่งในรูปที่ 2A และ 2B ตามลำดับ ปริมาณไขมันของทั้ง 2 ตัวอย่างอยู่ในช่วง 26-29 กรัมต่อ 100 กรัม ยกเว้นห้องปฏิบัติการหมายเลข 15 ที่รายงานค่าไขมันต่ำกว่าห้องปฏิบัติการอื่นๆ ทั้ง 2 ตัวอย่างทดสอบ (between-laboratory z-scores = -7 ถึง -10) แสดงว่าผลการทดสอบไม่เป็นที่น่าพอใจ (unsatisfactory result) จากกราฟแบบ Youden plot (6) รูปที่ 2C บ่งชี้ว่าเป็นข้อผิดพลาดแบบ systematic errors ดังนั้นห้องปฏิบัติการจึงควรสืบหาสาเหตุ และแก้ไขข้อบกพร่องโดยด่วน นอกจากนี้ผลการวิเคราะห์ไขมันในตัวอย่าง INMU-18 พบว่าห้องปฏิบัติการหมายเลข 2 และ 7 มีค่าเป็นที่ต้องสงสัย (z-score_{between} = 2.18 และ -2.33 ตามลำดับ)

สำหรับการประเมินความสามารถการวิเคราะห์ภายในห้องปฏิบัติการ (within-laboratory evaluation) ของตัวอย่าง INMU-18 พบว่าห้องปฏิบัติการหมายเลข 7 และ 17 มีค่า $z\text{-score}_{\text{within}}$ ไม่เป็นที่ยอมรับคือมีค่าเท่ากับ -5.13 และ -4.09 ตามลำดับ ซึ่งบ่งชี้ว่าค่าความต่างของการทำซ้ำมากกว่าห้องปฏิบัติการอื่น นอกจากนั้นห้องปฏิบัติการหมายเลข 6 มีค่า $z\text{-score}_{\text{within}} = -2.52$ จัดเป็นค่าที่ต้องสงสัย อย่างไรก็ตามค่า repeatability limit (R) ของปริมาณไขมันในตัวอย่างนี้คือ 1.62 ($2.8 \times S_R = 2.8 \times 0.58$) ดังนั้นค่าความต่างระหว่างปริมาณไขมันที่วิเคราะห์ได้ในตัวอย่าง A และ B คือ 0.59, 0.47 และ 0.29 กรัมต่อ 100 กรัม จากห้องปฏิบัติการหมายเลข 7, 17 และ 6 ตามลำดับ มีค่าน้อยกว่าค่า repeatability limit ซึ่งแสดงว่าค่าความต่างนี้ยังสามารถยอมรับได้

โดยสรุปค่า consensus value ของไขมันที่ได้จากผลวิเคราะห์ของห้องปฏิบัติการที่มี good performance (within- and between-laboratory $z\text{-score} \leq 2$) ในตัวอย่าง whole wheat cracker และ cracker powder (INMU-18) แสดงในรูปของ mean $\pm$ SD คือ 27.68 ± 0.81 g/100 g (N=15) และ 28.32 ± 0.58 g/100 g (N=11), ซึ่งมี %CV = 2.9 และ 2.1 ตามลำดับ (ตารางที่ 18) ส่วนใหญ่ห้องปฏิบัติการที่เข้าร่วมโครงการในครั้งนี้มีความสามารถในการวิเคราะห์ไขมันค่อนข้างดี ได้ผลการประเมินเป็นที่ยอมรับ (satisfactory results) และค่าความแปรปรวน (%CV) ของ consensus value มีค่าต่ำ

ตารางที่ 5A ผลการประเมินความสามารถในการวิเคราะห์ไขมันในตัวอย่าง whole wheat cracker
ค่า Assigned value (robust mean $\pm$ robust SD) = 27.59 ± 0.92 กรัม/100 กรัม (%CV = 3.3, N = 16)

Lab code No.	Result		D_i $(B - A) / \sqrt{2}$	S_i $(A + B) / \sqrt{2}$	z-score ⁽¹⁾		z-score ⁽²⁾ Between	Conclusion code based on (2)
	A	B			Within	Between ⁽¹⁾		
1	27.90	28.04	0.10	39.56	0.84	0.29	0.42	a
2	29.31	29.19	-0.08	41.37	-0.98	1.82	1.81	a
3	27.15	27.17	0.01	38.41	0.00	-0.68	-0.46	a
4	28.22	28.27	0.04	39.94	0.21	0.62	0.72	a
6	26.74	26.88	0.10	37.92	0.84	-1.10	-0.85	a
7	26.43	26.35	-0.06	37.32	-0.70	-1.61	-1.30	a
8	27.58	27.34	-0.17	38.83	-1.82	-0.32	-0.14	a
9	27.81	27.94	0.09	39.42	0.77	0.17	0.31	a
10	27.67	27.69	0.01	39.15	0.00	-0.06	0.10	a
11	28.90	28.80	-0.07	40.80	-0.84	1.34	1.38	a
12	27.78	27.78	0.00	39.29	-0.14	0.06	0.21	a
13	26.90	27.00	0.07	38.11	0.56	-0.94	-0.69	a
14	26.43	26.68	0.18	37.55	1.61	-1.41	-1.12	a
15	20.92	20.94	0.01	29.60	0.00	-8.16	-7.25	bb
16	28.43	28.24	-0.13	40.07	-1.47	0.73	0.82	a
17	27.93	27.86	-0.05	39.45	-0.63	0.20	0.34	a
No of results	16	16	16	16	"a" = satisfactory result; z-score ≤ 2			
Median	27.73	27.74	0.01	39.22	"w" or "b" = questionable result; $2 < z\text{-score} < 3$			
Q1	26.86	26.97	-0.06	38.06	"ww" or "bb" = unsatisfactory result; z-score ≥ 3			
Q3	28.00	28.09	0.08	39.65	(w = within lab, b = between lab)			
IQR (Q3-Q1)	1.14	1.12	0.14	1.59	Final consensus value for total fat in whole wheat cracker			
Normalised IQR	0.85	0.83	0.10	1.18	calculated from laboratories with accepted values			
Robust CV	3.05	2.99			= 27.68 ± 0.81 g/100g (mean $\pm$ SD), with N= 15, %CV = 2.9			

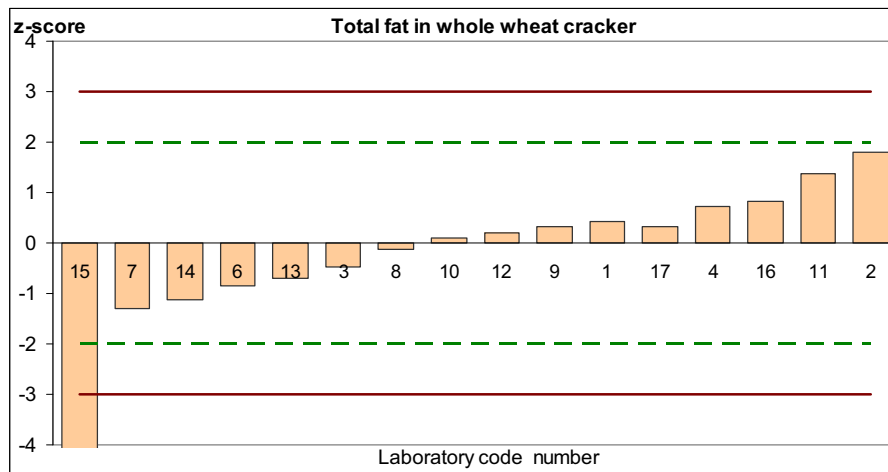
⁽¹⁾ based on median $\pm$ NIQR; ⁽²⁾ based on assigned value estimated according to ISO 13528

ตารางที่ 5B ผลการประเมินความสามารรถในการวิเคราะห์ไขมันในตัวอย่าง cracker powder (INMU-18)

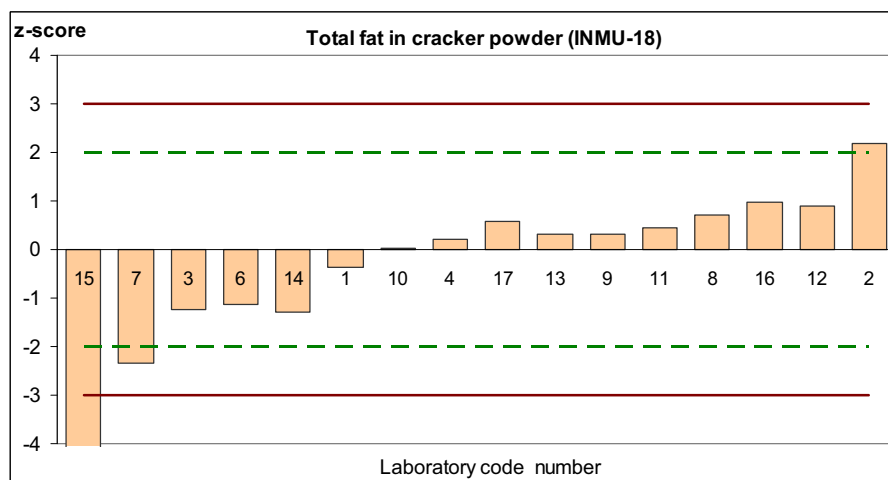
ค่า Assigned value (robust mean $\pm$ robust SD) = 28.25 ± 0.76 กรัม/100 กรัม (%CV = 2.7, N = 16)

Lab code No.	Result		D_i $(A - B) / \sqrt{2}$	S_i $(A + B) / \sqrt{2}$	z- score ⁽¹⁾		z-score ⁽²⁾ Between	Conclusion code based on (2)
	A	B			Within	Between ⁽¹⁾		
1	27.92	28.04	-0.08	39.57	-1.04	-0.47	-0.36	a
2	29.90	29.91	-0.01	42.29	-0.09	1.47	2.18	b
3	27.25	27.36	-0.08	38.62	-0.96	-1.15	-1.25	a
4	28.44	28.37	0.05	40.17	0.61	-0.05	0.20	a
6	27.25	27.54	-0.21	38.74	-2.52	-1.06	-1.13	w
7	26.19	26.78	-0.42	37.46	-5.13	-1.98	-2.33	ww/b
8	28.82	28.76	0.04	40.72	0.52	0.34	0.71	a
9	28.51	28.48	0.02	40.30	0.26	0.05	0.32	a
10	28.27	28.27	0.00	39.98	0.00	-0.18	0.02	a
11	28.60	28.60	0.00	40.45	0.00	0.15	0.46	a
12	28.92	28.92	0.00	40.90	0.00	0.47	0.88	a
13	28.50	28.50	0.00	40.31	0.00	0.05	0.33	a
14	27.35	27.21	0.10	38.58	1.22	-1.18	-1.28	a
15	20.54	20.53	0.01	29.04	0.09	-7.98	-10.19	bb
16	28.88	29.08	-0.14	40.98	-1.74	0.53	0.96	a
17	28.45	28.92	-0.33	40.57	-4.09	0.24	0.57	ww
No of results	16	16	16	16	"a" = satisfactory result; z-score ≤ 2			
Median	28.45	28.43	0.00	40.23	"w" or "b" = questionable result; $2 < z\text{-score} < 3$			
Q1	27.33	27.50	-0.10	38.71	"ww" or "bb" = unsatisfactory result; z-score ≥ 3			
Q3	28.66	28.80	0.01	40.60	(w = within lab, b = between lab)			
IQR (Q3-Q1)	1.33	1.31	0.11	1.89	Final consensus value for total fat in INMU-18			
Normalised IQ	0.99	0.97	0.08	1.40	calculated from laboratories with accepted values			
Robust CV	3.47	3.40			= 28.32 ± 0.58 g/100g (mean $\pm$ SD), with N = 11, %CV = 2.1			

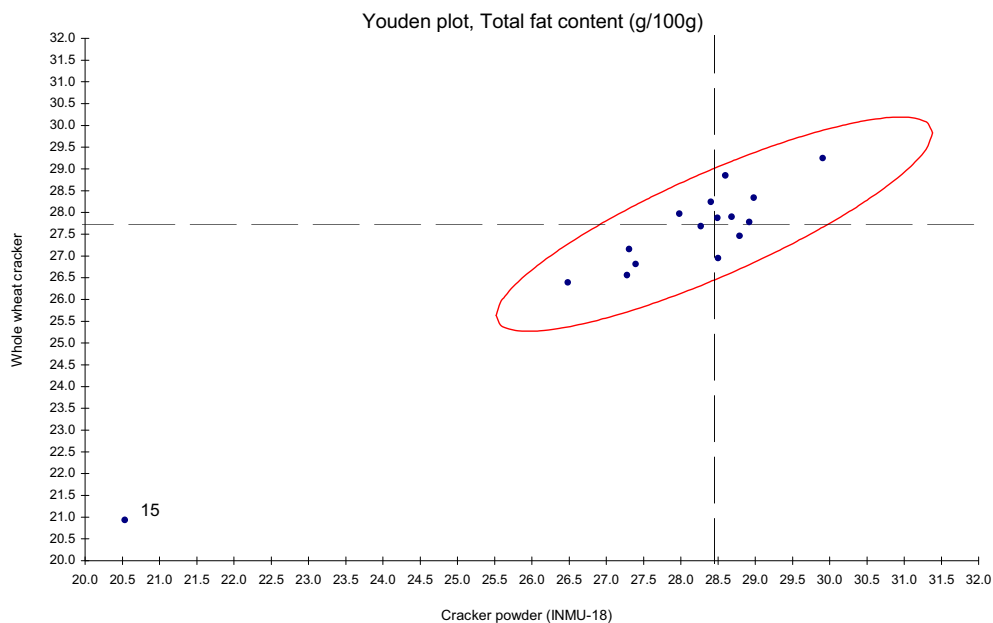
⁽¹⁾ based on median $\pm$ NIQR; ⁽²⁾ based on assigned value estimated according to ISO 13528



รูปที่ 2A z-scores ของไขมันทั้งหมดในตัวอย่าง whole wheat cracker



รูปที่ 2B z-scores ของไขมันทั้งหมดในตัวอย่าง cracker powder (INMU-18)



รูปที่ 2C Youden plot ของการวิเคราะห์ไขมันทั้งหมด (จากตารางที่ 5A และ 5B)

3.5.2 กรดไขมันอิ่มตัว (Saturated Fat)

ผลการประเมินความสามารถห้องปฏิบัติการของกรดไขมันอิ่มตัวในตัวอย่าง cracker powder (INMU-18) จำนวน 15 จาก 16 ห้องปฏิบัติการ (ยกเว้นห้องปฏิบัติการหมายเลข 7) แสดงในตารางที่ 6 และแสดงเป็นกราฟแท่งในรูปที่ 3 ปริมาณกรดไขมันอิ่มตัวที่พบอยู่ในช่วง 14-22 กรัมต่อ 100 กรัม ห้องปฏิบัติการหมายเลข 15 และ 16 รายงานค่าต่ำกว่าห้องปฏิบัติการอื่น (13.5-15.6 กรัมต่อ 100 กรัม) ซึ่งถ้าประเมินผลด้วยการใช้ค่า assigned value จาก median $\pm$ NIQR และจาก robust mean $\pm$ robust SD ที่คำนวณได้จาก ISO 13528 พบว่าทั้ง 2 ห้องปฏิบัติการได้รับการบ่งชี้ว่าเป็น outliers ($z\text{-score}_{\text{between}} = -3.04$ และ -4.30 ตามลำดับ) ซึ่งวิธีการวิเคราะห์ของทั้งสองห้องปฏิบัติการใช้การสกัดไขมันที่ผ่านการย่อยด้วยกรดแล้วเช่นเดียวกับอีก 12 ห้องปฏิบัติการ แล้วตามด้วยการ saponification และ methylation ก่อนที่วิเคราะห์ด้วยในเครื่อง gas chromatography (เอกสารแนบท้ายแนบท้าย 4B) ดังนั้นจึงนับได้ว่าทั้ง 2 ห้องปฏิบัติการรายงานผลไม่เป็นที่น่าพอใจ ควรมีการหาสาเหตุ แกไขข้อบกพร่องที่เกิดขึ้น ห้องปฏิบัติการหมายเลข 9, 13 และ 14 ใช้วิธีการสกัดแบบ cold extraction และวิเคราะห์ด้วยเครื่อง GC ซึ่งเป็นวิธีที่แนะนำให้ใช้วิธีหนึ่ง (17) ซึ่งผลการวิเคราะห์พบว่ากรดไขมันอิ่มตัวอยู่ในช่วงเดียวกับห้องปฏิบัติการอื่นๆ (18-22 กรัมต่อ 100 กรัม) ซึ่งบ่งชี้ได้ว่าเป็นผลเป็นที่น่าพอใจ ส่วนการประเมินผลความสามารถภายในห้องปฏิบัติการ (within-laboratory evaluation) พบว่าห้องปฏิบัติการหมายเลข 8 เพียงห้องเดียวที่รายงานผลเป็นที่น่าสงสัย ($z\text{-score}_{\text{within}} = -2.03$)

โดยสรุปค่า consensus value ของกรดไขมันอิ่มตัวที่ได้จากผลวิเคราะห์ของห้องปฏิบัติการที่มี good performance (within- and between-laboratory $z\text{-score} \leq 2$) ในตัวอย่าง cracker powder (INMU-18) แสดงในรูปของ mean $\pm$ SD คือ 20.13 ± 1.13 (N=12), ซึ่งมี %CV = 5.6 (ตารางที่ 18) ส่วนใหญ่ห้องปฏิบัติการที่เข้าร่วมโครงการในครั้งนี้มีความสามารถในการวิเคราะห์กรดไขมันอิ่มตัวค่อนข้างดี ได้ผลการประเมินเป็นที่ยอมรับ (satisfactory results) และมีการพัฒนาขึ้นเมื่อเทียบการศึกษาก่อนหน้านี้ (13, 15, 16, 18).

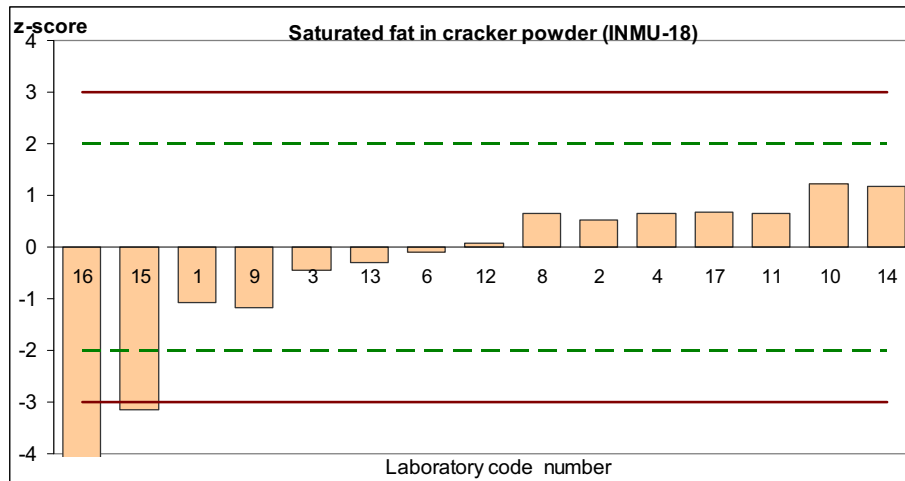
ตารางที่ 6 ผลการประเมินความสามารถในการวิเคราะห์กรดไขมันอิ่มตัวในตัวอย่าง cracker powder (INMU-18)

ค่า Assigned value (robust mean $\pm$ robust SD) = 19.91 ± 1.42 กรัม/100 กรัม (%CV = 7.1, N = 15)

Lab code No.	Result		D_i $(A - B) / \sqrt{2}$	S_i $(A + B) / \sqrt{2}$	z-score ⁽¹⁾		z-score ⁽²⁾ Between	Conclusion code based on (2)
	A	B			Within	Between ⁽¹⁾		
1	18.14	18.61	-0.33	25.99	-1.18	-1.09	-1.08	a
2	20.47	20.85	-0.27	29.22	-0.91	0.44	0.53	a
3	19.44	19.09	0.25	27.24	1.30	-0.49	-0.46	a
4	20.63	21.02	-0.28	29.45	-0.94	0.55	0.64	a
6	19.74	19.80	-0.04	27.96	0.06	-0.16	-0.10	a
8	20.45	21.20	-0.53	29.45	-2.03	0.55	0.64	w
9	18.31	18.21	0.07	25.82	0.55	-1.17	-1.16	a
10	21.58	21.74	-0.11	30.63	-0.24	1.11	1.23	a
11	20.90	20.80	0.07	29.49	0.55	0.57	0.66	a
12	20.02	19.99	0.02	28.29	0.33	0.00	0.07	a
13	19.64	19.32	0.23	27.55	1.21	-0.35	-0.30	a
14	21.67	21.46	0.15	30.50	0.88	1.04	1.17	a
15	15.30	15.61	-0.22	21.86	-0.70	-3.04	-3.14	bb
16	13.53	13.61	-0.06	19.19	0.00	-4.30	-4.47	bb
17	20.82	20.92	-0.07	29.51	-0.06	0.58	0.68	a
No of results	15	15	15	15	"a" = satisfactory result; z-score ≤ 2			
Median	20.020	19.990	-0.06	28.29	"w" or "b" = questionable result; $2 < z-score < 3$			
Q1	18.88	18.85	-0.24	26.62	"ww" or "bb" = unsatisfactory result; z-score ≥ 3			
Q3	20.73	20.97	0.07	29.47	(w = within lab, b = between lab)			
IQR (Q3-Q1)	1.85	2.12	0.31	2.85	Final consensus value for saturated fat in INMU-18			
Normalised IQR	1.37	1.57	0.23	2.12	calculated from laboratories with accepted values			
Robust CV	6.85	7.86			= 20.13 ± 1.13 g/100g (mean $\pm$ SD), with N = 12, %CV = 5.6			

⁽¹⁾ based on median $\pm$ NIQR; ⁽²⁾ based on assigned value estimated according to ISO 13528

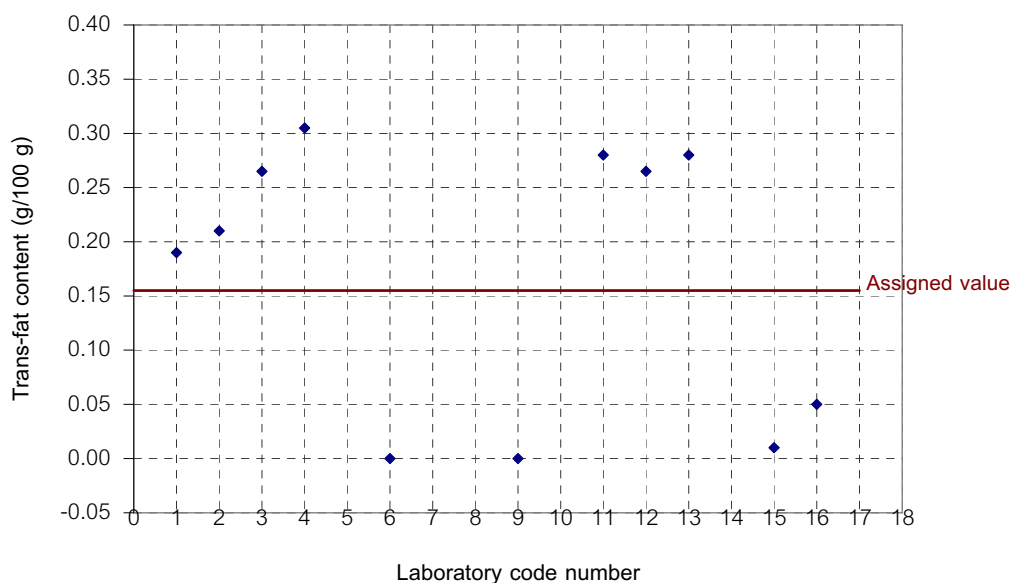
No of results	Mean for consensus
15	18.38
Mean	19.43
SD	2.27
%CV	11.68
12	20.87
20.13	20.01
19.48	19.48
21.57	21.57
15.46	
13.57	
20.87	20.87



รูปที่ 3 z-scores ของกรดไขมันอิ่มตัวในตัวอย่าง cracker powder (INMU-18)

3.5.3 กรดไขมันชนิดทรานส์ (trans fatty acid)

ผลการเข้าร่วมการประเมินความชำนาญของการวิเคราะห์กรดไขมันชนิดทรานส์ แสดงอยู่ในตารางที่ 7 และวิธีที่แต่ละห้องปฏิบัติการใช้สรุปอยู่ในเอกสารแนบท้ายหมายเลข 4B เนื่องจากผลมีความแปรปรวนมาก ปริมาณกรดไขมันชนิดทรานส์ใน INMU-18 มีค่าตั้งแต่ตรวจวัดไม่ได้ (non-detectable) ถึง 0.32 กรัมต่อ 100 กรัม (%CV = 98.2) ดังแสดงการกระจายตัวของข้อมูลในรูปที่ 4 นอกจากนั้นเมื่อนำมาคำนวณหาค่า assigned value (ตารางที่ 4A) ตาม ISO 13528 พบว่าค่าความแปรปรวนที่สูงมาก (%CV = 95.5) ซึ่งไม่เหมาะสมในการนำมาใช้เพื่อประเมินความสามารถของห้องปฏิบัติการ ดังนั้นผู้จัดจึงไม่ประเมินความสามารถห้องปฏิบัติการ เพียงแต่แสดงข้อมูลเท่านั้น



รูปที่ 4 การกระจายตัวของกรดไขมันชนิดทรานส์ในตัวอย่าง cracker powder (INMU-18)

ตารางที่ 7 ผลการประเมินความสามารถในการวิเคราะห์กรดไขมันชนิดทรานส์ในตัวอย่าง cracker powder (INMU-18) ค่า Assigned value (robust mean $\pm$ robust SD) = 0.16 ± 0.15 g/100 g (%CV = 95.5, N = 12)

Lab code	Result	
No.	A	B
1	0.2	0.18
2	0.21	0.21
3	0.27	0.26
4	0.32	0.29
6	0.00	0.00
7	-	-
8	-	-
9	0.00	0.00
10		
11	0.28	0.28
12	0.29	0.24
13	0.28	0.28
14	-	-
15	0.01	0.01
16	0.05	0.05
17	0.00	0.00
No of results	12	12
Median	0.21	0.20
Q1	0.01	0.01
Q3	0.28	0.27
IQR (Q3-Q1)	0.27	0.26
Normalised IQR	0.20	0.19
Robust CV	98.54	97.89

No statistic evaluation

3.5.4 โปรตีน (Protein)

ผลการประเมินความสามารถห้องปฏิบัติการของโปรตีนในตัวอย่าง whole wheat cracker และ cracker powder (INMU-18) จาก 16 ห้องปฏิบัติการ แสดงในตารางที่ 8A และ 8B และแสดงเป็นกราฟแท่งในรูปที่ 5A และ 5B ตามลำดับ ค่าของโปรตีนที่รายงานมีค่าเริ่มจาก 7.59 กรัมต่อ 100 กรัม (ห้องปฏิบัติการหมายเลข 12) ถึง 8.84 กรัมต่อ 100 กรัม (ห้องปฏิบัติการหมายเลข 11) ผลการประเมินความสามารถการวิเคราะห์ระหว่างห้องปฏิบัติการ (between-laboratory performance) พบว่ามี 2 จาก 16 ห้องปฏิบัติการ (ห้องปฏิบัติการหมายเลข 11 และ 12) ที่บ่งชี้ว่าผลไม่เป็นที่น่าพอใจ ($|z\text{-score}| \geq 3$) ในทั้ง 2 ตัวอย่างทดสอบ โดยห้องปฏิบัติการหมายเลข 11 รายงานโปรตีนที่สูงกว่าห้องปฏิบัติการอื่นๆ ทั้งในตัวอย่าง whole wheat cracker และ INMU-18 ซึ่งเห็นได้จากค่า $z\text{-score}_{\text{between}}$ ที่มีค่าเท่ากับ 8.47 และ 4.28 ตามลำดับ ในขณะที่ห้องปฏิบัติการหมายเลข 12

รายงานโปรตีนที่ต่ำกว่าห้องปฏิบัติการอื่นๆ ซึ่งเห็นได้จากค่า $z\text{-score}_{\text{between}}$ ที่มีค่าเท่ากับ -12.71 และ -6.27 ตามลำดับ ทุกห้องปฏิบัติการใช้วิธีวิเคราะห์ที่เป็นมาตรฐานที่เดียวกัน (Kjeldahl method) แต่มีการใช้สารเร่งปฏิกิริยา (catalyst) ที่ต่างกันบ้าง โดยสารที่ใช้ได้แก่ K_2SO_4 and CuSO_4 or K_2SO_4 และ Se (เอกสารแนบท้ายหมายเลข 4C) จากการศึกษาที่ผ่านมาได้แสดงให้เห็นแล้วว่าการใช้สารเร่งปฏิกิริยาที่ต่างกัน ไม่มีผลที่ทำให้การวิเคราะห์โปรตีนได้ค่าที่แตกต่างกัน (12-15, 19, 20) ดังนั้นห้องปฏิบัติการหมายเลข 11 และ 12 จึงนับได้ว่าเป็นการรายงานผลที่บ่งชี้ว่าเป็น outliers ของการวิเคราะห์โปรตีน นอกจากนั้นยังสามารถเห็นชัดได้จากกราฟ Youden plot (6) ที่แสดงความสัมพันธ์ของการวิเคราะห์โปรตีนทั้งสองตัวอย่างทดสอบ ในรูปที่ 5C โดยที่ห้องปฏิบัติการทั้งสองอยู่นอกวงรีที่ระดับความเชื่อมั่น 95% จึงจัดได้ว่าทั้งห้องปฏิบัติการหมายเลข 11 และ 12 แสดงว่ามี systematic error ในการวิเคราะห์โปรตีน เมื่อคำนึงข้อกำหนดของ ISO 17025 แล้ว (21) ทั้งสองห้องปฏิบัติการจึงควรถueหาสาเหตุที่ทำให้ผลการวิเคราะห์โปรตีนแตกต่างจากห้องปฏิบัติการอื่น

ห้องปฏิบัติการหมายเลข 1 รายงานผลที่บ่งชี้ว่าผลไม่เป็นที่น่าพอใจ ($z\text{-score}_{\text{between}} = -3.59$) ของการประเมินผลระหว่างห้องปฏิบัติการในตัวอย่าง whole wheat cracker ในขณะที่ตัวอย่าง INMU-18 อยู่ในเกณฑ์ที่ผลเป็นน่าพอใจ ซึ่งบ่งชี้ได้ว่าการวิเคราะห์โปรตีนของห้องปฏิบัติการนี้เกิด random error นอกจากนั้นในตัวอย่าง INMU-18 ห้องปฏิบัติการนี้มีการรายงานผลที่เกิดความแตกต่างระหว่างค่าการทำซ้ำ ทำให้ผลประเมินความสามารถการวิเคราะห์ภายในห้องปฏิบัติการ (within-laboratory evaluation) ที่บ่งชี้ว่าได้รับผลเป็นที่น่าสงสัย ($z\text{-score}_{\text{within}} = -2.48$) สำหรับผลการประเมินผลระหว่างห้องปฏิบัติการของตัวอย่าง whole wheat cracker พบว่าห้องปฏิบัติการหมายเลข 3, 9 และ 15 รายงานเป็นที่น่าสงสัย (questionable result) โดยมีค่า $z\text{-score}_{\text{between}} = -2.34, 2.31$ และ -2.79 ตามลำดับ แต่ในตัวอย่าง INMU-18 ทั้ง 3 ห้องปฏิบัติการได้รับผลการประเมินเป็นที่น่าพอใจ แสดงว่าการเตรียมตัวอย่างที่แตกต่างกันของแต่ละห้องปฏิบัติการอาจมีส่วนทำให้เกิดความแตกต่างในผลของการประเมินความสามารถห้องปฏิบัติการ

โดยสรุปค่า consensus value ของโปรตีนที่ได้จากผลวิเคราะห์ของห้องปฏิบัติการที่มี good performance (within- and between-laboratory $z\text{-score} \leq 2$) ในตัวอย่าง whole wheat cracker และ cracker powder (INMU-18) แสดงในรูปของ mean $\pm$ SD คือ 8.38 ± 0.03 g/100 g (N = 9) และ 8.32 ± 0.09 g/100 g (N = 13) ซึ่งมี %CV = 0.3 และ 1.1 ตามลำดับ (ตารางที่ 18) ส่วนใหญ่ห้องปฏิบัติการที่เข้าร่วมโครงการมีความสามารถของการวิเคราะห์โปรตีนได้ดี ได้ผลการประเมินเป็นที่ยอมรับ (satisfactory results)

ตารางที่ 8A ผลการประเมินความสามารถในการวิเคราะห์โปรตีนในตัวอย่าง whole wheat cracker

ค่า Assigned value (robust mean $\pm$ robust SD) = 8.37 ± 0.06 กรัม/100 กรัม (%CV = 0.7, N = 16)

Lab code No.	Result		Di (B-A)/SQRT2	Si (A+B)/SQRT2	z- score ⁽¹⁾		z-score ⁽²⁾ Between	Conclusion code based on (2)
	A	B			Within	Between ⁽¹⁾		
1	8.20	8.13	-0.05	11.55	-0.86	-3.10	-3.59	bb
2	8.39	8.39	0.00	11.87	0.00	0.22	0.43	a
3	8.26	8.21	-0.04	11.65	-0.61	-2.07	-2.34	b
4	8.43	8.39	-0.03	11.89	-0.49	0.52	0.79	a
6	8.35	8.41	0.04	11.85	0.74	0.07	0.25	a
7	8.38	8.31	-0.05	11.80	-0.86	-0.44	-0.37	a
8	8.44	8.34	-0.07	11.87	-1.23	0.22	0.43	a
9	8.43	8.56	0.09	12.01	1.59	1.77	2.31	b
10	8.38	8.38	0.00	11.85	0.00	0.07	0.25	a
11	8.84	8.84	0.00	12.50	0.00	6.87	8.47	bb
12	7.59	7.72	0.09	10.83	1.59	-10.64	-12.71	bb
13	8.33	8.32	-0.01	11.77	-0.12	-0.74	-0.73	a
14	8.27	8.44	0.12	11.82	2.08	-0.30	-0.20	w
15	8.21	8.21	0.00	11.61	0.00	-2.44	-2.79	b
16	8.36	8.45	0.06	11.89	1.10	0.44	0.70	a
17	8.38	8.36	-0.01	11.84	-0.25	-0.07	0.07	a
No of results	16	16	16	16	"a" = satisfactory result; z-score $\leq$ 2			
Median	8.37	8.37	0.00	11.84	"w" or "b" = questionable result; $2 < z\text{-score} < 3$			
Q1	8.27	8.29	-0.03	11.74	"ww" or "bb" = unsatisfactory result; z-score ≥ 3			
Q3	8.40	8.42	0.05	11.87	(w = within lab, b = between lab)			
IQR (Q3-Q1)	0.13	0.13	0.08	0.13	Final consensus value for protein in whole wheat cracker			
Normalised IQR	0.10	0.10	0.06	0.10	calculated from laboratories with accepted values			
Robust CV	1.17	1.17			= 8.38 ± 0.03 g/100g (mean $\pm$ SD), with N = 9, %CV = 0.3			

⁽¹⁾ based on median $\pm$ NIQR;

⁽²⁾ based on assigned value estimated according to ISO 13528

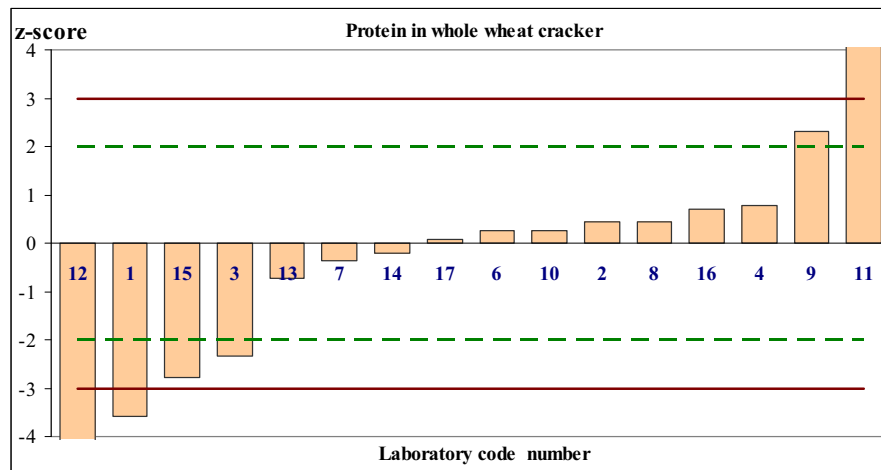
No of results	16	9
Mean	8.33	8.38
SD	0.23	0.03
%CV	2.81	0.33

ตารางที่ 8B ผลการประเมินความสามารถในการวิเคราะห์โปรตีนในตัวอย่าง cracker powder (INMU-18)

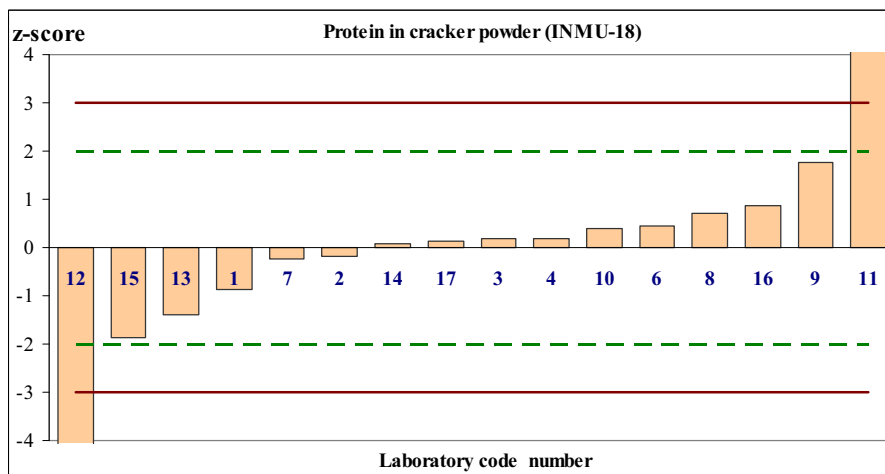
ค่า Assigned value (robust mean $\pm$ robust SD) = 8.31 ± 0.10 กรัม/100 กรัม (%CV = 1.1, N = 16)

Lab code No.	Result		Di (B-A)/SQRT2	Si (A+B)/SQRT2	z- score ⁽¹⁾		z-score ⁽²⁾ Between	Conclusion code based on (2)
	A	B			Within	Between ⁽¹⁾		
1	8.34	8.12	-0.16	11.64	-2.48	-1.52	-0.86	w
2	8.23	8.36	0.09	11.73	1.38	-0.51	-0.18	a
3	8.32	8.34	0.01	11.78	0.17	0.04	0.19	a
4	8.33	8.33	0.00	11.78	-0.06	0.04	0.19	a
6	8.35	8.36	0.01	11.82	0.06	0.43	0.45	a
7	8.36	8.22	-0.10	11.72	-1.60	-0.59	-0.23	a
8	8.33	8.43	0.07	11.85	1.05	0.82	0.71	a
9	8.56	8.40	-0.11	11.99	-1.82	2.39	1.76	a
10	8.35	8.35	0.00	11.81	-0.06	0.35	0.40	a
11	8.79	8.65	-0.10	12.33	-1.60	6.14	4.28	bb
12	7.73	7.70	-0.02	10.91	-0.39	-9.58	-6.27	bb
13	8.21	8.15	-0.04	11.57	-0.72	-2.31	-1.39	a
14	8.30	8.34	0.03	11.77	0.39	-0.12	0.08	a
15	8.13	8.14	0.01	11.50	0.06	-3.01	-1.86	a
16	8.37	8.42	0.04	11.87	0.50	1.06	0.87	a
17	8.25	8.40	0.11	11.77	1.60	-0.04	0.13	a
No of results	16	16	16	16	"a" = satisfactory result; z-score ≤ 2			
Median	8.33	8.35	0.00	11.78	"w" or "b" = questionable result; 2 < z-score < 3			
Q1	8.25	8.20	-0.06	11.70	"ww" or "bb" = unsatisfactory result; z-score ≥ 3			
Q3	8.35	8.40	0.03	11.82	(w = within lab, b = between lab)			

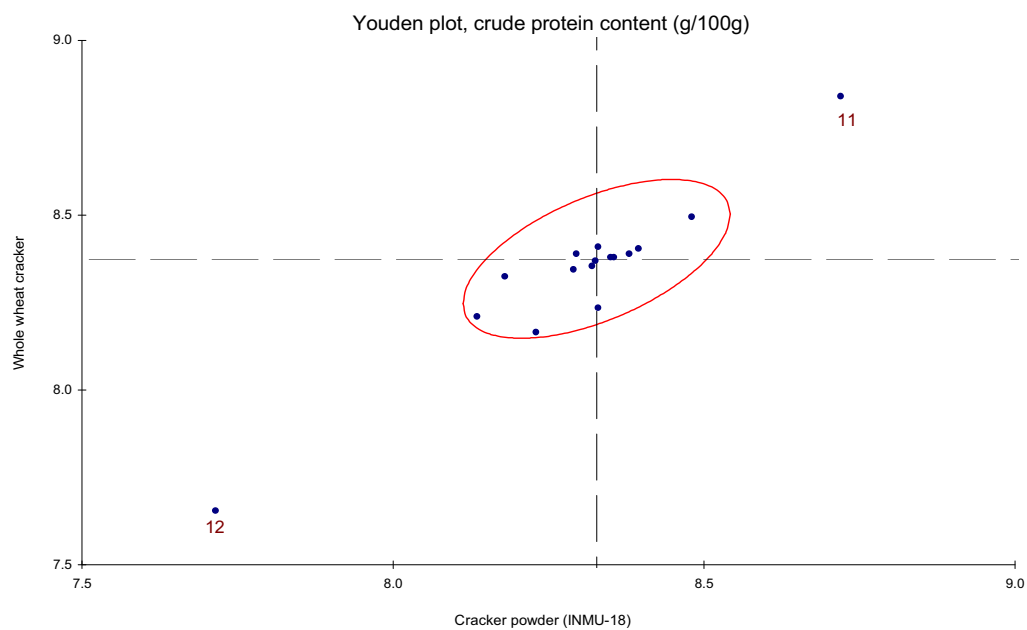
No of results	16	13
Mean	8.30	8.32
SD	0.20	0.09
%CV	2.45	1.06



รูปที่ 5A z-scores ของโปรตีนในตัวอย่าง whole wheat cracker



รูปที่ 5B z-scores ของโปรตีนในตัวอย่าง cracker powder (INMU-18)



รูปที่ 5C Youden plot ของการวิเคราะห์โปรตีน (จากตารางที่ 8A และ 8B)

3.5.5 โยอาหาร (Dietary fibre)

ผลการประเมินความสามารถห้องปฏิบัติการของโยอาหารในตัวอย่าง cracker powder (INMU-18) จำนวน 14 จาก 16 ห้องปฏิบัติการ แสดงในตารางที่ 9 และแสดงเป็นกราฟแท่งในรูปที่ 6 ทุกห้องปฏิบัติการใช้วิธีการขจัดไขมัน (defat) ตามที่ผู้จัดแนะนำไว้ก่อนการวิเคราะห์โยอาหาร ดังแสดงในเอกสารแนบท้ายหมายเลข 2D มีห้องปฏิบัติการ 2 แห่ง (ห้องปฏิบัติการหมายเลข 7 และ 12) ทำการขจัดไขมันและน้ำตาล ในขณะที่ห้องปฏิบัติการหมายเลข 13 ทำการขจัดน้ำ ไขมัน และน้ำตาล ผลการวิเคราะห์พบว่าโยอาหารมีความต่างเพียงเล็กน้อย โดยมีค่าตั้งแต่ 2.38 กรัมต่อ 100 กรัม (ห้องปฏิบัติการหมายเลข 1) ถึง 3.82 กรัมต่อ 100 กรัม (ห้องปฏิบัติการหมายเลข 16) ผลประเมินความสามารถการวิเคราะห์ภายในห้องปฏิบัติการ (within-laboratory performance) พบว่ามี 1 ห้องปฏิบัติการ (ห้องปฏิบัติการหมายเลข 1) ที่รายงานค่าไม่เป็นที่น่าพอใจ ($z\text{-score}_{\text{within}} = 13.21$) ห้องปฏิบัติการหมายเลข 7 รายงานผลเป็นที่ต้องสงสัย ($z\text{-score}_{\text{within}} = 2.02$)

เนื่องจากค่า assigned value ของโยอาหารที่คำนวณตาม ISO 13528 พบว่ามีความแปรปรวนค่อนข้างสูง (3.22 ± 0.43 g/100g, %CV = 13.5) ทำให้ผลการวิเคราะห์โยอาหารของทุกห้องปฏิบัติการผ่านเกณฑ์การยอมรับ ($z\text{-score} \leq 2$) แต่หากคำนวณค่า consensus value จากวิธีนี้พบว่ามีค่าความแปรปรวนสูง (%CV=12.2) ดังนั้นผู้จัดจึงพิจารณาเลือกใช้ robust mean ที่คำนวณจาก ISO 13528 และใช้ 3 เท่าของค่า standard deviation ที่ประมาณค่าได้จาก Horwitz predicted SD (3.22 ± 0.32 กรัมต่อ 100 กรัม, %CV=10.1) ผลการประเมินความสามารถการวิเคราะห์ระหว่างห้องปฏิบัติการ (between-laboratory performance) ด้วยวิธีนี้พบว่ามีเพียงห้องปฏิบัติการหมายเลข 12 ที่รายงานค่าโยอาหารเป็นที่น่าสงสัย ($z\text{-score}_{\text{between}} = -2.06$) ทำให้ได้ค่าความแปรปรวนลดลง (%CV=10.4) ซึ่งแสดงถึงพัฒนาการของความสามารถห้องปฏิบัติการเมื่อเปรียบเทียบกับการศึกษาที่ผ่านมา (16)

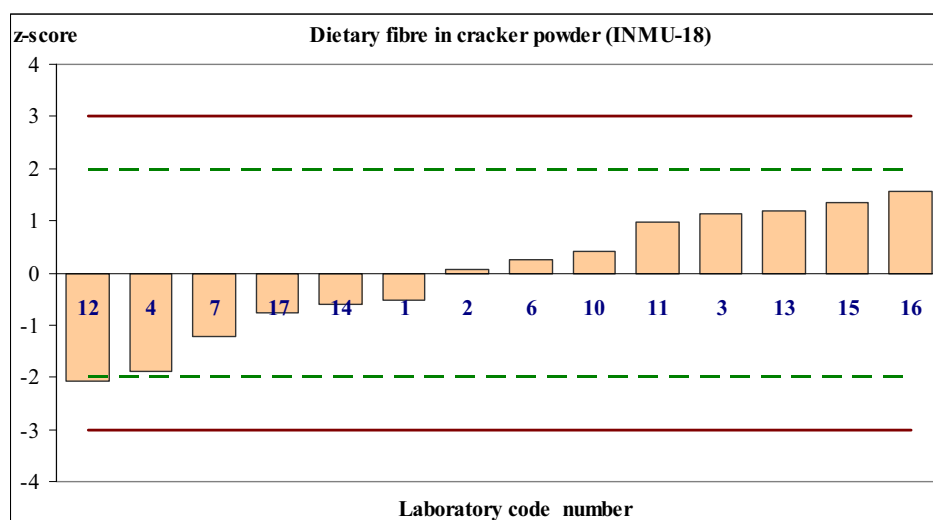
โดยสรุปค่า consensus value ของโยอาหารที่ได้จากผลวิเคราะห์ของห้องปฏิบัติการที่มี good performance (within- and between-laboratory $z\text{-score} \leq 2$) ในตัวอย่าง cracker powder (INMU-18) แสดงในรูปของ mean $\pm$ SD คือ 3.33 ± 0.35 g/100 g (N = 11) ซึ่งมี %CV = 10.4 (ตารางที่ 18)

ตารางที่ 9 ผลการประเมินความสามารถในการวิเคราะห์ใยอาหารในตัวอย่าง cracker powder (INMU-18)

ค่า Assigned value (robust mean $\pm$ robust SD) = 3.22 ± 0.43 กรัม/100 กรัม (%CV = 13.5, N = 14)

Lab code No.	Result		Di (A-B)/SQRT2	Si (A+B)/SQRT2	z-score ⁽¹⁾		z-score ⁽²⁾		Conclusion code based on (3)
	A	B			Within	Between ⁽¹⁾	Between	Between	
1	3.71	2.38	0.94	4.31	13.21	-0.52	-0.40	-0.54	ww
2	3.18	3.30	-0.08	4.58	-1.28	-0.07	0.05	0.07	a
3	3.57	3.60	-0.02	5.07	-0.38	0.72	0.84	1.13	a
4	2.67	2.55	0.08	3.69	1.12	-1.51	-1.40	-1.88	a
6	3.30	3.30	0.00	4.67	-0.12	0.07	0.19	0.25	a
7	2.93	2.72	0.15	4.00	2.02	-1.02	-0.90	-1.21	w
10	3.38	3.32	0.04	4.74	0.52	0.18	0.30	0.41	a
11	3.58	3.49	0.06	5.00	0.82	0.61	0.73	0.98	a
12	2.58	2.52	0.04	3.61	0.52	-1.65	-1.54	-2.06	b
13	3.54	3.66	-0.08	5.09	-1.28	0.76	0.88	1.18	a
14	3.01	3.04	-0.02	4.28	-0.38	-0.56	-0.44	-0.60	a
15	3.67	3.65	0.01	5.18	0.12	0.89	1.02	1.36	a
16	3.63	3.82	-0.13	5.27	-1.98	1.04	1.17	1.56	a
17	2.94	3.00	-0.04	4.20	-0.68	-0.69	-0.57	-0.77	a
No of results	14	14	14	14	"a" = satisfactory result; z-score ≤ 2				
Median	3.34	3.30	0.01	4.62	"w" or "b" = questionable result; $2 < z\text{-score} < 3$				
Q1	2.96	2.79	-0.04	4.22	"ww" or "bb" = unsatisfactory result; z-score ≥ 3				
Q3	3.58	3.57	0.06	5.05	(w = within lab, b = between lab)				
IQR (Q3-Q1)	0.62	0.78	0.10	0.83	Final consensus value for dietary fiber in INMU-18				
Normalised IQR	0.46	0.58	0.07	0.62	calculated from laboratories with accepted values				
Robust CV	13.76	17.57			= 3.33 ± 0.35 g/100g (mean $\pm$ SD), with N= 11, %CV= 10.4				

⁽¹⁾ based on median $\pm$ NIQR; ⁽²⁾ based on assigned value estimated according to ISO 13528; ⁽³⁾ based on robust mean $\pm$ 3SDp (3.22 ± 0.32 g%, %CV=10.1)



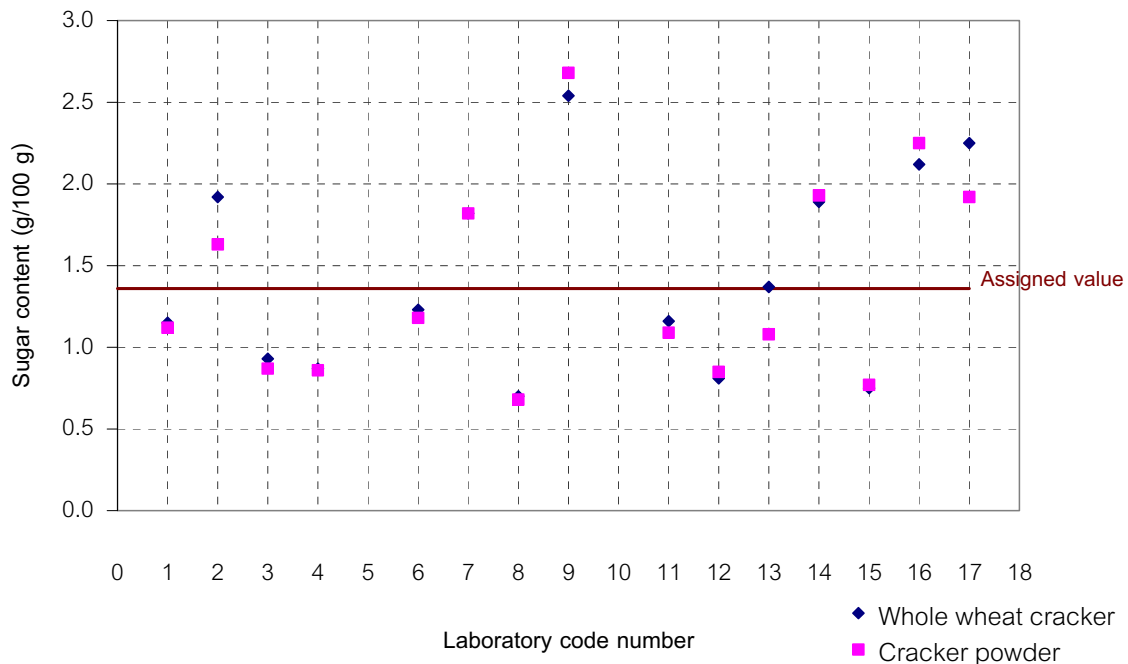
รูปที่ 6 z-scores ของใยอาหารในตัวอย่าง cracker powder (INMU-18)

3.5.6 น้ำตาล (Sugars)

ผลการเข้าร่วมการประเมินความชำนาญของการวิเคราะห์น้ำตาลแสดงอยู่ในตารางที่ 10 และวิธีที่แต่ละห้องปฏิบัติการใช้สรุปอยู่ในเอกสารแนบท้ายหมายเลข 4E เนื่องจากผลการวิเคราะห์มีความแปรปรวนมาก ปริมาณน้ำตาลใน whole wheat cracker และ INMU-18 มีค่าอยู่ในช่วง 0.69-2.25 กรัมต่อ 100 กรัม (%CV=42.3) และ 0.66-2.70 กรัมต่อ 100 กรัม (%CV=44.5) ตามลำดับ ดังแสดงการกระจายตัวในรูปที่ 7 และเมื่อนำมาคำนวณหาค่า assigned value (ตารางที่ 4A) ตามวิธี ISO 13528 พบว่าค่าความแปรปรวนก็สูงมาก (%CV=50.3% ของตัวอย่าง whole wheat cracker และ 47.5% ของตัวอย่าง INMU-18) ซึ่งไม่เหมาะสมในการนำมาใช้เพื่อประเมินความสามารถของห้องปฏิบัติการ นอกจากนั้นปริมาณน้ำตาลในหนึ่งหน่วยบริโภค (serving size = 30 g) (1) พบว่ามีปริมาณเพียงเล็กน้อย (ประมาณ 0.4 ต่อ 30 กรัม) เมื่อนำมาคิดต่อปริมาณที่แนะนำให้บริโภคต่อวัน (recommended dietary intake, Thai RDI) พบว่ารายงานค่าเป็นศูนย์ ดังนั้นผู้จัดจึงไม่ประเมินความสามารถของแต่ละห้องปฏิบัติการ เพียงแต่แสดงข้อมูลเท่านั้น

ตารางที่ 10 น้ำตาลในตัวอย่าง whole wheat cracker และ cracker powder (INMU-18) ที่ได้รับจากห้องปฏิบัติการต่างๆ

Lab code No.	Result (g/100 g)					
	Whole wheat cracker			Cracker powder (INMU-18)		
	A	B	Mean	A	B	Mean
1	1.15	1.14	1.15	1.13	1.10	1.12
2	1.92	1.91	1.92	1.65	1.61	1.63
3	0.92	0.94	0.93	0.90	0.83	0.87
4	0.87	0.87	0.87	0.87	0.84	0.86
6	1.22	1.23	1.23	1.16	1.20	1.18
7	1.84	1.80	1.82	1.84	1.79	1.82
8	0.70	0.69	0.70	0.66	0.69	0.68
9	2.55	2.53	2.54	2.70	2.66	2.68
11	1.18	1.13	1.16	1.14	1.03	1.09
12	0.81	0.80	0.81	0.85	0.84	0.85
13	1.36	1.37	1.37	1.09	1.06	1.08
14	1.83	1.94	1.89	1.92	1.94	1.93
15	0.75	0.75	0.75	0.78	0.76	0.77
16	2.03	2.21	2.12	2.25	2.25	2.25
17	2.25	2.25	2.25	1.91	1.93	1.92
Mean			1.43			1.38
SD			0.61			0.61
%CV			42.3			44.5



รูปที่ 7 การกระจายตัวของน้ำตาลของแต่ละห้องปฏิบัติการ

3.5.7 โซเดียม (Sodium)

ผลการประเมินความสามารถห้องปฏิบัติการของโซเดียมในตัวอย่าง whole wheat cracker และ cracker powder (INMU-18) จาก 16 ห้องปฏิบัติการ แสดงในตารางที่ 11A และ 11B และแสดงเป็นกราฟแท่งในรูปที่ 8A และ 8B ตามลำดับ ปริมาณโซเดียมใน whole wheat cracker อยู่ในช่วง 410 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัม (ห้องปฏิบัติการหมายเลข 6) ถึง 520 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัม (ห้องปฏิบัติการหมายเลข 14) ในขณะที่ตัวอย่าง cracker powder (INMU-18) อยู่ในช่วง 429 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัม (ห้องปฏิบัติการหมายเลข 6) ถึง 529 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัม (ห้องปฏิบัติการหมายเลข 9) ห้องปฏิบัติการที่เข้าร่วมโครงการมีการใช้ 3 วิธีที่ใช้ในการเตรียมตัวอย่างให้อยู่ในรูปสารละลายก่อนการตรวจวัดคือใช้ wet digestion หรือ dry ashing หรือ microwave digestion (เอกสารแนบท้ายหมายเลข 4F)

ผลประเมินความสามารถการวิเคราะห์ภายในห้องปฏิบัติการ (within-laboratory performance) พบว่าตัวอย่าง whole wheat cracker มี 3 ห้องปฏิบัติการ (หมายเลข 10, 11 และ 14) รายงานค่าที่บ่งชี้ว่าผลเป็นที่น่าสงสัย ($z\text{-score}_{\text{within}} = 2.68, -2.57$ และ 2.24 ตามลำดับ) สำหรับตัวอย่าง INMU-18 ห้องปฏิบัติการหมายเลข 3 รายงานเป็นที่น่าสงสัย ($z\text{-score}_{\text{within}} = 2.64$) และมี 5 ห้องปฏิบัติการ (หมายเลข 4, 8, 9, 13 และ 14) ที่รายงานค่าที่บ่งชี้ว่าผลไม่เป็นที่พอใจ ($z\text{-score}_{\text{within}} = -6.51, -6.03, -8.44, 4.57$ และ 4.57 ตามลำดับ)

ผลการประเมินความสามารถการวิเคราะห์ระหว่างห้องปฏิบัติการ (between-laboratory performance) พบว่าตัวอย่าง whole wheat cracker มี 2 ห้องปฏิบัติการ (หมายเลข 4 และ 6) รายงานค่าที่บ่งชี้ว่าผลเป็นที่น่าสงสัย ($z\text{-score}_{\text{between}} = -2.08$ และ -2.73 ตามลำดับ) สำหรับตัวอย่าง INMU-18 พบว่าทุกห้องปฏิบัติการ รายงานผลเป็นที่น่าพอใจ อย่างไรก็ตามข้อมูลที่แสดงใน Youden plot (6) รูปที่ 8C แสดงให้เห็นว่าผลการวิเคราะห์โซเดียมของห้องปฏิบัติการหมายเลข 9 อยู่นอกวงรีที่ความเชื่อมั่น 95% แสดงว่าน่าจะเกิด systematic error ในการวิเคราะห์โซเดียม นอกจากนั้นผลการวิเคราะห์ที่ได้พบว่าสูงกว่าห้องปฏิบัติการอื่นๆ ดังนั้นห้องปฏิบัติการควรหาทางแก้ไขที่เหมาะสมต่อไป

โดยสรุปค่า consensus value ของโซเดียมที่ได้จากผลวิเคราะห์ของห้องปฏิบัติการที่มี good performance (within- and between-laboratory $z\text{-score} \leq 2$) ในตัวอย่าง whole wheat cracker และ cracker powder (INMU-18) แสดงในรูปของ $\text{mean} \pm \text{SD}$ คือ 485.3 ± 19.6 มิลลิกรัม/100 กรัม ($N=11$) และ 474.5 ± 24.5 มิลลิกรัม/100 กรัม ($N=11$) ซึ่งมี $\%CV = 4.0$ และ 5.2 ตามลำดับ (ตารางที่ 18)

ตารางที่ 11A ผลการประเมินความสามารถในการวิเคราะห์ให้ได้อย่าง whole wheat cracker

ค่า Assigned value (robust mean $\pm$ robust SD) = 483.42 $\pm$ 25.01 มิลลิกรัม/100 กรัม (%CV = 5.2, N = 16)

Lab code No.	Result		D_i $(B - A) / \sqrt{2}$	S_i $(A + B) / \sqrt{2}$	z- score ⁽¹⁾		z-score ⁽²⁾ Between	Conclusion code based on (2)
	A	B			Within	Between ⁽¹⁾		
1	501	500	-0.7	708	-0.38	0.49	0.68	a
2	465	462	-2.1	655	-0.68	-0.93	-0.80	a
3	505	508	2.1	716	0.20	0.72	0.92	a
4	427	436	6.4	610	1.07	-2.15	-2.08	b
6	410	420	7.0	587	1.20	-2.78	-2.73	b
7	445	442	-2.1	627	-0.68	-1.69	-1.60	a
8	484	483	-0.7	684	-0.38	-0.16	0.00	a
9C	488	489	0.7	691	-0.09	0.03	0.20	a
10	498	518	14.1	718	2.68	0.78	0.98	w
11	480	464	-11.3	668	-2.57	-0.60	-0.46	w
12	489	495	4.2	696	0.64	0.16	0.34	a
13	499	507	5.7	711	0.93	0.58	0.78	a
14	503	520	12.0	723	2.24	0.91	1.12	w
15	503	502	-0.7	710	-0.39	0.55	0.75	a
16	486	488	1.4	689	0.05	-0.03	0.14	a
17	468	469	0.9	662	-0.05	-0.74	-0.60	a
No of results	16	16	16	16	"a" = satisfactory result; z-score ≤ 2			
Median	487	489	1.2	690	"w" or "b" = questionable result; $2 < z\text{-score} < 3$			
Q1	467	464	-0.7	661	"ww" or "bb" = unsatisfactory result; z-score ≥ 3			
Q3	500	503	5.8	710	(w = within lab, b = between lab)			
IQR (Q3-Q1)	32	39	6.5	50	Final consensus value for sodium in whole wheat cracker			
Normalised IQR	24	29	4.9	37	calculated from laboratories with accepted values			
Robust CV	4.9	6.0			= 485.3 $\pm$ 19.6 mg/100g (mean $\pm$ SD), with N = 11, %CV = 4.0			

Mean (a+b/2)	Mean for consensus
501	501
464	464
507	507
432	
415	
444	444
484	484
489	489
508	
472	
492	492
503	503
512	
502	502
487	487
468	468
16	11
Mean	485.3
SD	19.6
%CV	4.04

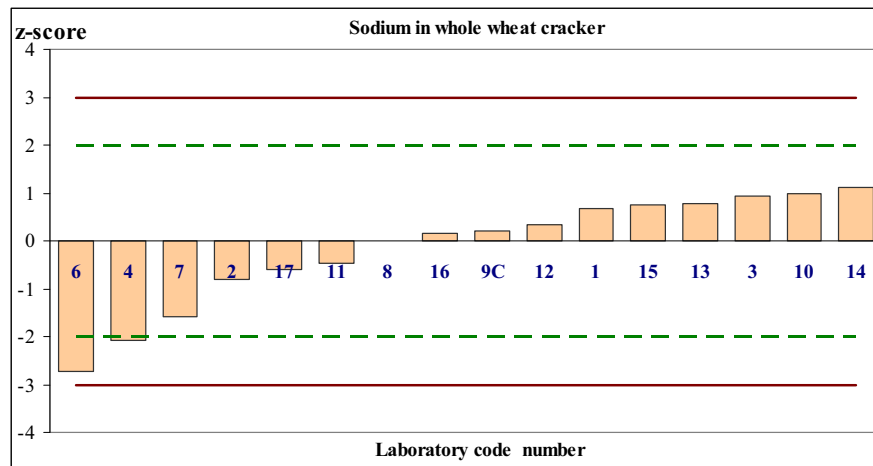
No of results	16	11
Mean	479.8	485.3
SD	28.9	19.6
%CV	6.03	4.04

ตารางที่ 11B ผลการประเมินความสามารในการวิเคราะห์หีเตียมในตัวอย่าง cracker powder (INMU-18)

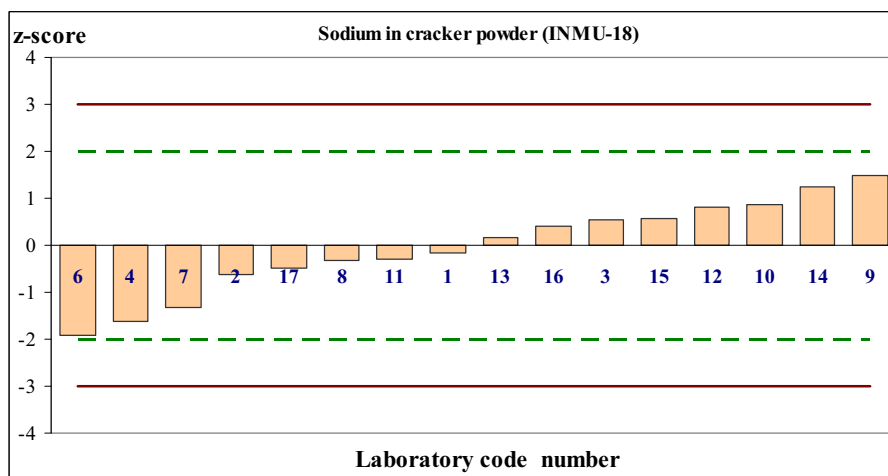
ค่า Assigned value (robust mean $\pm$ robust SD) = 480.35 $\pm$ 26.56 มิลลิกรัม/100 กรัม (%CV = 5.5, N = 16)

Lab code No.	Result		D_i $(A - B) / \sqrt{2}$	S_i $(A + B) / \sqrt{2}$	z- score ⁽¹⁾		z-score ⁽²⁾ Between	Conclusion code based on (2)	Mean (a+b/2)	Mean for consensus		
	A	B			Within	Between ⁽¹⁾						
1	476	476	0.0	673	0.24	-0.19	-0.16	a	476	476		
2	462	465	-2.1	655	-1.21	-0.74	-0.63	a	464	464		
3	497	492	3.5	699	2.64	0.63	0.53	w	495			
4	430	444	-9.9	618	-6.51	-1.91	-1.63	ww	437			
6	429	429	-0.2	607	0.13	-2.25	-1.92	a	429	429		
7	445	445	0.0	629	0.24	-1.56	-1.33	a	445	445		
8	465	478	-9.2	667	-6.03	-0.39	-0.33	ww	472			
9	511	529	-12.7	735	-8.44	1.76	1.49	ww	520			
10	503	504	-0.7	712	-0.25	1.03	0.87	a	504	504		
11	472	473	-0.7	668	-0.25	-0.34	-0.30	a	473	473		
12	502	502	0.0	710	0.24	0.96	0.82	a	502	502		
13	489	480	6.4	685	4.57	0.19	0.16	ww	485			
14	518	509	6.4	726	4.57	1.47	1.25	ww	514			
15	495	496	-0.5	700	-0.13	0.66	0.56	a	495	495		
16	490	492	-1.4	694	-0.73	0.48	0.40	a	491	491		
17	468	466	1.6	661	1.30	-0.57	-0.49	a	467	467		
No of results	16	16	16	16	"a" = satisfactory result; z-score ≤ 2					No of results	16	10
Median	483	479	-0.3	679	"w" or "b" = questionable result; 2 < z-score < 3					Mean	479.1	474.5
Q1	464	466	-1.6	659	"ww" or "bb" = unsatisfactory result; z-score ≥ 3					SD	26.5	24.5
Q3	498	497	0.4	703	(w = within lab, b = between lab)					%CV	5.53	5.15
IQR (Q3-Q1)	34	31	2.0	43	Final consensus value for sodium in INMU-18							
Normalised IQR	25	23	1.5	32	calculated from laboratories with accepted values							
Robust CV	5.2	4.8			= 474.5 ± 24.5 mg/100g (mean±SD), with N = 10, %CV = 5.2							

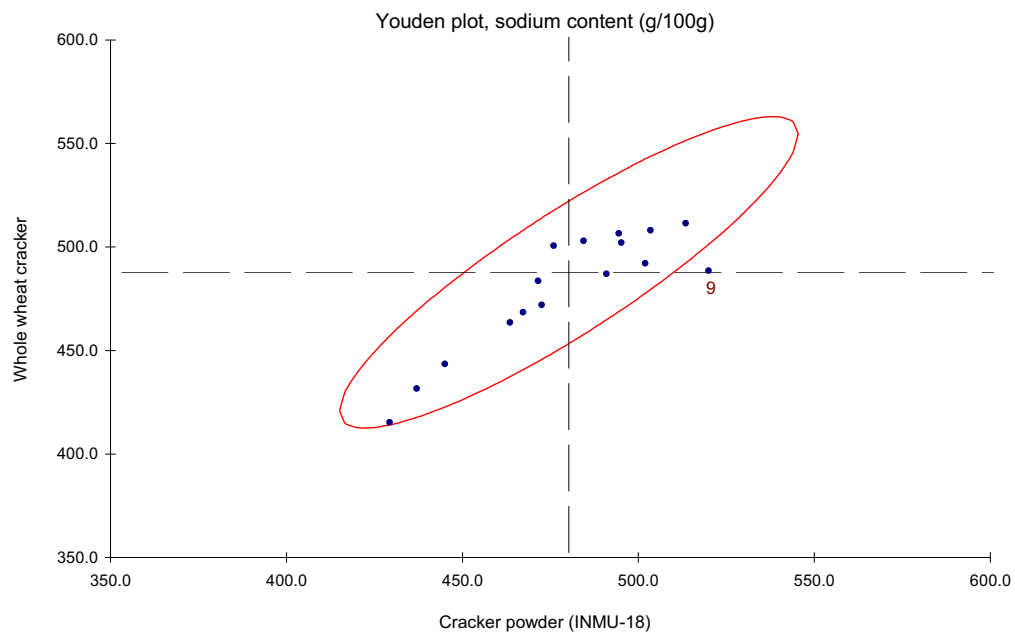
⁽¹⁾ based on median $\pm$ NIQR; ⁽²⁾ based on assigned value estimated according to ISO 13528



รูปที่ 8A z-scores ของโซเดียมในตัวอย่าง whole wheat cracker



รูปที่ 8B z-scores ของโซเดียมในตัวอย่าง cracker powder (INMU-18)



รูปที่ 8C Youden plot ของการวิเคราะห์โซเดียม (จากตารางที่ 11A และ 11B)

3.5.8 แคลเซียม (Calcium)

ผลการประเมินความสามารถห้องปฏิบัติการของแคลเซียมในตัวอย่าง cracker powder (INMU-18) จำนวน 15 จาก 16 ห้องปฏิบัติการ แสดงในตารางที่ 12 และแสดงเป็นกราฟแท่งในรูปที่ 9 ปริมาณแคลเซียมใน cracker powder (INMU-18) อยู่ในช่วงที่กว้างมากคือ 7 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัม (ห้องปฏิบัติการหมายเลข 4) ถึง 53 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัม (ห้องปฏิบัติการหมายเลข 17) สามารถแบ่งผลการวิเคราะห์ออกได้เป็น 3 กลุ่มคือ 7-14 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัม (2 ห้องปฏิบัติการ) 16-20 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัม (11 ห้องปฏิบัติการ) และ 45-53 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัม (2 ห้องปฏิบัติการ) ห้องปฏิบัติการที่เข้าร่วมโครงการมีการใช้ 3 วิธีที่ใช้ในการเตรียมตัวอย่างให้อยู่ในรูปสารละลายก่อนการตรวจวัดคือใช้ wet digestion หรือ dry ashing หรือ microwave digestion (เอกสารแนบท้าย หมายเลข 4F)

ผลประเมินความสามารถการวิเคราะห์ภายในห้องปฏิบัติการ (within-laboratory performance) พบว่าทุกห้องปฏิบัติการผ่านเกณฑ์การยอมรับ ($z\text{-score}_{\text{within}} \leq 2$) ส่วนผลการประเมินความสามารถการวิเคราะห์ระหว่างห้องปฏิบัติการ (between-laboratory performance) พบว่ามี 3 ห้องปฏิบัติการ (หมายเลข 4, 15 และ 17) รายงานค่าที่บ่งชี้ว่าผลไม่เป็นที่น่าพอใจ ($|z\text{-score}| \geq 3$) โดยห้องปฏิบัติการหมายเลข 4 รายงานค่าแคลเซียมต่ำมาก ($z\text{-score}_{\text{between}} = -6.53$) ในขณะที่ห้องปฏิบัติการหมายเลข 15 และ 17 รายงานค่าแคลเซียมสูงมาก ($z\text{-score}_{\text{between}} = 15.67$ และ 19.27 , ตามลำดับ) ซึ่งห้องปฏิบัติการหมายเลข 4 และ 17 ใช้วิธี dry ashing ในการเตรียมตัวอย่างให้เป็นสารละลาย ส่วนห้องปฏิบัติการหมายเลข 15 ใช้วิธี wet digestion เหมือนห้องปฏิบัติการอื่นๆ ดังนั้นวิธีการเตรียมตัวอย่างให้เป็นสารละลาย ไม่น่าเป็นปัจจัยในการทำให้เกิดความแตกต่างของผลการวิเคราะห์ ห้องปฏิบัติการหมายเลข 9 รายงานค่าต่ำ ซึ่งบ่งชี้ว่าผลเป็นที่น่าสงสัย ($z\text{-score}_{\text{between}} = -2.77$) ดังนั้นผลการวิเคราะห์แคลเซียมของทั้ง 3 ห้องปฏิบัติการ (หมายเลข 4, 15 และ 17) จึงจัดได้ว่าเป็นค่าที่แตกต่างจากกลุ่ม (outlier)

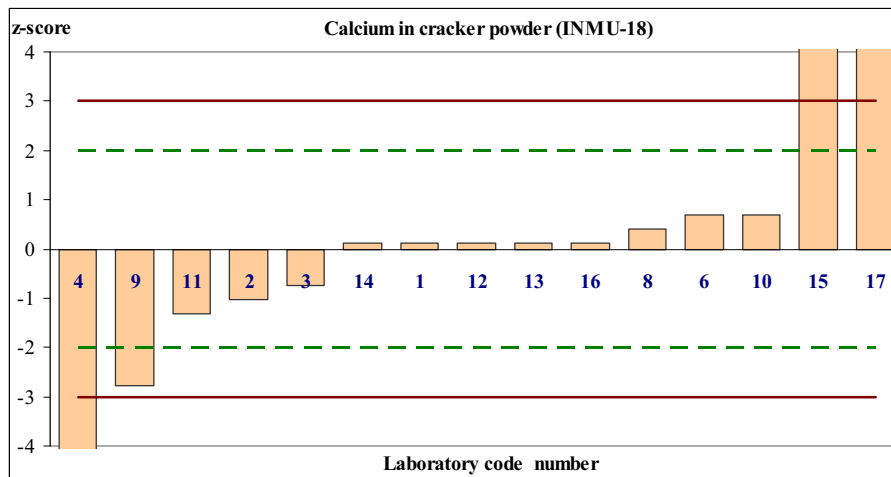
โดยสรุปค่า consensus value ของแคลเซียมที่ได้จากผลวิเคราะห์ของห้องปฏิบัติการที่มี good performance (within- and between-laboratory $z\text{-score} \leq 2$) ในตัวอย่าง cracker powder (INMU-18) แสดงในรูปของ mean $\pm$ SD คือ 18.7 ± 1.2 มิลลิกรัม/100 กรัม ($N = 11$) ซึ่งมี %CV = 6.2 (ตารางที่ 18)

ตารางที่ 12 ผลการประเมินความสามารถในการวิเคราะห์แคลเซียมในตัวอย่าง cracker powder (INMU-18)

ค่า Assigned value (robust mean $\pm$ robust SD) = 18.78 ± 1.73 มิลลิกรัม/100 กรัม (%CV = 9.2, N = 15)

Lab code No.	Result		D_i $(A - B) / \sqrt{2}$	S_i $(A + B) / \sqrt{2}$	z- score ⁽¹⁾		z-score ⁽²⁾ Between	Conclusion code based on (2)	Mean (a+b/2)	Mean for consensus		
	A	B			Within	Between ⁽¹⁾						
1	19.0	19.0	0.0	26.9	0.00	0.00	0.12	a	19	19		
2	17.0	17.0	0.0	24.0	0.00	-1.08	-1.03	a	17	17		
3	18.0	17.0	-0.7	24.7	-1.49	-0.81	-0.74	a	18	18		
4	8.0	7.0	-0.7	10.6	-1.49	-6.21	-6.53	bb	8			
6	19.4	20.7	0.9	28.3	1.94	0.54	0.70	a	20	20		
8	20.0	19.0	-0.7	27.6	-1.49	0.27	0.41	a	20	20		
9	14.0	14.0	0.0	19.8	0.00	-2.70	-2.77	b	14			
10	20.0	20.0	0.0	28.3	0.00	0.54	0.70	a	20	20		
11	17.0	16.0	-0.7	23.3	-1.49	-1.35	-1.32	a	17	17		
12	19.0	19.0	0.0	26.9	0.00	0.00	0.12	a	19	19		
13	19.0	19.0	0.0	26.9	0.00	0.00	0.12	a	19	19		
14	19.4	18.6	-0.6	26.9	-1.21	0.00	0.12	a	19	19		
15	45.7	46.1	0.3	64.9	0.67	14.50	15.67	bb	46			
16	19.0	19.0	0.0	26.9	0.00	0.00	0.12	a	19	19		
17	51.5	52.7	0.9	73.7	1.83	17.86	19.27	bb	52			
No of results	15	15	15	15	"a" = satisfactory result; z-score ≤ 2					No of results	15	11
Median	19.00	19.00	0.0	26.9	"w" or "b" = questionable result; 2 < z-score < 3					Mean	21.7	18.7
Q1	17.50	17.00	-0.6	24.4	"ww" or "bb" = unsatisfactory result; z-score ≥ 3					SD	11.6	1.2
Q3	19.70	19.50	0.0	27.9	(w = within lab, b = between lab)					%CV	53.54	6.25
IQR (Q3-Q1)	2.20	2.50	0.6	3.5	Final consensus value for calcium in INMU-18							
Normalised IQR	1.63	1.85	0.5	2.6	calculated from laboratories with accepted values							
Robust CV	8.58	9.75			= 18.7 ± 1.2 mg/100g (mean±SD), with N = 11, %CV = 6.2							

⁽¹⁾ based on median $\pm$ NIQR; ⁽²⁾ based on assigned value estimated according to ISO 13528



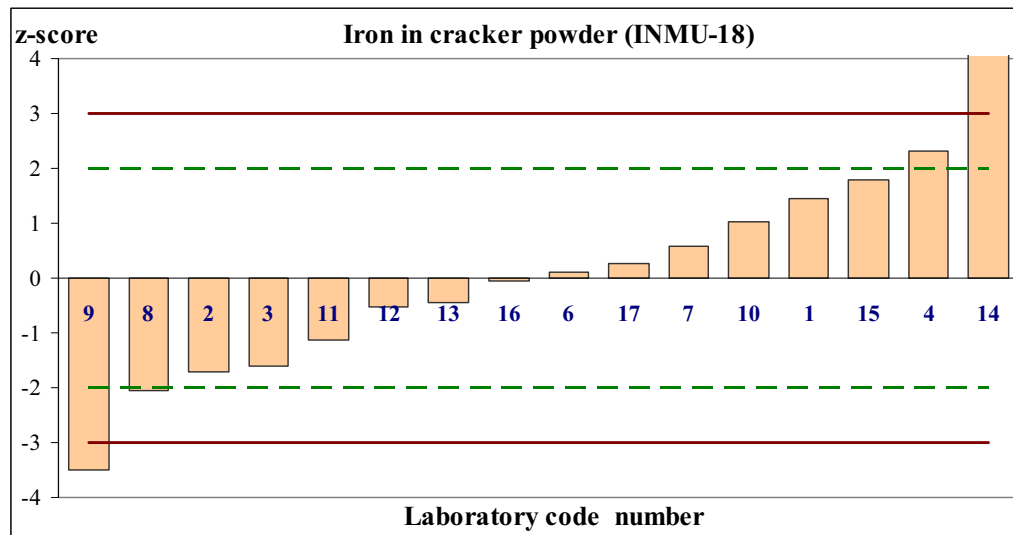
รูปที่ 9 z-scores ของแคลเซียมในตัวอย่าง cracker powder (INMU-18)

3.5.9 เหล็ก (Iron)

ผลการประเมินความสามารถห้องปฏิบัติการของเหล็กในตัวอย่าง cracker powder (INMU-18) จำนวน 16 ห้องปฏิบัติการ แสดงในตารางที่ 13 และแสดงเป็นกราฟแท่งในรูปที่ 10 ปริมาณเหล็กใน cracker powder (INMU-18) อยู่ในช่วง 0.74 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัม (ห้องปฏิบัติการหมายเลข 9) ถึง 2.27 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัม (ห้องปฏิบัติการหมายเลข 14) ค่าเฉลี่ยที่ได้จากแต่ละห้องปฏิบัติการพบว่ามีความแปรปรวนสูง (%CV = 26.7) และยังพบสูงเมื่อนำมาคำนวณค่า assigned value ตาม ISO 13528 (6) (%CV = 20.0) ดังนั้นผู้จัดจึงพิจารณาใช้ค่า assigned value ในรูปของ robust mean $\pm$ SDp (1.22 ± 0.13 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัม, %CV = 11.0) ในการประเมินความสามารถห้องปฏิบัติการ ซึ่งค่า assigned value นี้มีความเหมาะสมมากกว่าค่าเดิม เนื่องจากค่า %CV อยู่ในระดับที่ยอมรับได้

ผลการประเมินการวิเคราะห์ภายในห้องปฏิบัติการ (within-laboratory performance) พบว่ามีเพียงห้องปฏิบัติการหมายเลข 12 เท่านั้นที่รายงานผลเป็นที่น่าสงสัย ($z\text{-score}_{\text{within}} = -2.22$) ส่วนผลการประเมินความสามารถการวิเคราะห์ระหว่างห้องปฏิบัติการ (between-laboratory performance) พบว่ามี 2 ห้องปฏิบัติการ (ห้องปฏิบัติการหมายเลข 9 และ 14) ที่บ่งชี้ว่าผลไม่เป็นที่น่าพอใจ (unsatisfactory results, $|z\text{-score}| \geq 3$) ห้องปฏิบัติการหมายเลข 9 รายงานค่าต่ำ ($z\text{-score}_{\text{between}} = -3.51$) ในขณะที่ห้องปฏิบัติการหมายเลข 14 รายงานค่าสูง ($z\text{-score}_{\text{between}} = 7.68$) ซึ่งทั้งสองห้องปฏิบัติการก็ใช้วิธีการเตรียมตัวอย่างให้อยู่ในรูปสารละลายจากการทำ dry ashing ก่อนการตรวจวัดเช่นเดียวกับห้องปฏิบัติการอื่น (เอกสารแนบท้ายหมายเลข 4G) อย่างไรก็ตามทั้งสอง

ห้องปฏิบัติการถูกบ่งชี้ว่าเป็น outlier เมื่อเปรียบเทียบกับห้องปฏิบัติการอื่น และมีอีก 2 ห้องปฏิบัติการ (ห้องปฏิบัติการหมายเลข 4 และ 8) ที่บ่งชี้ว่าผลเป็นน่าสงสัย ($z\text{-score}_{\text{between}} = 2.31$ และ -2.06 ตามลำดับ)



รูปที่ 10 z-scores ของเหล็กในตัวอย่าง cracker powder (INMU-18)

โดยสรุปค่า consensus value ของเหล็กที่ได้จากผลวิเคราะห์ของห้องปฏิบัติการที่มี good performance (within- and between-laboratory $z\text{-score} \leq 2$) ในตัวอย่าง cracker powder (INMU-18) แสดงในรูปของ $\text{mean} \pm \text{SD}$ คือ 1.22 ± 0.16 มิลลิกรัม/100 กรัม ($N = 11$) ซึ่งมี $\%CV = 12.9$ (ตารางที่ 18)

ตารางที่ 13 ผลการประเมินความสามารในการวิเคราะห์เหล็กในตัวอย่าง cracker powder (INMU-18)

ค่า Assigned value (robust mean $\pm$ robust SD) = 1.22 ± 0.24 มิลลิกรัม/100 กรัม (%CV = 20.0, N = 16)

Lab code No.	Result		Di (B-A)/SQRT2	Si (A+B)/SQRT2	z- score ⁽¹⁾		z-score ⁽²⁾ Between	z-score ⁽³⁾ Between	Conclusion code based on (3)
	A	B			Within	Between ⁽¹⁾			
1	1.38	1.45	0.05	2.00	1.90	0.80	0.80	1.45	a
2	1.01	0.97	-0.03	1.40	-1.59	-0.99	-0.95	-1.72	a
3	1.00	1.01	0.01	1.42	0.00	-0.93	-0.88	-1.61	a
4	1.51	1.55	0.03	2.16	0.95	1.29	1.27	2.31	b
6	1.23	1.24	0.01	1.75	0.00	0.04	0.06	0.11	a
7	1.32	1.28	-0.03	1.84	-1.59	0.32	0.33	0.59	a
8	0.95	0.94	-0.01	1.34	-0.63	-1.18	-1.13	-2.06	b
9	0.74	0.76	0.01	1.06	0.32	-2.00	-1.93	-3.51	bb
10	1.36	1.36	0.00	1.92	-0.32	0.57	0.57	1.04	a
11	1.06	1.08	0.01	1.51	0.32	-0.65	-0.62	-1.12	a
12	1.18	1.12	-0.04	1.63	-2.22	-0.32	-0.29	-0.53	w
13	1.13	1.19	0.04	1.64	1.59	-0.27	-0.25	-0.45	a
14	2.27	2.23	-0.03	3.18	-1.59	4.32	4.22	7.68	bb
15	1.46	1.46	0.00	2.06	-0.32	0.99	0.98	1.79	a
16	1.21	1.22	0.01	1.72	0.00	-0.04	-0.02	-0.04	a
17	1.23	1.28	0.04	1.77	1.27	0.13	0.14	0.26	a
No of results	16	16	16	16	"a" = satisfactory result; z-score ≤ 2				
Median	1.22	1.23	0.01	1.73	"w" or "b" = questionable result; 2 < z-score < 3				
Q1	1.05	1.06	-0.01	1.49	"ww" or "bb" = unsatisfactory result; z-score ≥ 3				
Q3	1.37	1.38	0.02	1.94	(w = within lab, b = between lab)				

Mean (a+b/2)	Mean after delete outlier ⁽²⁾	Mean after delete outlier ⁽³⁾
1.42	1.42	1.42
0.99	0.99	0.99
1.01	1.01	1.01
1.53	1.53	
1.24	1.24	1.24
1.30	1.30	1.30
0.95	0.95	
0.75	0.75	
1.36	1.36	1.36
1.07	1.07	1.07
1.15		
1.16	1.16	1.16
2.25		
1.46	1.46	1.46
1.22	1.22	1.22
1.26	1.26	1.26
No of results	16	14
Mean	1.26	1.19
SD	0.34	0.22
%CV	26.70	18.47
		12.87

No of results	16
Mean	1.26
SD	0.34
%CV	26.70

3.5.10 วิตามินบี 1 (Vitamin B₁, thiamin)

ผลการประเมินความชำนาญของการวิเคราะห์วิตามินบี 1 แสดงในตารางที่ 14 และแสดงเป็นกราฟแท่งในรูปที่ 11 และวิธีที่แต่ละห้องปฏิบัติการใช้สรุปอยู่ในเอกสารแนบแบบท้ายหมายเลข 4H วิตามินบี 1 ในตัวอย่าง cracker powder (INMU-18) มีค่า 0.04-0.19 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัม (%CV=52.2) เมื่อนำมาคำนวณหาค่า assigned value ตาม ISO 13528 (ตารางที่ 4A) พบว่าค่าความแปรปรวนที่สูงมาก (0.066 ± 0.022 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัม, %CV=32.7) ซึ่งเมื่อนำมาประเมินความสามารถในการวิเคราะห์วิตามินบี 1 พบว่าห้องปฏิบัติการส่วนใหญ่ผ่านเกณฑ์การประเมิน ยกเว้นห้องปฏิบัติการหมายเลข 1 แต่ค่า consensus value ที่ได้ (0.058 ± 0.013 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัม) จากการประเมินด้วยวิธีนี้พบว่ายังมีค่าความแปรปรวนสูง (%CV=22.8) ดังนั้นผู้จัดจึงพิจารณาเลือกใช้ robust mean ที่คำนวณจาก ISO 13528 และใช้ค่า standard deviation ที่ประมาณค่าได้จาก Horwitz predicted SD (0.066 ± 0.011 กรัมต่อ 100 กรัม, %CV=17.0) ผลการประเมินความสามารถการวิเคราะห์ระหว่างห้องปฏิบัติการ (between-laboratory performance) ด้วยวิธีนี้พบว่าห้องปฏิบัติการหมายเลข 1 รายงานค่าบ่งชี้ว่าผลไม่เป็นที่น่าพอใจ (z-score= 11.10) และมี 5 ห้องปฏิบัติการ (หมายเลข 4, 10, 11, 13 และ 15C) ที่รายงานค่าเป็นบ่งชี้ว่าเป็นที่น่าสงสัย (-z-score = -2.30, -2.30, 2.61, 2.61, และ -2.30 ตามลำดับ) เมื่อนำมาหาค่า consensus value พบว่ามีค่าความแปรปรวนลดลง (%CV=11.6, N=8) อยู่ในเกณฑ์ที่ยอมรับได้ อย่างไรก็ตามปริมาณวิตามินบี 1 ในตัวอย่างนี้ถือว่ามีความต่ำ เมื่อคิดเป็นต่อหนึ่งหน่วยบริโภค (serving size = 30 g) (1) วิตามินบี 1 จะนับว่ามีเพียงเล็กน้อย (ประมาณ 0.02 ต่อ 30 กรัม) และเมื่อนำมาคิดต่อปริมาณที่แนะนำให้บริโภคต่อวัน (recommence diary intake, Thai RDI) พบว่ารายงานค่าเป็นศูนย์ ดังนั้นผู้จัดจึงถือได้ว่าการประเมินการวิเคราะห์วิตามินบี 1 นี้เป็นการประเมินการวิเคราะห์ที่อยู่ในช่วงต่ำๆ ของการวิเคราะห์ ซึ่งใกล้เคียงกับค่า limit of quantitation (LOQ) ของการวิเคราะห์ในบางห้องปฏิบัติการ

สำหรับประเมินความสามารถการวิเคราะห์ภายในห้องปฏิบัติการ ($z\text{-score}_{\text{within}}$) ไม่สามารถทำการประเมินได้ เนื่องจากค่าความแตกต่างระหว่างการวิเคราะห์ A และ B มีค่าต่ำมาก ห้องปฏิบัติการส่วนใหญ่ไม่มีความแตกต่างกัน (12 จาก 14 ห้องปฏิบัติการ) มีเพียง 2 ห้องปฏิบัติการ (หมายเลข 11 และ 13) ที่รายงานค่าแตกต่างกันเล็กน้อย เพียง 0.01 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัม ทำให้ค่าของ median และ normalized IQR ที่ใช้ในการประเมินมีค่าเท่ากับ 0 อย่างไรก็ตามหากพิจารณาที่ผลการวิเคราะห์แล้วนับว่าผู้วิเคราะห์วิตามินบี 1 ของแต่ละห้องปฏิบัติการมีความแม่นยำ (precision) ในการวิเคราะห์ดี

โดยสรุปค่า consensus value ของวิตามินบี 1 ที่ได้จากผลวิเคราะห์ของห้องปฏิบัติการที่มี good performance (within- and between-laboratory $z\text{-score} \leq 2$) ในตัวอย่าง cracker powder (INMU-18) แสดงในรูปของ mean $\pm$ SD คือ 0.07 ± 0.01 มิลลิกรัม/100 กรัม (N = 8) ซึ่งมี %CV = 11.6 (ตารางที่ 18)

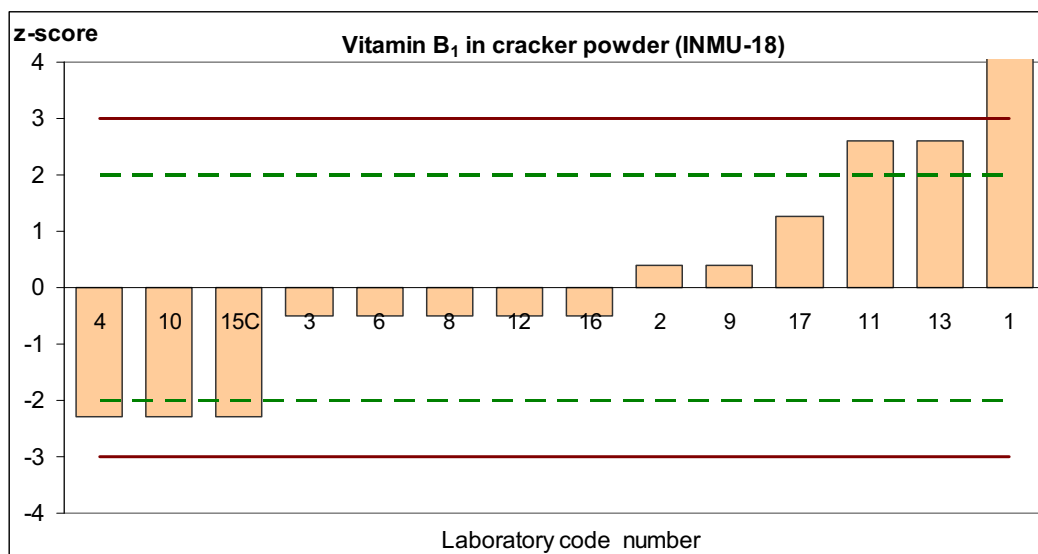
ตารางที่ 14 ผลการประเมินความสามารในการวิเคราะห์หิวตามปี 1 ในตัวอย่าง cracker powder (INMU-18)

ค่า Assigned value (robust mean $\pm$ robust SD) = 0.07 ± 0.02 มิลลิกรัม/100 กรัม (%CV = 32.7, N = 14)

ค่า New assigned value (robust mean $\pm$ SDp) = 0.07 ± 0.01 มิลลิกรัม/100 กรัม (%CV = 17.0, N = 14)

Lab code		Result		Di	Si	z- score ⁽¹⁾		z-score ⁽²⁾		z-score ⁽³⁾		Conclusion code
No.	A	B	$(A-B)/\sqrt{2}$	$(A+B)/\sqrt{2}$		Within	Between ⁽¹⁾	Between	Between	Between	Based on (3)	
1	0.19	0.19	0.00	0.27		-*	10.02	5.77	11.10	11.10	bb	
2	0.07	0.07	0.00	0.10		-	0.77	0.20	0.38	0.38	a	
3	0.06	0.06	0.00	0.08		-	0.00	-0.27	-0.51	-0.51	a	
4	0.04	0.04	0.00	0.06		-	-1.54	-1.20	-2.30	-2.30	b	
6	0.06	0.06	0.00	0.08		-	0.00	-0.27	-0.51	-0.51	a	
8	0.06	0.06	0.00	0.08		-	0.00	-0.27	-0.51	-0.51	a	
9	0.07	0.07	0.00	0.10		-	0.77	0.20	0.38	0.38	a	
10	0.04	0.04	0.00	0.06		-	-1.54	-1.20	-2.30	-2.30	b	
11	0.09	0.10	-0.007	0.13		-	2.70	1.36	2.61	2.61	b	
12	0.06	0.06	0.00	0.08		-	0.00	-0.27	-0.51	-0.51	a	
13	0.09	0.10	-0.007	0.13		-	2.70	1.36	2.61	2.61	b	
15C	0.04	0.04	0.00	0.06		-	-1.54	-1.20	-2.30	-2.30	b	
16	0.06	0.06	0.00	0.08		-	0.00	-0.27	-0.51	-0.51	a	
17	0.08	0.08	0.00	0.11		-	1.54	0.66	1.27	1.27	a	
No of results	14	14	14	14		"a" = accepted value; z-score ≤ 2						
Median	0.060	0.060	0.00	0.08		"w" or "b" = questionable; 2 < z-score < 3						
Q1	0.06	0.06	0.00	0.08		"ww" or "bb" = outliers; z-score ≥ 3						
Q3	0.08	0.08	0.00	0.11		(w = within lab, b = between lab)						
IQR (Q3-Q1)	0.02	0.02	0.00	0.02		Final consensus value for vitamin B ₁ in INMU-18						
Normalised IQR	0.01	0.01	0.00	0.02		calculated from laboratories with accepted values						
Robust CV	21.6	21.6				= 0.07 + 0.01 mg/100g (mean+SD), with N = 8, %CV = 11.6						

* - not evaluate due to the different between the duplicate in each laboratory is close to zero, thus the median and normalised IQR are zero.



รูปที่ 11 z-scores ของวิตามินบี 1 ในตัวอย่าง cracker powder (INMU-18)

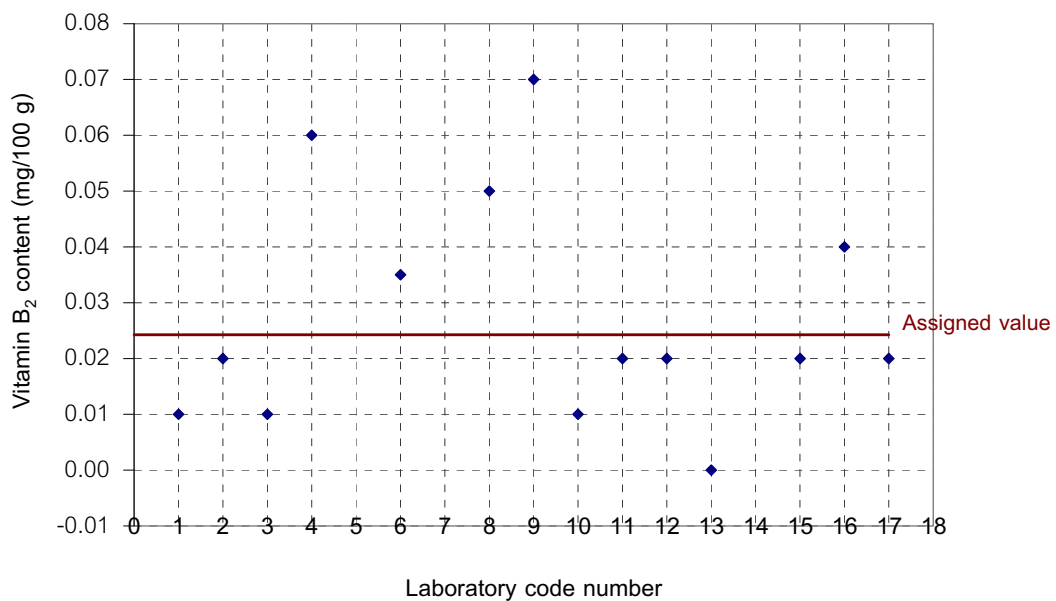
3.5.11 วิตามินบี 2 (Vitamin B₂, ribiflavin)

ผลการเข้าร่วมการประเมินความชำนาญของการวิเคราะห์วิตามินบี 2 แสดงอยู่ในตารางที่ 15 และวิธีที่แต่ละห้องปฏิบัติการใช้สรุปอยู่ในเอกสารแนบแนบท้ายหมายเลข 4I เนื่องจากผลมีความแปรปรวนมากดังแสดงในรูปที่ 11 วิตามินบี 2 ในตัวอย่าง cracker powder (INMU-18) มีค่า 0.00-0.07 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัม (%CV=75.1) เมื่อนำมาคำนวณหาค่า assigned value ตาม ISO 13528 (ตารางที่ 4A) พบว่าค่าความแปรปรวนก็สูงมาก (0.024 ± 0.017 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัม, %CV=70.6) ซึ่งไม่เหมาะสมในการนำมาใช้เพื่อประเมินความสามารถของห้องปฏิบัติการ นอกจากนั้นปริมาณวิตามินบี 2 ในหนึ่งหน่วยบริโภค (serving size = 30 g) (1) มีเพียงเล็กน้อย (ประมาณ 0.01 ต่อ 30 กรัม) เมื่อนำมาคิดต่อปริมาณที่แนะนำให้บริโภคต่อวัน (Thai RDI) พบว่ารายงานค่าเป็นศูนย์ ดังนั้นผู้จัดจึงไม่ประเมินความสามารถห้องปฏิบัติการ เพียงแต่แสดงข้อมูลเท่านั้น

ตารางที่ 15 ผลการประเมินความสามารถในการวิเคราะห์วิตามินบี 2 ในตัวอย่าง cracker powder (INMU-18)

Lab code No.	Result	
	A	B
1	0.01	0.01
2	0.02	0.02
3	0.01	0.01
4	0.06	0.06
6	0.04	0.03
8	0.05	0.05
9	0.07	0.07
10	0.01	0.01
11	0.02	0.02
12	0.02	0.02
13	0.00	0.00
15C	0.02	0.02
16	0.04	0.04
17	0.02	0.02
No of results	14	14
Median	0.020	0.020
Q1	0.01	0.01
Q3	0.04	0.04
IQR (Q3-Q1)	0.03	0.03
Normalised IQR	0.02	0.02
Robust CV	101.93	92.66

No statistic evaluation



รูปที่ 12 การกระจายตัวของการวิเคราะห์วิตามินบี 2 ของแต่ละห้องปฏิบัติการ

3.5.12 ความชื้น (Moisture)

ผลการประเมินความสามารถห้องปฏิบัติการของความชื้นในตัวอย่าง whole wheat cracker และ cracker powder (INMU-18) จาก 16 ห้องปฏิบัติการ แสดงในตารางที่ 16A และ 16B และแสดงเป็นกราฟแท่งในรูปที่ 13A และ 13B ตามลำดับ วิธีวิเคราะห์ของแต่ละห้องปฏิบัติการแสดงอยู่ในเอกสารแนบท้ายหมายเลข 2J ส่วนใหญ่ใช้การอบที่อุณหภูมิ 95–135°C ด้วย hot air oven หรือ vacuum oven สำหรับตัวอย่าง whole wheat cracker มีค่าของความชื้นตั้งแต่ 2.63 กรัมต่อ 100 กรัม (ห้องปฏิบัติการหมายเลข 6) ถึง 4.05 กรัมต่อ 100 กรัม (ห้องปฏิบัติการหมายเลข 13) ผลการประเมินความสามารถการวิเคราะห์ระหว่างห้องปฏิบัติการ (between-laboratory performance) พบว่ามีเพียงห้องปฏิบัติการเดียว (หมายเลข 6) ที่รายงานผลเป็นที่น่าสงสัย ($z\text{-score}_{\text{between}} = -2.02$) ส่วนผลการประเมินความสามารถการวิเคราะห์ภายในห้องปฏิบัติการ พบว่ามี 2 ห้องปฏิบัติการ (ห้องปฏิบัติการหมายเลข 1 และ 16) ที่รายงานค่าบ่งชี้ว่าผลไม่เป็นที่น่าพอใจ ($z\text{-score}_{\text{within}} = 3.37$ and -4.72 ตามลำดับ)

สำหรับตัวอย่าง cracker powder (INMU-18) มีค่าของความชื้นตั้งแต่ 1.82 กรัมต่อ 100 กรัม (ห้องปฏิบัติการหมายเลข 3 และ 10) ถึง 2.75 กรัมต่อ 100 กรัม (ห้องปฏิบัติการหมายเลข 9) ซึ่งมีค่าต่ำกว่าตัวอย่าง whole wheat cracker เล็กน้อย ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากการเตรียมตัวอย่างของ INMU-18 ดำเนินการในสภาวะแวดล้อมที่มีการควบคุมอุณหภูมิและความชื้นสัมพัทธ์ แล้วบรรจุในซองด้วยระบบสุญญากาศ ผลการประเมินความสามารถการวิเคราะห์ภายในห้องปฏิบัติการ (within-laboratory performance) พบว่ามีเพียงห้องปฏิบัติการหมายเลข 7 รายงานค่าบ่งชี้ว่าผลไม่เป็นที่น่าพอใจ ($z\text{-score}_{\text{within}} = 3.31$) ส่วนผลการประเมินความสามารถการวิเคราะห์ระหว่างห้องปฏิบัติการ (between-laboratory performance) พบว่าส่วนใหญ่ของห้องปฏิบัติการรายงานผลเป็นที่น่าพอใจ ($|z\text{-score}_{\text{between}}| \leq 2$) ยกเว้นห้องปฏิบัติการหมายเลข 10 ที่ผลเป็นที่น่าสงสัย ($z\text{-score}_{\text{between}} = -2.02$) ผลวิเคราะห์ความชื้นต่ำกว่ากลุ่มเล็กน้อย

กราฟ Youden plot (6) ที่แสดงความสัมพันธ์ของการวิเคราะห์ความชื้นทั้งสองตัวอย่างทดสอบ แสดงในรูปที่ 13C พบว่าทุกห้องปฏิบัติการอยู่ในวงรีที่ระดับความเชื่อมั่น 95% เป็นที่น่าสังเกตว่าห้องปฏิบัติการหมายเลข 7 อยู่บริเวณเส้นขอบของวงรี อาจมีแนวโน้มในการเกิด random error ได้ แต่ถือได้ว่ายังไม่มีปัญหาเกิดขึ้น ดังนั้นการวิเคราะห์ความชื้นของห้องปฏิบัติการส่วนใหญ่ถือว่าเป็นที่น่าพอใจ

โดยสรุปค่า consensus value ของความชื้นที่ได้จากผลวิเคราะห์ของห้องปฏิบัติการที่มี good performance (within- and between-laboratory $z\text{-score} \leq 2$) ในตัวอย่าง whole wheat cracker และ cracker powder (INMU-18) แสดงในรูปของ mean $\pm$ SD คือ 3.44 ± 0.38 (N = 13) และ 2.33 ± 0.30 (N = 14) กรัม/100 กรัม ตามลำดับ ซึ่งมี %CV = 10.9 และ 13.0 ตามลำดับ (ตารางที่ 18)

ตารางที่ 16A ผลการประเมินความสามารถในการวิเคราะห์ความชื้นในตัวอย่าง whole wheat cracker

ค่า Assigned value (robust mean $\pm$ robust SD) = 3.41 ± 0.38 กรัม/100 กรัม (%CV = 11.0, N = 16)

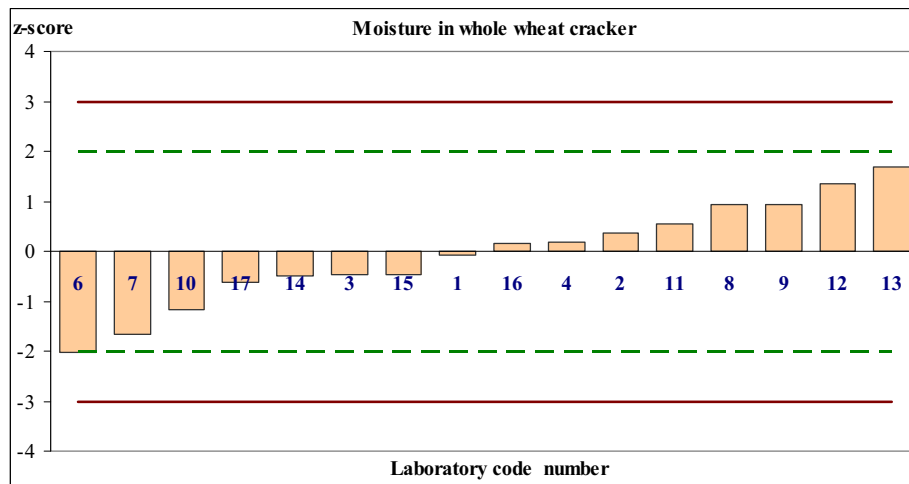
Lab code No.	Result		Di $(A - B) / \sqrt{2}$	Si $(A + B) / \sqrt{2}$	z- score ⁽¹⁾		z-score ⁽²⁾ Between	Conclusion code based on (2)		Mean (a+b/2)	Mean for consensus	
	A	B			Within	Between ⁽¹⁾						
1	3.43	3.33	0.07	4.78	3.37	-0.14	-0.08	ww		3.38		
2	3.53	3.57	-0.03	5.02	-1.35	0.39	0.37	a		3.55	3.55	
3	3.23	3.23	0.00	4.57	0.00	-0.60	-0.48	a		3.23	3.23	
4	3.48	3.48	0.00	4.92	0.00	0.17	0.19	a		3.48	3.48	
6	2.63	2.67	-0.03	3.75	-1.35	-2.39	-2.02	b		2.65		
7	2.80	2.77	0.02	3.94	1.01	-1.97	-1.66	a		2.79	2.79	
8	3.75	3.77	-0.01	5.32	-0.67	1.03	0.93	a		3.76	3.76	
9	3.77	3.76	0.01	5.32	0.34	1.05	0.95	a		3.77	3.77	
10	2.96	2.98	-0.01	4.20	-0.67	-1.40	-1.17	a		2.97	2.97	
11	3.64	3.59	0.04	5.11	1.69	0.59	0.55	a		3.62	3.62	
12	3.91	3.93	-0.01	5.54	-0.67	1.53	1.36	a		3.92	3.92	
13	4.05	4.03	0.01	5.71	0.67	1.90	1.68	a		4.04	4.04	
14	3.22	3.23	-0.01	4.56	-0.34	-0.62	-0.49	a		3.23	3.23	
15	3.24	3.23	0.01	4.57	0.34	-0.59	-0.47	a		3.24	3.24	
16	3.40	3.54	-0.10	4.91	-4.72	0.14	0.16	ww		3.47		
17	3.19	3.17	0.01	4.50	0.67	-0.76	-0.61	a	3.18	3.18		
No of results	16	16	16	16	"a" = satisfactory result; z-score ≤ 2					No of results	16	13
Median	3.42	3.41	0.00	4.84	"w" or "b" = questionable result; 2 < z-score < 3					Mean	3.39	3.44
Q1	3.21	3.22	-0.01	4.54	"ww" or "bb" = unsatisfactory result; z-score ≥ 3					SD	0.39	0.38
Q3	3.67	3.63	0.01	5.16	(w = within lab, b = between lab)					%CV	11.50	10.91
IQR (Q3-Q1)	0.46	0.42	0.03	0.62	Final consensus value for moisture in whole wheat cracker							
Normalised IQR	0.34	0.31	0.02	0.46	calculated from laboratories with accepted values							
Robust CV	9.88	9.09			= 3.44 ± 0.38 g/100g (mean±SD), with N = 13, %CV = 10.9							

⁽¹⁾ based on median $\pm$ NIQR; ⁽²⁾ based on assigned value estimated according to ISO 13528

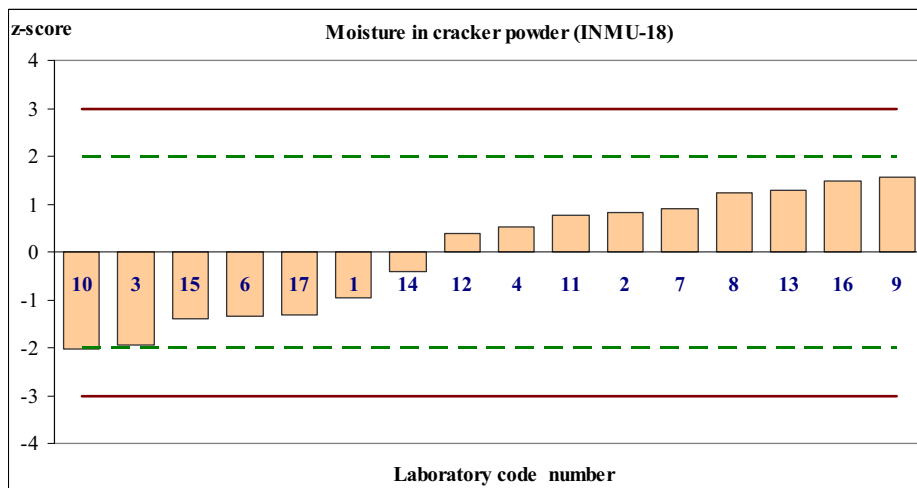
ตารางที่ 16B ผลการประเมินความสามารถในการวิเคราะห์ความชื้นในตัวอย่าง cracker powder (INMU-18)

ค่า Assigned value (robust mean $\pm$ robust SD) = 2.32 ± 0.35 กรัม/100 กรัม (%CV = 14.9, N = 16)

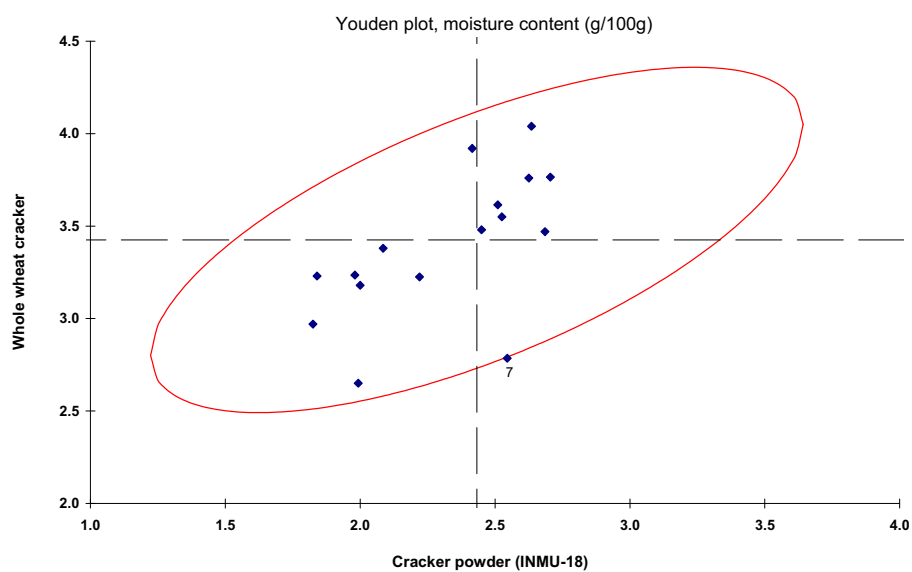
Lab code		Result		D_i	S_i	z- score ⁽¹⁾		z-score ⁽²⁾		z-score ⁽³⁾	Conclusion code
No.	A	B	$(A - B) / \sqrt{2}$		$(A + B) / \sqrt{2}$		Within	Between ⁽¹⁾	Between	Between	based on (3)
1	2.08	2.09	-0.01	2.95	-0.17	-0.83	-0.68	-0.96	-0.96		a
2	2.56	2.49	0.05	3.57	1.22	0.22	0.59	0.83	0.83		a
3	1.82	1.86	-0.03	2.60	-0.70	-1.41	-1.39	-1.96	-1.96		a
4	2.45	2.45	0.00	3.46	0.00	0.04	0.37	0.53	0.53		a
6	1.98	2.01	-0.02	2.82	-0.52	-1.04	-0.94	-1.33	-1.33		a
7	2.64	2.45	0.13	3.60	3.31	0.27	0.65	0.92	0.92		ww
8	2.62	2.63	-0.01	3.71	-0.17	0.46	0.88	1.24	1.24		a
9	2.75	2.66	0.06	3.83	1.57	0.65	1.11	1.57	1.57		a
10	1.82	1.83	-0.01	2.58	-0.17	-1.45	-1.43	-2.02	-2.02		b
11	2.54	2.48	0.04	3.55	1.04	0.18	0.55	0.77	0.77		a
12	2.43	2.40	0.02	3.42	0.52	-0.04	0.27	0.39	0.39		a
13	2.58	2.69	-0.08	3.73	-1.91	0.48	0.91	1.28	1.28		a
14	2.18	2.26	-0.06	3.14	-1.39	-0.51	-0.29	-0.41	-0.41		a
15	1.99	1.97	0.01	2.80	0.35	-1.08	-0.98	-1.39	-1.39		a
16	2.73	2.64	0.06	3.80	1.57	0.60	1.05	1.49	1.49		a
17	2.00	2.00	0.00	2.83	0.00	-1.03	-0.92	-1.31	-1.31		a
No of results		16	16	16	"a" = satisfactory result; z-score ≤ 2						
Median		2.44	2.43	0.00	3.44	"w" or "b" = questionable result; $2 < z\text{-score} < 3$					
Q1		2.00	2.01	-0.01	2.83	"ww" or "bb" = unsatisfactory result; z-score ≥ 3					
Q3		2.59	2.53	0.04	3.63	(w = within lab, b = between lab)					
IQR (Q3-Q1)		0.59	0.52	0.05	0.80	Final consensus value for moisture in INMU-18					
Normalised IQR		0.44	0.38	0.04	0.59	calculated from laboratories with accepted values					
Robust CV		18.00	15.82			= 2.33 ± 0.30 g/100g (mean+SD), with N = 14, %CV = 13.0					



รูปที่ 13A z-scores ของความชื้นในตัวอย่าง whole wheat cracker



รูปที่ 13B z-scores ของความชื้นในตัวอย่าง cracker powder (INMU-18)



รูปที่ 13C Youden plot ของการวิเคราะห์ความชื้น (จากตารางที่ 15A และ 15B)

3.5.13 เถ้า (Ash)

ผลการประเมินความสามารถห้องปฏิบัติการของเถ้าในตัวอย่าง whole wheat cracker และ cracker powder (INMU-18) จาก 16 ห้องปฏิบัติการ แสดงในตารางที่ 17A และ 17B และแสดงเป็นกราฟแท่งในรูปที่ 14A และ 14B ตามลำดับ วิธีวิเคราะห์ของแต่ละห้องปฏิบัติการแสดงอยู่ในเอกสารแนบท้ายหมายเลข 2K

สำหรับตัวอย่าง whole wheat cracker มีค่าของเถ้าตั้งแต่ 1.02 กรัมต่อ 100 กรัม (ห้องปฏิบัติการหมายเลข 15) ถึง 1.76 กรัมต่อ 100 กรัม (ห้องปฏิบัติการหมายเลข 17) ผลประเมินความสามารถการวิเคราะห์ภายในห้องปฏิบัติการพบว่าห้องปฏิบัติการหมายเลข 1 รายงานผลไม่เป็นที่น่าพอใจ ($z\text{-score}_{\text{within}} = 4.05$) และห้องปฏิบัติการหมายเลข 8 ที่บ่งชี้ว่าผลเป็นที่ต้องสงสัย ($z\text{-score}_{\text{within}} = -2.02$) ส่วนผลการประเมินความสามารถการวิเคราะห์ระหว่างห้องปฏิบัติการ (between-laboratory performance) พบว่าห้องปฏิบัติการหมายเลข 15 ที่รายงานผลไม่เป็นที่น่าพอใจ ($z\text{-score}_{\text{between}} = -8.83$) และห้องปฏิบัติการหมายเลข 1 และ 6 ที่รายงานผลเป็นที่ต้องสงสัย ($z\text{-score}_{\text{between}} = -2.08$ และ -2.01 ตามลำดับ)

สำหรับตัวอย่าง cracker powder (INMU-18) มีค่าของเถ้าตั้งแต่ 0.92 กรัมต่อ 100 กรัม (ห้องปฏิบัติการหมายเลข 15) ถึง 1.72 กรัมต่อ 100 กรัม (ห้องปฏิบัติการหมายเลข 17) ผลประเมินความสามารถการวิเคราะห์ภายในห้องปฏิบัติการ (within-laboratory performance) พบว่ามีห้องปฏิบัติการหมายเลข 12 รายงานค่าบ่งชี้ว่าผลไม่เป็นที่น่าพอใจ ($z\text{-score}_{\text{within}} = 3.00$) และห้องปฏิบัติการหมายเลข 13 รายงานค่าบ่งชี้ว่าผลเป็นที่ต้องสงสัย ($z\text{-score}_{\text{within}} = 2.40$) ส่วนผลการประเมินความสามารถการวิเคราะห์ระหว่างห้องปฏิบัติการ (between-laboratory performance) พบว่าห้องปฏิบัติการหมายเลข 6 และ 15 รายงานผลที่บ่งชี้ว่าไม่เป็นที่น่าพอใจ ($z\text{-score}_{\text{between}} = -4.39$ และ -11.20 ตามลำดับ)

กราฟ Youden plot (6) ที่แสดงความสัมพันธ์ของการวิเคราะห์เถ้าทั้งสองตัวอย่างทดสอบแสดงในรูปที่ 14C พบว่าห้องปฏิบัติการหมายเลข 6 และ 15 อยู่นอกวงรีที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ด้านซ้ายล่าง ซึ่งแสดงถึงการเกิด systematic error ขึ้นในการวิเคราะห์เถ้าในด้านที่ผลการวิเคราะห์ต่ำกว่าห้องปฏิบัติการอื่น ส่วนห้องปฏิบัติการหมายเลข 1 พบอยู่นอกวงรีที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ด้านซ้ายบน ซึ่งแสดงถึงการเกิด random error ขึ้นในการวิเคราะห์เถ้าเช่นกัน ดังนั้นห้องปฏิบัติการควรหาทางแก้ไขที่เหมาะสมต่อไป

โดยสรุปค่า consensus value ของเถ้าที่ได้จากผลวิเคราะห์ของห้องปฏิบัติการที่มี good performance (within- and between-laboratory $z\text{-score} \leq 2$) ในตัวอย่าง whole wheat cracker และ cracker powder (INMU-18) แสดงในรูปของ mean $\pm$ SD คือ 1.66 ± 0.05 (N = 12) และ 1.62 ± 0.06 (N = 12) กรัม/100 กรัม ตามลำดับ ซึ่งมี %CV = 3.0 และ 3.7 ตามลำดับ (ตารางที่ 18)

ตารางที่ 17A ผลการประเมินความสามารรถในการวิเคราะห์ค่าในตัวอย่าง whole wheat cracker

ค่า Assigned value (robust mean $\pm$ robust SD) = 1.64 ± 0.07 กรัม/100 กรัม (%CV = 4.3, N = 16)

Lab code No.	Result		D_i $(B - A) / \sqrt{2}$	S_i $(A + B) / \sqrt{2}$	z-score ⁽¹⁾		z-score ⁽²⁾ Between	Conclusion code based on (2)
	A	B			Within	Between ⁽¹⁾		
1	1.46	1.52	0.04	2.11	4.05	-2.57	-2.08	wwb
2	1.68	1.68	0.00	2.38	0.00	0.69	0.64	a
3	1.63	1.62	-0.01	2.30	-0.67	-0.26	-0.15	a
4	1.64	1.64	0.00	2.32	0.00	0.00	0.07	a
6	1.49	1.50	0.01	2.11	0.67	-2.48	-2.01	b
7	1.70	1.71	0.01	2.41	0.67	1.11	1.00	a
8	1.61	1.58	-0.02	2.26	-2.02	-0.77	-0.58	w
9	1.62	1.61	-0.01	2.28	-0.67	-0.43	-0.29	a
10	1.67	1.67	0.00	2.36	0.00	0.51	0.50	a
11	1.60	1.58	-0.01	2.25	-1.35	-0.86	-0.65	a
12	1.63	1.65	0.01	2.32	1.35	0.00	0.07	a
13	1.75	1.75	0.00	2.47	0.00	1.88	1.64	a
14	1.66	1.65	-0.01	2.34	-0.67	0.26	0.28	a
15	1.02	1.02	0.00	1.44	0.00	-10.62	-8.83	bb
16	1.64	1.65	0.01	2.33	0.67	0.09	0.14	a
17	1.76	1.74	-0.01	2.47	-1.35	1.88	1.64	a
No of results	16	16	16	16	"a" = satisfactory result; z-score ≤ 2			
Median	1.64	1.65	0.00	2.32	"w" or "b" = questionable result; $2 < z\text{-score} < 3$			
Q1	1.61	1.58	-0.01	2.25	"ww" or "bb" = unsatisfactory result; z-score ≥ 3			
Q3	1.67	1.67	0.01	2.37	(w = within lab, b = between lab)			
IQR (Q3-Q1)	0.06	0.09	0.01	0.11	Final consensus value for ash in whole wheat cracker			
Normalised IQR	0.05	0.07	0.01	0.08	calculated from laboratories with accepted values			
Robust CV	2.95	4.17			= 1.66 ± 0.05 g/100g (mean $\pm$ SD), with N = 12, %CV = 3.0			

⁽¹⁾ based on median $\pm$ NIQR; ⁽²⁾ based on assigned value estimated according to ISO 13528

No of results	16
Mean	1.60
SD	0.17
%CV	10.67
	3.02

ตารางที่ 17B ผลการประเมินความสม่ำเสมอในการวิเคราะห์ค่าในตัวอย่าง cracker powder (INMU-18)

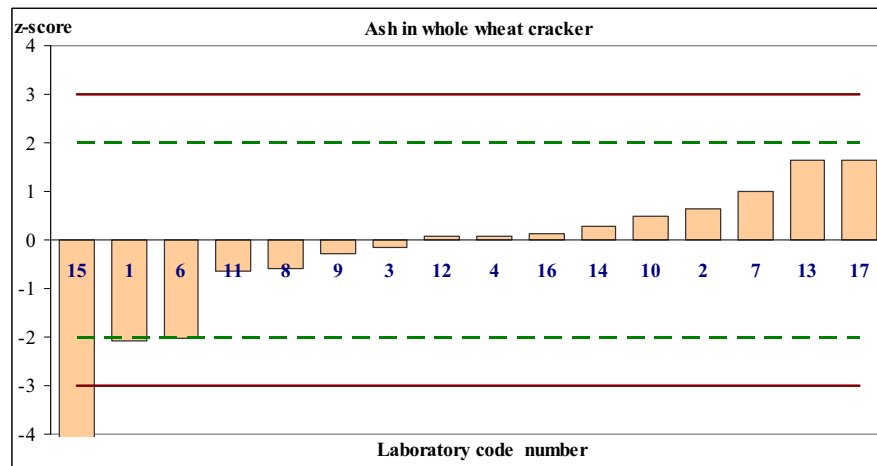
ค่า Assigned value (robust mean $\pm$ robust SD) = 1.61 ± 0.06 กรัม/100 กรัม (%CV = 3.8, N = 16)

Lab code No.	Result		D_i $(A - B) / \sqrt{2}$	S_i $(A + B) / \sqrt{2}$	z- score ⁽¹⁾		z-score ⁽²⁾ Between	Conclusion code based on (2)
	A	B			Within	Between ⁽¹⁾		
1	1.47	1.50	-0.02	2.10	-1.80	-2.24	-1.99	a
2	1.64	1.65	-0.01	2.33	-0.60	0.69	0.67	a
3	1.60	1.59	0.01	2.26	0.60	-0.23	-0.16	a
4	1.63	1.64	-0.01	2.31	-0.60	0.50	0.51	a
6	1.33	1.35	-0.01	1.90	-1.20	-4.89	-4.39	bb
7	1.67	1.67	0.00	2.36	0.00	1.14	1.09	a
8	1.57	1.55	0.01	2.21	1.20	-0.87	-0.74	a
9	1.61	1.61	0.00	2.28	0.00	0.05	0.09	a
10	1.67	1.66	0.01	2.35	0.60	1.05	1.00	a
11	1.57	1.58	-0.01	2.23	-0.60	-0.59	-0.49	a
12	1.64	1.59	0.04	2.28	3.00	0.14	0.17	ww
13	1.61	1.57	0.03	2.25	2.40	-0.32	-0.24	w
14	1.61	1.60	0.01	2.27	0.60	-0.05	0.01	a
15	0.92	0.94	-0.01	1.32	-1.20	-12.39	-11.20	bb
16	1.65	1.64	0.01	2.33	0.60	0.69	0.67	a
17	1.70	1.72	-0.01	2.42	-1.20	1.87	1.75	a
No of results	16	16	16	16	"a" = satisfactory result; z-score ≤ 2			
Median	1.61	1.60	0.00	2.27	"w" or "b" = questionable result; $2 < \text{z-score} < 3$			
Q1	1.57	1.57	-0.01	2.22	"ww" or "bb" = unsatisfactory result; z-score ≥ 3			
Q3	1.64	1.64	0.01	2.33	(w = within lab, b = between lab)			
IQR (Q3-Q1)	0.07	0.08	0.02	0.10	Final consensus value for ash in INMU-18			
Normalised IQR	0.05	0.06	0.01	0.08	calculated from laboratories with accepted values			
Robust CV	3.34	3.60			= 1.62 ± 0.06 g/100g (mean $\pm$ SD), with N = 12, %CV = 3.7			

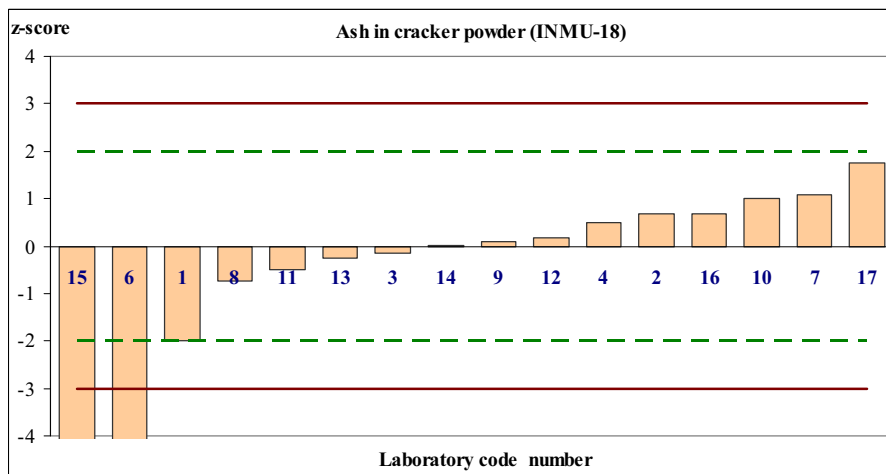
⁽¹⁾ based on median $\pm$ NIQR;

⁽²⁾ based on assigned value estimated according to ISO 13528

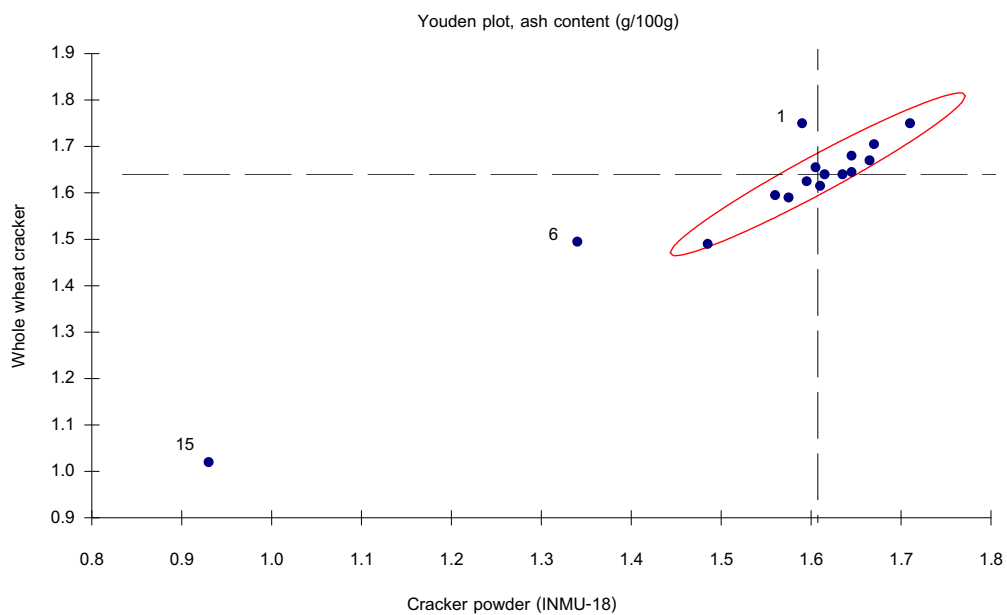
No of results	16
Mean	1.55
SD	0.19
%CV	12.05
	3.67



รูปที่ 14A z-scores ของเถ้าในตัวอย่าง whole wheat cracker



รูปที่ 14B z-scores ของเถ้าในตัวอย่าง cracker powder (INMU-18)



รูปที่ 14C Youden plot ของการวิเคราะห์เถ้า (จากตารางที่ 16A และ 16B)

3.5.14 สรุปผลการประเมินความสามารถห้องปฏิบัติการ

A) สรุปจาก z-scores ของตัวอย่าง whole wheat cracker

การประเมินความสามารถห้องปฏิบัติการของสารอาหารบังคับ เพื่อจัดทำฉลากโภชนาการตามประกาศกระทรวงฉบับที่ 305 (2550) ด้วยการใช้ whole wheat cracker เป็นตัวอย่างทดสอบ ใช้เกณฑ์ robust z-scores ในการประเมิน แสดงผลรวมเป็นกราฟแท่งในรูปที่ 15 ซึ่งพบว่ามี 8 ห้องปฏิบัติการ (หมายเลข 2, 7, 8, 10, 13, 14, 16 และ 17) ที่ผ่านเกณฑ์การประเมิน ($|z\text{-score}_{\text{between}}| \leq 2$) ในทุกสารอาหารบังคับ (ไขมัน โปรตีน โซเดียม ความชื้น และเถ้า ยกเว้นน้ำตาล ที่ไม่ได้ทำการประเมิน) มี 3 ห้องปฏิบัติการ (หมายเลข 3, 4 และ 9) ที่มี 1 สารอาหารที่ผลอยู่ในช่วงที่สงสัย ($2 < |z\text{-score}_{\text{between}}| < 3$) ได้แก่สารอาหารที่ต้องสงสัยของห้องปฏิบัติการหมายเลข 3 และ 9 คือโปรตีน และของห้องปฏิบัติการหมายเลข 4 คือโซเดียม พบว่ามี 2 ห้องปฏิบัติการ (หมายเลข 1 และ 15) ที่มีทั้งผลแบบไม่เป็นที่น่าพอใจ และผลเป็นที่ต้องสงสัย ห้องปฏิบัติการหมายเลข 1 โปรตีนได้รับผลไม่เป็นที่น่าพอใจ ในขณะที่เถ้าได้รับผลเป็นที่ต้องสงสัย ส่วนห้องปฏิบัติการหมายเลข 15 ไขมันได้รับผลไม่เป็นที่น่าพอใจ ในขณะที่โปรตีนได้รับผลเป็นที่ต้องสงสัย และพบว่ามี 2 ห้องปฏิบัติการ (หมายเลข 11 และ 12) ที่ได้รับผลการประเมินของการวิเคราะห์โปรตีนแบบไม่เป็นที่น่าพอใจ นอกจากนั้นยังเห็นได้ว่าห้องปฏิบัติการหมายเลข 6 มี 3 สารอาหาร (โซเดียม ความชื้น และเถ้า) ที่ได้รับผลการประเมินแบบเป็นที่ต้องสงสัย

B) สรุปจาก z-scores ของตัวอย่าง cracker powder (INMU-18)

การประเมินความสามารถห้องปฏิบัติการของสารอาหารบังคับ เพื่อจัดทำฉลากโภชนาการตามประกาศกระทรวงฉบับที่ 182 (2542) ด้วยการใช้ cracker powder (INMU-18) เป็นตัวอย่างทดสอบ ใช้เกณฑ์ robust z-scores ในการประเมิน แสดงผลรวมเป็นกราฟแท่งในรูปที่ 16 ซึ่งพบว่ามีเพียง 3 ห้องปฏิบัติการ (หมายเลข 1, 3 และ 13) จากทั้งหมด 16 ห้องปฏิบัติการที่ผ่านเกณฑ์การประเมิน ($|z\text{-score}_{\text{between}}| \leq 2$) ในทุกสารอาหารบังคับ (ไขมัน กรดไขมันอิ่มตัว โปรตีน โยอาหาร โซเดียม แคลเซียม เหล็ก ความชื้น และเถ้า ยกเว้นกรดไขมันชนิดทรานส์ น้ำตาล วิตามินบี 1 และวิตามินบี 2 ที่ไม่ได้ทำการประเมิน) มี 3 ห้องปฏิบัติการ (หมายเลข 2, 7 และ 8) ที่มี 1 สารอาหารที่ผลอยู่ในช่วงที่สงสัย ($2 < |z\text{-score}_{\text{between}}| < 3$) ได้แก่สารอาหารที่ต้องสงสัยของห้องปฏิบัติการหมายเลข 2 และ 7 คือไขมัน และของห้องปฏิบัติการหมายเลข 8 คือเหล็ก พบว่ามี 3 ห้องปฏิบัติการ (หมายเลข 4, 9 และ 12) ที่มีทั้งผลแบบไม่เป็นที่น่าพอใจ และผลเป็นที่ต้องสงสัย ห้องปฏิบัติการหมายเลข 4 แคลเซียมได้รับผลไม่เป็นที่น่าพอใจ ในขณะที่เหล็กได้รับผลเป็นที่ต้องสงสัย ห้องปฏิบัติการหมายเลข 9 ตรงข้ามกับหมายเลข 4 คือเหล็กได้รับผลไม่เป็นที่น่าพอใจ ในขณะที่แคลเซียมได้รับผลเป็นที่ต้องสงสัย ส่วนห้องปฏิบัติการหมายเลข 12 พบว่าโปรตีนได้รับผลไม่เป็นที่น่าพอใจ ในขณะที่โยอาหารได้รับผล

เป็นที่ต้องสงสัย มี 4 ห้องปฏิบัติการ (หมายเลข 6, 14, 16 และ 17) ที่มี 1 สารอาหารที่มีผลแบบไม่เป็นที่น่าพอใจ โดยห้องปฏิบัติการหมายเลข 6 ในถั่ว ห้องปฏิบัติการหมายเลข 14 ในเหล็ก หมายเลข 16 ในกรดไขมันอิ่มตัว และหมายเลข 17 ในแคลเซียม นอกจากนั้นเห็นได้อย่างชัดเจนว่าห้องปฏิบัติการหมายเลข 15 มี 4 สารอาหาร (ไขมัน กรดไขมันอิ่มตัว แคลเซียม และถั่ว) ที่ได้รับผลไม่เป็นที่น่าพอใจ

เนื่องจากตัวอย่าง INMU-18 เตรียมโดยผู้จัด ความแปรปรวนที่เกิดขึ้นจากตัวอย่างนับว่าน้อยมาก เนื่องจากตัวอย่างได้ผ่านเกณฑ์การทดสอบความเป็นเนื้อเดียวกันแล้ว ดังนั้นความสามารถของห้องปฏิบัติการในการทดสอบสารอาหารต่างๆ จึงสามารถบอกถึงสถานะของการทดสอบสารอาหารของห้องปฏิบัติการต่างๆ ได้ดีกว่าการใช้ตัวอย่าง whole wheat cracker เป็นตัวอย่างทดสอบ

3.5.15 Consensus values ในตัวอย่าง whole wheat cracker และ cracker powder (INMU-18)

หลังจากประเมินผลความสามารถห้องปฏิบัติการในตัวอย่าง cracker powder (INMU-18) แล้ว ทำให้สามารถคำนวณค่า consensus values ของสารอาหารบังคับในฉลากโภชนาการ (ยกเว้นกรดไขมันชนิดทรานส์ น้ำตาล และวิตามินบี 2) ตามประกาศกระทรวงฉบับที่ 182 (2542) ได้จากผลของห้องปฏิบัติการที่มีผลการประเมินที่ดี (within- and between-laboratory variations, indicated as "a") ค่า $\text{mean} \pm \text{SD}$ ที่ได้แสดงในตารางที่ 18 ดังนั้น cracker powder ที่มีค่า consensus values จึงจัดเป็นสารอ้างอิง (reference material) ที่ใช้ในการศึกษาความสามารถห้องปฏิบัติการต่อไป หรือใช้เป็นตัวอย่างควบคุมคุณภาพภายในห้องปฏิบัติการ หรือใช้เป็นตัวอย่างในการทำ method validation แต่เนื่องจากตัวอย่างทดสอบนี้มีปริมาณไขมันสูง ผู้จัดจึงไม่มีการเก็บตัวอย่างไว้ดังเช่นเดียวกับการศึกษาที่ผ่านมา

สำหรับตัวอย่าง whole wheat cracker ถึงแม้ว่าสามารถคำนวณค่า consensus values ของสารอาหารบังคับในฉลากโภชนาการตามประกาศกระทรวงฉบับที่ 305 (2550) ได้ด้วยวิธีเดียวกันกับ INMU-18 แต่ค่า consensus values ในรูปของ $\text{mean} \pm \text{SD}$ แสดงเป็นข้อมูลเท่านั้น เนื่องจากตัวอย่าง whole wheat cracker นั้นเตรียมจากห้องปฏิบัติการต่างๆ ที่แตกต่างกัน โดยที่ไม่ได้มีการศึกษาความเป็นเนื้อเดียวกัน

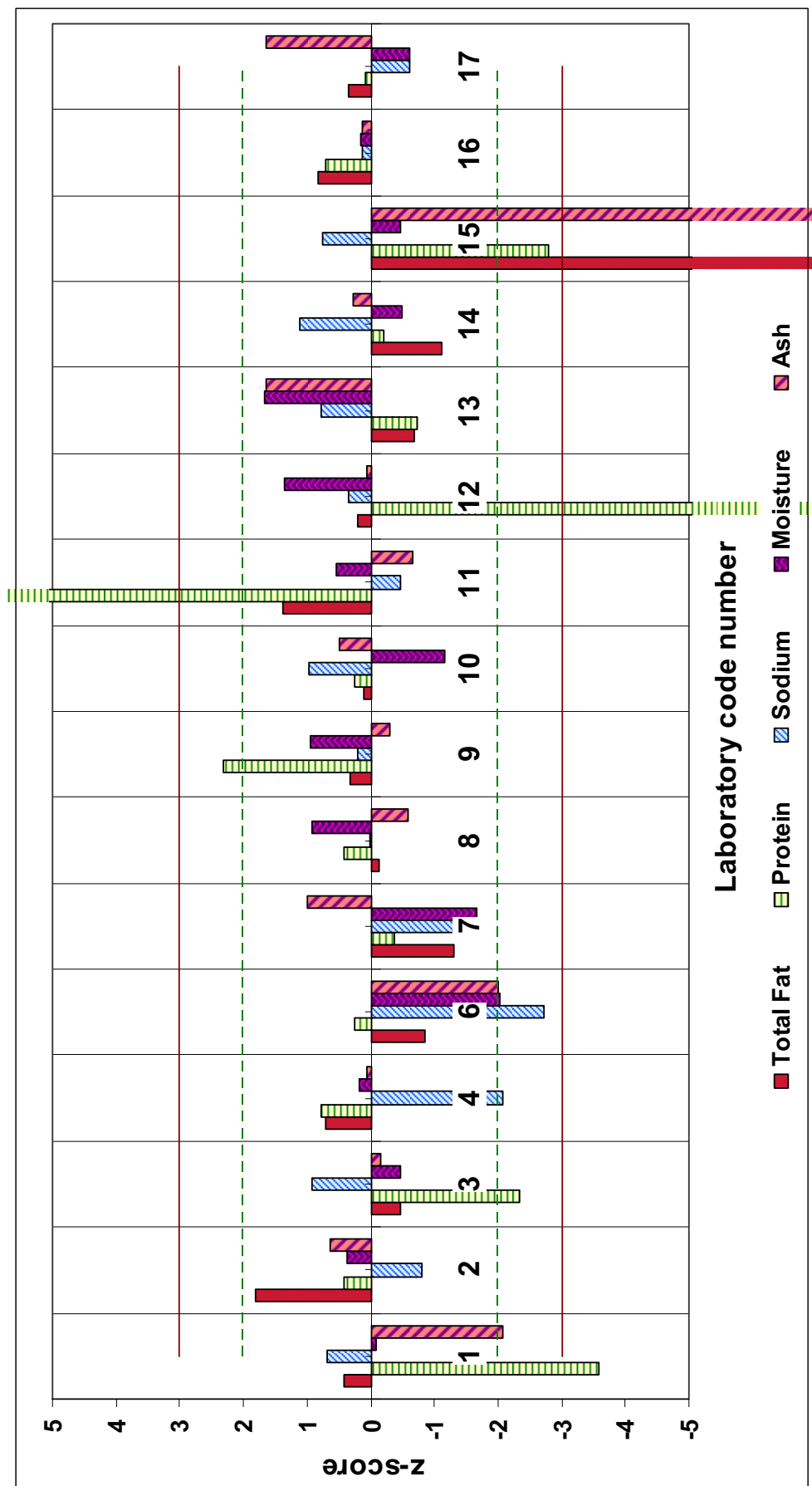


Figure 15 กราฟแท่งของการประเมินความสามารถห้องปฏิบัติการของสารอาหารบ่งชี้ตามประกาศกระทรวงฉบับที่ 305 (2550) โดยใช้ตัวอย่าง whole wheat cracker เป็นตัวอย่างทดสอบ

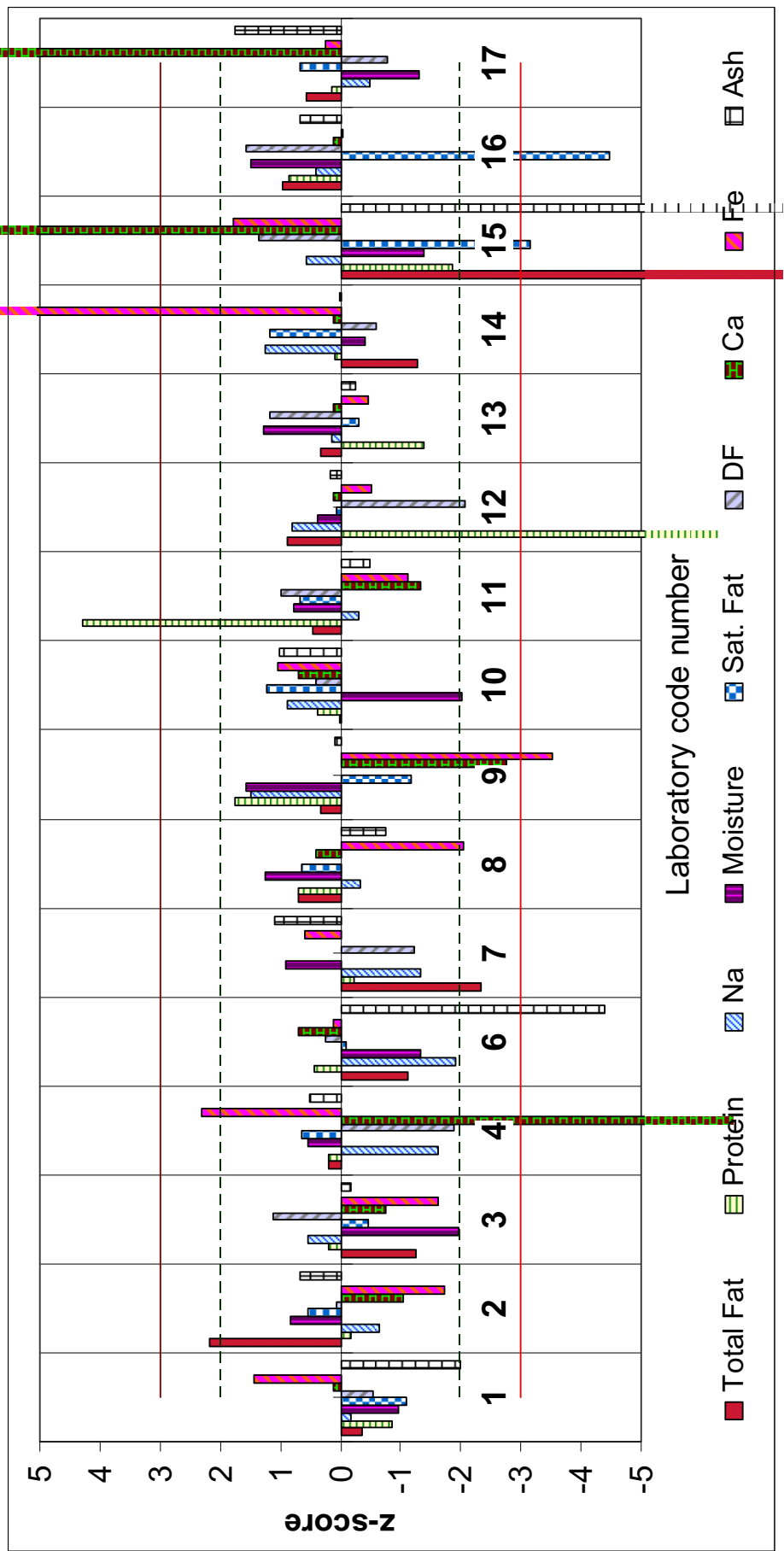


Figure 16 กราฟแท่งของการประเมินความสามารถห้องปฏิบัติการของสารอาหารบังคับตามประกาศกระทรวงฉบับที่ 182 (2542) โดยใช้ตัวอย่าง cracker powder (INMU-18) เป็นตัวอย่างทดสอบ

ตารางที่ 18 ค่า consensus values ของสารอาหารต่างๆ ในตัวอย่าง whole wheat cracker และ cracker powder (INMU-18) ที่ได้มาจากห้องปฏิบัติการที่ผ่านเกณฑ์การประเมิน

สารอาหาร	หน่วย (ต่อ 100 กรัม)	Consensus values (Mean $\pm$ SD)	
		Cracker powder (INMU-18)	Whole wheat cracker (for information only)
Total Fat	g	28.32 $\pm$ 0.58 N=11, %CV=2.1	27.68 $\pm$ 0.81 N=15 ⁽¹⁾ , %CV ⁽²⁾ =2.9
Saturated Fat	g	20.13 $\pm$ 1.13 N=12, %CV=5.6	NA ⁽³⁾
Trans fat	g	<i>Not available due to too low concentration</i>	NA
Protein (N x 6.25)	g	8.32 $\pm$ 0.09 N=13, %CV=1.1	8.38 $\pm$ 0.03 N=9, %CV=0.3
Dietary Fibre	g	3.33 $\pm$ 0.35 N=11, %CV=10.4	NA
Sugars	g	<i>Not available due to too low concentration</i>	<i>Not available due to too low concentration</i>
Sodium	mg	474.5 $\pm$ 24.5 N=10, %CV=5.2	485.3 $\pm$ 19.6 N=11, %CV=4.0
Calcium	mg	18.7 $\pm$ 1.2 N=11, %CV=6.2	NA
Iron	mg	1.22 $\pm$ 0.16 N=11, %CV=12.9	NA
Vitamin B ₁	mg	0.07 $\pm$ 0.01 N=8, %CV=11.6	NA
Vitamin B ₂	mg	<i>Not available due to too low concentration</i>	NA
Moisture	g	2.33 $\pm$ 0.30 N=14, %CV=13.0	3.44 $\pm$ 0.38 N=13, %CV=10.9
Ash	g	1.62 $\pm$ 0.06 N=12, %CV=3.7	1.66 $\pm$ 0.05 N=12, %CV=3.0

⁽¹⁾ N = Number of laboratories, identified as "satisfactory performance"

⁽²⁾ CV = Coefficient Variation

⁽³⁾ NA = Not analysed

3.6 การประเมินความสามารถในการจัดทำฉลากโภชนาการ

การประเมินความสามารถในการจัดทำฉลากโภชนาการ ให้เป็นไปตามประกาศกระทรวงฉบับที่ 305 (2550) ด้วยการใช้อัตราอย่าง whole wheat cracker เป็นตัวอย่างทดสอบ และประกาศกระทรวงฉบับที่ 182 (2542) ด้วยการใช้อัตราอย่าง cracker powder (INMU-18) เป็นตัวอย่างทดสอบ เมื่อการวิเคราะห์สารอาหารในตัวอย่างทดสอบเสร็จแล้ว ห้องปฏิบัติการจะนำผลการวิเคราะห์ที่ได้มาจัดทำฉลากโภชนาการ ซึ่งผู้จัดกิจกรรมทดสอบความชำนาญได้ทำการประเมินความชำนาญในการจัดทำฉลากโภชนาการในหัวข้อต่างๆ ต่อไปนี้คือ รูปแบบฉลาก การกำหนดหนึ่งหน่วยบริโภค การกำหนดจำนวนหน่วยบริโภคต่อภาชนะบรรจุ การคำนวณและการแสดงคุณค่าทางโภชนาการต่อหนึ่งหน่วยบริโภค ห้องปฏิบัติการทั้ง 16 ห้องปฏิบัติการได้จัดทำฉลากโภชนาการตามที่ได้ผู้จัดได้กำหนดไว้ โดยผลการประเมินความชำนาญแสดงในตารางที่ 19 มีรายละเอียดดังต่อไปนี้

3.6.1 รูปแบบฉลากโภชนาการ

พบว่า มีเพียง 6 ห้องปฏิบัติการจาก 16 ห้องปฏิบัติการเท่านั้น (ห้องปฏิบัติการหมายเลข 3, 6, 10, 11, 13 และ 14) ที่สามารถจัดทำรูปแบบฉลากโภชนาการทั้งแบบเต็ม และแบบย่อได้ถูกต้องตามข้อกำหนดของประกาศกระทรวงสาธารณสุข โดยส่วนที่ห้องปฏิบัติการจัดทำรูปแบบที่ไม่เป็นไปตามข้อกำหนดของประกาศนั้นได้แก่ ขนาดของเส้นกรอบและเส้นคั่นส่วนต่างๆ ภายในกรอบข้อมูล ซึ่งขนาดของเส้นกรอบต้องหนากว่าเส้นคั่น ห้องปฏิบัติการที่จัดทำไม่เป็นไปตามข้อกำหนดของประกาศฯ ได้แก่ ห้องปฏิบัติการหมายเลข 4, 8 (เฉพาะแบบเต็ม), 9, 12 และ 16 ขณะที่ห้องปฏิบัติการหมายเลข 15 จัดทำเส้นคั่นหนากว่าเส้นกรอบ และห้องปฏิบัติการหมายเลข 16 จัดทำเส้นคั่นไม่ครบตามข้อกำหนดของประกาศฯ นั่นคือไม่มีเส้นคั่นระหว่างร้อยละของปริมาณที่แนะนำต่อวันของวิตามินและเกลือแร่ กับข้อแนะนำสารอาหารที่ควรได้รับสำหรับผู้ที่ต้องการพลังงาน 2,000 กิโลแคลอรีต่อวัน

ขนาดความหนาของตัวอักษรพบว่า 2 ห้องปฏิบัติการ จัดทำขนาดความหนาของตัวอักษรไม่เป็นไปตามข้อกำหนดของประกาศฯ ทั้ง 2 รูปแบบได้แก่หัวข้อ “พลังงานทั้งหมด” (ห้องปฏิบัติการหมายเลข 2 และ 9) และหัวข้อ “คุณค่าทางโภชนาการต่อหนึ่งหน่วยบริโภค” (ห้องปฏิบัติการหมายเลข 9)

โดยฉลากแบบย่อบางห้องปฏิบัติการหมายเลข 1 จัดทำขนาดความหนาของตัวอักษรของหัวข้อ “ร้อยละของปริมาณที่แนะนำต่อวัน” ไม่เป็นไปตามข้อกำหนดของประกาศฯ และห้องปฏิบัติการ

หมายเลข 7 จัดทำขนาดความหนาของตัวอักษรของหัวข้อ “พลังงานทั้งหมด ไขมันทั้งหมด คาร์โบไฮเดรตทั้งหมด และ โซเดียม” ไม่เป็นไปตามข้อกำหนดของประกาศฯ

สำหรับฉลากแบบเต็มมีห้องปฏิบัติการหมายเลข 1 จัดทำขนาดความหนาของตัวอักษรของหัวข้อ “หนึ่งหน่วยบริโภค” ไม่เป็นไปตามข้อกำหนดของประกาศฯ ในขณะที่ห้องปฏิบัติการหมายเลข 17 จัดทำขนาดตัวอักษรของหัวข้อ “พลังงานทั้งหมด” ไม่เป็นไปตามข้อกำหนดของประกาศฯ

3.6.2 การกำหนดหนึ่งหน่วยบริโภค และจำนวนหน่วยบริโภคต่อภาชนะบรรจุ

ตัวอย่างที่ใช้ในการศึกษาในครั้งนี้ ผู้จัดกำหนดให้ตัวอย่าง whole wheat cracker บรรจุในซองขนาดเล็ก ซองละ 30 กรัม แล้วบรรจุลงในกล่องจำนวน 6 ซอง มีปริมาณสุทธิ 180 กรัม พบว่าห้องปฏิบัติการทั้ง 16 ห้องปฏิบัติการ สามารถกำหนดหนึ่งหน่วยบริโภคและจำนวนหน่วยบริโภคต่อภาชนะบรรจุได้อย่างถูกต้อง เป็นไปตามข้อกำหนดของประกาศฯ นั่นคือ หนึ่งหน่วยบริโภค: 1 ซอง (30 กรัม) และจำนวนหน่วยบริโภคต่อกล่อง: 6

3.6.3 การคำนวณและการแสดงคุณค่าทางโภชนาการต่อหนึ่งหน่วยบริโภค

1) พลังงานทั้งหมดและพลังงานจากไขมัน

การคำนวณพลังงานทั้งหมดและพลังงานจากไขมัน ที่จัดทำโดยห้องปฏิบัติการสามารถแบ่งการคำนวณออกเป็น 3 แบบคือ 1) คำนวณจากการเทียบบัญญัติไตรยางค์จากพลังงานทั้งหมดและพลังงานจากไขมันที่ได้ต่อ 100 กรัม (ห้องปฏิบัติการหมายเลข 1, 2, 3 (เฉพาะแบบย่อ), 4, 7, 8, 9, 10, 12, 13, 14, 15, 16 และ 17 (เฉพาะแบบเต็ม)) 2) คำนวณจากการคำนวณปริมาณไขมันทั้งหมด โปรตีน และคาร์โบไฮเดรตทั้งหมดที่ได้ก่อนการปัดเลข คูณกับ factor ของสารอาหารดังกล่าวต่อ 1 กรัม (9, 4 และ 4 กิโลแคลอรี ตามลำดับ) (ห้องปฏิบัติการหมายเลข 11) และ 3) คำนวณจากการคำนวณปริมาณไขมันทั้งหมด โปรตีน และคาร์โบไฮเดรตทั้งหมดที่ปัดเลขแล้ว คูณกับ factor ของสารอาหารดังกล่าวต่อ 1 กรัม (9, 4 และ 4 กิโลแคลอรี ตามลำดับ) (ห้องปฏิบัติการหมายเลข 3 (เฉพาะแบบเต็ม), 6 และ 17 (เฉพาะแบบย่อ)) ซึ่งวิธีที่ 3 เป็นวิธีที่แนะนำให้ปฏิบัติ เนื่องจากปริมาณของไขมันทั้งหมด โปรตีน และคาร์โบไฮเดรตทั้งหมดนี้เป็นค่าที่ใช้แสดงบนฉลาก ซึ่งผู้บริโภคสามารถตรวจสอบข้อมูลด้วยการคำนวณด้วยตัวเอง

2) สารอาหารต่อหนึ่งหน่วยบริโภค

ห้องปฏิบัติการจำนวน 13 จาก 16 ห้องปฏิบัติการสามารถคำนวณและแสดงปริมาณสารอาหารต่อหนึ่งหน่วยบริโภคได้อย่างถูกต้องตามข้อกำหนดของประกาศกระทรวงสาธารณสุขทั้ง 2 ฉบับ ส่วนที่คำนวณและแสดงไม่ถูกต้องได้แก่ การแสดงปริมาณไขมันทรานส์ (ห้องปฏิบัติการหมายเลข 14) นั่นคือไม่ได้วิเคราะห์แต่แสดงชื่อบนฉลาก ซึ่งถ้าต้องการแสดงชื่อบนฉลาก ต้องแสดงค่าเป็น 0 การแสดงปริมาณโคเลสเตอรอล (ห้องปฏิบัติการหมายเลข 8 และ 10) ต้องแสดงค่าเป็น 0 และมีการแสดงปริมาณโซเดียม (160 mg) ไม่ตรงกับค่าที่ถูกต้องที่ได้จากการคำนวณและปัดเลข (150 mg; ห้องปฏิบัติการหมายเลข 14)

3) ร้อยละของปริมาณที่แนะนำต่อวัน

พบว่า 11 ห้องปฏิบัติการจากทั้งหมด 16 ห้องปฏิบัติการ ที่สามารถคำนวณและแสดงร้อยละของปริมาณที่แนะนำต่อวันได้ถูกต้องตามข้อกำหนดของประกาศกระทรวงสาธารณสุขทั้ง 2 ฉบับ ห้องปฏิบัติการที่มีการคำนวณและแสดงไม่ถูกต้องได้แก่ ห้องปฏิบัติการหมายเลข 10 มีการคำนวณและแสดงปริมาณของโปรตีนบนฉลากโภชนาการ ห้องปฏิบัติการหมายเลข 8 และ 10 ไม่แสดงปริมาณวิตามิน เอ ซึ่งต้องแสดงค่าเป็น 0 บนฉลากโภชนาการ มี 4 ห้องปฏิบัติการ (8, 9, 10 และ 16) ที่มีการปัดเลขไม่ถูกต้องตามข้อกำหนดของประกาศ ได้แก่ วิตามินบี 1 (ห้องปฏิบัติการหมายเลข 9, 10 และ 16) วิตามินบี 2 (ห้องปฏิบัติการหมายเลข 9 และ 10) แคลเซียม (ห้องปฏิบัติการหมายเลข 9 และ 10) และเหล็ก (ห้องปฏิบัติการหมายเลข 8) ในขณะที่ห้องปฏิบัติการหมายเลข 14 แสดงปริมาณโซเดียม แคลเซียม และเหล็กไม่ตรงกับค่าที่ถูกต้องที่ได้จากการคำนวณ และปัดเลขโดยห้องปฏิบัติการเอง

ตัวอย่างของการแสดงฉลากโภชนาการทั้งแบบย่อและแบบเต็มของตัวอย่าง whole wheat cracker และ cracker powder ดังในรูปภาพที่ 17 และ 18 ตามลำดับ

ข้อมูลโภชนาการ				
หนึ่งหน่วยบริโภค : 1 ชอง (30 กรัม)				
จำนวนหน่วยบริโภคต่อกล่อง : 6				
คุณค่าทางโภชนาการต่อหนึ่งหน่วยบริโภค				
พลังงานทั้งหมด 160 กิโลแคลอรี (พลังงานจากไขมัน 70 กิโลแคลอรี)				
ร้อยละของปริมาณที่แนะนำต่อวัน*				
ไขมันทั้งหมด	8 ก.	12	%	
ไขมันอิ่มตัว	6 ก.	30	%	
กรดไขมันชนิดทรานส์	0 ก.			
โคเลสเตอรอล	0 มก.	0	%	
โปรตีน	3 ก.			
คาร์โบไฮเดรตทั้งหมด	18 ก.	6	%	
ใยอาหาร	น้อยกว่า 1 ก.	2	%	
น้ำตาล	0 ก.			
โซเดียม	130 มก.	5	%	
ร้อยละของปริมาณที่แนะนำต่อวัน*				
วิตามินเอ	0 %	วิตามินบี 1	0	%
วิตามินบี 2	0 %	แคลเซียม	0	%
เหล็ก	2 %			
* ร้อยละของปริมาณสารอาหารที่แนะนำให้บริโภคต่อวันสำหรับคนไทยอายุตั้งแต่ 6 ปีขึ้นไป (Thai RDI) โดยคิดจากความต้องการพลังงานวันละ 2,000 กิโลแคลอรี				
ความต้องการพลังงานของแต่ละบุคคลแตกต่างกัน ผู้ที่ต้องการพลังงานวันละ 2,000 กิโลแคลอรี ควรได้รับสารอาหารต่างๆดังนี้				
ไขมันทั้งหมด	น้อยกว่า	65	ก.	
ไขมันอิ่มตัว	น้อยกว่า	20	ก.	
โคเลสเตอรอล	น้อยกว่า	300	มก.	
คาร์โบไฮเดรตทั้งหมด		300	ก.	
ใยอาหาร		25	ก.	
โซเดียม	น้อยกว่า	2,400	มก.	
พลังงาน (กิโลแคลอรี) ต่อกรัม : ไขมัน = 9 ; โปรตีน = 4 ; คาร์โบไฮเดรต = 4				

รูปที่ 17 ฉลากโภชนาการแบบเต็ม ของตัวอย่าง cracker powder

ข้อมูลโภชนาการ			
หนึ่งหน่วยบริโภค : 1 ชอง (30 กรัม)			
จำนวนหน่วยบริโภคต่อกล่อง : 6			
คุณค่าทางโภชนาการต่อหนึ่งหน่วยบริโภค			
พลังงานทั้งหมด 160 กิโลแคลอรี			
ร้อยละของปริมาณที่แนะนำให้รับประทาน*			
ไขมันทั้งหมด	8	ก.	12 %
โปรตีน	3	ก.	
คาร์โบไฮเดรตทั้งหมด	18	ก.	6 %
น้ำตาล	0	ก.	
โซเดียม	125	มก.	5 %
* ร้อยละของปริมาณสารอาหารที่แนะนำให้บริโภคต่อวันสำหรับคนไทยอายุตั้งแต่ 6 ปีขึ้นไป (Thai RDI) โดยคิดจากความต้องการพลังงานวันละ 2,000 กิโลแคลอรี			

รูปที่ 18 ฉลากโภชนาการแบบย่อ ของตัวอย่าง whole wheat cracker

ตารางที่ 19 สรุปผลการประเมินความชำนาญของห้องปฏิบัติการในการจัดทำฉลากโภชนาการ

หมายเลข ห้องปฏิบัติการ	รูปแบบฉลาก	หนึ่งหน่วยบริโภค และ/ หรือ จำนวนหน่วย บริโภคต่อภาชนะบรรจุ	การคำนวณ และ/หรือการ แสดงคุณค่าทางโภชนาการ ต่อหนึ่งหน่วยบริโภค
01	X	✓	✓
02	X	✓	✓
03	✓	✓	✓
04	X	✓	✓
06	✓	✓	✓
07	X	✓	X
08	X	✓	X
09	X	✓	X
10	✓	✓	X
11	✓	✓	✓
12	X	✓	✓
13	✓	✓	✓
14	✓	✓	X
15	X	✓	✓
16	X	✓	✓
17	X	✓	✓
การจัดทำถูกต้อง (%)	38	100	69

3.6.4 สรุปผลการประเมินความชำนาญของห้องปฏิบัติการในการจัดทำฉลากโภชนาการ

ห้องปฏิบัติการที่สามารถจัดทำฉลากโภชนาการได้ถูกต้องทั้งแบบย่อและแบบเต็มมีทั้งสิ้น 4 ห้องปฏิบัติการ (25%) ได้แก่ ห้องปฏิบัติการหมายเลข 3, 6, 11 และ 13 ดังแสดงในตารางที่ 20 โดยคิดเป็นร้อยละ 38 ของการจัดทำรูปแบบฉลากโภชนาการทั้งหมด ในการจัดทำหนึ่งหน่วยบริโภคและจำนวนหน่วยบริโภคต่อภาชนะบรรจุ และร้อยละ 69 ในการคำนวณและแสดงคุณค่าทางโภชนาการต่อหนึ่งหน่วยบริโภค โดยข้อมูลโภชนาการของแต่ละห้องปฏิบัติการดังแสดงในตารางที่ 21

อย่างไรก็ตามห้องปฏิบัติการควรเข้าร่วมกิจกรรมทดสอบความชำนาญของห้องปฏิบัติการในการจัดทำฉลากโภชนาการ และบุคลากรภายในห้องปฏิบัติการควรได้รับการอบรมและฝึกฝนการจัดทำฉลากโภชนาการตามข้อกำหนดของประกาศกระทรวงสาธารณสุขอย่างต่อเนื่องเช่นเดียวกัน

ตารางที่ 20 ข้อมูลโภชนาการที่แสดงบนฉลากโภชนาการแบบย่อของแต่ละห้องปฏิบัติการ

Lab code No.	Energy (Kcal)	Fat (g)		Protein (g)	CHO by difference (g)		Sugars (g)		Na (mg)	
		Per serving	%Thai RDI		Per serving	%Thai RDI	Per serving	%Thai RDI	Per serving	%Thai RDI
1	160	8	12	2	18	6	0		150	6
2	160	9	14	3	17	6	<1		140	6
3	150	8	12	2	18	6	0		150	6
4	160	8	12	3	17	6	0		130	5
6	160	8	12	3	18	6	0		125	5
7	160	8	12	3 (6 % Thai RDI) ^a	18	6	<1		135	6
8	160	8	12	3	18	6	0		150	6
9	160	8	12	3	18	6	<1		150	6
10	160	8	12	3 (6 % Thai RDI) ^b	18	6	0		150	6
11	160	9	14	3	17	6	0		140	6
12	160	8	12	2	18	6	0		150	6
13	150	8	12	2	18	6	0		150	6
14	160	8	12	3	18	6	<1		150	6
15	150	6	9	2	20	7	0		150	6
16	160	8	12	3	17	6	<1		150	6
17	160	8	12	3	18	6	<1		140	6

(a) Calculated but not declared on nutrition labelling; (b) Calculated and declared on nutrition labelling

ตารางที่ 21 ข้อมูลโภชนาการที่แสดงบนฉลากโภชนาการแบบเต็มของแต่ละห้องปฏิบัติการ

Energy																	
Lab	Energy	Fat		Sat. Fat	Cholester	Protein	CHO by	Total DF	Sugars	Na	Vit.	Vit.	Ca	Fe			
code	Kcal	g	g	g	ol mg	g	difference	g	g	mg	A	B ₁	B ₂				
Kcal																	
No.	PS*	PS*	%	PS*	%	PS*	%	PS*	%	PS*	%	%	%	%			
1	160	80	8	12	6	30	0	0	2	18	6	<1	4	0	4	0	2
2	160	80	9	14	6	30	0	0	2	17	6	<1	4	0	0	0	<2
3	150	70	8	12	6	30	0	0	2	18	6	1	4	0	0	0	2
4	160	80	9	14	6	30	0	0	2	18	6	<1	3	0	0	0	4
6	160	70	8	12	6	30	0	0	3	18	6	<1	2	0	0	0	2
7	150	70	8	12			0	0	2	18	6	<1	3	<1	135	6	2
8	160	80	9	14	6	30	-	-	3	18	6	-	-	0	0	0	2 ^a
9	160	80	9	14	5	25	0	0	3	18	6	-	-	<1	160	7	<2
10	160	80	8	12	6	30	-		3 (6 % Thai RDI) ^b	18	6	1	4	-	150	6	<2

* PS is per serving, (a) Incorrect rounding number, (b) Calculated and declared on nutrition labelling, (c) Declared incorrect value (in parenthesis is correct value)

ตารางที่ 21 ข้อมูลโภชนาการที่แสดงบนฉลากโภชนาการแบบเต็มของแต่ละห้องปฏิบัติการ (ต่อ)

Lab code	Energy														Ca	Fe					
	Energy	Fat	Sat. Fat	Cholester	Protein	CHO by	Total DF	Sugars	Na	Vit.	Vit.	Vit.									
	Kcal	g	g	ol mg	g	difference	g	g	mg	A	B ₁	B ₂									
No.	PS*	PS*	%	PS*	%	PS*	%	PS*	%	%	%	%	%								
11	170	80	9	14	6	30	0	0	3	18	6	1	4	0	140	6	0	<2	0	0	2
12	160	80	9	14	6	30	0	0	2	18	6	<1	3	0	150	6	0	0	0	0	2
13	160	80	9	14	6	30	0	0	2	18	6	1	4	0	150	6	0	2	0	0	2
14	160	8	12	3	18	6	<1	150	6	14	160	8	12	3	18	6	<1	150	6	14	160
15	150	6	9	2	20	7	0	150	6	15	150	6	9	2	20	7	0	150	6	15	150
16	160	8	12	3	17	6	<1	150	6	16	160	8	12	3	17	6	<1	150	6	16	160
17	160	8	12	3	18	6	<1	140	6	17	160	8	12	3	18	6	<1	140	6	17	160

* PS is per serving, (a) Incorrect rounding number, (b) Calculated and declared on nutrition labelling, (c) Declared incorrect value (in parenthesis is correct value)

4. เอกสารอ้างอิง

1. Notification of the Ministry of Public Health (N0. 182) B.E. 2541 (1998) Re: Nutrition Labelling, 1998.
2. Notification of Ministry of Public Health (No. 305) B.E. 2550 (2007) Re. Labeling of some kinds of ready-to-eat foods, 2007.
3. ISO/IEC 17043. Conformity assessment-General requirements for proficiency testing. Geneva, Switzerland, 2010.
4. ISO 5725. Precision of test methods – Determination of repeatability and reproducibility by interlaboratory tests, 1981.
5. ISO 5725-2. Accuracy (trueness and precision) of measurement methods and results Part 2: Basic method for the determination of repeatability and reproducibility of a standard measurement method: International Organization for Standardization, Geneva, Switzerland, 1994.
6. ISO 13528: 2005(E). Statistical methods for use in proficiency testing by interlaboratory comparisons. Geneva, Switzerland, 2005.
7. Horwitz W., Albert R. The Horwitz Ratio (HorRat): A Useful Index of Method Performance with Respect to Precision. Journal of AOAC International. 2006;89(4):1095-109.
8. http://www.aoac.org/dietsupp6/Dietary-Supplement-web-site/HORRAT_SLV.pdf.
Definitions and calculations of HORRAT values from intralaboratory data. Available from: http://www.aoac.org/dietsupp6/Dietary-Supplement-web-site/HORRAT_SLV.pdf.
9. Horwitz W, Albert R, Deutsch M J. Precision parameters of methods of analysis required for nutrition labelling. Part II. Macro elements. Journal of AOAC International. 1992:227–39.
10. National Association of testing Authorities (NATA). New statistics for NATA's proficiency testing programmes. Australia, 1996.
11. ISO Guide 43-1. Proficiency testing by inter-laboratory comparisons – Part 1: Development and operation of proficiency testing schemes, 1997.
12. Puwastien P., Sungpuag P., Judprasong K. Proficiency testing III; External Analytical Quality Control Programme (1998) for Nutrition Labelling. Nakorn Pathom: Institute of Nutrition, Mahidol University, 1998 September.

-
13. Puwastien P., Raroengwichit M. Summary Report: Laboratory performance study IV. Nakhon Pathom: Institute of Nutrition, Mahidol University, 2000 November 1999 - February.
 14. Puwastien P., Pinprapai N., Judprasong K. Laboratory performance study V: Main nutrients analysis. Nakhon Prathom: Institute of Nutrition, Mahidol University, 2001 October.
 15. Puwastien P., Pinprapai N., Judprasong K., Sungpuag P. FINAL REPORT Laboratory Performance study 7: analysis of mandatory nutrients for nutrition labelling. Nakhon Pathom: Institute of Nutrition, Mahidol University, 2003 October.
 16. Judprasong K, Puwastien P, Boonpor J, Pinprapai N. Laboratory performance study 9: Analysis of mandatory nutrients and preparation of nutrition labelling. Nakhon Pathom: Institute of Nutrition, Mahidol University 2010 August.
 17. Horwitz W. Official Methods of Analysis of AOAC INTERNATIONAL. 18 ed. Maryland: AOAC INTERNATIONAL, 2006.
 18. Puwastien P., Sungpuag P., Judprasong K. Laboratory performance study III, External Analytical Quality Control Programme (1998) for Nutrition Labelling. Nakhon Pathom: Institute of Nutrition, Mahidol University, 1999 September.
 19. Puwastien P., Judprasong K., Pinprapai N. Development of rice reference material and its use for evaluation of analytical performance of food analysis laboratories. Journal of Food Composition and Analysis. 2009; 22: 453–62.
 20. Torelm I. Interlaboratory Variance in Analysis of Major Nutrients in Foods. Journal of Food Composition and Analysis. 1994; 7(1-2): 2-22.
 21. ISO/IEC 17025. General requirements for the competence of testing and calibration laboratories. Geneva, Switzerland, 2005.

ภาคผนวกที่ 1. รายชื่อ และที่อยู่ของห้องปฏิบัติการที่เข้าร่วมโครงการ PT-10

Contact person / Address	Tel. No.	E-mail address
นันทยา จงใจเทศ กองโภชนาการ กรมอนามัย กระทรวงสาธารณสุข ตำบลตลาดขวัญ อำเภอ เมือง จังหวัดนนทบุรี 11000	0-2968-7619	nuntaya.c@anamai.mail.go.th, s_Jutharat@hotmail.com
นิภาพรณิ์ ลักษณะัสมยา สำนักคุณภาพและความปลอดภัยอาหาร กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ ถนนติวานนท์ อำเภอเมือง จังหวัดนนทบุรี 11000	02-951-0000 ext 98332	niphaporn.l@dmsc.mail.go.th
บังอร บุญชู โครงการวิทยาศาสตร์ชีวภาพ กรมวิทยาศาสตร์บริการ ถนนพระรามที่ 6 เขตราชเทวี กรุงเทพฯ 10400	0-2201-7203	bangorn@dss.go.th
พงศธร สังข์เผือก สถาบันโภชนาการ มหาวิทยาลัยมหิดล 25/25 ถนนพุทธมณฑล 4 ตำบลศาลายา อำเภอพุทธมณฑล จังหวัดนครปฐม 73170	02-800-2380 Ext. 317	pongton.sun@mahidol.ac.th
ธนิดา พิมพ์มา บริษัท ห้องปฏิบัติการกลาง (ประเทศไทย) จำกัด สาขากรุงเทพ 50 ถนนพหลโยธิน แขวงลาดยาว เขตจตุจักร กรุงเทพฯ 10900	02-940-5993 ext.210	thanida@centrallabthai.com
ปรียาพร แฉ่งการกิจ สถาบันอาหาร 2008 ซอยอรุณอมรินทร์ 36 ถนนอรุณอมรินทร์ แขวงบางยี่ขัน เขตบางพลัด กรุงเทพฯ 10700	0-2886-8088 ext. 5100	preeyaporn@nfi.or.th
บุญญฤทธิ์ สุดดี บริษัท ห้องปฏิบัติการกลาง (ประเทศไทย) จำกัด สาขาสมุทรสาคร 23/13 หมู่ที่ 9 ตำบลโคกขาม อำเภอเมือง จังหวัดสมุทรสาคร 74000	0-3485-7710- 15	punyarit@centrallabthai.com

ภาคผนวกที่ 1. รายชื่อ และที่อยู่ของห้องปฏิบัติการที่เข้าร่วมโครงการ PT-10 (ต่อ)

Contact person / Address	Tel. No.	E-mail address
เปรมรัตน์ จิตหาญ ศูนย์บริการประกันคุณภาพอาหาร สถาบันค้นคว้าและพัฒนาผลิตภัณฑ์อาหาร ม.เกษตรศาสตร์ ตูโป.ณ. 1043 ปทผ. เกษตรศาสตร์ ม.เกษตรศาสตร์ จตุจักร กรุงเทพฯ 10903	0-2942-8629- 35 ext.821	ifrpj@ku.ac.th
วิลาวลัย พงษ์พิทักษ์ ปารมี เพ็งปรีชา (mineral) ศูนย์ทดสอบและมาตรวิทยา สถาบันวิจัย วิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย นิคมอุตสาหกรรมบางปู ซอย 1 ถนนสุขุมวิท อำเภอเมือง จังหวัดสมุทรปราการ 10280	0-2323-1672- 80	vilaval@tistr.or.th, tlckung@yahoo.com, paramee@tistr.or.th (mineral)
ฐานิตา สายพิณ ทัศนี รัตนกุลดิวงค์ ALS Laboratory Group (Thailand) Co., Ltd 615 อาคารจิตต์อุทัย ถนนรามคำแหง แขวงห้วยหมาก เขตบางกะปิ กรุงเทพฯ 10240	0-2715-8700	Thanita.Saipin@alsglobal.com, Tasanee.Ratanakulwad@alsgl obal.com
ปญณิศา เตือประโคน (สุวรรณ ทองเนียม) บริษัท ไทย อกริ ฟู้ดส์ จำกัด (มหาชน) 155/1 หมู่ที่ 1 ถนนเทพารักษ์ 1 อำเภอบางเสาธง จังหวัดสมุทรปราการ 10540	02-315-4171- 76 Ext 113	poonnisa@thaiagri.com, s_thongnium@hotmail.com
ภัทรวรรณ วรรณเจริญ บริษัท รับตรวจสินค้าพื้นทะเล จำกัด 12-14 เย็นอากาศ ซอย 3 ถนนเย็นอากาศ แขวงช่องนนทรี เขตยานนาวา กรุงเทพฯ 10120	02-286-4120 Ext.111	pattarawan@omicnet.com

ภาคผนวกที่ 1. รายชื่อ และที่อยู่ของห้องปฏิบัติการที่เข้าร่วมโครงการ PT-10 (ต่อ)

Contact person / Address	Tel. No.	E-mail address
วิไล ภัทรปัญญากุล ประมวล แก้วขาว (Minerals) บริษัท แอนาไลติคอล ลาบอราทอรีส์ เซอร์วิส จำกัด 611/277-279 ซอยวัดจันทร์ใน ถนนเจริญกรุง แขวงบางโคล่ เขตบางคอแหลม กรุงเทพฯ 10120	02-689-8164-5	alslab@samarts.com
ยุวดี ฤทธิ์ประคองเชาว์ บริษัท เคมีแล็บ เซอร์วิสเชส (ประเทศไทย) จำกัด 282 อาคารบี 3 ซอยศูนย์วิจัย 4 ถนนพระรามที่ 9 แขวงบางกะปิ เขตห้วยขวาง กรุงเทพฯ 10310	02-7196-488-92	yuwadeer@chemlab.com.my
สุรทิน จุฬาริพา (ผู้ประสานงาน) ศิริรักษ์ กมลวิบูลย์ (ผู้ให้ข้อมูล) นเรศน์ ปัญญานนท์ชัย ห้องปฏิบัติการบริษัท เอสจีเอส (ประเทศไทย) จำกัด 41/23 ซอยถนนพระรามที่ 3 (59) ถนน พระรามที่ 3 แขวงช่องนนทรี เขตยานนาวา กรุงเทพฯ 10120	02-294-7485-86 02-683-0541-9	surathin.chula-olam@sgs.com, siriruk.kamonwiboon@sgs.com, narate.panyanontachai@sgs.com
สุภาวดี วิจารย์ กรกช ไทยหวล บริษัท เซ้าท์อีสต์ เอเชีย ลาบอราทอรีส์ จำกัด 256/1 ซอยสันนิบาตเทศบาล ถนนรัชดาภิเษก แขวงจันทระเกษม เขตจตุจักร กรุงเทพฯ 10900	0-2939-1131-3	supawadee@seallab.co.th, korakot@seallab.co.th
ณัฏฐา สีแก้วน้ำใส บริษัท ศูนย์ปฏิบัติการและวิจัยทางการแพทย์และ เกษตรแห่งเอเชีย จำกัด (AMARC) 361, 361,361/1-2 ลาดพร้าว ซอย 122 (แยก 25) เขตวังทองหลาง กรุงเทพฯ 10310	02-934-2381-3 ต่อ 312	palm_ns@hotmail.com



เอกสารแนบหมายเลข 1 (PT-10)

โครงการประเมินสถานภาพห้องปฏิบัติการวิเคราะห์สารอาหาร (PT-10)

แนวทางปฏิบัติสำหรับผู้เข้าร่วมโครงการ (Instructions to participants)

โครงการประเมินสถานภาพห้องปฏิบัติการวิเคราะห์สารอาหาร (PT-10) มีวัตถุประสงค์ คือ ประเมินสถานภาพการวิเคราะห์สารอาหารบังคับและการจัดทำฉลากโภชนาการ ตามประกาศกระทรวงสาธารณสุข ฉบับที่ 305/2550 และฉบับที่ 182/2541 เพื่อให้เป็นไปตามวัตถุประสงค์และเกิดความถูกต้องของการวิเคราะห์มากที่สุด จึงขอความร่วมมือในการปฏิบัติดังนี้

1. ตัวอย่างทดสอบ (Test materials) ห้องปฏิบัติการแต่ละแห่งจะได้รับตัวอย่าง 2 ชุด คือ

1) ตัวอย่าง Whole wheat cracker จำนวน 12 ตัวอย่าง ละ 30 กรัม เพื่อดำเนินการทุกขั้นตอนในการวิเคราะห์สารอาหารบังคับ และนำผลที่ได้มาจัดทำเป็นข้อมูลโภชนาการบนฉลากตามประกาศกระทรวงสาธารณสุข ฉบับที่ 305/2550 โปรดดูรายละเอียดใน ตารางที่ 1.

2) ตัวอย่าง Cracker powder (INMU-18) จำนวน 2 ตัวอย่าง (A และ B) ตัวอย่างละประมาณ 50 กรัม เพื่อวิเคราะห์สารอาหารบังคับและนำผลที่ได้มาจัดทำเป็นข้อมูลโภชนาการบนฉลากตามประกาศกระทรวงสาธารณสุข ฉบับที่ 182/2541 โปรดดูรายละเอียดใน ตารางที่ 1.

ตารางที่ 1. ตัวอย่างอาหารทดสอบ สารอาหารบังคับที่ต้องวิเคราะห์และการจัดทำข้อมูลโภชนาการ

ตัวอย่างอาหารทดสอบ	สารอาหารที่ต้องวิเคราะห์	การจัดทำข้อมูลโภชนาการ
1. Whole wheat cracker	6 ชนิด คือ ไขมันทั้งหมด, โปรตีน, น้ำตาล, โซเดียม, เถ้า, ความชื้น	ตามประกาศฉบับที่ 305/2550 กำหนดให้ 1 กล่องบรรจุ 6 ซอง น้ำหนักสุทธิ = 180 กรัม
2. Cracker powder (INMU- 18)	13 ชนิด คือ ไขมันทั้งหมด, กรดไขมันอิ่มตัว, กรดไขมันชนิดทรานส์, โปรตีน,ใยอาหาร, น้ำตาล, โซเดียม, แคลเซียม, เหล็ก, วิตามินบี 1, วิตามินบี 2, เถ้า, ความชื้น (ไม่ต้องวิเคราะห์โคเลสเตอรอล วิตามินเอ เพราะไม่มีในพืช)	ตามประกาศฉบับที่ 182/2541 กำหนดให้ 1 กล่องบรรจุ 6 ซอง น้ำหนักสุทธิ = 180 กรัม

หมายเหตุ: กรณีที่ห้องปฏิบัติการของท่านยังวิเคราะห์สารอาหารได้ไม่ครบถ้วน ขอให้วิเคราะห์และประเมินเท่าที่ทำได้

2. การส่งตัวอย่าง: ส่งวันจันทร์ที่ 18 ตุลาคม 2553 ห้องปฏิบัติการควรได้รับตัวอย่างไม่เกินวันที่ 22 ตุลาคม 2553 เมื่อได้รับตัวอย่างแล้วขอให้ตรวจสอบความถูกต้องของตัวอย่างและบรรจุภัณฑ์และกรอกฟอร์มรับตัวอย่าง ตอบกลับมาที่ ครรชิต จุดประสงค์ E-mail address: nukjp@mahidol.ac.th
3. เพื่อให้เป็นไปตามข้อกำหนดของการจัดทำ PT ตาม ISO/IEC DIS 17043 ขอให้ทุกหน่วยงานดำเนินการทุกขั้นตอนตั้งแต่รับตัวอย่างจนวิเคราะห์เสร็จ เช่นเดียวกับตัวอย่างปกติที่ท่านได้รับจากลูกค้า
4. ตัวอย่าง INMU-18 หากเปิดซองแล้ว ให้บรรจุตัวอย่างที่เหลือในขวดจุกเกลียว เก็บไว้ในตู้เย็น
5. รายการสารอาหารที่กำหนดให้วิเคราะห์ในแต่ละตัวอย่างและการจัดทำข้อมูลโภชนาการแสดงในตารางที่ 1 โดยมีรายละเอียดเพิ่มเติมดังนี้

ตัวอย่าง Whole wheat cracker หลังจากเตรียมตัวอย่างแล้ว ให้ทำการวิเคราะห์สารอาหารแต่ละชนิดและรายงานผลการวิเคราะห์เป็น 2 ค่าคือ A และ B ลงใน **เอกสารหมายเลข 2** ซึ่งได้ระบุหน่วยและจำนวนทศนิยมไว้ให้แล้ว จากนั้นนำค่าเฉลี่ยของสารอาหารแต่ละตัวมาจัดทำข้อมูลโภชนาการแบบย่อ ตามประกาศกระทรวงสาธารณสุขฉบับที่ 305/2550

ตัวอย่าง Cracker powder (INMU-18) ให้ทำการวิเคราะห์สารอาหารในแต่ละซองซึ่งมี label ของ No. sample + A และ No. sample + B และรายงานผลการวิเคราะห์แต่ละค่าลงใน **เอกสารหมายเลข 2** ซึ่งได้ระบุหน่วยและจำนวนทศนิยมไว้ให้แล้ว จากนั้นนำค่าเฉลี่ยของสารอาหารแต่ละตัวมาจัดทำฉลากโภชนาการแบบเต็ม ตามประกาศกระทรวงสาธารณสุขฉบับที่ 182/2541

6. วิวิธีวิเคราะห์สารอาหาร ให้ห้องปฏิบัติการใช้วิธีวิเคราะห์สารอาหารที่ท่านใช้เป็นประจำ และโปรดตรวจสอบวิธีวิเคราะห์อย่างย่อใน **เอกสารหมายเลข 3** ที่เป็นข้อมูลที่ได้จากโครงการ PT-9 กรุณาเพิ่มเติมรายละเอียดวิธีวิเคราะห์ที่อาจมีการเปลี่ยนแปลง ให้สมบูรณ์ เพื่อช่วยให้ผู้จัดทำสามารถอธิบายสาเหตุ หากมีผลวิเคราะห์ที่ไม่ตรงกัน

หมายเหตุ 1) เนื่องจาก PT ที่ผ่านมาพบว่ามีปัญหาในการวิเคราะห์ไขมัน จึงแนะนำให้มีการย่อยตัวอย่างด้วยกรด (acid digestion) ก่อนสกัดด้วยตัวทำละลาย (solvent extraction)

2) ตัวอย่างทดสอบ ต้องมีการ defat sample ก่อนการวิเคราะห์ dietary fibre

7. กำหนดส่งผลการวิเคราะห์ (**เอกสารหมายเลข 2**) ภายในวันอังคารที่ **30 พฤศจิกายน 2553** สำหรับ **เอกสารหมายเลข 3** กรุณาส่งกลับเร็วที่สุด เมื่อตรวจสอบแก้ไขเรียบร้อยแล้ว โดยส่งเป็น attached file มาที่ ครรชิต จุดประสงค์ E-mail address: nukjp@mahidol.ac.th เพื่อจะได้ทำการประเมินต่อไป

8. Lab code number ของท่านระบุอยู่ในจดหมายปะหน้า code number นี้จะปิดเป็นความลับ เพื่อให้มั่นใจว่าผลการวิเคราะห์ของท่านจะไม่ถูกนำไปเปิดเผยโดยไม่ได้รับอนุญาต และโปรดระบุ Lab code number นี้ในการติดต่อ และรายงานผลตลอดการเข้าร่วมโครงการ

หมายเหตุ: เนื่องจากโครงการ PT-10 เป็นโครงการต่อเนื่องจาก PT-9 โดยมีวัตถุประสงค์และวิธีการเช่นเดียวกัน จึงขอใช้ Lab code number เดิมที่ใช้ในโครงการ PT-9



เอกสารแนบหมายเลข 2-1 (PT-10)

โครงการประเมินสถานภาพห้องปฏิบัติการวิเคราะห์สารอาหาร (PT-10)

Lab code no.

แบบฟอร์มแสดงผล (RESULT FORM)

ตัวอย่างอาหาร: Whole wheat cracker (กำหนดให้ 1 กล่องบรรจุ 6 ของ น้ำหนักสุทธิ = 180 กรัม)

รายละเอียดของตัวอย่าง:

ปริมาณสุทธิ: 180 กรัม

หนึ่งหน่วยบริโภค:.....

จำนวนหน่วยบริโภคต่อ..... :

ผลการตรวจสอบและการคำนวณเพื่อจัดทำข้อมูลโภชนาการตามประกาศฉบับที่ 305 (2550)

สารอาหาร	สารอาหารต่อ 100 กรัม (ทศนิยม 2 ตำแหน่ง)			ปริมาณสารอาหาร ต่อหนึ่งหน่วยบริโภค		% ปริมาณที่แนะนำ ต่อวัน	
	A	B	เฉลี่ย	ก่อนปัด เลข	ค่าที่ แสดงบน ฉลาก	ก่อนปัด เลข	ค่าที่ แสดงบน ฉลาก
พลังงานทั้งหมด (กิโลแคลอรี) ⁽¹⁾							
ไขมันทั้งหมด (กรัม)							
โปรตีน (N x 6.25) (กรัม)							
คาร์โบไฮเดรตทั้งหมด (กรัม)							
น้ำตาล (กรัม)							
โซเดียม (มิลลิกรัม) ⁽¹⁾							
ความชื้น (กรัม)							
เถ้า (กรัม)							

⁽¹⁾ ไม่ต้องมีทศนิยม

เพื่อความสะดวกในการประมวลผล โปรดส่งข้อมูลการวิเคราะห์ โดยทำเป็น Microsoft Word / Excel และส่งเป็น attached file กลับมายังสถาบันโภชนาการ มหาวิทยาลัยมหิดล โดยส่งมาที่ ครรชิต จุฑประสงค์ E-mail address: nukjp@mahidol.ac.th ภายใน **วันอังคารที่ 30 พฤศจิกายน 2553**



เอกสารแนบหมายเลข 2-1 (ต่อ)

โครงการประเมินสถานภาพห้องปฏิบัติการวิเคราะห์สารอาหาร (PT-10)

Lab code no.

ข้อมูลโภชนาการแบบย่อตามประกาศฉบับที่ 305 (พ.ศ. 2550)

โปรดจัดทำฉลากโภชนาการแบบย่อตามที่หน่วยงานของท่านให้บริการแก่ลูกค้า

ตัวอย่างอาหาร Whole wheat cracker (ปริมาณสุทธิ 180 กรัม)

เพื่อความสะดวกในการประมวลผล โปรดส่งข้อมูลการวิเคราะห์ โดยทำเป็น Microsoft Word / Excel และส่งเป็น attached file
กลับมายังสถาบันโภชนาการ มหาวิทยาลัยมหิดล โดยส่งมาที่ ครรชิต จุดประสงค์ E-mail address: nukjp@mahidol.ac.th ภายใน
วันอังคารที่ 30 พฤศจิกายน 2553

เอกสารแนบหมายเลข 2-2 (PT-10)

โครงการประเมินสถานภาพห้องปฏิบัติการวิเคราะห์สารอาหาร (PT-10)

Lab code no.

แบบฟอร์มแสดงผล (RESULT FORM)

ตัวอย่างอาหาร Cracker powder (INMU-18) (กำหนดให้ 1 กล่องบรรจุ 6 ซอง น้ำหนักสุทธิ = 180 กรัม)

รายละเอียดของตัวอย่าง:

ปริมาณสุทธิ: 180 กรัม

หนึ่งหน่วยบริโภค:

จำนวนหน่วยบริโภคต่อ..... :

ผลการวิเคราะห์และการคำนวณเพื่อจัดทำข้อมูลโภชนาการตามประกาศฉบับที่ 182 (2541)

สารอาหาร	สารอาหารต่อ 100 กรัม (ทศนิยม 2 ตำแหน่ง)			ปริมาณสารอาหารต่อ หนึ่งหน่วยบริโภค		% ปริมาณที่แนะนำต่อ วัน	
	A	B	เฉลี่ย	ก่อนปัด เลข	ค่าที่แสดง บนฉลาก	ก่อนปัด เลข	ค่าที่แสดง บนฉลาก
พลังงานทั้งหมด (กิโลแคลอรี) ⁽¹⁾							
พลังงานจากไขมัน (กิโลแคลอรี) ⁽¹⁾							
ไขมันทั้งหมด (กรัม)							
กรดไขมันอิ่มตัว (กรัม)							
กรดไขมันทรานส์ (กรัม)							
โคเลสเตอรอล (มิลลิกรัม) ^(1, 2)							
โปรตีน (N x 6.25) (กรัม)							
คาร์โบไฮเดรตทั้งหมด (กรัม)							
ใยอาหาร (กรัม)							
น้ำตาล (กรัม)							
โซเดียม (มิลลิกรัม) ⁽¹⁾							
วิตามินเอ (ไมโครกรัม) ^(1, 2)							
วิตามินบี 1 (มิลลิกรัม)							
วิตามินบี 2 (มิลลิกรัม)							
แคลเซียม (มิลลิกรัม) ⁽¹⁾							
เหล็ก (มิลลิกรัม)							
ความชื้น (กรัม)							
เถ้า (กรัม)							

⁽¹⁾ ไม่ต้องมีทศนิยม ⁽²⁾ ไม่วิเคราะห์เนื่องจากตัวอย่างทดสอบเป็นพืช



เอกสารแนบหมายเลข 2-2 (ต่อ)

โครงการประเมินสถานภาพห้องปฏิบัติการวิเคราะห์สารอาหาร (PT-10)

Lab code no.

ข้อมูลโภชนาการแบบเต็มตามประกาศฉบับที่ 182 (2541)

โปรดจัดทำฉลากโภชนาการแบบเต็มตามที่หน่วยงานของท่านให้บริการแก่ลูกค้า

ตัวอย่างอาหาร Cracker powder (INMU-18) (ปริมาณสุทธิ 180 กรัม)

เพื่อความสะดวกในการประมวลผล โปรดส่งข้อมูลการวิเคราะห์ โดยทำเป็น Microsoft Word / Excel และส่งเป็น attached file
กลับมายังสถาบันโภชนาการ มหาวิทยาลัยมหิดล โดยส่งมาที่ ครรชิต จุฑประสงค์ E-mail address: nukjp@mahidol.ac.th ภายใน
วันอังคารที่ 30 พฤศจิกายน 2553

โครงการประเมินสถานภาพห้องปฏิบัติการวิเคราะห์สารอาหาร (PT-10)

Lab code no.

10

แบบสำรวจวิธีการเตรียมตัวอย่างและวิธีทดสอบที่ใช้ (Questionnaire for methods used)

๑.๒๐ ให้ทำแบบสำรวจความเห็นที่โรงเรียนทดสอบแตกต่างกันจากรอบที่ 1

รายละเอียดการเตรียมตัวอย่าง (โปรดระบุการเตรียมตัวอย่างแต่ละขั้นตอนโดยละเอียด รวมทั้งระบุ จำนวนตัวอย่างที่เตรียม ปริมาณตัวอย่าง และเครื่องมือที่ใช้)

This image shows a full page of white paper with horizontal dashed lines, typical of primary school writing paper. The lines are evenly spaced and run across the width of the page. There are no margins, text, or other markings on the paper.

ไขมันทั้งหมด วิธีวิเคราะห์เป็นไปตามเอกสารอ้างอิง (ระบุ เช่น AOAC.....).

น้ำหนัก ตัวอย่าง (g)	Acid/Alkali Hydrolysis		Drying ก่อนสกัด อุณหภูมิ/เวลา*	Extraction Solvent และเวลาที่ใช้	Evaporation of solvent อุณหภูมิ/ เวลา	Equipment เช่น Soxtec, GC	Quality control sample		หมายเหตุ*
	ทำ ปฏิกิริยา reagents ที่ใช้	ไม่ได้ ทำ					ใช้ ปฏิกิริยา	ไม่ได้ใช้	

* หากมีการทำตัวอย่างให้แห้งก่อนการสกัด

** ปฏิกิริยาให้ชัดเจน เช่นถ้าคำนวณ total lipid จากผลรวมของกรดไขมันแต่ละชนิด

กรดไขมันอิ่มตัว, กรดไขมันชนิดทรานส์ วิเคราะห์เป็นไปตามเอกสารอ้างอิง (ระบุ เช่น AOAC.....).

สารอาหาร	น้ำหนัก ไขมัน (g)	วิธีการสกัดน้ำมัน (crude fat or cold extraction)	วิธีการ/สารเคมี Saponification และ Methylation	Measurement เช่น GC-FID	ชื่อและความยาวของ column ที่ใช้	Quality control sample		หมายเหตุ
						ใช้ ปฏิกิริยา	ไม่ได้ใช้	
กรดไขมันอิ่มตัว								
กรดไขมันชนิดทรานส์								

โปรตีน (N x.....) วิเคราะห์เป็นไปตามเอกสารอ้างอิง (ระบุ เช่น AOAC.....)

น้ำหนักตัวอย่าง (g)	Catalyst: ชนิดและปริมาณ	Digestion ย่อยตัวอย่างด้วย	Distillation และ Receiver solution	Quantitation by (Titrate with)	Quality control sample		หมายเหตุ
					ใช้ ป้อน	ไม่ใช้	

ใยอาหาร วิเคราะห์เป็นไปตามเอกสารอ้างอิง (ระบุ เช่น AOAC.....)

น้ำหนักตัวอย่าง (g)	Pre-treatment ถ้ามี ป้อน เช่น de-fat, de-sugar	Enzymes และ Conditions ที่ใช้	คำนวณโดยหักลบค่าของ ash and protein หรือวิธีอื่น	Quality control sample		หมายเหตุ
				ใช้ ป้อน	ไม่ใช้	

น้ำตาล วิเคราะห์เป็นไปตามเอกสารอ้างอิง (ระบุ เช่น AOAC.....)

น้ำหนักตัวอย่าง (g)	Pre-treatment ถ้ามี ป้อน เช่น de-fat, de-sugar และ reagent ที่ใช้	Extraction and determination สารเคมีและสภาวะที่ใช้	Instrument and detector เช่น HPLC-RI, ELSD	Quality control sample		หมายเหตุ
				ใช้ ป้อน	ไม่ใช้	

โซเดียม, แคลเซียม, เหล็ก วิเคราะห์เป็นไปตามเอกสารอ้างอิง (ระบุ เช่น AOAC.....).

เกลือแร่	น้ำหนักตัวอย่าง (g)	การเตรียมตัวอย่าง (Dry ashing หรือ wet digestion) ระบุอุณหภูมิ สารเคมี และเวลาที่ใช้	Measurement (AAS, ICP-OES, ICP-MS,....)	จำนวนจุดของ calibration curveจุด/.....pm	Quality control sample		หมายเหตุ ระบุเครื่องมือที่ใช้
					ใช้ โปรระบุ	ไม่ใช้	
โซเดียม							
แคลเซียม							
เหล็ก							

วิตามินบี 1 (กรุณาเพิ่มเติมข้อมูล oxidation step ในกรณีใช้ HPLC โปรดระบุ pre- or post column)

วิตามินบี 2 วิธีวิเคราะห์เป็นไปตามเอกสารอ้างอิง (ระบุ เช่น AOAC.....).....

วิตามิน	น้ำหนัก ตัวอย่าง (g)	การสกัดและ oxidation step (กรณีใช้ HPLC โปรดระบุ pre- or post column)	Determination และ เครื่องมือที่ใช้ เช่น HPLC (ระบุ column และ ชนิด ของ detector) หรือ spectrofluorometer (ระบุ conditions)	Determination (HPLC หรือ microbiological assay) โปรด อธิบาย และระบุสารเคมีที่ใช้	Quality control sample		หมายเหตุ
					ใช้ โปรดระบุ	ไม่ใช้	
วิตามินบี 1							

วิตามิน	น้ำหนัก ตัวอย่าง (g)	การสกัด ระบุ conditions และสารเคมีที่ใช้	Determination และ เครื่องมือที่ใช้ เช่น HPLC (ระบุ column และ ชนิด ของ detector) หรือ spectrofluorometer (ระบุ conditions)	Determination (HPLC หรือ microbiological assay) โปรด อธิบาย และระบุสารเคมีที่ใช้	Quality control sample		หมายเหตุ
					ใช้ โปรดระบุ	ไม่ใช้	
วิตามินบี 2							

ความชื้น วิธีวิเคราะห์เป็นไปตามเอกสารอ้างอิง (ระบุ เช่น AOAC.....).....

น้ำหนักตัวอย่าง (g)	อุณหภูมิที่ใช้ในการอบ (°C)	ระยะเวลาในการอบ (นาที)	Instrument	Quality control sample		หมายเหตุ
				ใช้ โปรระบุ	ไม่ใช้	

เถ้า วิธีวิเคราะห์เป็นไปตามเอกสารอ้างอิง (ระบุ เช่น AOAC.....).....

น้ำหนักตัวอย่าง (g)	Pre-treatment (drying, charring)	อุณหภูมิ (°C)/ เวลา (นาที)	Instrument	Quality control sample		หมายเหตุ
				ใช้ โปรระบุ	ไม่ใช้	

การมาส่งกลับเร็วที่สุด เมื่อตรวจจบแบบแก้ไขเรียบร้อยแล้ว โดยส่งเป็น attached file มาที่ ครรชิต จุดประสงค์ E-mail address: nukjp@mahidol.ac.th เพื่อจะทำการประเมินต่อไป

เอกสารแนบท้ายหมายเลข 4. วิธีวิเคราะห์ที่ใช้ในแต่ละห้องปฏิบัติการ

A. Total fat analysis

Sample weight g (lab #)	Acid / Alkali Hydrolysis (lab #)	Drying Temperature/ time (lab #)	Extraction solvent & time (lab #)	Evaporation of solvent Temperature/ time (lab #)	Measurement (lab #)	Quality control sample (lab #)	References (lab #)
0.3-1.0 g (L-7)	- Diluted HCl (L-2, 4, 11, 12, 13, 14, 15, 16)	- 80 °C / 30 min (L-12)	- Diethyl ether / Petroleum ether (L-2, 7, 8*, 9, 12, 13, 14, 16, 17) / 15 min (L-7)	- 40-80 °C (L-2, 14) / 2 h (L-14)	- Gravimetric (L-13, 14)	- Flour (L-4)	- In house method based on AOAC (2005) 989.05 (L-1)
1 g (L-9, 10)		- 100 °C / 1 h (L-6)	- Ethanol, ether, petroleum ether (L-11)	- 60-70 °C / 20-30 min (L-9, 17)	- Soxtec (L-1, 6, 10, 15)	- QCM, Soybean (L-6, 9, 11)	- AOAC (2005) 922.06 (L-2, 8*, 9, 11, 12, 14, 15, 16, 17)
1-1.5 g (L-17)	- HCl 37% (L-7)	- 103±2 °C (L-17)		- 95-100 °C (L-3, 4, 13) / 1 h (L-3, 4)	- Mojornior tube (L-17)	- Broad bean powder (BB) (L-7)	
2 g (L-1, 3, 4, 8*, 11, 12, 14, 15, 16)	- 3M HCl (L-10)	- 105 °C / 30 min (L-1)	- Petroleum ether (L-1, 6, 10, 15) / 80 min (L-6), 110 min (L-1), 1 h (L-10), 2 h (L-15)	- 100±2 °C (L-1, 6, 7, 8*, 11, 12, 16) / 10 min (L-1) / 1 h (L-6, 7, 8, 11, 12)		- Cornflake (L-13)	- AOAC(2005) 933.05 (L-3)
1.9-2.39 g (L-6)	- HCl (L-1, 6, 8*, 9)	- Microwave set at defrost / 1 h (L-10)	- Ethyl alcohol + ethyl ether, 1 min + pet. ether 1 min (L-4)			- Wheat flour (L-14)	- AOAC (2005) 992.06 (L-4)
2 – 3 g (L-13)	- Conc. HCl (L-17)		- Hexane / 45 min(L-3)	- 103 °C / 2 h (L-10)		- Cereal Soy (L-17)	- AOAC (2005) 948.15 (L-6, 13)
2-5 g (L-2)	- HCl/ NH ₄ OH (L-3)						- AOAC 2005, 954.02 (Acid Hydrolysis) (L-7)
							- In-house method based on ISO 1443:1973 (L-10)

* Method from PT-9

B. Saturated fat analysis

Sample weight g (lab #)	Extraction (crude fat or cold extraction) (lab #)	Methods/Chemicals Saponification and Methylation (lab #)	Measurement (lab #)	Quality control sample (lab #)		References (lab #)
				Yes	No	
- 0.02–0.07 g (L-3, 6, 9) - 0.1–0.3 g (L-2, 4, 10, 11, 12, 13, 14, 15) - 0.5–1g (L-1, 16, 17)	- Crude fat (L-1, 2, 3, 4, 6, 11, 12, 15, 16) - Cold extraction (L-9, 13, 14)	- Saponification: - HCl + Ethanol (L-2, 3) - NaOH in Methanol (L-5, 9, 11, 13, 14, 15) - Methylation: - BF ₃ (L-11, 13, 15) - BF ₃ and Toluene (L-2, 3, 16, 17) - BF ₃ in Methanol (L-5, 9, 10, 14)	GC-FID (all labs, except L-7, 8 – not analysed)	- 0.5583 ± 0.047 (L-1)	L-2, 10, 12, 14, 15, 16	- In house method based on Compendium of Methods for Food Analysis, Thailand (2003) (L-1, 14) - AOAC (2005) 996.06 (L-2, 3, 16, 17) - In house method based on AOAC(2005) 963.22,996.06 (L-4) - AOAC 969.73, 963.22 (L-6) - AOAC (1995) 963.22, AOAC- IUPAC method 16th ed.1995 (L-9) - AOAC (2005) 991.39 (L-11) - AOAC (2005) (L-12, 15)
				- Milk powder (L-3, 6)		
				- QCS-NC-0001- soy bean (L-4)		
				- QCM 9 (L-9) - Soybean oil (L-9)		
				- QCM -soybean (L-11)		
				- Shredded pork (L-17)		

C. Protein (N x 6.25) analysis

Sample weight g (lab #)	Catalyst (lab #)	Acid Digestion (lab #)	Distillation and Receiver solution (lab #)	Quantitation by (Titrate with) (lab #)	Quality control sample (lab #)		References (lab #)
					yes	No	
- ≤ 0.5 g (L-2, 3, 7, 8*)	- Kjeltabs: K_2SO_4 + $CuSO_4 \cdot 5H_2O$ (L-2, 6, 8*, 9, 10, 14, 15, 16, 17)	- Conc. H_2SO_4 (L-1, 2, 3, 4, 6, 7, 8*, 9, 10, 11, 13, 14, 15, 16, 17)	Distillation - Add H_2O before distillation (L-2, 3, 4, 17) - Distillation: - NaOH 40% (L-2, 3, 4, 5, 6, 7, 8*, 9, 11, 13, 14) - NaOH 50% (L-16, 17)	- ~0.1 N HCl (L-1, 2, 3, 4, 6, 7, 8*, 9, 10, 11, 12, 14, 15) - 0.05 M H_2SO_4 (L-16) - 0.1 N H_2SO_4 (L-17) - 0.1 N NaOH (L-13)	- Cereal product (L-1) - In-house RM-feed (L-2) - Full-fat soy flour (L-3) - บะหมี่กึ่งสำเร็จรูป – QCS-M-0004 (L-4) - Milk powder (L- 6, 8*, 11) - Tryptophan, check efficiency of digestion step and $(NH_4)_2SO_4$ to check efficiency of distillation (L-7) - Soybean flour (L-9) - Acetanillide (L-10) - Cereal (L-13) - Wheat flour (L-14) - Cereal soy (L-17)	L-15, 16	- In house method based on AOAC (2005) 991.20 (L-1, 4, 8*, 9, 11, 16) - In-house method based on AOAC (2007) 991.20 (L-10) - AOAC (2005) 981.10 (L-2, 3, 7, 14) - In-house method TM-CH-017 based on AOAC(2005), 981.10 (L-12) - AOAC 991.20, 981.10 (L-6) - AOAC (2005) 930.29 (L-15) - AOAC (2005) 935.39 (L-17) - AOAC (2005) 979.09 (L-37)
- 0.5–1 g (L- 12, 17)	- Kjeltabs: K_2SO_4 + Se_2 tablets (L-1, 3, 4, 7, 11, 12, 13)	- Digestion unit Foss (L-12)	Receiver solution : - 1% Boric acid (L-9) - 2% Boric acid (L-6) - 4% Boric acid (L-1, 2, 3, 4, 7, 8*, 14, 15, 16, 17, 11) - 0.08 N H_2SO_4 (L-13) - Boric acid (L-10), using Kjeltac - Using Teketor 2200 (L-12)				
- 1 g (L-4, 9, 10, 11, 13, 14, 15, 16)							
- 2 g (L-1, 6)							

D. Dietary fibre analysis

Sample weight g (lab #)	Pre-treatment, if any: de-fat, de-sugar (lab #)	Enzymes and conditions used (lab #)	Determination/calculation (lab #)	Quality control sample (lab #)		References (lab #)
				yes	No	
- 0.2 g (L- 6)	- De-fat (L-1, 4, 16, 17)	- α -Amylase, 100 $\pm$ 5°C, 15 min/ 30 min (L- 2, 3, 6, 7, 11, 13, 14, 15, 16, 17), 100 $\pm$ 10°C (L- 4) / not specify temp and time (L-1, 12); not specify time (L-4, 10)	- Calculated by deduction of ash and protein from the residue (L-1, 2, 3, 4, 6, 7, 10, 11, 13, 16, 17)	- Wheat roast (L- 2)	L- 4, 7, 12, 15, 16	- In house method based on AOAC (2005) 985.29 (L- 1, 16)
- 0.5 g (L- 2, 3, 4, 11, 12, 13, 14)	- De-fat by soxhlet/Soxtec (L-2,3), petroleum ether (L- 6, 10), diethyl ether : petroleum ether (L-14), twice (L-15)	- Protease, 60°C, 30 min (L-2, 3, 6, 7, 11, 13, 14, 15, 16, 17) / not specify temp and time (L-1, 12)); not specify time (L-4, 10)	- Calculated by deduction of protein, ash and blank from the residue (L-14, 15)	- Red bean (L- 3)		- AOAC (2005) 985.29 (L- 2, 3, 4, 7, 11, 13, 14, 17)
- 1 g (L-1, 10, 16)	- De-fat, then dried in an oven (L-11)/at 120° C about 2 h (L-15); grinded using a mortar (L-11)	- Amyloglucosidase, 60°C, 25-30 min (L-2, 3, 6, 7, 11, 13, 14, 15, 16, 17,) / not specify temp and time (L-1, 12; not specify time (L-4, 10)	- Calculated by deduction moisture, sugar and fat from the residue (L-12)	- QCM 9 (L- 6)		- AOAC 985.29 (L- 6, 15)
- 0.5 – 1 g (L- 7, 17)	De-fat and de-sugar before analysis (L- 7, 12)			- QCM-Soy bean (L- 11)		- AOAC Official method (2007) 985.29 (L- 7)
- 10 g (L-15)	De-H ₂ O, de-fat and de-sugar before analysis (L- 13)			- Conflake (L- 13)		
				- De fat-potato chip (L- 14)		
				- Dried wheat (L- 17)		

E. Sugars analysis

Sample weight g (lab #)	Pre-treatment, if any e.g., de-fat, de-sugar (lab #)	Extraction Reagents and conditions (lab #)	Instrument and detector e.g., HPLC-RI, ELSD (lab #)	Quality control sample (lab #)		Reference (lab #)
				Yes, specify	No	
- 1 g (L-9, 15) - 1-2 g (L-1) - 2 g (L-2, 16) - 5 g (L-3, 4, 11, 12, 14) - 2-3 g (L-13) - 7 g (L-8) - 5-20 g (L-2) - 10 g (L-17) - 25 g (L-7)	- De-fat (L-6, 8) - De-fat with petroleum ether (L-9, 17) - De-fat with hexane - dissolved first in warm water (L-15) - Not included (L-1, 2, 3, 4, 7, 11, 12, 13, 14, 16)	- 15% $K_4[Fe(CN_6)] \cdot 3H_2O$ and 30% $ZnSO_4 \cdot 7H_2O$ (L-1, 11, 9, 16, 17) - Carrez I and Carrez II (L-2) - Extract with hot water (L-3) - Extract with 60% ethanol at 80°C (L-4) - Extract with 85% ethanol at 60°C (L-6) - Water+ethanol 1:1 (L-12) - Extract with water at room temperature (L-8, 14) - Extract with water (L-15)	- HPLC-ELSD (L-1, 6) - HPLC-RI (L-3, 4, 8, 11, 12, 15) - Munson-Walker Gravimetric Method (L-14) - Titrate with Fehling solution (L-7)	- Cereal product, std sugars fructose, glucose, sucrose (L-1) - RM no. 644 European Commission (L-4) - Guava juice (6) - Cereal (Nesvita) (L-9) - QCM-Flour (L-11) - QC sample (L-12) - Dry milk (L-13) - Bread crumbs (L-14) - Cereal Soy (L-17)	L-2, 3, 7, 8, 15, 16 - No information (L-8)	- In house method based on AOAC (2006) 982.14 (L-1) - Compendium of Method for Food Analysis (2003) (L-2) - JAOAC (1992), Vol. 75, No3 , p.443 – 464 (L-3) - AOAC (2005.) 982.14 (L-4) - AOAC 982.14 (L-6) - AOAC 925.35 (B) (L-9) - AOAC (2005) 984.12 (L-11) - In-house method TM-CH-088 based on AOAC(2005), 982.14 (L-12) - AOAC(2005) 974.06 (L-13) - AOAC 2005, 925.35(B) (L-14) - Guideline for Aminex 87 C (L-15) - In-house method based on AOAC (2005) 950.50 (L-16) - AOAC(2005) 906.03, 925.35 (L-17) - None (L-7, 8)

F. Sodium and calcium analysis (except Lab 7)

Sample weight g (lab #)	Dry ashing or wet digestion (Temperature, chemical, time) (Lab #)	Measurement (AAS, ICP-OES, ICP-MS) (Lab #)	Quality control sample (Lab #)		References (Lab #)
			Yes	No	
- 0.5 g (L-2, 3, 12) - 1 g (L-1, 4, 6, 9, 10, 11, 13 (Na), 14, 15, 16) - 2 g (L-10, 13 (Ca), 17)	Wet digestion (L-1, 3, 7 (Na only), 11, 15) with - HNO ₃ + HCl (L-3) - HNO ₃ + HClO ₄ (L-1, 11, 15) - Conc HNO ₃ (L-7) at 60°C, 30 min → 120°C, 30 min → 150°C, 30 min → 180°C, 30 min → 200°C until clear solution (L-1) no detailed information (L-3, 7, 11, 15)	- ICP-OES (L-1, 2, 3, 13); - AAS (L-4, 6, 8, 9, 10, 11, 14, 15, 16, 17); - Titration, calculate for Na (L-7) - FAAS (L-12) - No report for Ca (L-7)	1. Used of RMs: Cereal product (L-1), Salted broad bean powder (INMU-17) (L-2), milk powder (L-6), soybean powder (L-9), QC check standard(L-10), QC sample (L-12), dry milk (L-13), မုန့်ထုတ်ကုန် (L-14), RM-Na/Ca for checking standard curve (L-15), SRM 1846 Infant formula (L-16), cereal soy (L-17)	L-3, 4	- In house method based on AOAC (2005) 999.10 (L-1) - AOAC (2005) 984.27 (L-2, 3) - AOAC (2005) 985.35 (L-4, 13) - AOAC 985.35 (L-6, 8, 9) - In-house method base on AOAC 2005,944.02 and Standard method for the examination of water and Waste water, 21st ed., 2005, Part 3500-Fe B (L-7) - AOAC (2005) 968.08 (L-11) - In-house method TM-CH-076 based on AOAC(2005),999.10 (L-12) - AOAC 975.03 (15) - In-house method based on AOAC (2005) 985.35 - AOAC(2006,)975.03 985.35
	Dry ashing (L-4, 6, 8, 9, 10, 13, 14, 16, 17) at 525°C (L-4, 10)/550°C (L-6, 9, 14, 16, 17); add HCl & CsCl (10-Na only)/1:1 HNO ₃ (L-14)/1:3 HCl+conc.HNO ₃ (L-16); for 2 h (L-14)/3 h (L-6, 17)/4 h (L-4, 9, 16)/ overnight (L-10), no information (L-8, 13) Microwave (L-2, 12) -HNO ₃ + H ₂ O ₂ (L-2) -Conc. HNO ₃ + H ₂ O ₂ → clear +add CsCl for Na)/add LaCl for Ca (L-12) Step1: 200 °C 1000 Watt, 10 min (L-2) Step2: 200 °C 1000 Watt, 20 min (L-2)		2. Use spiked sample with NaCl (L-7), method blank, duplicate analysis, % Recovery (L-10)		

G. Iron analysis

Sample weight g (lab #)	Dry ashing or wet digestion (Temperature, chemical, time) (lab #)	Measurement (AAS, ICP-OES, ICP-MS) (lab #)	Quality control sample (lab #)		References (lab #)
			Yes, specify	No	
- 0.5 g (L-2, 3, 12,) - 1 g (L-1, 6, 9, 14, 15) - 1 – 2 g (L-7)	Wet digestion (L-1, 3, 6, 11, 15,) with - HNO ₃ + HClO ₄ (L-1, 6, 11, 15) - HNO ₃ + HCl (L-3) At 60 °C, 30 min → 120 °C, 30 min → 150 °C, 30 min → 180 °C, 30 min → 200 °C until clear solution (L-1) 110 °C, 6 hrs (L-6)	ICP-OES (L-1, 2, 3, 6, 13) AAS (L-4, 8, 9, 10, 11, 12 (FAAS), 14, 15, 16, 17) Spectrophotometry (L-7)	1. Use of RMs: cereal product (L-1), salted broad bean powder-INMU 17 (L-2), QCS11 soybean powder (L-6), broad bean powder-BB (L-7), soybean powder (L-9), QC sample (L-12), dry milk (13), bread (L-14), RM-Fe for checking working curve (L-15), cereal soy (L-17) 2. Use duplicate analysis, %recovery, method blank CCS (L-10); duplicate and % recovery (L-16) No information (L-8, 11)	L-3, 4	- In house method based on AOAC (2005) 999.10 (L-1) - AOAC (2005) 999.10 (L-2) - AOAC (2005) 984.27 (L-3) - AOAC 985.35 (L-4) - AOAC 985.35 (AAS), 984.27 (ICP) (L-6) - In-house method base on AOAC 2005,944.02 and Standard method for the examination of water and Waste water, 21st ed., 2005, Part 3500-Fe B (L-7) - AOAC 985.35 (L-8, 9) - AOAC (2005) 968.08 (L-11) - In-house method TM-CH-076 based on AOAC(2005), 999.10 (L-12) - AOAC (2005) 985.35 (L-13) - AOAC 975.03 (L-15) - In-house method based on AOAC (2005) 985.35 (L-16) - AOAC (2006.) 975.03 985.35 (L-17)
- 2 g (L-10, 13, 17) - 3 g (L-16) - 5 g (L-4, 11)	Dry ashing (L-4, 7, 8, 9, 10, 13, 14, 16, 17) At 450 °C (L-10) 500 °C (L-16) 525 °C (L-4) 550 °C (L-9, 14, 17) 550 ± 5 °C (L-13) 600 ± 10 °C (L-7) With: HNO ₃ (L-4, 10, 13, 14) Conc.HNO ₃ (L-7) HCl (L-10, 16) Time: 2 hrs (L-14) 3 hrs (L-4, 16, 17) 4 hrs (L-8, 9, 13) Overnight (L-10) Microwave (L-2, 12) HNO ₃ + H ₂ O ₂ (L-2, 12) Step1: 200 °C 1000 Watt, 10 min (L-2) Step2: 200 °C 1000 Watt, 20 min (L-2)				

H. Vitamin B₁ analysis (no facilities: Lab 7 and Lab 14)

Sample weight g (lab #)	Extraction (lab #)	Determination (HPLC or other methods (please give detail)) (lab #)	Quality control sample (lab #)		Reference (lab #)
			Yes, specify	No	
- 0.5 g (L-13) - 1.5 g (L-8) - 2 g (L-6, 9) - 2-5 g (L-2) - 3 g (L-11, 16) - 5 g (L-1, 3, 4, 10, 12, 15) - No information (L-17)	- 0.1 M HCl filter with cellulose acetate filter (L-1) - 0.1 N HCl + heat + takadiastase, fluorescent derivatisation potassium hexacyano Ferratec III (oxidization of vitamin B1), extract to Isobutyl alcohol before injection to HPLC (L-2, 4, 11, 12, 17) - 0.1 N HCl + heat + enzyme takadiastase, pre-column oxidation by alkali potassium cyanide (L-3) - 0.1 N HCl + heat + enzyme takadiastase (L-6); acid digestion (1% formic acid), heat - incubate at 80°C, 30 min -, enzyme Taka-Amylase A. (L-10) - digest with H ₂ O+HClO ₄ , mixed for 1 h, add 6 M KOH, pH 3.3 ± 0.3, make up 25 ml , allow to cool and precipitate at 4-8 °C (L-15) - 0.1N HCl,+ heat, enzyme hydrolysis, pass through Bio-Rex 70 column (L-9); acid digestion (0.1N HCL), heat (autoclave 121°C, 15 min), enzyme digestion with Taka-diastase (45°C/ 3 hr) (L-16)	HPLC- Fluorescence detector (FLD), AQS C18, with post column oxidation using alkali ferrocyanide (K ₃ Fe(CN) ₆ in NaOH) (L-1, 6) Pre-column oxidation, then HPLC- Fluorescence Detector (L-2, 3, 4, 11, 12, 17); Determination by LC-MS, Mobile Phase A: 2.6 mL of HFBA + 50 mL ACN + 950 mL water B: 2.6 mL of HFBA + 500 mL water + 500 mL ACN (L-10); No step of thiamin oxidation, HPLC-UV, HAS (hexane sulfonate), MeOH (L-15) Spectrofluorometer: thiamin is oxidised to thiochrome, intensity of fluorescence was measured by spectrofluorometer, proportional to thiamin concentration (L-8, 9, 13, 16);	Cereal product (L-1), Milk powder (L-3, 16), SRM 1846 (L-4), QCM 16 (L-6), Brown rice (L-9), Instrument blank Solvent blank Sample duplicate (L-10), QCM-Milk (L-11), CerealSoy (L-17)	None (L-2, 8, 12, 15) no information (L-13)	- (1) J.Cromatography A, 2000, 881, 267-284. (2) Water-soluble Vitamin Analysis in Human Nutrition, Chapman & Hall, London, Tokyo, Melbourne. First edition, 1994 ISBN 0412583704 (3) Food Chemistry, 2008, 106, 1209-1217(L-1) - AOAC (2005) 942.23 (L-2) - Food Chem (1996), Vol. 65, No. 1, P. 81-86 (L-3) - AOAC (2005) 942.23 (L-4) - AOAC 942.23, 957.17 Reference: 1. AOAC (1995) Thiamine Fluorometric methods 942.23 Ch 45 pp.6-7, 957.17 Ch 45 pp.8-9. 2. Wehling RL and Wetzel DL (1984) JAgric Food Chem 32, 1326-1331. 3. Wimalasiri P and Wills RBH (1985) J Chromatography 318, 412-416. (L-6) - AOAC 986.27 (L-8, 9) - JAOAC (1995) Vol.76 No. 5 (L-11) - In-house method TM-CH-005 based on AOAC(2005), 986.27 (L-12) - AOAC(2005) 942.23/970.65 (L-13) - Journal AOAC, Vol. 75, No.3, 1992 (L-15) - AOAC (2005) 942.23 and 953.17 (L-16) - No information (L-10, 17)

I. Vitamin B₂ (no facilities: L-7, L-14)

Sample weight g (lab #)	Extraction (lab #)	Determination (HPLC or other methods (please give detail) (lab #)	Quality control sample (lab #)	
			Yes, specify	No
- 0.5 g (L-13)	- Diluted HCl, filter through cellulose acetate, inject to HPLC (L-1);	- HPLC-FLD: Column : AQS C18, mobile phase : H ₂ O : ACN : MeOH (80 : 10 : 10) (L-1)	- Cereal product (L-1)	- L-2, 12, 15
- 1.5 g (L-9)	- 0.1 N HCl + heat + Takadiastase (L-2, 3, 4, 6, 11, 12, 17)	- HPLC FLD, mobile phase : MeOH : H ₂ O = 50 : 50 (L-2)	- milk powder (L-3)	- No information (L-8)
- 2 g (L-6, 10)	- Digest with 1% Formic acid, at 80°C, 30 min; filter with filter paper no. 541 (L-10)	- HPLC- FLD, Column : Restek C18, mobile phase : 30% methanol, Inertsil ODS-3 (L-3)	- SRM 1849 (L-4)	
- 2 – 5 g (L-2)	- Digest with H ₂ O+HClO ₄ same as vit B1 (L-15)	- HPLC – FLD, Column : µBondapak C, mobile phase : MeOH/H ₂ O (L-4)	- QCM 16 (L-6)	
- 3 g (L-11, 16)	- 0.1 N HCl (L-8)	- HPLC, FLD (L-6)	- Soybean flour (L-9)	
- 5 g (L-1, 3, 4, 12, 15)	- 0.1N HCl, remove Interference by KMnO ₄ (L-9)	- No information, suspect by LC-MS (L-10)	- Spike matrix sample (L-10)	
- no information (L-17)	- 0.1 N HCl + heat + enzyme hydrolysis and purification oxidation (L-13)	- HPLC-FLD, column: µBondapak C18, mobile phase - : 0.5 NaOAc:H ₂ O, 70:30 (L-11)	- QCM-Milk (L-11)	
	- Digestion with 0.1N HCL/ autoclave 121°C, 30 min (L-16)	- HPLC, HSA, MeOH (L-15)	- QC Spike (L-13)	
		- HPLC (L-17)	- Milk powder (In-house-QC sample) (L-16)	
		- Measure fluorescence by Spectrofluorometer (L-8, 9, 13, 16)	- Cereal soy (L-17)	
				- (1) Food Chemistry, 2008, 106, 1209-1217. (2) Water-soluble Vitamin Analysis in Human Nutrition, Chapman & Hall, London, Tokyo, Melbourne. First edition, 1994 ISBN 0412583704 (L-1) - J. Agric Food Chem (1984) (L-2) - Food Chem (1996), Vol. 65, No. 1, P. 81-86 (L-3) - AOAC (2005) 970.65 (L-4) - AOAC 942.23, 957.17 - Reference: 1. AOAC (1995) Thiamine Fluorometric methods 942.23 Ch 45 pp.6-7, 957.17 Ch 45 pp.8-9. 2. Wehling RL and Wetzel DL (1984) JAgri Food Chem 32, 1326-1331. 3. Wimalasiri P and Wills RBH (1985) J Chromatography 318, 412-416.(L-6) - AOAC 2005, 925.10 (L-7) - AOAC 970.65 (L-8, 9) - JAOAC (1995) Vol.76 No. 5 (L-11) - TM-CH-021 based on J.chromatogr.A 795(1998) (L-12) - AOAC2005) 942.23/970.65 (L-13) - Journal AOAC, Vol. 75, No.3, 1992 (L-15) - In-house method based on AOAC (2005) 970.65 (L-16)

J. Moisture analysis

Sample weight g (lab #)	Temperature of oven (°C) (lab #)	Period for drying (h) (lab #)	Instrument for drying (lab #)	Quality control system (lab #)		References (lab #)
				Yes, specify	No	
- 2 g (L-1, 2, 3, 4, 6, 7, 9, 10, 11, 12, 14, 15, 16)	- Hot air oven: Temperature: - 100 °C (L-6) - 103 °C (L-13, 17) - 125 °C (L-2) - 130 °C (L-4) - 130 ± 3 °C (L-7, 11) - 135 ± 2 °C (L-15)	- 1 hr (L-4, 11) - 2 hrs (L-2, 15) - 4 hrs (L-6, 13) - 5 hrs (L-3, 8, 10, 12, 16)	- Hot air Oven (L-2, 4, 6, 11, 13, 15, 17) - Vacuum oven (L- 3, 8, 10, 12, 16)	- Cereal product (L-1) - QCM 10 (L-6) - Salted broad bean (L-7); - Soy bean powder (L-9) - Conflake (L-13) - Cereal soy (L-17) - Duplicate sample (L-10)	L-2, 3, 4, 12, 14, 15, 16	- In house method based on AOAC (2008) 925.45 (L-1) - AOAC (2005) 950.46 B (L-2) - AOAC (2005) 925.09 (L- 3, 12, 16) - AOAC (2005) 925.10 (L- 4, 7, 11, 13) - AOAC 952.08 (L-6) - AOAC 925.40 (L-8) - AOAC 925.10 (L-9) - In-house method based on AOAC (2007) 934.01 (L-10) - AOAC (2005) 945.15 (L- 14) - AOAC 930.15 (L-15) - AOAC (2005) 925.40 (L- 17)
- 1.5 – 2 (L- 17) - 2 – 5 g (L- 13)	- Vacuum oven: Temperature: - 95-100°C (L-3, 10) - 100°C, 100 mmHg (L-8) - 100°C/133 mbar (L- 12) - 98 – 100 °C (L-16) - non specific instrument - 100 ± 2 °C (L-14) - 105 °C (L-1)					

K. Ash analysis

Sample weight g (lab #)	Pre-treatment (drying, charring) (lab #)	Temperature (°C)/time (min) (lab #)	Instrument / Measurement (lab #)	Quality control sample (lab #)		References (lab #)
				yes	No	
- 1-2g (L-1, 3, 6, 9, 15, 17)	Charring (L-1, 3, 4, 8, 14, 16)	Temperature: - 540 ± 10 °C (L- 15)	Muffle Furnace - All (L-1-17)/ Gravimetric Method	- Cereal product (L-1)	L- 2, 7, 8, 10, 12, 15, 16	- In house method based on AOAC (2008) 938.08 (L-1)
- 3 g (L-2, 4, 8, 10, 11, 12, 14)	Charring on a hot plate (L-2, 6, 7, 9, 10, 11, 13)	- 550 °C (L-1, 2, 3, 4, 6, 9, 10, 11, 12, 14, 16, 17)		- Full Fat Soy Flour (L-3)		- AOAC (2005) 920.153 (L-2)
- 2-5 g (L-13)		- 550 ± 5 °C (L- 13)		- Flour (L-4)		- AOAC (2005) 923.03 (L-3, 4, 7, 11, 12, 13)
- 3-5 g (L-7, 16)		- 550 ± 10 °C (L- 7)		- QCM 10 (L-6)		- AOAC 930.30 (L-6, 9, 15)
		- 525 °C (L-8)		- Soy bean powder (L-9)		- In-house method based on AOAC (2005) 923.03 (L-16)
				- QCM-Soybean (L-11)		- In-house method based on AOAC Official method 923.03 (2007) (L-10)
				- Cornflake (L-13)		- AOAC 950.49 (L-8)
				- Wheat flour (L-14)		- AOAC 2005, 935.39 (L-14)
				- Cereal Soy (L-17)		- AOAC(2005) 950.49 (L-17)

การประชุมปรึกษาวิชาการ (Technical Meeting) ครั้งที่ 1

โครงการประเมินความชำนาญของห้องปฏิบัติการวิเคราะห์
สารอาหาร ในการจัดทำฉลากโภชนาการ

(Development of reference materials and their uses for
evaluation of laboratory performance on nutrition labeling
evaluation and production

วันจันทร์ ที่ 29 มีนาคม พ.ศ. 2553

ณ ห้องประชุมชั้น 2 สถาบันโภชนาการ
มหาวิทยาลัยมหิดล ศาลายา พุทธมณฑล นครปฐม

การประชุมปรึกษาวิชาการ (Technical Meeting)

โครงการประเมินความชำนาญของห้องปฏิบัติการ
วิเคราะห์สารอาหาร ในการจัดทำฉลากโภชนาการ(PT-9)

ครรชิต จุดประสงค์, ประภาศรี ภูวเสถียร,
จิรพิชชา บุญพอ, นฤมล ปิ่นประไพ,

วันจันทร์ ที่ 29 มีนาคม พ.ศ. 2553

ณ ห้องประชุมชั้น 2 สถาบันโภชนาการ
มหาวิทยาลัยมหิดล ศาลายา พุทธมณฑล นครปฐม



สถาบันโภชนาการ มหาวิทยาลัยมหิดล

ต. ศาลายา อ.พุทธมณฑล จ.นครปฐม 73170

ที่ ศร 0517.21(2)/359

วันที่ 22 มีนาคม 2553

เรื่อง การประชุมวิชาการหลังการประเมินความชำนาญของห้องปฏิบัติการในการจัดทำข้อมูลโภชนาการ และการวิเคราะห์สารอาหารบังคับ

เรียน หัวหน้าห้องปฏิบัติการที่เข้าร่วมโครงการ

สิ่งที่ส่งมาด้วย ผลการประเมินเบื้องต้น (Preliminary study)

ตามที่ห้องปฏิบัติการของท่านได้เข้าร่วมกิจกรรมทดสอบความชำนาญของห้องปฏิบัติการวิเคราะห์สารอาหาร เพื่อจัดทำฉลากโภชนาการ ครั้งที่ 9/1 ซึ่งจัดโดยสถาบันโภชนาการมหาวิทยาลัยมหิดล และตามจดหมายที่ รศ. ดร. ประภาศรี ภูวเสถียร เชิญประชุมไปแล้ว (ลงวันที่ 18 มีนาคม 2553) นั้น ซึ่งได้เชิญตัวแทนจากห้องปฏิบัติของท่านเข้าร่วมประชุม Technical Meeting ในวันจันทร์ที่ 29 มีนาคม พ.ศ. 2553 ณ ห้องประชุมชั้น 2 สถาบันโภชนาการ มหาวิทยาลัยมหิดล เพื่อแจ้งผลเบื้องต้นของการประเมินความชำนาญของห้องปฏิบัติการในการจัดทำและการแสดงข้อมูลโภชนาการบนฉลาก และการวิเคราะห์สารอาหารบังคับในการจัดทำฉลากโภชนาการ เพื่อเสนอปัญหาที่พบ (ได้แก่ การกำหนดและแสดงปริมาณหนึ่งหน่วยบริโภค จำนวนหน่วยบริโภคต่อ.... การเตรียมตัวอย่าง การวิเคราะห์ใยอาหาร น้ำตาล และวิตามิน) ทบทวนการจัดทำข้อมูล วิธีวิเคราะห์และปรึกษาร่วมกัน เพื่อหาแนวทางแก้ไขปัญหา

ผลการประเมินความสามารถของห้องปฏิบัติการเบื้องต้น ได้ดำเนินการเสร็จเรียบร้อยแล้ว (เอกสารแนบท้าย) ขอให้ท่านตรวจสอบข้อมูลผลการวิเคราะห์ในแต่ละสารอาหารว่าถูกต้องหรือไม่ ถ้ามีข้อผิดพลาดขอให้แจ้งกลับด้วย สำหรับการประเมินฉลากนั้นจะดำเนินการจัดให้ในวันประชุมดังกล่าวข้างต้น

และเพื่อให้เกิดประโยชน์สูงสุดสำหรับการประชุม สถาบันจึงขอเชิญผู้แทนจากหน่วยงานท่าน เข้าร่วมประชุม จำนวน 3 ท่าน โดยไม่เสียค่าใช้จ่าย โดยขอให้คัดเลือกผู้ที่เกี่ยวข้องกับการวิเคราะห์ใยอาหาร น้ำตาล และวิตามิน และผู้ที่ทำหน้าที่ในการประเมินฉลากโภชนาการมาร่วมอภิปรายด้วย นอกจากนั้นขอให้ท่าน นำสำเนาเอกสารอ้างอิง ที่ท่านใช้ในการวิเคราะห์สารอาหารทั้ง 3 มาประกอบการอภิปรายด้วย ดังนั้นผมขอให้ท่านแจ้งรายชื่อผู้ที่จะเข้าร่วมประชุมมาใหม่ยัง อ.ครรชิต จุตประสงค์ E-mail address: nukjp@mahidol.ac.th โทรศัพท์ 02-800-2380 ต่อ 324 หรือ 303 ภายในวันที่ 25 มกราคม พ.ศ. 2553

จึงเรียนมาเพื่อโปรดทราบ และดำเนินการ

ขอแสดงความนับถือ

(นายครรชิต จุตประสงค์)

โทรศัพท์ 0-2800-2380 ต่อ 324, 303

ใบสมัครเข้าร่วมประชุมปรึกษาวิชาการ
โครงการพัฒนาคุณภาพการวิเคราะห์สารอาหาร เพื่อการจัดทำฉลากโภชนาการ
วันที่ 29 มีนาคม 2553
ณ ห้องประชุมชั้น 2 สถาบันโภชนาการ มหาวิทยาลัยมหิดล

ชื่อ

หน่วยงานและที่อยู่ติดต่อ

.....
.....
.....
.....

โทรศัพท์.....โทรสาร.....e-mail

ขอส่งรายชื่อผู้เข้าร่วมประชุมดังนี้

ชื่อผู้สมัคร	งานวิเคราะห์ที่รับผิดชอบ
1.	Dietary Fibre
2	Sugars
3.	Vitamin B1

ควรขีด จุดประสงค์

โทรศัพท์ : 02 800 2380 ต่อ 324, 303

โทรสาร : 02 441-9344

e-mail: nukjp@mahidol.ac.th>

กำหนดการประชุม Technical Meeting
การประเมินความชำนาญของห้องปฏิบัติการวิเคราะห์สารอาหาร ในการจัดทำฉลาก
โภชนาการ (ครั้งที่ 9/1)

วันจันทร์ ที่ 29 มีนาคม พ.ศ. 2553

ณ ห้องประชุมชั้น 2 สถาบันโภชนาการ มหาวิทยาลัยมหิดล ศาลายา

เวลา	กิจกรรม	วิทยากร
8.30 – 9.00 น.	ลงทะเบียน	
9.00 – 10.00 น.	โครงการ PT-9 สถานะภาพความชำนาญในการจัดทำข้อมูลฉลากโภชนาการ (Nutrition Information) ปัญหาที่พบ ทบทวนการจัดทำข้อมูล ถาม-ตอบปัญหา	ประภาศรี
10.00 – 10.20 น.	พักรับประทานอาหารว่าง	
10.20 – 12.00 น.	Preparation of sample (by INMU and by participants)	จิรพิชชา
	Homogeneity testing	ควรจิต
	Assigned values of mandatory nutrients	ควรจิต
	สถานะภาพความชำนาญในการวิเคราะห์สารอาหารบังคับ (ผลการประเมินเบื้องต้น)	ควรจิต ประภาศรี
12.00 – 13.00 น.	พักรับประทานอาหารกลางวัน	
13.00 – 14.30 น.	สถานะภาพความชำนาญในการวิเคราะห์สารอาหารบังคับ (ผลการประเมินเบื้องต้น) (ต่อ) ปัญหาที่พบ	ควรจิต ประภาศรี
14.30 – 14.50 น.	พักรับประทานอาหารว่าง	
14.50 - 16.00 น.	ทบทวนวิธีวิเคราะห์สารอาหารที่มีปัญหา (dietary fibre, sugars, vitamin B1) และแนวทางแก้ไข	พงศธร ควรจิต นฤมล
16.00 – 17.00 น.	สรุปแนวทางแก้ไข และปรับปรุงสถานะภาพ ถาม-ตอบปัญหา ปิดการประชุม	ประภาศรี ประไพศรี พงศธร ควรจิต ผู้แทนจาก Thai FDA

ทีมผู้อภิปราย ร่วมอภิปรายและให้ข้อมูล

รองศาสตราจารย์ ดร. ประภาศรี ภูวเสถียร

รองศาสตราจารย์ ดร. พงศธร สังข์เผือก

อาจารย์นฤมล ปิ่นประไพ

ดร. ควรจิต จุดประสงค์

รองศาสตราจารย์ ดร. ประไพศรี ศิริจักรวาล

นางสาวจิรพิชชา บุญพอ

รายชื่อผู้เข้าร่วมประชุม Technical Meeting
การประเมินความชำนาญของห้องปฏิบัติการวิเคราะห์สารอาหาร เพื่อจัดทำฉลากโภชนาการ ครั้งที่ 9/1
วันจันทร์ ที่ 29 มีนาคม พ.ศ. 2553
ณ ห้องประชุมชั้น 2 สถาบันโภชนาการ มหาวิทยาลัยมหิดล ศาลายา

ลำดับที่	รายชื่อ/หน่วยงาน	สารอาหารที่วิเคราะห์	ลายเซ็น
	สถาบันโภชนาการ ม.มหิดล		
1	ประภาศรี ภูวเสถียร		
2	ประไพศรี ศิริจักรวาล		
3	ครรชิต จุดประสงค์		
4	พงศธร สังข์เผือก	Dietary Fibre	
5	ยุพาพร นาคงามอนงค์	Sugars	
6	นฤมล ปิ่นประไพ	Vitamin B1	
7	จิรพิชชา บุญพอ		
8	ศิริพร ตันจ่อ		
	โครงการวิทยาศาสตร์ชีวภาพ กรมวิทยาศาสตร์บริการ		
9	นิภาพร ชนะคช		
10	กมลกาญจน์ จัญกาญจน์		
11	กลุ่มวิจัยอาหารเพื่อโภชนาการ สำนักโภชนาการ		
12	วาริทิพย์ พึ่งพันธ์	Dietary Fiber	
13	จุฑารัตน์ สุภาณุวัฒน์	Sugars	
14	ปิยนันท์ อึ้งทรงธรรม	Vitamin B1	
	สำนักคุณภาพและความปลอดภัยของอาหาร กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์		
15	จริญ นุ่มเอียด	Dietary Fibre	
16	อภิษฎา ประสพรัตนชัย	Sugars	
17	อรุณี ดนุดล	Vitamin B1	
	กองอาหารและยา		
18	รัชดา พงศ์รุจิกร		
19	พิมลพรรณ ปุชกะวิมล		
20	วิรัตน์ดา ดวงใจ		

	ห้องปฏิบัติการกลาง (ประเทศไทย) สาขากรุงเทพฯ		
21	ชม้อย ทองลื้อ		
22	คงพันธ์ จีรวงศาโรจน์		
23	ธนิดา พิมพ์มา		
	ห้องปฏิบัติการกลาง (ประเทศไทย) สาขาสมุทรสาคร		
24	สมชัย ปรีชา		
25	นงลักษณ์ อติศักดิ์สกุล		
26	น้ำผึ้ง กำไรมาก		
	สถาบันอาหาร		
27	มยุรี ลีลาวชิโรภาส		
	สถาบันค้นคว้าและพัฒนาผลิตภัณฑ์อาหาร ม.เกษตรศาสตร์		
28	เปรมรัตน์ จิตหาญ	จัดทำข้อมูลฉลาก	
29	สุดารัตน์ ดั่งวงเพ็อง	Sugars	
30	กรทิพย์ บุญมี	Vitamin B1	
	สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย		
31	อริศา สุขวี	Dietary Fibre	
	ALS Laboratory Group (Thailand) Co., Ltd.		
32	ทัศนีย์ รัตนกุลดวงศ์	อนุผลิตภัณฑ์ Proximate , Vitamin , Dietary Fibre และ Sugars และ คำนวณฉลาก โภชนาการ	
33	สุมาลี จันทะ		
	บริษัท ไทยอกริฟูดส์ จำกัด		
34	Suwann thongnium		
35	Poonisa Terprakon		
	บริษัท รับตรวจสินค้าโพ้นทะเล จำกัด		
36	ขวัญเรือน ทุมทอง	Dietary Fibre	
37	กมล เหลือวิชา	Sugars	
38	สงกรานต์ ชิกะกุล	Vitamin B1	

	บริษัท แอนาไลติคอล ลาบอราทอรีส์ เซอร์วิส จำกัด		
39	วีไล ภัทรปัญญากุล	Dietary Fibre	
40	ผกากรอง ธรรมโคตร	Sugars	
41	บุญรัตน์ อินสุภา	Vitamin B1	
	บริษัท เคมแล็บ เซอร์วิสเชส ประเทศไทย จำกัด		
42	กาญจนา สุทธิอาคาร	Dietary Fibre	
43	วรรณา ทวนดำ	Sugars	
44	อรัญญ์ จิโรจน์กุล	Vitamin B1	
	บริษัท เอส จี เอส (ประเทศไทย) จำกัด		
45	Chin Chaothaworn		
46	Siriruk Kamonwiboon		
47	Kanogkarn Thongluang		
	บริษัท เข้าท์อีสต์เอเชียแลบอราทอรีส์ จำกัด		
48	กรกช ไหยหวล	Dietary Fibre & Vitamin B1	
49	สุภาวดี วิจารณ์	Sugars	
	บริษัท ศูนย์ปฏิบัติการและวิจัยทางการแพทย์และเกษตรแห่งเอเชีย จำกัด		
50	โนรี ผดุงชาติ	Dietary Fibre	
51	รัชรินทร์ กาญจนรัตน์	Sugars, Vitamin B1	
52	ณัฏฐา สีแก้วน้ำใส	ผู้ประเมินฉลาก	

เอกสารประกอบการประชุม PT-9 Technical Meeting

สถานะภาพความชำนาญของห้องปฏิบัติการในการ
วิเคราะห์สารอาหาร (ผลการประเมินเบื้องต้น)

ครรชิต จุดประสงค์, ประภาศรี ภูวเสถียร,
จิรพิชชา บุญพอ, นฤมล ปิ่นประไพ,

วันจันทร์ ที่ 29 มีนาคม พ.ศ. 2553

ณ ห้องประชุมชั้น 2 สถาบันโภชนาการ
มหาวิทยาลัยมหิดล ศาลายา พุทธมณฑล นครปฐม

การประชุม PT-9 Technical Meeting (วันจันทร์ ที่ 29 มีนาคม พ.ศ. 2553)



**โครงการพัฒนาและประเมินสถานภาพห้องปฏิบัติการ
วิเคราะห์สารอาหาร เพื่อจัดทำฉลากโภชนาการ**

PT-9 Technical meeting

ประภาศรี ภูวเสถียร, กรรชิต จุฑประสงค์,
ประไพศรี ศิริจักรวาล, พงศธร สังข์เผือก,
นฤมล ปิ่นประไพ, จิรพิชชา บุญพอ

สถาบันโภชนาการ มหาวิทยาลัยมหิดล

29 มีนาคม 2553

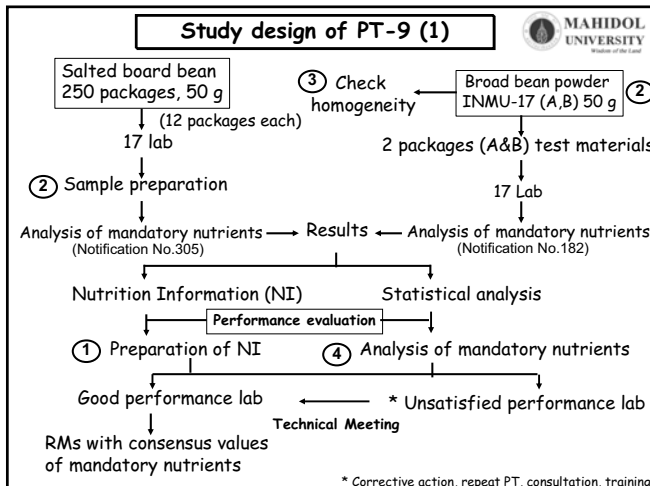


Laboratory-performance study: Round 9-1 (2010)

Objective:

To evaluate laboratory performance on

1. preparation of nutrition information
2. analysis of mandatory nutrients for NL





**สถานภาพความชำนาญในการจัดทำข้อมูลโภชนาการ
(Nutrition Information)**

- รูปแบบการแสดงผลฉลากโภชนาการ
- หนึ่งหน่วยบริโภคและจำนวนหน่วยบริโภคต่อซอง
- การคำนวณและการแสดงปริมาณพลังงานและสารอาหารต่อหนึ่งหน่วยบริโภคและร้อยละของปริมาณที่แนะนำต่อวัน
- สรุปผลต่อภาพรวมของข้อมูลบนฉลากโภชนาการ



**ข้อมูลโภชนาการ:
รูปแบบการแสดงผลฉลากโภชนาการ**

รูปแบบฉลากโภชนาการ	จำนวน Lab (17)	หมายเหตุ
ถูกต้อง ☺	15	
ไม่ถูกต้อง ☹	2	☹ ฉบับย่อ ตามประกาศ 305 มี sat fat, cholesterol และ fibre ในฉลาก ☹ ฉบับเต็ม ตามประกาศ 182 ใช้ Nutrition Fact

หมายเหตุ: ผลจาก report ฉบับแรกก่อนการแก้ไข



**ข้อมูลโภชนาการ:
หนึ่งหน่วยบริโภคและจำนวนหน่วยบริโภคต่อซอง**

หนึ่งหน่วยบริโภค	จำนวนหน่วยบริโภคต่อซอง*	จำนวน Lab (17)
1/2 ซอง (25 กรัม) ☺	2	7 (41%)
1 ซอง (50 กรัม) ☹	1	2
50 กรัม ☹	1	3
30 กรัม ☹	ประมาณ 2, ประมาณ 2 ครั้ง, 1.7	3
1/2 ซอง (30 กรัม) ☹	ประมาณ 2	1
1/3 ถด (30 กรัม) ☹	ประมาณ 2	1
	* จำนวนหน่วยบริโภคต่อภาชนะบรรจุ ☹	1

หมายเหตุ: ผลจาก report ฉบับแรกก่อนการแก้ไข

การประชุม PT-9 Technical Meeting (วันจันทร์ ที่ 29 มีนาคม พ.ศ. 2553)

ข้อมูลโภชนาการ:			
การคำนวณและแสดงปริมาณพลังงานและสารอาหารต่อ หนึ่งหน่วยบริโภคและร้อยละของปริมาณที่แนะนำต่อวัน			
ต่อหนึ่งหน่วยบริโภค	จำนวน Lab (17)	ร้อยละของปริมาณที่แนะนำต่อ วัน	จำนวน Lab (17)
ถูกต้องหมด ☺	15		15 (88%)
ผิด ☹			
1 สารอาหาร (บัตเลซมิด)	4	Sat fat (5.5→5 ควรเป็น 6) → Sat fat	
1 สารอาหาร (ค่านวมมิด)	Protein		
		คำนวณน้ำตาลและโปรตีน แต่ไม่ได้แสดงบนฉลาก	2
ข้อมูลพลังงานไม่สอดคล้องกัน*	5		

Thai Notification No. 305 (2007)

Salted broad bean: Nutrients per serving: $\frac{1}{2}$ bag (25 g)



**MAHIDOL
UNIVERSITY**
มหาวิทยาลัยมหิดล

Lab/ Nutrient	1C C	2	3C	4C	5C	6	7C C	8C	9	10 CC	11 CC	12	13 C	14	15C CC	16	17
Total energy	130	130	130/ 120	130	130	130	140	130	130	130	130	130	130	130	120	130	130
Total fat	7	7	6	7	7	7	8	7	7	7	7	7	7	7	6	7	7
Protein	6	5	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	7	6	5	6	5
CHO	11	11	11	11	11	11	10	11	11	11	11	11	10	11	12	10	11
Sugars	0	<1	0	0	<1	0	2	0	<1	<1	0	0	<1	<1	0	<1	<1
Na	100	105	85	120	95	105	85	80	90	100	95	160	105	95	95	80	105

Note: Lab No.5 and 7: nutrient per serving calculated by PTP

☐ Data corrected by PTP
☐ Minimum value
☐ Maximum value

C = correction

○ = unsatisfied results

Thai Notification 305 (2007)

Salted broad bean: % Thai RDI



MAHIDOL
UNIVERSITY
Wisdom of the Land

Lab	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17
Nutrients																	
Total fat	11	11	9	11	11	11	12	11	11	11	11	11	11	11	9	11	11
CHO	4	4	4	4	4	4	3	4	4	4	4	4	3	4	4	3	4
Na	4	4	4	6	4	4	4	3	4	4	4	7	4	4	4	3	4

○ = unsatisfied results

□ Minimum value

□ Maximum value

Thai Notification 182 (1998)

Broad bean powder: Nutrients per serving

Lab Nutrients	1C C	2	3C	4C	5C	6	7C C	8C	9	10 CC	11 CC	12	13 C	14	15C CC	16	17
Total energy	130	130	130/120	130	130	130	130	130	130	130	130	130	130	130	130	120/130	130
E form fat	60	60	60/60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	70/60	60
Total fat	7	7	6	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7
Sat fat	3	3.5	2.5	3	3	3	-	-	3	3	3	3	3	3	2.5	3	3.5
Trans fat	0	0	0	0	-	0	-	0	-	0	-	0	0	-	-	0	0
Prot.	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
CHO	11	11	11	11	11	11	10	10	11	11	11	11	11	11	11	10	11
Dietary Fibre	2	2	3	2	2	3	-	4	3	3	2	2	2	2	2	3	2
Sugars	0	<1	0	0	<1	0	2	0	<1	<1	0	0	<1	<1	0	<1	<1
Na	115	110	100	150	120	115	105	110	110	120	110	150	120	115	125	100	120

☐ Data corrected by PTP ☐ Minimum value ☐ Maximum value

○ = unsatisfied results

 MAHIDOL UNIVERSITY Walailak of the Land Thai Notification 182 (1998) Broad bean powder: % Thai RDI																	
Lab	1C C	2	3 C	4C	5 C	6	7C C	8C	9	10C C	11 CC	12	13C	14	15C CC	16	17
Nutrients																	
Total fat	11	11	9	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11	11
Sat fat	15	18	13	15	15	15	-	-	15	15	15	15	15	15	13	15	18
CHO	4	4	4	4	4	4	3	4	4	4	4	4	4	4	4	3	4
Dietary fibre	8	8	12	8	8	12	-	16	12	12	8	8	8	8	12	8	8
Na	5	5	4	6	5	5	4	5	5	5	5	6	5	5	5	4	5
Vit. B1	4	2	4	0/ 2	4	4	-	4	4	10	4	2	6	-	20	4	2
Vit. B2	0	4	0	<2	2	0	-	4	6	0	0	0	4	-	2	4	0
Ca	0	0	0	<2	0	0	-	0	0	<2	0	0	0	0	<2	0	0
Fe	6	4	4	6	4	6	-	6	4	6	4	4	6	6	4	4	4

[illegible]

การประชุม PT-9 Technical Meeting (วันจันทร์ ที่ 29 มีนาคม พ.ศ. 2553)

MAHIDOL UNIVERSITY

สถานะภาพความชำนาญของห้องปฏิบัติการในการ
วิเคราะห์สารอาหารบังคับบนฉลากโภชนาการ
(ผลการประเมินเบื้องต้น)

ครรชิต จุฑประสงค์, ประกาศรี ภูวเสถียร,
จิรพิชชา บุญพอ

สถาบันโภชนาการ มหาวิทยาลัยมหิดล

PT-9 Technical meeting, 29 March 2010

1

MAHIDOL UNIVERSITY

Outline

- Sample preparation: จิรพิชชา บุญพอ
- Homogeneity testing (broad bean powder):
 - Within sample variation
 - Between samples variation
- Stability testing (broad bean powder)
- Evaluation of analytical performance: analysis of mandatory nutrients for nutrition labeling

ครรชิต

2

MAHIDOL UNIVERSITY

Laboratory performance on analysis of mandatory nutrients for NL

Sample preparation:

- by PTP - INMU
- by participants

3

MAHIDOL UNIVERSITY

Preparation of test samples

1. Commercial package



Salted broad bean

50 g

Random sampling

12 packages

Prepared by each lab

2. Candidate RM



INMU-17

10 kg

Broad bean powder

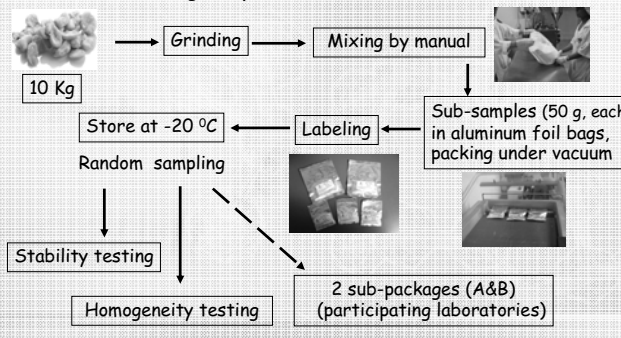
50 g, each

427

MAHIDOL UNIVERSITY

Preparation of test samples by INMU

Candidate RM: homogeneity



10 Kg

Grinding

Mixing by manual

Labeling

Sub-samples (50 g, each) in aluminum foil bags, packing under vacuum

Store at -20 °C

Random sampling

Stability testing

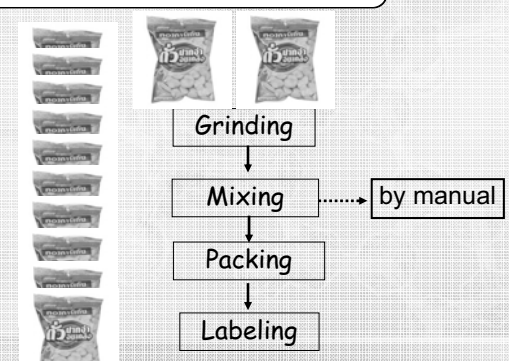
Homogeneity testing

2 sub-packages (A&B) (participating laboratories)

5

MAHIDOL UNIVERSITY

Preparation of test samples by participating laboratories



Grinding

Mixing by manual

Packing

Labeling

6

การประชุม PT-9 Technical Meeting (วันจันทร์ ที่ 29 มีนาคม พ.ศ. 2553)

Preparation of test samples by participating laboratories

จำนวนตัวอย่างที่ใช้	จำนวน Lab (17)
12 ถุง ☺	10
11 ถุง	4
10 ถุง	3
Sieve, mesh No. 10 (2.00 mm)	1

7

Outline

- Sample preparation: จีรพิชชา บุญพอ
- Homogeneity testing (broad bean powder):
 - Within sample variation
 - Between samples variation
- Stability testing (broad bean powder)
- Evaluation of analytical performance: analysis of mandatory nutrients for nutrition labeling

ครรชิต

8

Homogeneity and stability testing

Salted broad bean
↓
Grinding

Broad bean powder - INMU-17
packed under vacuum in aluminum foil bags, 50 g each.

1. Testing for homogeneity: moisture, total N, total fat, dietary fibre, Na and vitamin B₁
Duplicate analysis of 10 random test materials on the same day, using the same conditions, by the same analyst.
2. Checking for stability of nutrients: moisture and vitamin B₁ at 0-24 month

Reanalyse in 5 randomly selected samples at specified storage period

If the obtained values are in the range of mean $\pm$ 2SD derived from the homogeneity study or at 0 day storage moisture and vitamin B₁ in the samples is stable

9

Statistical analysis: sample homogeneity

1. Within sample variation: Cochran's maximum range test
2. Between samples variation: based on

2.1 ISO guide 35 (2006): One-Way ANOVA

$F_{\text{calculation}} (\text{MSB}/\text{MSW}) < \text{Critical } F_{\text{value}}$

2.2 ISO 13528 (2010): $s_s \leq 0.3\hat{\sigma}$

2.3 %CV

RSD/RSD_p, HORRAT ratio = 0.3-1.3

"Samples are sufficient homogeneous" - the differences between test items will not affect the between laboratory results

MSB: Mean square between, MSW: Mean square within, s_s : Between-samples standard deviation, σ : Target standard deviation, RSD_p: Target relative standard deviation

10

1. Within sample variation

No.	Total protein (g/100 g)			R/R-total
	A	B	range ² (R)	
1	22.48	22.68	0.040	0.03
2	22.44	22.42	0.000	0.00
3	22.57	22.76	0.036	0.02
4	22.54	22.65	0.012	0.01
5	22.85	22.74	0.012	0.01
6	22.85	22.11	0.548	0.35
7	22.80	22.68	0.014	0.01
8	22.83	22.61	0.048	0.03
9	22.80	21.97	0.689	0.44
10	23.01	22.59	0.176	0.11
R Total			1.576	
N			10	
Cochran critical value ^(a) at 95% confidence level			0.602	
			pass	

Cochran's maximum range test

$R/R\text{-total} < \text{Cochran critical value}$
= pass

Analysts who performed the testing has good precision

variation due to analyst will not affect between test items results

^(a)Critical value for Cochran's maximum range test for 10 sets of data, number of results per set (n) = 2
Ref: ISO 5725-1981: Precision of test methods - Determination of repeatability and reproducibility by interlaboratory tests

11

2. Between samples variation: homogeneity testing

2.1 One way ANOVA approach:

No.	Result	
	A	B
1	22.48	22.68
2	22.44	22.42
3	22.57	22.76
4	22.54	22.65
5	22.85	22.74
6	22.85	22.11
7	22.80	22.68
8	22.83	22.61
9	22.80	21.97
10	23.01	22.59
Mean	22.72	22.52

ANOVA

Source of Variation	SS	df	MS	F	P-value	F crit
Between Groups	0.4052	9	0.0450	0.5712	0.7936	3.0204
Within Groups	0.7882	10	0.0788			
Total	1.1934	19				

Using Excel: Data analysis

Protein (g/100g) in broad bean powder

$F\text{-value} (\text{MSB}/\text{MSW}) < F_{\text{critical}}$
= pass

Sample is homogeneous

Mean = 22.62 g/100g

SD = 0.25 g/100g

%CV = 1.11 g/100g

12

การประชุม PT-9 Technical Meeting (วันจันทร์ ที่ 29 มีนาคม พ.ศ. 2553)

2.2 ISO 13528 approach

Sample number <i>i</i>	Test portion (<i>g</i>) 1	Test portion (<i>g</i>) 2	Sample mean <i>x_i</i>	Between-test-portion range	
				<i>w_i</i>	<i>w_i²</i>
1	22.48	22.68	22.58	0.200	0.040
2	22.44	22.42	22.43	0.020	0.000
3	22.57	22.76	22.67	0.190	0.036
4	22.54	22.65	22.60	0.110	0.012
5	22.85	22.74	22.80	0.110	0.012
6	22.85	22.11	22.48	0.740	0.548
7	22.80	22.68	22.74	0.120	0.014
8	22.83	22.61	22.72	0.220	0.048
9	22.80	21.97	22.38	0.830	0.689
10	23.01	22.59	22.80	0.420	0.176

Criteria:

$$s_e \leq 0.3\hat{\sigma}$$

Target SDp,
SD from Horwitz
= 0.3×0.556
= **0.170**

$0.13 < 0.17$
= pass

Sample is homogeneous

General average

22.62

Standard deviation of sample averages (s)

0.15

Relative standard deviation (RSD), %CV

0.66

Within-samples standard deviation (s_w)

0.281

Between-samples standard deviation (s_b)

0.130

$$s_s = \sqrt{s_x^2 - (s_w^2 / 2)} = \sqrt{\frac{MSB - MSE}{n_0}}$$

g = number of analysis in each sample
 n_0 = number of sample

13

2.3 %CV: HORRAT ratio approach

Parameter	Mean	Standard deviation (SD)	Relative standard deviation (RSD or %CV)	Target RSD from Horwitz RSDp	HORRAT RSD/RSDp ^(a)	Acceptable HORRAT ^(b) (0.3-1.3)
Moisture (g/100g)	2.79	0.08	3.0	3.4	0.88	Pass
Protein (g/100g)	22.62	0.15	0.7	2.5	0.27	Pass
Total fat (g/100g)	27.82	0.73	2.6	2.4	1.08	Pass
Dietary fibre (g/100g)	12.72	0.93	7.3	2.7	2.68	Not pass
Ash (g/100g)	3.02	0.05	1.8	3.4	0.53	Pass
Sodium (mg/100g)	460	14	3.1	4.5	0.69	Pass
Vitamin B1 (mg/100g)	0.24	0.01	2.7	14.0	0.19	Pass

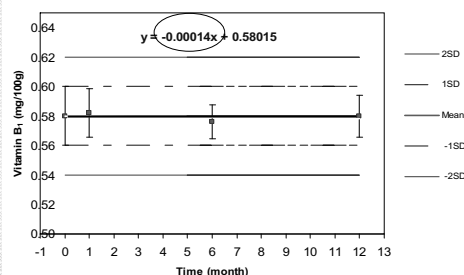
(a) http://www.aoac.org/dietsupp6/Dietary-Supplement-web-site/HORRAT_SLV.pdf; Definitions and calculations of HORRAT values from intralaboratory data

For interlaboratory studies: Acceptable HORRAT (R) < 1 (lower limit = 0.5, upper limit = 2.0)

For intralaboratory studies: acceptable HORRAT (r) 0.3-1.3 (one half of lower limit to two thirds of the upper limit)

14

Stability testing: vitamin B₁
Results from PT-8: vitamin B1 in Rice-1



- Slope (x coefficient) is expected to be zero..... vitamin B₁ in the RMs is stable
- Trend analysis: as slope/ $u_{(slope)}$ = 0.1 which is $< t_{crit}$ (2.085, $p=0.05$),
= no statistically significant change of vitamin B₁ in the RMs during the 12 mo.

Ref: ISO Guide 35 (2006)

15

Evaluation of analytical performance on mandatory nutrients for nutrition labeling

- Assigned value: based on ISO 13528
- Performance evaluation: robust z-score
- Consensus value: obtained from good performance

16

Assigned value of nutrients in PT-9

*Assigned values of test materials: obtained from participants

- Robust mean $\pm$ robust SD, estimated according to ISO 13528
- If variation of data is too high (indicated by %RSD):
Robust mean*+ target SD (SDp, Horwitz's predicted SD)

* estimated based on ISO 13528

17

Example: estimate assigned values of nutrient according to ISO 13528

Protein in salted broad bean: calculation of robust average and standard deviation (ISO 13528)

Iteration	0	x_0^2	1	$(x_0^2)^2$	2	$(x_0^2)^3$	3	$(x_0^2)^4$	4	$(x_0^2)^5$	5	$(x_0^2)^6$
$x^2 - b$	---	21.67	21.80	21.80	21.80	21.80	21.80	21.80	21.80	21.80	21.80	21.80
$x^2 + b$	---	22.89	22.89	22.77	22.77	22.77	22.77	22.77	22.77	22.77	22.77	22.77
0	21.49	0.90	0.17	0.17	0.17	0.17	0.17	0.17	0.17	0.17	0.17	0.17
1	21.67	0.71	21.87	0.17	21.87	0.17	21.87	0.17	21.87	0.17	21.87	0.17
2	21.78	0.61	21.87	0.17	21.87	0.17	21.87	0.17	21.87	0.17	21.87	0.17
3	21.89	0.49	21.87	0.17	21.89	0.16	21.89	0.16	21.89	0.16	21.89	0.16
4	22.08	0.30	22.08	0.04	22.08	0.04	22.08	0.04	22.08	0.04	22.08	0.04
5	22.18	0.23	22.15	0.02	22.15	0.02	22.15	0.02	22.15	0.02	22.15	0.02
6	22.25	0.23	22.15	0.02	22.15	0.02	22.15	0.02	22.15	0.02	22.15	0.02
7	22.36	0.22	22.36	0.01	22.36	0.01	22.36	0.01	22.36	0.01	22.36	0.01
8	22.38	0.00	22.38	0.01	22.38	0.01	22.38	0.01	22.38	0.01	22.38	0.01
9	22.42	0.04	22.42	0.02	22.42	0.02	22.42	0.02	22.42	0.02	22.42	0.02
10	22.43	0.05	22.43	0.02	22.43	0.02	22.43	0.02	22.43	0.02	22.43	0.02
11	22.43	0.05	22.43	0.02	22.43	0.02	22.43	0.02	22.43	0.02	22.43	0.02
12	22.43	0.05	22.43	0.02	22.43	0.02	22.43	0.02	22.43	0.02	22.43	0.02
13	22.43	0.05	22.43	0.02	22.43	0.02	22.43	0.02	22.43	0.02	22.43	0.02
14	22.43	0.05	22.43	0.02	22.43	0.02	22.43	0.02	22.43	0.02	22.43	0.02
15	22.43	0.05	22.43	0.02	22.43	0.02	22.43	0.02	22.43	0.02	22.43	0.02
16	22.43	0.05	22.43	0.02	22.43	0.02	22.43	0.02	22.43	0.02	22.43	0.02
17	22.43	0.05	22.43	0.02	22.43	0.02	22.43	0.02	22.43	0.02	22.43	0.02
18	22.43	0.05	22.43	0.02	22.43	0.02	22.43	0.02	22.43	0.02	22.43	0.02
19	22.43	0.05	22.43	0.02	22.43	0.02	22.43	0.02	22.43	0.02	22.43	0.02
20	22.43	0.05	22.43	0.02	22.43	0.02	22.43	0.02	22.43	0.02	22.43	0.02
21	22.43	0.05	22.43	0.02	22.43	0.02	22.43	0.02	22.43	0.02	22.43	0.02
22	22.43	0.05	22.43	0.02	22.43	0.02	22.43	0.02	22.43	0.02	22.43	0.02
23	22.43	0.05	22.43	0.02	22.43	0.02	22.43	0.02	22.43	0.02	22.43	0.02
24	22.43	0.05	22.43	0.02	22.43	0.02	22.43	0.02	22.43	0.02	22.43	0.02
25	22.43	0.05	22.43	0.02	22.43	0.02	22.43	0.02	22.43	0.02	22.43	0.02
26	22.43	0.05	22.43	0.02	22.43	0.02	22.43	0.02	22.43	0.02	22.43	0.02
27	22.43	0.05	22.43	0.02	22.43	0.02	22.43	0.02	22.43	0.02	22.43	0.02
28	22.43	0.05	22.43	0.02	22.43	0.02	22.43	0.02	22.43	0.02	22.43	0.02
29	22.43	0.05	22.43	0.02	22.43	0.02	22.43	0.02	22.43	0.02	22.43	0.02
30	22.43	0.05	22.43	0.02	22.43	0.02	22.43	0.02	22.43	0.02	22.43	0.02
31	22.43	0.05	22.43	0.02	22.43	0.02	22.43	0.02	22.43	0.02	22.43	0.02
32	22.43	0.05	22.43	0.02	22.43	0.02	22.43	0.02	22.43	0.02	22.43	0.02
33	22.43	0.05	22.43	0.02	22.43	0.02	22.43	0.02	22.43	0.02	22.43	0.02
34	22.43	0.05	22.43	0.02	22.43	0.02	22.43	0.02	22.43	0.02	22.43	0.02
35	22.43	0.05	22.43	0.02	22.43	0.02	22.43	0.02	22.43	0.02	22.43	0.02
36	22.43	0.05	22.43	0.02	22.43	0.02	22.43	0.02	22.43	0.02	22.43	0.02
37	22.43	0.05	22.43	0.02	22.43	0.02	22.43	0.02	22.43	0.02	22.43	0.02
38	22.43	0.05	22.43	0.02	22.43	0.02	22.43	0.02	22.43	0.02	22.43	0.02
39	22.43	0.05	22.43	0.02	22.43	0.02	22.43	0.02	22.43	0.02	22.43	0.02
40	22.43	0.05	22.43	0.02	22.43	0.02	22.43	0.02	22.43	0.02	22.43	0.02
41	22.43	0.05	22.43	0.02	22.43	0.02	22.43	0.02	22.43	0.02	22.43	0.02
42	22.43	0.05	22.43	0.02	22.43	0.02	22.43	0.02	22.43	0.02	22.43	0.02
43	22.43	0.05	22.43	0.02	22.43	0.02	22.43	0.02	22.43	0.02	22.43	0.02
44	22.43	0.05	22.43	0.02	22.43	0.02	22.43	0.02	22.43	0.02	22.43	0.02
45	22.43	0.05	22.43	0.02	22.43	0.02	22.43	0.02	22.43	0.02	22.43	0.02
46	22.43	0.05	22.43	0.02	22.43	0.02	22.43	0.02	22.43	0.02	22.43	0.02
47	22.43	0.05	22.43	0.02	22.43	0.02	22.43	0.02	22.43	0.02	22.43	0.02
48	22.43	0.05	22.43	0.02	22.43	0.02	22.43	0.02	22.43	0.02	22.43	0.02
49	22.43	0.05	22.43	0.02	22.43	0.02	22.43	0.02	22.43	0.02	22.43	0.02
50	22.43	0.05	22.43	0.02	22.43	0.02	22.43	0.02	22.43	0.02	22.43	0.02
Average	22.22	0.22	22.22	0.21	22.22	0.21	22.22	0.21	22.22	0.21	22.22	0.21
SD	0.356	0.285	0.081	0.285	0.081	0.285	0.081	0.285	0.081	0.285	0.081	0.285
New x^2	22.30	0.230	22.281	0.285	22.281	0.285	22.281	0.285	22.281	0.285	22.281	0.285

	N	1
Original %RSD	1	

Robust Mean & SD

Consensus assigned value of protein in salted broad bean = 22.28 ± 0.28 (robust mean and SD) g/100 g

Standard uncertainty u_x of the assigned value = $1.25 \times s^* / \sqrt{p} = 0.098$ (95% CI) g/100g

Expanded uncertainty (U) =

Consensus assigned value of protein in salted broad bean = 22.28 ± 0.20 (robust mean and U) g/100 g

18

การประชุม PT-9 Technical Meeting (วันจันทร์ ที่ 29 มีนาคม พ.ศ. 2553)

Summary of assigned values of nutrient contents in BB and INMU-17 estimated according to ISO 13528



Nutrient	Unit of expression per 100 g	Robust mean	Robust SD	Expanded uncertainty	%CV
Moisture in BB	g	3.90	0.21	0.15	5.5
Moisture in INMU-17	g	3.38	0.34	0.23	10.0
Total fat in BB	g	27.57	0.93	0.64	3.4
Total fat in INMU-17	g	27.94	0.68	0.46	2.4
Sat. fat in INMU-17	g	12.15	0.87	0.64	7.3
Trans fat in INMU-17	g	-	-	-	-
Protein in BB	g	22.28	0.29	0.20	1.3
Protein in INMU-17	g	22.62	0.28	0.20	1.3
DF in INMU-17	g	8.97	2.08	1.47	23.2*
Total sugar in BB	g	1.91	0.97	0.66	50.6*
Total sugar in INMU-17	g	2.13	1.14	0.78	53.3*
Sodium in BB	mg	389	45	31	11.5
Sodium in INMU-17	mg	462	30	20	6.4
Vitamin B1 in INMU-17	mg	0.23	0.07	0.05	30.2*
Vitamin B2 in INMU-17	mg	0.24	0.08	0.05	31.4*
Calcium in INMU-17	mg	39.27	4.35	3.09	11.1
Iron in INMU-17	mg	2.96	0.33	0.23	11.2
Ash in BB	g	2.92	0.12	0.08	4.1
Ash in INMU-17	g	3.05	0.07	0.05	2.2

* Too high %RSD, robust mean $\pm$ target SD (e.g., Horwitz's predicted SD) was used.

19

Performance Evaluation: robust z-score



1. Within laboratory variation (see example in Excel)

$$\text{Robust } z\text{-score}_{\text{within}} = \frac{x - \text{median}_{\text{diff}_i}}{\text{NIQR}_{\text{diff}_i}}$$

x = the difference between the value of A and B from each laboratory/SQRT 2

Median = the median of difference between the value of A and B obtained from participating laboratories

NIQR = Normalised Inter-quartile Range = (Quartile 3-Quartile 1) $\times$ 0.7413

Interpretation

- $|Z| \leq 2$ Satisfactory result ("a")
- $2 < |Z| < 3$ Questionable result ("w")
- $|Z| \geq 3$ Unsatisfactory result ("ww")

w: within laboratory z score

20

2. Between laboratory variation



$$\text{Robust } z\text{-score}_{\text{between}} = \frac{x_i - X^*}{S^*}$$

where x_i = average value of reported data from participant

Robust mean (X^*) = consensus value of the nutrient per 100 g according to ISO13528

Robust SD (S^*) = standard deviation of the robust mean value or target SD (SDp, Horwitz's predicted SD)

Interpretation

- $|Z| \leq 2$ Satisfactory result ("a")
- $2 < |Z| < 3$ Questionable result ("b")
- $|Z| \geq 3$ Unsatisfactory result ("bb")

b: between laboratory z-score

see example in Excel

21

Summary of laboratory performance on nutrient analysis- results from PT 9-1 (2010) compared to PT-3* (1999), PT-7* (2003) and PT-8* (2005)



Nutrient	No. of results				Satisfactory (%)				Questionable (%)				Questionable (%)			
	PT-3	PT-7	PT-8	PT-9	PT-3	PT-7	PT-8	PT-9	PT-3	PT-7	PT-8	PT-9	PT-3	PT-7	PT-8	PT-9
Moisture	39	55	107	17	59	82	87	82	3	7	4	6	38	11	9	12
Protein	33	55	100	17	52	67	82	88	6	7	3	0	42	26	15	12
Lipid	48	57	-	17	33	58	-	76	12	10	-	12	55	32	-	12
Sat. Fat	-	11	-	15	-	45	-	73	-	0	-	20	55	-	-	7
Sugars	11	36	-	17	27	40	-	77	36	17	-	77	37	43	-	77
Dietary fibre	8	34	59	16	38	50	40	77	25	6	7	77	37	44	53	77
Ash	40	57	94	17	68	70	70	29	12	5	4	18	20	25	26	53
Calcium	23	28	-	16	30	54	-	63	13	7	-	31	56	39	-	6
Sodium	20	23	-	16	35	61	-	71	6	23	-	18	59	16	-	12
Iron	45	50	96	16	65	64	62	81	6	16	12	3	29	20	26	13
Zinc	-	-	77	-	-	-	66	-	-	-	10	-	-	-	-	-
Vitamin B1	-	18	17	15	-	56	59	77	-	11	12	77	-	-	-	77
Vitamin B2	6	19	-	15	67	74	-	77	17	5	-	77	17	21	-	77

PT-3: weaning food (rice+soybean) (1998-99),

PT-7: milk powder, 2003,

PT-8: rice powder, 2005

*laboratories in ASEAN and other regions

22

Consensus values of components in broad bean powder obtained from good performance laboratories in PT-9



Nutrients	Unit Per 100 g	Mean $\pm$ SD INMU-17
Fat	g	27.82 $\pm$ 0.50 N=13, %CV=1.8
Saturated Fat	g	12.23 $\pm$ 0.61 N=10, %CV=5.0
Protein (N $\times$ 6.25)	g	22.60 $\pm$ 0.31 N=14, %CV=1.4
Sodium	mg	461 $\pm$ 21 N=12, %CV=4.5
Calcium	mg	39 $\pm$ 4 N=10, %CV=10.8
Iron	mg	2.87 $\pm$ 0.28 N=13, %CV=9.7
Vitamin B1	mg	0.24 $\pm$ 0.02 N=8, %CV=10.5
Moisture	g	3.39 $\pm$ 0.31 N=14, %CV=9.1
Ash	g	2.98 $\pm$ 0.04 N=15, %CV=1.2

Problematic to be discussed: Total Dietary Fibre, Total Sugar, Vitamin B1 and B2

23

Future activities

- Corrective action: DF and sugars analyses
Samples: defatted broad bean powder
RM from BRI, Australia
Results submitted: 23 April 2010 ?
- PT-9 round 2: June 2010?
Samples:
- Whole wheat cracker (WWC) 12 packages (small)
- Cracker powder (INMU-18)



24

LABORATORY PERFORMANCE STUDY - Round 9

1

Table 1A. Salted Broad Bean (BB): Total Fat

Assigned value (robust mean $\pm$ robust SD) = 27.57 ± 0.93 g/100g (%CV = 3.4, N =17)

(estimated according to ISO 13528)

Lab code No.	Result		Di (B-A)/SQRT2	Si (A+B)/SQRT2	z- score ⁽¹⁾		z-score ⁽²⁾ Between	Conclusion code
	A	B			Within	Between ⁽¹⁾		
1	27.59	27.71	0.08	39.10	0.43	0.00	0.08	a
2	26.16	26.59	0.30	37.30	1.53	-1.18	-1.28	a
3	25.84	25.72	-0.08	36.46	-0.43	-1.74	-1.92	a
4	28.00	28.00	0.00	39.60	0.00	0.33	0.46	a
5	27.50	27.72	0.16	39.05	0.78	-0.03	0.04	a
6	26.81	26.52	-0.21	37.71	-1.03	-0.91	-0.97	a
7	31.63	31.19	-0.31	44.42	-1.56	3.50	4.11	bb
8	27.64	27.65	0.01	39.10	0.04	0.00	0.08	a
9	27.21	27.50	0.21	38.69	1.03	-0.27	-0.23	a
10	28.27	28.22	-0.04	39.94	-0.18	0.56	0.72	a
11	26.17	26.38	0.15	37.16	0.75	-1.27	-1.39	a
12	28.26	27.97	-0.21	39.76	-1.03	0.44	0.58	a
13	28.64	29.29	0.46	40.96	2.31	1.23	1.49	w
14	27.72	27.74	0.01	39.22	0.07	0.08	0.17	a
15	22.77	22.57	-0.14	32.06	-0.71	-4.63	-5.25	bb
16	29.29	29.12	-0.12	41.30	-0.60	1.45	1.75	a
17	27.53	27.38	-0.11	38.83	-0.53	-0.18	-0.12	a
No of results	17	17	17	17	"a" = accepted value; z-score ≤ 2			
Median	27.590	27.710	0.00	39.10	"w" or "b" = questionable; $2 < \text{z-score} > 3$			
Q1	26.81	26.59	-0.12	37.71	"ww" or "bb" = outliers; z-score ≥ 3			
Q3	28.26	28.00	0.15	39.76	(w = within lab, b = between lab)			
IQR (Q3-Q1)	1.45	1.41	0.27	2.05	Final consensus value for total fat in BB			
Normalised IQR	1.07	1.05	0.20	1.52	calculated from laboratories with accepted values			
Robust CV	3.90	3.77			= 27.44 ± 0.90 g/100g (mean $\pm$ SD), with N=14% CV=3.3			

⁽¹⁾ based on median $\pm$ NIQR;

⁽²⁾ based on assigned value estimated according to ISO 13528

Calculation of final consensus value

Mean (a+b/2)	Mean after delete outlier
27.65	27.65
26.38	26.38
25.78	25.78
28.00	28.00
27.61	27.61
26.67	26.67
31.41	
27.65	27.65
27.36	27.36
28.25	28.25
26.28	26.28
28.12	28.12
28.97	
27.73	27.73
22.67	
29.21	29.21
27.46	27.46
No of results	17
Mean	27.48
SD	1.79
%CV	6.52
	3.29
	✓✓✓

LABORATORY PERFORMANCE STUDY - Round 9
Table 1B. Broad bean powder (INMU 17): Total Fat

Assigned value (robust mean $\pm$ robust SD) = 27.95 $\pm$ 0.67 g/100g (%CV = 2.4, N =17)

(estimated according to ISO 13528)

Lab code No.	Result		Di (B-A)/SQRT2	Si (A+B)/SQRT2	z- score ⁽¹⁾		z-score ⁽²⁾ Between	Conclusion code
	A	B			Within	Between ⁽¹⁾		
1	28.44	28.46	0.01	40.23	0.08	0.85	0.76	a
2	27.49	27.16	-0.23	38.64	-1.31	-0.80	-0.93	a
3	25.05	26.01	0.68	36.10	3.81	-3.43	-3.63	wwbb
4	27.50	27.50	0.00	38.89	0.00	-0.54	-0.67	a
5	28.01	27.82	-0.13	39.48	-0.75	0.07	-0.05	a
6	26.78	26.73	-0.04	37.84	-0.20	-1.63	-1.79	a
7	29.93	29.90	-0.02	42.31	-0.12	3.00	2.96	bb
8	28.35	28.46	0.08	40.17	0.44	0.78	0.69	a
9	28.02	28.17	0.11	39.73	0.60	0.33	0.22	a
10	27.78	27.96	0.13	39.41	0.71	0.00	-0.12	a
11	27.80	27.88	0.06	39.37	0.32	-0.04	-0.16	a
12	27.48	27.98	0.35	39.22	1.98	-0.21	-0.33	a
13	28.12	28.72	0.42	40.19	2.38	0.81	0.71	w
14	27.85	27.57	-0.20	39.19	-1.11	-0.23	-0.36	a
15	27.52	27.47	-0.04	38.88	-0.20	-0.55	-0.68	a
16	29.60	29.32	-0.20	41.66	-1.11	2.33	2.27	b
17	28.72	28.47	-0.18	40.44	-0.99	1.06	0.97	a
No of results	17	17	17	17	"a" = accepted value; z-score $\leq$ 2			
Median	27.850	27.960	0.00	39.41	"w" or "b" = questionable; 2 < z-score > 3			
Q1	27.50	27.50	-0.13	38.89	"ww" or "bb" = outliers; z-score $\geq$ 3			
Q3	28.35	28.46	0.11	40.19	(w = within lab, b = between lab)			
IQR (Q3-Q1)	0.85	0.96	0.24	1.30	Final consensus value for total fat in INMU-17			
Normalised IQR	0.63	0.71	0.18	0.96	calculated from laboratories with accepted values			
Robust CV	2.26	2.55			=27.82 $\pm$ 0.50 g/100g (mean $\pm$ SD), with N=13% CV=1.8			

⁽¹⁾ based on median $\pm$ NIQR; ⁽²⁾ based on assigned value estimated according to ISO 13528

Calculation of final consensus value

Mean (a+b/2)	Mean after delete outlier
28.45	28.45
27.33	27.33
25.53	
27.50	27.50
27.92	27.92
26.76	26.76
29.92	
28.41	28.41
28.10	28.10
27.87	27.87
27.84	27.84
27.73	27.73
28.42	
27.71	27.71
27.50	27.50
29.46	
28.60	28.60
No of results	17
Mean	27.94
SD	0.98
%CV	3.52
	✓✓✓