

State Institute for Quality Control
of Agricultural Products
Bornsesteeg 45
6708 PD Wageningen
The Netherlands

Section: Carbohydrate and lipid chemistry

REPORT 86.109

1986-12-03

Control on the incorporation of butterfat
into animal feed. (EC regulation 2409/86).

Authors: B.G. Muuse and H.J. van der Kamp



Copies: directeur, sectorhoofden, bibliotheek (1x), circulatiemappen,
AC (2x), KVC (4x), DLO - Sector Algemeen, VKA, AID, VIB,
Riphagen (VZ), Mrs Walsh (Ierland), McEnery (Ierland), Sadini
(EC), Guyot (Gembloux), Martens (Melle), Huyghebaert (IDF E 49).

Abstract

Authors: B.G. Muuse and H.J. van der Kamp.

State Institute for Quality Control of Agricultural Products
Wageningen, The Netherlands.

4 figures, 4 tables.

For control on the butter oil content of fat mixtures used for the incorporation into animal feed, the European Commission for Dairy products has decided to use the fatty acid profile as method of analysis. With this method a tolerance of 2.5% relative is established on the declared value of the butter oil content. This procedure was applied on laboratory mixtures of butter oil and beef fat 40-60% to study the precision of the method.

The results with temperature programmed capillary gas chromatography (GVV) were only usable for C4-C12 and needed a correction for a systematic error of minus 7% relative.

Better results were obtained with isothermal GCC on the same CP Wax 57 CB column. C10-C18:1 were usable with exception of C16 and without a systematic error. The recovery of the latter method is 99.8% with a coefficient of variation of 0.8%. This isothermal GCC fatty acid determination enables a reliable control on the percentage of butter oil in a fat mixture if the butter oil, the non-milk fat and the mixture can be analysed simultaneously.

Content

1. Introduction

2. Material

3. Methods

3.1 Methylester preparation

3.2 Gas chromatographic analysis

3.3 Expression of results

3.4 Calculation of the butter oil content

3.5 Recovery of the method

4. Results and discussion

4.1 Fatty acid profiles

4.2 Recoveries

4.3 Criteria for the choice of fatty acids

4.4 Criteria for approval or disapproval

5. Conclusions

Annex 1: Working paper VI/4494/86 rev. 3.

1. Introduction

The European Community (EC) has worked out a regulation for publicable sale of three years old intervention butterfat in Ec regulation nr. 2409/86. The byer had to mix this butterfat with a non-milkfat and must use the fat mixture for working up into animal feed.

In working paper VI/4494/86 rev. 3 (annex 1) the principle possibilities of the fatty acid analysis for the determination of the percentage of milkfat in a fat mixture are described. With the applied procedure a difference of 2.5% relative is tolerated between the laboratory results and the declared percentage of butter oil in the mixture. The fatty acid analysis is internationally standardised but not yet harmonised by the EC.

A preliminary study is made in our lab with mixtures of a butterfat and a tallow fat to investigate the precision of the fatty acid analysis for the determination of the butterfat content in a mixture.

2. Materials

With one type of butter oil (A) and one type of tallow (beeffat) (B), four mixtures (C) have been made ranging from 40-60%. The butter oil content of these mixtures was respectively: 42.8, 43.1, 51.1 and 61.4%.

3. Methods

3.1 Methylester preparation

The methylester preparation is based on the Christopherson and Glass method (1970) (also included in IUPAC 2.301 sub 5).

100 mg of fat is dissolved in 5 ml n-hexane, 200 µl of 2N potassium hydroxide in methanol added and the mixture shaken for 20 seconds. The glycerol is allowed to settle down and the clear supernatant can be used for further gaschromatographic analysis.

3.2 Gaschromatographic analysis

For the separation of the fatty acid methyl esters, two 25m 0.2mm ID fused capillary columns have been used of the type CP WAX 57 CB respectively CP WAX 52 CB mounted in a gaschromatograph of Varian type 3700 with split injector and FID.

The following oven temperature procedures were applied: one with programmed temperature (with 10°C/min from 60°C to 200°C) and the other isothermally at 180°C.

3.3 Expression of the results

The fatty acid content has been calculated from the peak areas and the total peak areas and the total peak area without the use of response factors. The results are expressed as area percentages.

3.4 Calculation of the butter oil content

The percentages by mass of butter oil in the mixtures C has been calculated by interpolation from the area percentages per fatty acid by:

$$\% \text{ Butter oil} = \frac{\text{Area \% Mixture} - \text{Area \% Tallow}}{\text{Area \% Butter oil} - \text{Area \% Tallow}} \times 100$$

3.5 Recovery of the methods

The recovery of the GCC fatty acid methods with and without temperature programming have been determined per fatty acid by dividing the results through the known butter oil content of the mixtures.

The average recovery is calculated from the results of the fatty acids which did not deviate more than 6.5% relative from the known content.

4. Results and discussion

4.1 Fatty acid profiles

In figure 1 and 2, chromatogrammes of fatty acid profiles from a mixture C are shown with the programmed temperature GCC respectively with the isothermal GCC analysis.

In table 1 the results of the major fatty acids in the samples A, B and mixtures C are shown. These results were obtained with temperature programmed GCC which leads to the area percentages of all fatty acids from C4-C18. In table 2 the results of the fatty acid profiles are shown obtained with isothermal GCC which does not determine the lower fatty acids C4-C8.

The analyses with programmed GCC were performed in duplicate on a CP WAX 57 CB column.

The isothermal analyses have been applied on a CP WAX 57 as well as on a CP WAX 52 CB column. The differences in results from these two column types were neglectable as can be concluded from the results in table 2. These results are considered further as triplicates.

4.2 Recoveries

The content of butter oil and the recovery is calculated from the results of each fatty acid. In table 3a and 3b these results are tabulated and also plotted in figure 3a and 3b.

Table 3a and figure 3a shows that with the programmed GCC method results have been found of some 7% relative below the true value, being a systematic error. The reason for this error is not clear but possibly caused by the split injection. With this method the fatty acids of C4-C12 give the best reproducible results and can be applied for control purpose when a fourth sample (D) is prepared with a butter oil content as is declared. With such a reference sample a systematic error can be discovered and corrected, the standard deviation however stays unchanged.

Better results have been obtained with isothermal GCC as is illustrated in figure 3b. The average recovery was 99.8% with a coefficient of variation of 0.8% thus being reliable for control within the prescribed margin of 100 +/- 2.5%. The coefficient of variation of the results from the individual fatty acids was 3.2%.

4.3 Criteria for the choice of fatty acids

From the results some criteria can be obtained for the choice of the fatty acids on which the confirmation or disapproval of the declared butter oil content had to be made.

First of all the fatty acids must be chosen from sample A and B which differ more than 2% absolute or which occur only in one of the samples. With these fatty acids the butter oil content is calculated per fatty acid.

Secondly, the results which differ more than 6.5% relative from the declared butter oil content ($2 \times 3.2\% = 95\%$ confidence) are rejected and from the remaining results, at least three, the butter oil content in the mixture C is calculated.

4.4 Criteria for approval or disapproval

When the final average result exceeds 2.5% relative of the declared butter oil content, a reference mixture (D) had to be made from sample A and B with a butter oil content as was declared. With this reference sample correction factors can be obtained per fatty acid with the results of the analysis sample can be corrected if necessary.

5. Conclusions

The content of butter oil in a mixture of butter oil and a milk foreign fat of fine quality, can be determined by the isothermal gas-chromatographic analysis of the fatty acids within the prescribed precision of 2.5% relative.

The criteria for the choice of fatty acids which can be used for the determination are:

1. the difference of the fatty acid content in this butter oil and in the milk foreign fat is more than 2% or the fatty acid occurs only in one of the samples,
2. the fatty acids of choice should give a butter oil content which may not differ more than 6.5% relative from the declared butter oil content.

The fatty acids which can be used are defined by the system of the user and may be all types of fatty acids which meet the criteria. In our study only the major fatty acids were studied and found to be sufficient for mixture of butter oil and tallow (recovery with 95% confidence between 98.2 and 101.4%).

In our opinion the butter oil content of the mixture should be confirmed or disapproved by the average result obtained from at least three fatty acids. To confirm the results a reference mixture might be made by which the results eventually can be corrected.

With programmed GCC, which also analyses the lower fatty acids, a reference sample with the same butter oil content as the sample of analysis must be analysed simultaneously and the results must be calibrated against this reference sample to avoid systematic errors.

References

Christopherson, S.W. and Glas, R.L. 1970. Preparation of Milk fat methyl esters by alcoholysis in an essentially nonalcoholic solution J. Dairy Science, 52, 1289-1290.

IUPAC Standard methods for the analysis of oils, fats and derivatives 1979. Sixth edition, Pergamon Press, ISBN 0 08 022379 6.

EC 2409/86 Betreffende de verkoop van interventieboter bestemd voor bijmenging in mengvoeder. 1986. Publikatieblad van de Europese Gemeenschappen, L 208 29-37.

Table 1: Results of programmed GCC determinations. Fatty acid profile of samples Butter oil (A), Tallow (B) and Mixtures (C). Expressed as area percentages.

Fatty acid	Butter oil		Tallow		Mixtures							
					61.4		51.1		43.1		42.8	
C 4:0	3.49	3.60	0.00	0.00	2.09	2.04	1.73	1.66	1.56	1.49	1.41	1.42
C 6:0	2.19	2.22	0.00	0.00	1.31	1.28	1.05	1.04	0.95	0.90	0.88	0.88
C 8:0	1.33	1.31	0.00	0.00	0.80	0.78	0.66	0.61	0.55	0.57	0.54	0.53
C10:0	2.76	2.75	0.08	0.06	1.69	1.61	1.36	1.34	1.27	1.27	1.16	1.18
C12:0	3.30	3.30	0.14	0.16	2.06	1.93	1.67	1.66	1.54	1.56	1.43	1.48
C14:0	10.35	10.33	3.12	3.04	7.51	7.20	6.60	6.46	6.56	6.28	6.02	6.46
C16:0	24.30	24.42	24.22	24.12	24.54	24.12	24.15	24.14	25.11	24.83	24.35	25.32
C18:0	11.20	11.15	19.62	19.71	14.50	14.63	15.52	15.75	15.50	15.69	16.19	15.75
C18:1	26.82	26.73	37.62	37.63	30.94	31.40	32.46	32.91	32.43	32.94	33.37	32.52
C18:2	1.69	1.71	4.06	4.05	2.53	2.77	3.01	2.82	2.87	2.98	3.01	2.87

Table 2: Results of isothermal GCC determinations. Fatty acid profile of samples
Butter oil (A), Tallow (B) and Mixtures (C) with known butter oil content.
Expressed as area percentages.

Fatty acid	Butter oil			Tallow			Mixtures											
							61.4			51.1			43.1			42.8		
C10:0	2.58	2.53		0.04	0.09		1.66	1.59		1.36	1.28		1.04	1.14		1.08	1.08	
C12:0	3.34	3.24	3.13	0.16	0.16	0.26	2.00	2.00	2.03	1.85	1.70	1.67	1.48	1.44	1.52	1.41	1.48	1.48
C14:0	10.73	10.68	10.49	3.18	3.10	3.23	7.72	7.69	7.51	6.98	6.92	6.95	6.52	6.26	6.37	6.24	6.29	6.31
C16:0	27.32	26.70	26.27	26.07	25.17	24.95	26.50	26.08	25.45	26.32	25.91	25.71	26.66	26.10	25.63	26.07	26.04	25.56
C16:1	1.71	1.68	1.90	2.85	2.98	3.01	2.21	2.23	2.37	2.44	2.35	2.50	2.42	2.58	2.62	2.23	2.55	2.64
C18:0	12.65	12.79	12.49	19.67	19.74	19.28	15.38	15.47	1.540	16.30	16.17	15.70	16.43	16.61	16.18	17.04	16.6	16.26
C18:1	30.57	30.94	29.58	39.00	38.85	37.43	33.70	33.52	33.09	34.72	34.66	33.32	34.94	35.39	33.80	35.70	35.27	33.88
C18:2	1.54			3.48			2.46			2.53			2.69			3.00		

Table 3a: Recovery percentages of butter oil, calculated from the results in table 1.

Fatty acid	Mixtures							
	61.4		51.1		43.1		42.8	
C 4:0	97.5	92.2	97.0	90.2	103.7	96.0	94.3	92.1
C 6:0	97.4	93.8	93.8	91.6	100.6	94.0	93.8	92.6
C 8:0	96.9	95.9	95.6	89.4	93.8	98.9	92.7	92.3
C10:0	97.1	93.8	93.4	93.1	103.0	100.0	94.1	97.2
C12:0	98.9	91.8	94.7	93.4	102.7	103.4	95.3	98.2
C14:0	98.8	92.9	94.1	91.8	110.3	103.1	93.7	109.6
C18:0	99.0	96.6	95.2	99.5	113.5	108.9	95.1	108.0
C18:1	100.8	93.0	93.5	84.7	111.6	99.8	92.0	109.5
C18:2	105.1	89.0	86.7	102.8	116.4	106.0	103.5	117.8

Table 3b: Recovery percentages of butter oil, calculated from the results in table 2.

Fatty acid	Mixtures											
	61.4			51.1			43.1			42.8		
C10:0	-	103.9	100.1	-	101.7	95.4	-	91.3	99.8	-	95.7	94.8
C12:0	94.2	97.3	100.4	104.0	97.8	96.1	96.3	96.4	101.9	91.8	100.1	99.3
C14:0	97.9	98.6	96.0	98.5	98.6	100.3	102.6	96.7	100.4	94.7	98.3	99.1
C18:0	99.5	100.1	93.1	93.9	100.5	103.2	107.1	104.4	105.9	87.5	104.2	103.9
C18:1	102.4	109.7	90.0	99.4	103.7	102.5	111.7	101.5	107.3	91.4	105.7	105.7

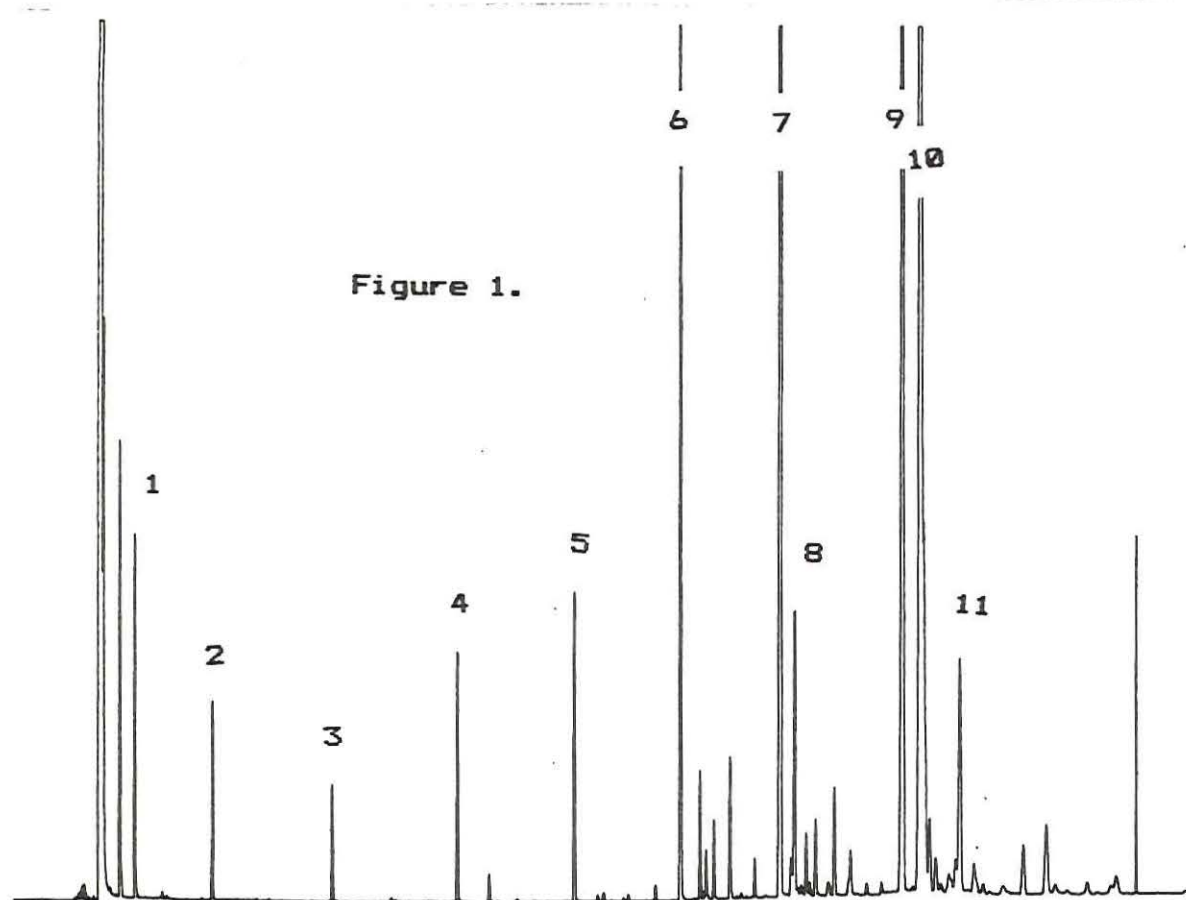


Figure 1.

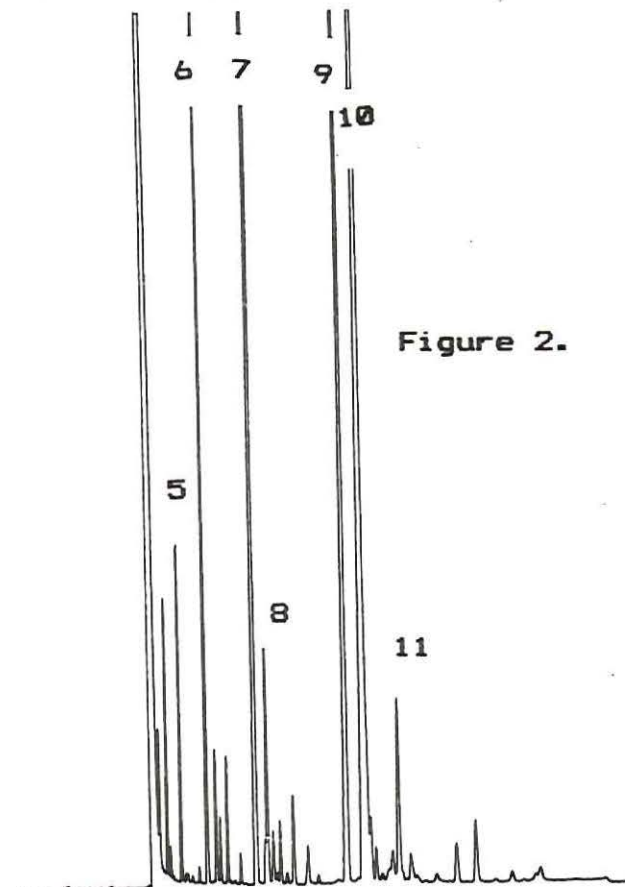


Figure 2.

CHROMATOGRAMMES OF THE FATTY ACID METHYLESTERS OF A BUTTEROIL/TALLOW MIXTURE
(SAMPLE A) ON A 25 M CP WAX 57CB 0.22mm ID

Figure 1. GCC analysis with an oven temperature programmed from
60°C to 200°C with 10°C/min .

Figure 2. Isothermal GCC analysis at 180°C.

Identification:	1= C 4:0	6= C14:0
	2= C 6:0	7= C16:0
	3= C 8:0	8= C16:1
	4= C10:0	9= C18:0
	5= C12:0	10= C18:1
		11= C18:2

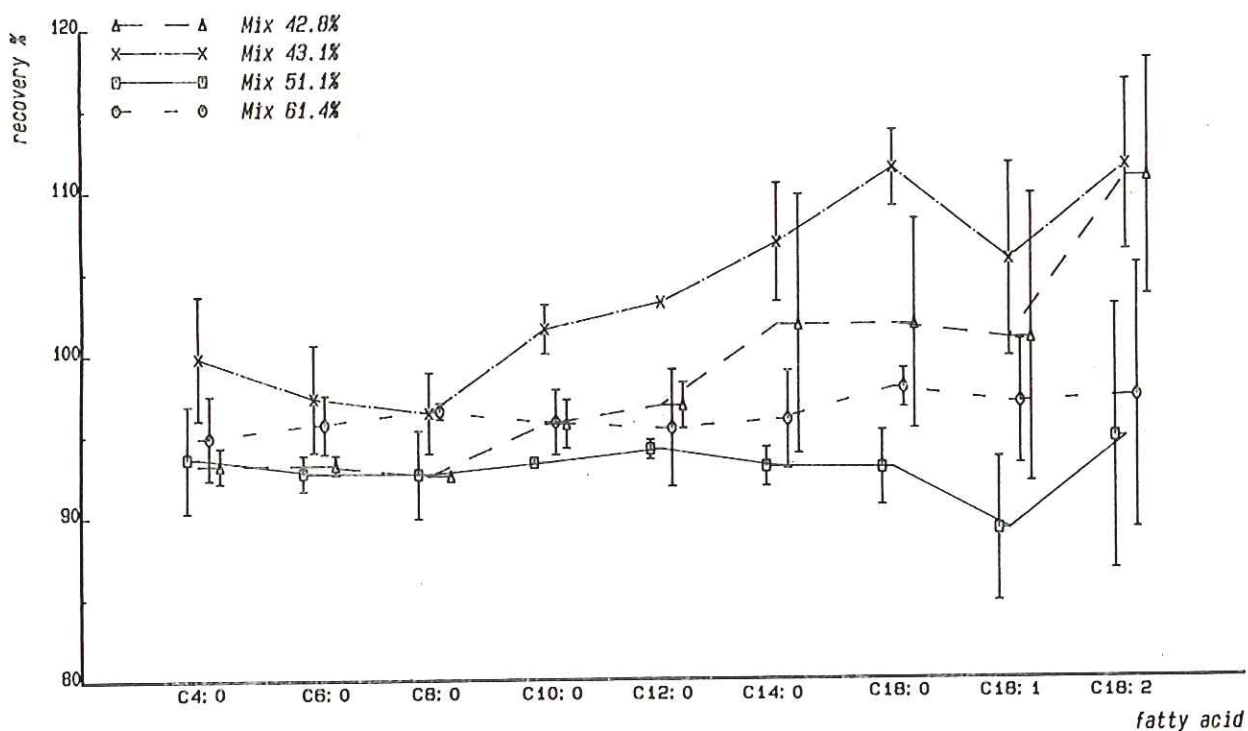


Figure 3a: Recovery of butteroil, obtained from the programmed GCC results (plotted data of table 3a).

RIKILT 1986

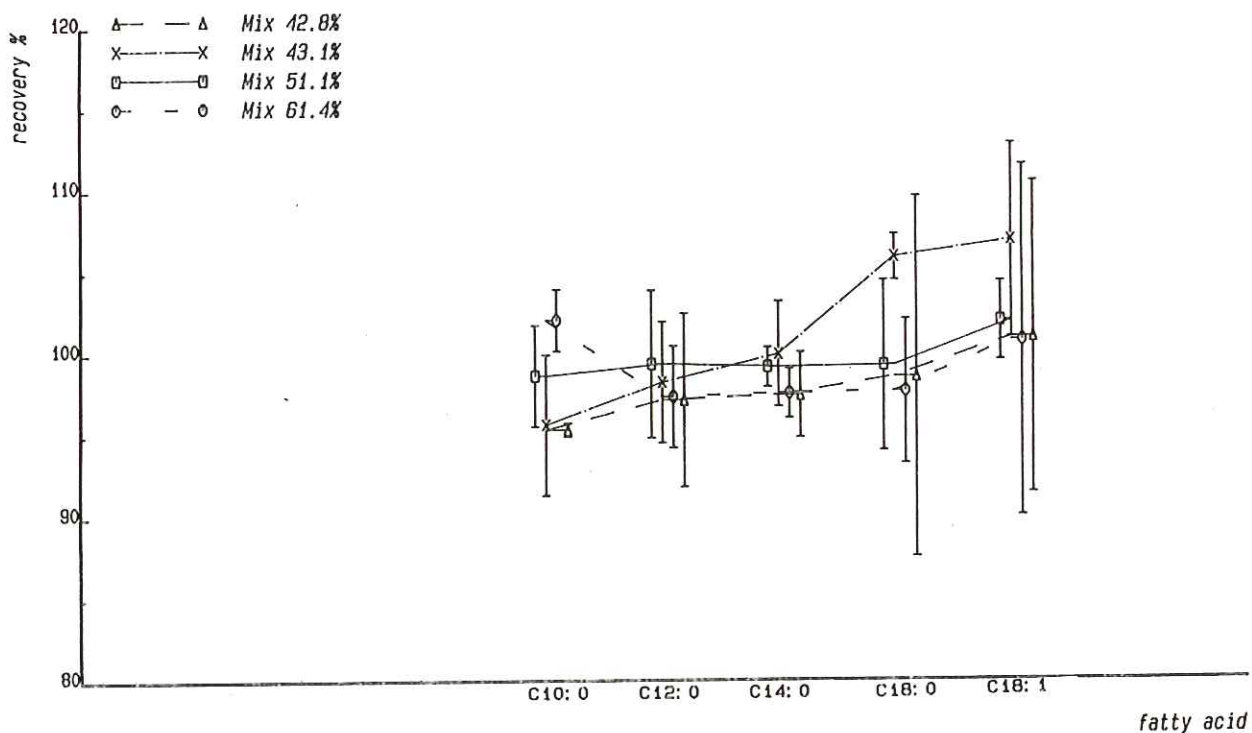


Figure 3b: Recovery of butteroil, obtained from the isothermal GCC results (plotted data of table 3b).

RIKILT 1986

DECLARATION DU REPRESENTANT DE LA COMMISSION

Sur la base des considérations développées dans le document de travail VI/4494/86 rév. 3 du 1.9.1986 ci-annexé et en tenant compte de l'avis formulé par les experts des Etats membres, on peut conclure que dans le cas où le beurre concentré est incorporé dans un mélange de matières grasses d'origine non laitière d'une certaine qualité, destiné à la fabrication d'aliments composés notamment pour l'alimentation de veaux ou d'autres animaux domestiques, le contrôle de laboratoire fondé sur une série de trois analyses, à savoir d'une part celles de la matière grasse butyrique et de l'ensemble des matières grasses non laitières mélangées entre elles et d'autre part, le mélange des corps gras destinés à être incorporés dans l'aliment composé, devrait donner dans les conditions précisées notamment aux points B. et C. du document de travail en question des résultats affectés d'une erreur relative susceptible d'arriver jusqu'à $\pm 2,5 \%$.

Cette conclusion est assortie de deux recommandations:

- le prélèvement d'échantillons doit être correctement effectué de manière à mettre à disposition des intéressés de même qu'à celle des organismes de contrôle, un nombre suffisant de contre-échantillons;
- la bonne répétabilité de la méthode de l'analyse G.L.C. des acides gras doit être assurée par la mise en place des procédés les plus adaptés aux conditions techniques de travail.

Ces conclusions pourraient être modifiées selon les expériences acquises ultérieurement.

DOCUMENT DE TRAVAILModalités d'application du règlement (CEE) no 2409/86Dosage de la matière grasse butyrique mélangée avec des matières grasses d'une origine autre que laitièreA. INTRODUCTION

1. La matière grasse butyrique obtenue de la transformation en beurre concentré du beurre entré en stock public avant le 1er juillet 1983 peut être incorporée dans les aliments composés pour les animaux conformément au règlement (CEE) no 2409/86. De cette façon les opérateurs sont en mesure de remplacer par la graisse butyrique une partie ou la totalité de la phase grasse de l'aliment composé, laquelle est habituellement un mélange de suif, de saindoux, de graisses végétales, de huiles de poisson hydrogénées et désodorisées, etc. (en moyenne de 15 à 20 % du produit fini).

La différence entre les prix d'intervention du beurre et le prix d'écoulement par adjudication étant très élevée, un système de contrôle susceptible de réduire les risques de détournement et de manipulation est prévu à l'article 14 du règlement en question.

2. Le système en question est ventilé sur :

- des contrôles sur place pour chaque lot ou bien des inspections fréquentes et inopinées permettant entre autres de prélever des échantillons;
- l'examen de laboratoire d'au moins 3 échantillons pour chaque lot, dont le premier (A) correspond au beurre concentré, le deuxième (B) représente l'ensemble des corps gras d'origine non laitière mélangés entre eux dans les proportions établies par l'opérateur, alors que le troisième échantillon (C) est obtenu à partir de la phase grasse "beurre concentré + corps gras non laitier" également dans des proportions établies par l'opérateur;
- le contrôle approfondi et par sondage des documents commerciaux et de la comptabilité matière.

L'analyse de laboratoire porte en outre sur la détermination de la teneur en matières grasses d'une part du beurre concentré, et d'autre part du produit fini à savoir de l'aliment composé pour les animaux.

La mise en place d'un tel système s'impose en vue de confirmer les déclarations des opérateurs relatives à la quantité du beurre concentré mise en oeuvre, l'analyse de laboratoire toujours affectée d'une certaine erreur ne pouvant pas à elle seule donner les garanties voulues sur l'efficacité du contrôle. Il convient de préciser à ce propos:

- la méthode d'analyse de laboratoire à utiliser;
- la marge d'erreur dont les résultats ainsi obtenus peuvent être assortis.

Les problèmes visés sous les deux derniers tirets ont fait l'objet d'un échange de vues approfondi de la part des experts du groupe chimiste du comité de gestion lait et produits laitiers qui se sont réunis à Bruxelles le 27 juin, le 16 juillet et le 19 août dernier.

B. ANALYSE DE LABORATOIRE

1. Il s'agit d'un contrôle de routine, qui en principe doit être relativement simple, il convient de s'orienter alors vers l'analyse chromatographique en phase gazeuse (G.L.C.) des acides gras sous forme d'esters méthyliques.

Compte tenu du niveau des prix auxquels le beurre devrait être vendu aux soumissionnaires, on peut bien admettre que les aliments composés seront destinés notamment à l'alimentation des veaux et d'autres animaux domestiques. Cette utilisation justifie d'une part la teneur en matières grasses déjà mentionnée sous le point A. 1. et d'autre part les exigences de qualité auxquelles doit répondre la graisse incorporée dans l'aliment. Il s'agit notamment de corps gras sans goût ou odeur marqués, facilement digestibles et assimilables sans troubles intestinaux par les veaux d'un âge maximum de 20-22 semaines. L'indice d'acide et l'indice de peroxyde de la phase grasse incorporée doivent respecter par conséquent des chiffres limites qui s'écartent de très peu de ceux d'une graisse neutre. Le respect de ces exigences entraîne inévitablement une réduction de l'éventail des corps gras pouvant être mélangés à la matière grasse butyrique dans des proportions comprises entre 2/1 et 1/2; les graisses de destruction et celles des restaurants, par exemple, sont à exclure.

On peut partir de l'hypothèse qu'en moyenne la phase grasse (de 7 à 10 % sur le produit fini) sera constituée à peu près à 40-60 % par de la graisse butyrique. Si on se réfère aux conditions décrites ci-dessus, au moins deux voies sont à explorer en vue du dosage de la graisse butyrique contenue dans le mélange.

2. La plus simple est fondée sur le dosage d'un composé présent exclusivement dans un des deux corps gras qui seront ensuite mélangés entre eux. Tel est le cas par exemple de l'acide butyrique qui caractérise la matière grasse du beurre. Deux seuls examens de laboratoire, celui de la matière grasse butyrique d'une part et celui du mélange des deux phases grasses, pourraient permettre une évaluation relativement précise. Des nombreuses sources d'erreurs d'une importance assez significative mettent en cause d'une manière très sérieuse cette hypothèse de travail. Une marge d'erreurs de $\pm 10 - 15 \%$ devrait être admise.
3. La deuxième voie est celle qui a été retenue lors de l'adoption de l'article 14 du règlement (CEE) 2409/86; on prévoit le dosage des acides gras présents normalement dans la graisse butyrique (A) de même que dans la graisse d'une origine autre que laitière (B) ainsi que dans le mélange (C). Il ne convient pas d'établir préalablement lesquels des acides gras à chaîne carbonée normale et avec un nombre paire d'atomes de carbone seront retenus pour l'analyse ni leur nombre; cela dépend en effet de la connaissance plus précise de la composition des deux phases (A) et (B) du mélange (C). Le nombre d'acides gras à chaîne non ramifiée et à nombre d'atomes de carbone pair doit être judicieusement choisi pour que le contrôle par l'analyse d'échantillons soit le plus efficace.

C. PRECISION DE LA METHODE

1. Le contrôle de laboratoire envisagé est fondé sur la "comparaison" des résultats des trois analyses exécutées en appliquant la même méthode, par le même appareillage et dans les mêmes conditions de travail, pour autant que possible l'une après l'autre. On parvient à réduire ainsi l'incidence des facteurs susceptibles d'influencer l'efficacité de la comparaison des résultats.

Dans cette optique chaque variable indépendante figurant dans la fonction "répétabilité de la méthode" doit être maîtrisée et rendue pour autant que possible constante pour les trois analyses relatives à chaque lot examiné. Dans ce contexte toutefois la composition des matières grasses, à savoir les proportions parfois assez variables et surtout différentes des acides gras utilisés comme paramètres de référence peuvent jouer un rôle négatif. Le nombre des acides gras pris en considération en vue de l'évaluation de la teneur en matière grasse butyrique peut être bien supérieur à 5-6, surtout si on dispose d'un ordinateur opportunément programmé. Dans cette hypothèse, l'acide butyrique peut être pris en considération en vue du calcul du pourcentage demandé, dès que la répétabilité observée pour cette acide est satisfaisante.

2. Il convient de souligner finalement qu'il est toujours possible pour l'analyste de procéder à un quatrième examen, à savoir à l'analyse d'un mélange préparé au laboratoire en partant de deux échantillons (A) et (B), mélangés entre eux dans les proportions établies sur la base du résultat de l'examen du troisième échantillon (C). Le quatrième examen de laboratoire, ne doit pas nécessairement être répété d'une manière systématique. Il doit toutefois être effectué lorsque des modifications significatives sont apportées à la technique analytique afin de confirmer la bonne répétabilité de l'analyse.

Il est superflu de souligner que, quelle que soit la performance de l'appareillage utilisé et l'expérience du personnel, l'examen des trois échantillons ne sera pas entamé tant qu'on n'aura pas atteint le niveau voulu de répétabilité. Cela n'exclut pas l'utilisation d'un standard interne (p.ex. C₁₃) lors de l'exécution des examens prévus à l'article 14 du règlement déjà mentionné.

Il est souhaitable qu'un échange d'informations relatif aux procédés utilisés dans les laboratoires des Etats membres soit prévu dans quelques mois en vue d'améliorer la performance de la méthode.

D. CONCLUSIONS

Sur la base des considérations développées aux chapitres précédents et en tenant compte de l'avis formulé par les experts des Etats membres, on peut conclure que dans le cas où le beurre concentré est incorporé dans un mélange de matières grasses d'origine non laitière d'une certaine qualité, destiné à la fabrication d'aliments composés notamment pour l'alimentation des veaux ou d'autres animaux domestiques, le contrôle de laboratoire fondé sur une série de trois analyses, à savoir d'une part celles de la matière grasse butyrique et de l'ensemble des matières grasses non laitières mélangées entre elles et d'autre part, le mélange des corps gras destinés à être incorporés dans l'aliment composé, devrait donner dans les conditions précisées notamment aux points B. et C. des résultats affectés d'une erreur relative susceptible d'arriver jusqu'à $\pm 2,5$ %.

Cette conclusion est assortie de deux recommandations:

- le prélèvement d'échantillons doit être correctement effectué de manière à mettre à disposition des intéressés de même qu'à celle des organismes de contrôle, un nombre suffisant de contre-échantillons;
- la bonne répétabilité de la méthode de l'analyse G.L.C. des acides gras doit être assurée par la mise en place des procédés les plus adaptés aux conditions techniques de travail.

Ces conclusions pourraient être modifiées selon les expériences acquises ultérieurement.