

Zeitschrift: Mitteilungen aus dem Gebiete der Lebensmitteluntersuchung und Hygiene = Travaux de chimie alimentaire et d'hygiène

Herausgeber: Bundesamt für Gesundheit

Band: 80 (1989)

Heft: 4

Artikel: Einfache, quantitative photometrische Methode zur Bestimmung von "Gesamt"-Carbonylkomponenten in biologischen Medien = A simple quantitative photometric method for the determination of "total" carbonyl components in biological medias

Autor: Imhof, R. / Bosset, J.O.

DOI: <https://doi.org/10.5169/seals-983612>

Nutzungsbedingungen

Die ETH-Bibliothek ist die Anbieterin der digitalisierten Zeitschriften auf E-Periodica. Sie besitzt keine Urheberrechte an den Zeitschriften und ist nicht verantwortlich für deren Inhalte. Die Rechte liegen in der Regel bei den Herausgebern beziehungsweise den externen Rechteinhabern. Das Veröffentlichen von Bildern in Print- und Online-Publikationen sowie auf Social Media-Kanälen oder Webseiten ist nur mit vorheriger Genehmigung der Rechteinhaber erlaubt. [Mehr erfahren](#)

Conditions d'utilisation

L'ETH Library est le fournisseur des revues numérisées. Elle ne détient aucun droit d'auteur sur les revues et n'est pas responsable de leur contenu. En règle générale, les droits sont détenus par les éditeurs ou les détenteurs de droits externes. La reproduction d'images dans des publications imprimées ou en ligne ainsi que sur des canaux de médias sociaux ou des sites web n'est autorisée qu'avec l'accord préalable des détenteurs des droits. [En savoir plus](#)

Terms of use

The ETH Library is the provider of the digitised journals. It does not own any copyrights to the journals and is not responsible for their content. The rights usually lie with the publishers or the external rights holders. Publishing images in print and online publications, as well as on social media channels or websites, is only permitted with the prior consent of the rights holders. [Find out more](#)

Download PDF: 09.01.2026

ETH-Bibliothek Zürich, E-Periodica, <https://www.e-periodica.ch>

Einfache, quantitative photometrische Methode zur Bestimmung von «Gesamt»-Carbonylkomponenten in biologischen Medien

A Simple Quantitative Photometric Method for the Determination of «Total» Carbonyl Components in Biological Medias

R. Imhof und J. O. Bosset

Eidgenössische Forschungsanstalt für Milchwirtschaft, Liebefeld-Bern

Einleitung

Die Rolle der Carbonylkomponenten für das Aroma von Milchprodukten ist Thema zahlreicher wissenschaftlicher Veröffentlichungen (1–7). Die Bedeutung dieser Klasse von Stoffen liegt darin, dass sie als Stoffwechselprodukte der meisten in der Milchwirtschaft verwendeten Mikroorganismen aufgrund ihrer hohen Aromaintensität entscheidenden Einfluss auf das Aroma nehmen.

Es existieren mehrere Methoden, um Carbonylkomponenten mittels DC, GC, GC-MS, HPLC qualitativ und quantitativ zu analysieren. Dennoch bietet die klassische Photometrie immer noch einige Vorteile gegenüber diesen Methoden. So entfällt beispielsweise der Aufwand für teure und komplizierte Messgeräte, und die Methode ist einfacher in der Durchführung.

Ziel der vorliegenden Arbeit ist die Optimierung der photometrischen Methode zur Bestimmung von «Gesamt»-Carbonylkomponenten durch Derivatisierung mit Vanillin.

Besprechung einiger photometrischer Methoden

Verschiedene photometrische Methoden wurden in der vorliegenden Arbeit unter den Gesichtspunkten zeitlicher und apparativer Aufwand sowie Durchführung in biologischen Medien geprüft.

Die quantitative Bestimmung von Carbonylkomponenten durch Salicylaldehyd (8) ist sehr arbeitsaufwendig. Salicylaldehyd sollte immer frisch destilliert verwendet werden, und der für das Reagens als Lösungsmittel verwendete Alkohol muss zuerst von Carbonylkomponenten befreit werden. Das Reagens zersetzt

sich sehr rasch und dunkelt dabei stark nach (9). Zuletzt ist auch der zeitliche Aufwand der Durchführung der Analyse ziemlich gross. Gegen die Anwendung der Methode mit Natriumnitroprussid spricht, dass die «Legal-Reaktion» (8) sowohl für Methylketone als auch für Aldehyde nicht spezifisch ist und auch die Nachweisgrenze in der Grössenordnung von einigen mmol/l liegt (8).

Die Reaktion mit 2,4-Dinitrophenylhydrazin (10) ist zwar sehr genau und auch einfach, aber nur in wasserfreier Essigsäure durchführbar. Damit scheiden die meisten biologischen Medien aus. Verschiedene Hydrazonderivate werden für Bestimmungen von Aldehyden und Ketonen mittels DC, GC, GC-MS und HPLC verwendet (6, 7, 11). Der Nachteil dieser sehr genauen und zuverlässigen Bestimmungen liegt einzig darin, dass sie apparativ und auch zeitlich sehr aufwendig sind. Zur schnellen und einfachen, quantitativen Bestimmung von Methylketonen und Aldehyden in verschiedenen biologischen Medien, wie z. B. Käse oder Kulturüberständen von Bakterienkulturen, wird deshalb die photometrische Bestimmung von Carbonylkomponenten in alkalischem Milieu durch Derivatisierung mit Vanillin (8, 9) vorgeschlagen und näher spezifiziert.

Die Vanillinmethode besitzt gegenüber den oben erwähnten Nachweismethoden zahlreiche Vorteile. Vanillin ist wasserlöslich, als Lösung über einige Wochen stabil, farblos und dunkelt während der Lagerung nicht nach. Der Nachweis ist zudem weder zeitlich noch apparativ sehr aufwendig.

Experimenteller Teil

Probenmaterial

- Greyerzerkäse, 6 Monate bei 12–15 °C und 90–95% relativer Luftfeuchtigkeit gelagert (Lagerkeller).
- Kulturüberstände von Milchsäurebakterien, MRS-Medium 0,3% beimpft mit Vorkultur, 22 h bei 38 °C unter mikroaeroben Bedingungen bebrütet.

Probenvorbereitung

- Käse: Die tiefgefrorenen Käseproben wurden ohne aufzutauen mit einer Käsereibmaschine feingerieben und das geriebene Probenmaterial (für Doppelprobe 2×100 g) noch möglichst gut mit einem Spatel durchgemischt. Nach Zugabe von 150 ml bidestilliertem Wasser wurde die Probe mit dem Ultra-Turax-Turbomixer auf Stufe 3 während 2 min dispergiert.
- Bakterienkulturen: Die Kulturen wurden nach der Bebrütung auf 4 °C abgekühlt und zentrifugiert (Beckmann RC-2B, Rotor GS-3, 9000 rpm, 4 °C, 20 min). Die Überstände wurden sorgfältig abdekantiert und davon rund 200 ml weiterverarbeitet.

Probenaufarbeitung

Die flüchtigen Aromastoffe der vorbereiteten Proben wurden im Rotationsverdampfer während 60 min unter Wasserstrahlvakuum abdestilliert (12).

Die Apparatur wird in Abbildung 1 gezeigt: Pos. 1: Wasserbad 60 °C ($\pm 1,0$ °C). Pos. 2: Rundkolben mit Käsemasse. Pos. 3: Pfropfen aus silanisierter Glaswatte (Spritzschutz). Pos. 4: Rotavapor, Drehgeschwindigkeit Stufe 5. Pos. 5: Vorlage. Pos. 6: Eis/Wasser-Kühlung. Pos. 7: Belüftungshahn. Pos. 8: Intensivkühler, Kühlertemperatur 30 min bei -15 °C, dann innert 30 min auf +3 °C ansteigen lassen, um die Kühlspirale abtauen zu lassen (ausschliessen des Kühlfal-leneffektes). Pos. 9: Komplexierfalle. Pos. 10: Komplexierflüssigkeit. Pos. 11: Vakuumhahn.

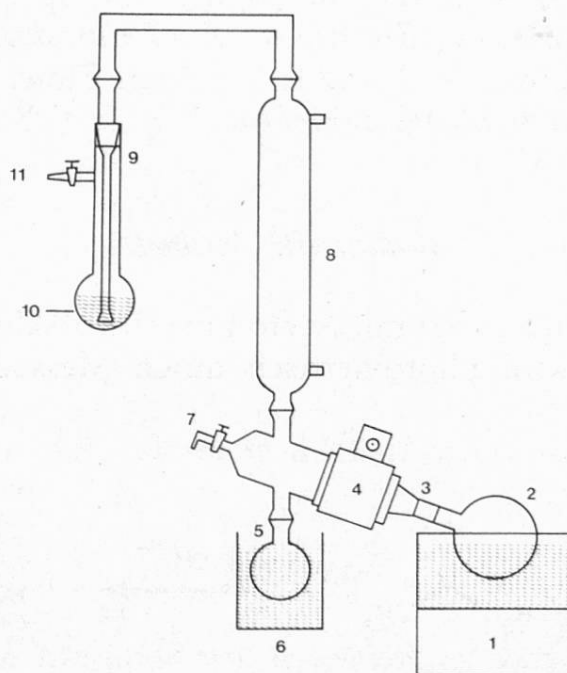


Abb. 1. Schema der Apparatur zur Extraktion der leichtflüchtigen Aromakomponenten

Die leichtflüchtigen Carbonylkomponenten wurden quantitativ in Pos. 9 in 100 ml Natriumhydrogensulfit 10 g/l als Komplex gebunden (13). Die Ausbeute betrug dabei in wässrigen Acetonlösungen als Standard mehr als 99%. Bei Käseproben sinkt die Ausbeute infolge von Matrixeffekten auf ca. 29% ab. Destillat in Pos. 5 und Pos. 9 wurden zusammengegossen, gut gemischt und bei 4 °C gelagert (bis 2 Wochen problemlos ohne Verluste).

Chemikalien

Reagens A: Vanillin puriss. p. A., Fluka Chemie AG, Art. Nr. 94750, 7,2 g/l in destilliertem Wasser.

Reagens B: Natriumhydroxid p. A., Merck, Art. Nr. 6498, 400 g/l in destilliertem Wasser.

Standard: Aceton p. A., Merck, Art. Nr. 14, Stammlösung 20 mmol/l in destilliertem Wasser, welche direkt vor Gebrauch mit destilliertem Wasser auf die benötigten Konzentrationen (10–200 $\mu\text{mol/l}$) verdünnt wurden.

Geräte

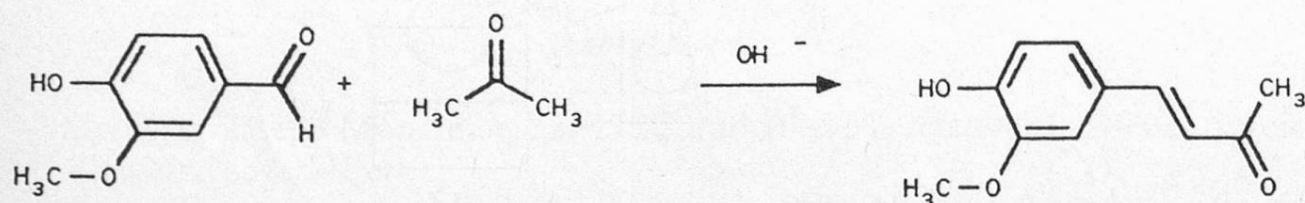
Spektralphotometer PMQ II (mit Spaltautomatik), Carl Zeiss AG, Jena; Küvetten von Hellma aus optischem Spezialglas, 5 cm Schichtdicke: *für die Routine-messungen.*

Diode Array Spectrophotometer HP 8452A (automatischer, elektrischer Abgleich jeder Diode); Küvetten aus optischem Spezialglas (Hellma, 1 cm Schichtdicke): *für die Messung der Kinetik der Farbreaktion.*

UV/VIS Spectrophotometer Lambda 5, Perkin Elmer (mit Spaltautomatik); Küvetten aus optischem Spezialglas (Hellma, 1 cm Schichtdicke): *für die Wahl der Wellenlänge.*

Modifizierte Methode

Prinzip: Vanillin kondensiert mit Aceton in stark alkalischem Milieu zu Vanilalaceton (9). Dieses wird photometrisch durch Messung der Extinktion bei 414 nm bestimmt.



Analog reagieren andere Methylketone und Aldehyde, wobei die Verlängerung der Alkylkette die Reaktivität verringert (8).

Durchführung: 3 ml Probe mit 3 ml Reagens A und 6 ml Reagens B versetzen, gut mischen, 15,0 min im Wasserbad bei 50 °C reagieren lassen, 3,0 min im Wasserbad auf 20 °C abkühlen lassen und innert 3,0 min Extinktion bei 414 nm gegen destilliertes Wasser messen. Gegenüber der Methode von *Levine* und *Taterka* (9) werden folgende Verbesserungen vorgeschlagen:

- Keine Verdünnung des Probenansatzes nach dem Abkühlen auf 20 °C. Damit wird die Empfindlichkeit des Nachweises erhöht, die Linearität bleibt aber gewährleistet (Abb. 5).
- Die Verwendung von 5-cm-Küvetten (für Konzentrationen bis 200 $\mu\text{mol/l}$) anstelle von 1-cm-Küvetten erbringt auch eine Erhöhung der Empfindlichkeit um Faktor 5.

- Schliesslich wird die Extinktion gegen destilliertes Wasser – statt gegen einen Reagenzienblindwert – gemessen, um photometrische Artefakte zu vermeiden (Abb. 4).

Prüfung der Selektivität

Zur Überprüfung der Selektivität wurden die molaren Extinktionskoeffizienten (ϵ) verschiedener Homologe der Aldehyde und der Methylketone bestimmt. Dabei wurde von jeder Komponente eine Verdünnungsreihe angesetzt (200, 100, 50 und 20 $\mu\text{mol/l}$), davon bei Dreifachproben die Extinktion bei 414 nm gemessen und daraus ϵ berechnet.

Prüfung der Kinetik der Farbreaktion

Bei verschiedenen Acetonkonzentrationen wurde in Abständen von 2 min die Extinktion bei 414 nm gemessen. Die Proben wurden dabei 15 min im Wasserbad von 50 °C inkubiert, innert 3 min auf 20 °C abgekühlt und in den folgenden 10 min, in welchen die Extinktion in Minutenabständen gemessen wurde, bei Raumtemperatur gehalten.

Resultate und Diskussion

Spezifität

Die vorgeschlagene Methode wurde gegenüber verschiedenen Klassen von Verbindungen auf mögliche Interferenzen überprüft. Die folgenden flüchtigen Komponenten ergaben keine Farbreaktion:

- Carbonsäuren (Essigsäure, Propionsäure)
- Carbonsäureester (Propion-, Essigsäuremethylester)
- Primäre Alkohole (Ethanol, Octanol-1)

Interferenzen bestehen zu Polyalkoholen, wie z. B. Saccharose und Glucose. Diese Zucker werden durch die Wasserdampfdestillation (Stripping) ausgeschlossen.

Selektivität innerhalb der Carbonylkomponenten

Die Reaktionsprodukte von Vanillin mit verschiedenen Vertretern der homologen Reihen von Methylketonen und Aldehyden weisen verschiedene Extinktionskoeffizienten auf. Aus Abbildung 2 wird ersichtlich, dass bei längerer Kette der C-Atome auch der entsprechende Wert des Extinktionskoeffizienten absinkt.

Die extrem tiefen Werte von 2-Butanon und 2-Butanal wurden nachträglich überprüft. Die Reaktion mit Formaldehyd ergab keinen Farbkomplex.

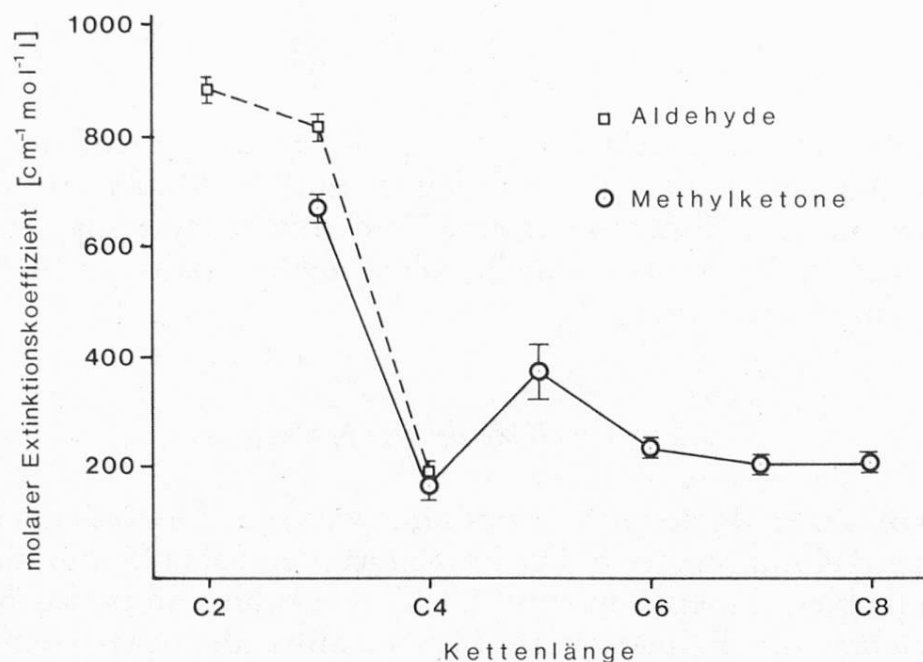


Abb. 2. Bestimmung der molaren Extinktionskoeffizienten (ϵ) verschiedener Homologe der Aldehyde (C2–C4) und der Methylketone (C3–C8). Dargestellt sind Mittelwert und Standardabweichung

Da die Extinktionskoeffizienten der verschiedenen Reaktionsprodukte deutlich variieren, wird in der vorliegenden Arbeit das Resultat der Bestimmung einfachheitshalber in Acetonäquivalenten ($\mu\text{mol/l}$) angegeben.

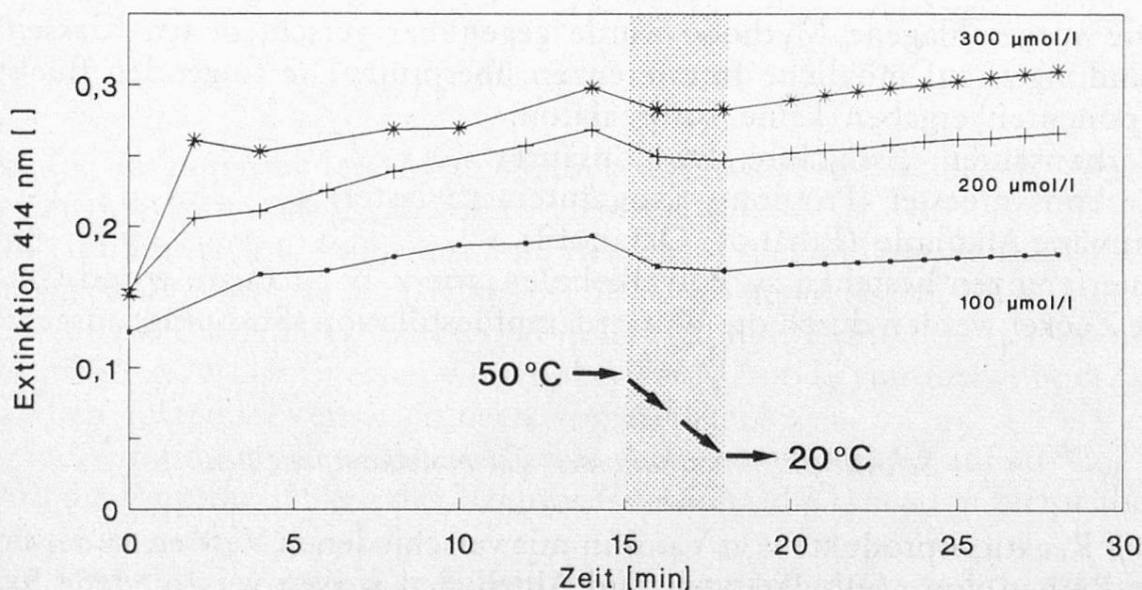


Abb. 3. Bestimmung der Kinetik der Farbreaktion. Gerasterter Bereich: Abkühlung auf 20°C (absolute Extinktionswerte, nicht korrigiert gegen Blindwert)

Kinetik der Farbreaktion

Die Kinetik der Farbreaktion ist in Abbildung 3 dargestellt. Dabei wird ersichtlich, dass die Extinktion auch temperaturabhängig (thermolabil) und die Derivatisierungsreaktion innerhalb der vorgeschlagenen Zeit nicht beendet ist. Die Bedingungen der Reaktion (Temperatur, Zeit) sind also strikte zu standardisieren und einzuhalten, um reproduzierbare Resultate zu erreichen.

Wahl der Wellenlänge

Nach *Levine* und *Taterka* (9) wird die Extinktion auf einem Absorptionsmaximum gemessen. Wie aus Abbildung 4 ersichtlich, sind aber Absolutmessungen

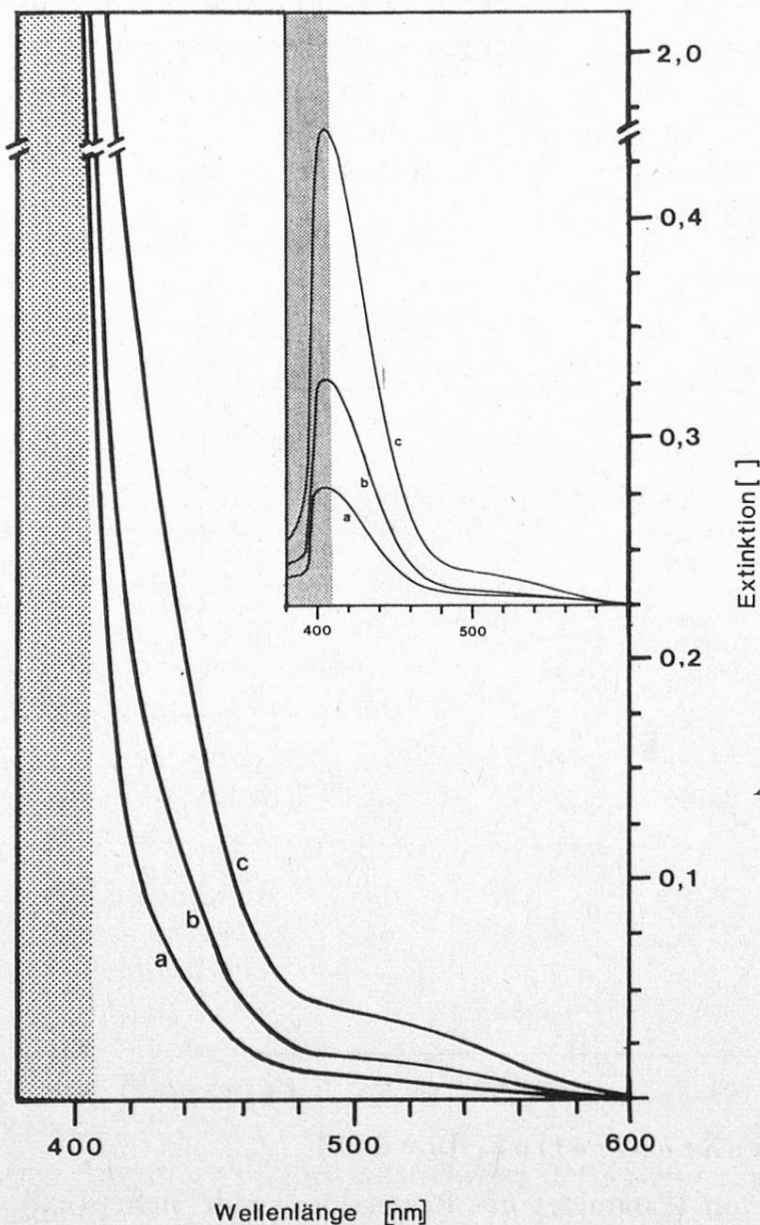


Abb. 4. Spektren von Vanilalaceton. Legende: grosses Bild: Absolutmessung (gegen dest. Wasser gemessen), kleines Bild: Relativmessung (gegen Reagenzienblindwert gemessen). Gerasterte Fläche: Bereich des «cut-off». a = 0,1 mmol/l, b = 0,2 mmol/l, c = 0,4 mmol/l.

gegen destilliertes Wasser den Relativmessungen gegen einen Blindwert vorzuziehen: die Restlichtmenge dieser Relativmessungen beträgt weniger als 1%, die Extinktionswerte der entsprechenden Absolutmessungen (gegen destilliertes Wasser) liegen über 2,0. Das heisst, die oben erwähnten Maxima liegen im Bereich des «cut-off» und sind folglich als Artefakte des Photomultipliers zu interpretieren.

Der Bereich des «cut-off» muss für das jeweils verwendete Photometer individuell bestimmt und die Wellenlänge so gewählt werden, dass sie ausserhalb des Bereiches des «cut-off» liegt.

Linearität und Kalibrierung

Die Farbreaktion mit Aceton ist im Bereich von ca. 10–1000 $\mu\text{mol/l}$ linear. Abbildung 5 zeigt die Linearität der um den Reagenzienblindwert korrigierten Extinktion in Funktion der Konzentration im Bereich bis 200 $\mu\text{mol/l}$. Die Kalibrierungsgerade ($N = 62$ Datenpaare) ist durch folgende Regressionsgerade charakterisiert:

- Achsenabschnitt α = 0,00769 (Extinktionseinheiten)
- Steigung β = 0,00313 (Extinktionseinheiten $\cdot 1 \cdot \mu\text{mol}^{-1}$)
- Regressionskoeffizient $r = 0,999$

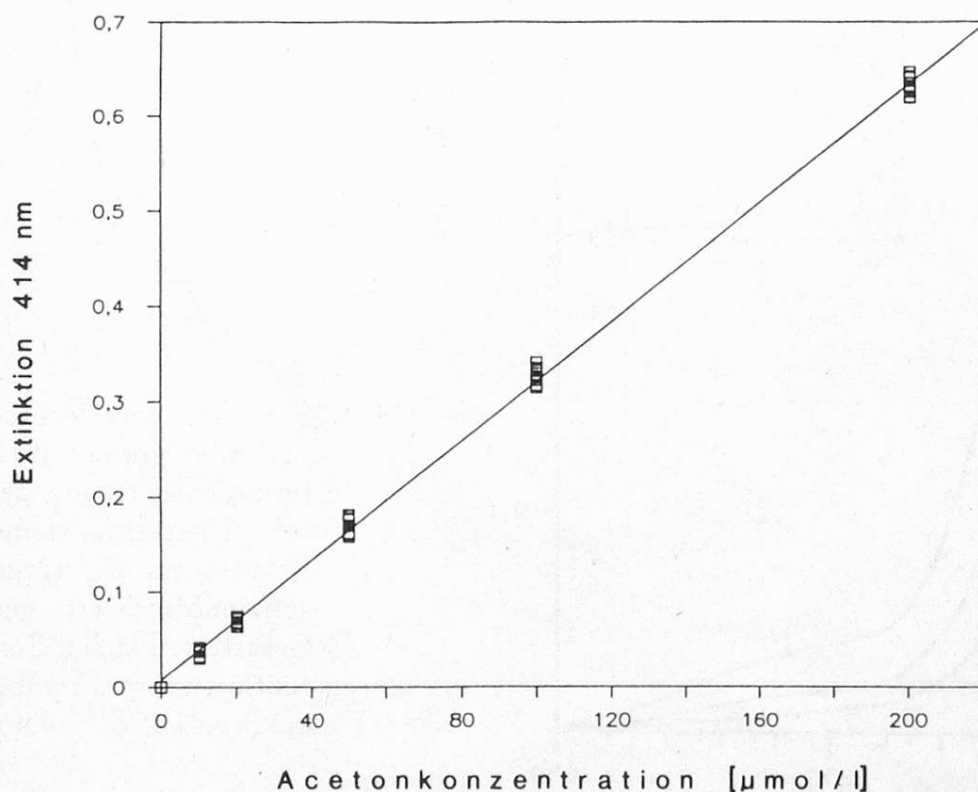


Abb. 5. Kalibrierungsgerade mit Aceton (Parameter der Regressionsgerade siehe Text)

Mit einem F-Test (14) wurde die Signifikanz des Achsenabschnittes [$F_{(\alpha=0)}$] untersucht. $F_{(\alpha=0)} = 25,6$. Der Tabellenwert für $F_{0,95} (1:60)$ beträgt 4,00. Der kleine aber hochsignifikante Achsenabschnitt ($E \cong 0,008$) der Kalibrierungsgerade konnte nicht erklärt werden. Darum wird empfohlen, anstelle des üblich gemessenen Reagenzienblindwertes, in der Praxis die errechnete Nullpunktordinate zu verwenden.

Nachweisgrenze

Die Nachweisgrenze liegt tiefer als 10 $\mu\text{mol/l}$. Die Probenwerte der Kalibrierungsgeraden (Abb. 5) streuen bei dieser Konzentration um ca. 20% (Variationskoeffizient der Wiederholbarkeit der Methode).

Reproduzierbarkeit der Methode

Die Standardabweichung der Wiederholbarkeit der Methode wurde anhand von Bakterienüberständen nach der Formel

$$s_r = \sqrt{\frac{1}{m} \sum_{j=1}^m s_j^2}$$

bestimmt. Da bei wachsendem Mittelwert auch die Streuung zunimmt, ist es anschaulicher, ein relatives Streuungsmass, den Variationskoeffizienten (VK), anzugeben.

Tabelle 1. Wiederholbarkeit der Methode

	Proben				Methode	
	<i>n</i>	Mittelwert	Standardabweichung	VK (%)	Standardabweichung	VK (%)
Kontrollkäse	11	55,74	14,02	25,2	4,49	7,80
Variantenkäse	22	29,08	14,43	49,6	5,18	17,81
alle Käseproben	33	38,56	19,59	50,8	4,96	12,72
MRS-Blindwert	11	68,44	7,92	11,6	1,89	2,76
<i>L. fermentum</i>	11	28,24	22,10	78,3	2,58	9,13
<i>L. delbrückii</i>						
ssp. <i>lactis</i>	7	688,4	354,4	51,1	16,28	2,36
alle Kulturen und Blindwerte	29	237,3	346,5	156,3	8,93	3,76

n = Anzahl der Proben; Mittelwerte der Käseproben in $\mu\text{mol/kg}$, der Kulturüberstände in $\mu\text{mol/l}$.

Aus Tabelle 1 wird ersichtlich, dass die Methode bei den Kulturüberständen im unteren Nachweisbereich ($VK = 9,13\%$) naturgemäss stärker streut als im mittleren und höheren Bereich ($VK < 2,76\%$). Dasselbe Bild ergibt sich aus den Resultaten der Käseproben. Die höhere Streuung hier ist wahrscheinlich auf die relativ grosse Inhomogenität der Matrix zurückzuführen.

Dank

Die Autoren danken ihrem Kollegen Herrn Dr. E. Flückiger für seine wertvollen Anregungen zu dieser Arbeit.

Zusammenfassung

Ziel der vorliegenden Arbeit ist die Verbesserung und Optimierung einer einfachen, quantitativen photometrischen Methode zur Bestimmung von «Gesamt»-Carbonylkomponenten in verschiedenen biologischen Medien. Die Methode beruht auf einer Derivatisierung mit Vanillin in stark alkalischem Medium. Vorteile dieser Methode sind der bescheidene apparative Aufwand, die Einfachheit der Durchführung, die Empfindlichkeit und ihre Spezifität. Die vorgeschlagene Wellenlänge (414 nm) entspricht nicht einem Maximum, wie von Levine und Taterka beschrieben, sondern einer Schulter des Absorptionspeaks. Weiter wurden die Kinetik der Farbreaktion und die molaren Extinktionskoeffizienten von Homologen von Aldehyden und Methylketonen bestimmt. Aufgrund der Verschiedenheit dieser Extinktionskoeffizienten wird das Resultat in Acetonäquivalenten ausgedrückt.

Résumé

Le présent travail vise à améliorer et à optimiser une méthode quantitative simple de dosage des composés carbonylés «totaux» dans divers milieux biologiques. A cette fin, on «dérivatisé» ces composés avec de la vanilline en milieu fortement alcalin. Les avantages de cette méthode sont ses besoins relativement restreints en équipement, la simplicité de son exécution, sa sensibilité et sa spécificité. La longueur d'onde proposée (414 nm) ne correspond pas à un maximum, comme le prétendent Levine et Taterka, mais à une épaule du pic d'absorption. Cette erreur d'interprétation dans le travail original s'explique probablement par un artefact photométrique dû au «cut-off» du milieu en dessous de cette longueur d'onde. La cinétique de la dérivation ainsi que les coefficients d'extinction molaires d'une série homologue d'aldéhydes et de cétones ont encore été déterminés. En raison des différences d'extinction mesurées, il est proposé d'exprimer les résultats en «équivalents d'acétone».

Summary

The goal of this study is to improve and to optimize a simple quantitative photometric method for the determination of «total» carbonyl components in biological medias. The method is based on a derivatisation reaction with vanilline in alkaline medium. The advan-

tages of this photometric method are the low cost equipment, its simplicity, its sensitivity and its specificity. It was shown that the extinction is measured on a peak shoulder rather than on a maximum as described by Levine and Taterka. The best wave-length for this method was found to be 414 nm. Furthermore the kinetics of the colour reaction and the molar extinction coefficients of several homologous sequences of aldehydes and methylketones were determined. Because of the differences in these extinction coefficients the result of the assay is given in equivalents of propanone.

Literatur

1. Behnke, U.: Zur Biogenese des Käsearomas. *Die Nahrung* **24**, 71–83 (1980).
2. Bosset, J. O. und Gauch, R.: The aroma composition of Swiss Gruyère cheese. II. The neutral volatile components. *Lebensm.-Wiss. -Technol.* **17**, 359–362 (1984).
3. Dumont, J. P. et Adda, J.: Flavour formation in dairy products. In: Land, D. G. and Nursten, H. E. (eds.), *Progress in flavour research*, p. 245–262. Applied Science Publishers Ltd, London 1979.
4. Panousse, J. J., Massom, J.-D. et Than Tong, T.: Les arômes de fromage. *Industr. alim. agr.* **89**, 133–140 (1972).
5. Keenan, T. W. and Bills, D. D.: Metabolism of volatile compounds by lactic starter culture microorganisms. A Review. *J. Dairy Sci.* **51**, 1561–1567 (1968).
6. Kowalewska, J., Zelazowska, H., Babuchowski, A., Hammond, E. G., Glatz, B. A. and Ross, F.: Isolation of aroma-bearing material from *Lactobacillus helveticus* culture and cheese. *J. Dairy Sci.* **68**, 2165–2171 (1985).
7. Vedamuthu, E. R., Sandine, W. E. and Elliker, P. R.: Flavour and texture in Cheddar cheese. II. Carbonyl compounds produced by mixed strain lactic starter cultures. *J. Dairy Sci.* **49**, 151–157 (1965).
8. Kakac, B. und Vejdelek, Z. J. (Hrsg.): *Handbuch der photometrischen Analyse*, S. 273–292. Verlag Chemie GmbH, Weinheim 1974.
9. Levine, V. E. and Taterka, M.: Determination of ketone bodies in blood and urine by means of vanillin in alkaline medium. *Clin. Chem.* **3**, 646–655 (1957).
10. Pesez, M., Poirier, P. et Bartos, J.: *Pratique de l'analyse organique colorimétrique*, p. 128–129. Masson et Cie. Editeurs, 120 Bvd. St-Germain, Paris VI 1966.
11. Knapp, D. R.: *Handbook of analytical derivatization reactions*, pp. 338–342. John Wiley & Sons New York, Chichester, Brisbane, Toronto 1979.
12. Bosset, J. O. und Gauch, R.: GC-MS-Bestimmung von flüchtigen Aromakomponenten in Schweizer Emmentalerkäse mittels zweier verschiedener Extraktionsmethoden (in Vorbereitung).
13. Klages, F.: *Einführung in die organische Chemie*, S. 115–116. Walter de Gruyter + Co., Berlin 1965.
14. Riedwyl, H.: *Regressionsgerade und Verwandtes*, S. 34–35. UTB, Verlag Paul Haupt, Bern und Stuttgart 1980.

R. Imhof
Dr. J. O. Bosset*
Eidgenössische Forschungsanstalt für Milchwirtschaft
CH-3097 Liebefeld-Bern

* Korrespondenz an Dr. J. O. Bosset