

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

Herausgeber: Bundesamt für Gesundheit

Band: 69 (1978)

Heft: 1

Artikel: Enzymatische Triglyceridbestimmung in Weichkäse - eine Schnellmethode zur Fettbestimmung in Milchprodukten

Autor: Kohler, P.

DOI: <https://doi.org/10.5169/seals-983318>

Nutzungsbedingungen

Die ETH-Bibliothek ist die Anbieterin der digitalisierten Zeitschriften. 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. [Siehe Rechtliche Hinweise.](#)

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. [Voir Informations légales.](#)

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. [See Legal notice.](#)

Download PDF: 15.03.2025

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

P. Kohler, Kantonales Laboratorium, Solothurn

Enzymatische Triglyceridbestimmung in Weichkäse — eine Schnellmethode zur Fettbestimmung in Milchprodukten

Einleitung

Enzymatische Analysenmethoden zeichnen sich im allgemeinen durch einen geringen Arbeitsaufwand aus, weil die Spezifität der Enzyme keine weitgehende Aufarbeitung des Analysengutes erfordert.

Da Fettbestimmungen in Milchprodukten wie Käse in amtlichen Laboratorien zum täglichen Brot gehören und die im Schweizerischen Lebensmittelbuch angebotenen Methoden (1) mit relativ viel Zeitaufwand verbunden sind, erschien uns die Möglichkeit einer enzymatischen Fettbestimmung prüfenswert.

In einer Methodensammlung zur enzymatischen Lebensmittelanalytik (2) bietet die Firma Boehringer, Mannheim, eine Methode zur Bestimmung von Milchtriglyceriden an.

Sie diene als Grundlage für die vorliegende Arbeit.

Theorie

Das Ziel aller enzymatischen Bestimmungsmethoden ist, die zu ermittelnde Substanz in eine enzymatische Reaktionssequenz, deren letzter Schritt meßbar ist, einzuschleusen.

Die meßbaren Schritte sind meist Oxidation von NADH und NADPH bzw. Reduktion von NAD^+ und NADP. Diese Substanzen lassen sich aufgrund ihrer Absorption bei 340 nm (auch 334, 365 nm) quantitativ bestimmen.

Bei der chemischen oder enzymatischen Verseifung von Triglyceriden entsteht neben den Fettsäuren Glycerin. Dieses eignet sich als Meßgröße für Triglyceride und nimmt an der enzymatischen Reaktion gemäß Abbildung 1 teil.

Dabei ist der Verbrauch an NADH der Glycerinmenge und somit auch der Triglyceridmenge äquivalent.

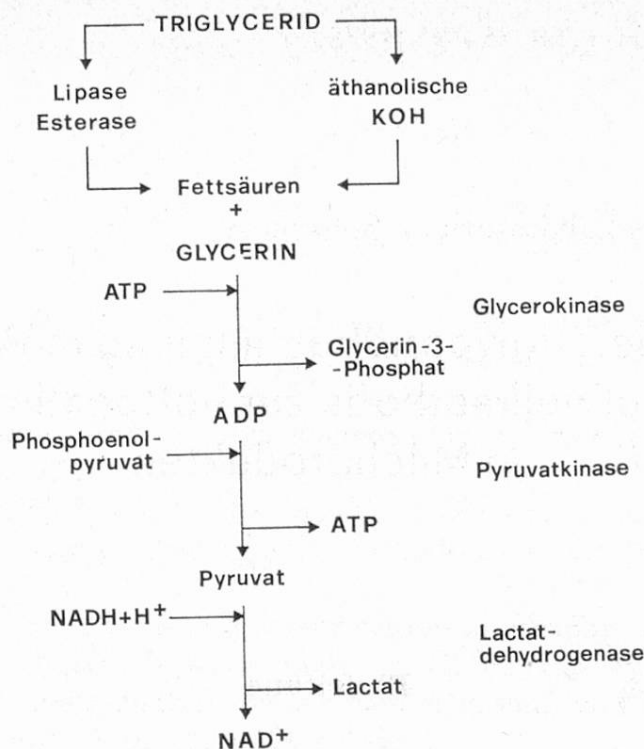


Abb. 1. Reaktionsschema für die enzymatische Triglyceridbestimmung
 ATP = Adenosintriphosphat ADP = Adenosindiphosphat
 NAD = Nicotinamid-adenin-dinucleotid

Ausarbeitung der Methode

Verseifung

Enzymatische Verseifung

Eine enzymatische Verseifung erfordert die Herstellung eines Homogenisates in wäßriger Phase, weil die Lipase Triglyceride nur dann hydrolysiert, wenn das Substrat möglichst fein verteilt ist (3).

Eingehende Versuche zur Herstellung von Homogenisaten auch mit stabilisierenden Zusätzen wie Citrat und Taurocholat führten nicht zu reproduzierbaren Resultaten. Obwohl neuerdings eine entsprechende Methode von der Firma Boehringer erschienen ist, wurde vor allem aus Kostengründen (Lipase und Esterase sind sehr teuer) von der enzymatischen Verseifung Abstand genommen.

Chemische Verseifung

1. Allgemeines

Die Verseifungen wurden gemäß (4 und 5) mit 0,5 n äthanolischer Kalilauge durchgeführt. Anschließend wurden die Proben mit 2,5 n-Perchlorsäure neutralisiert und nach Carrez geklärt.

Schon bald zeigte sich, daß diese Verseifung das Kernstück der Methode darstellt.

Wie aus den Ringversuchen ersichtlich, wurden bei einzelnen Laboratorien bei den Proben durchwegs zu hohe Werte gefunden, während die gleichzeitig unter-

suchten Trioleinstandards die erwarteten Werte lieferten. Andererseits wurden in andern Labors für die Proben und die Standards zu tiefe Werte festgestellt.

Eine eingehende Besprechung mit Herrn Dr. H. O. Beutler, Forschungsleiter bei der Firma Boehringer*, ergab folgende Sachlage:

Die Ausbeute an Glycerin aus der Verseifung ist von folgenden Faktoren abhängig:

- von der Alkalität der Kalilauge: zu starke Lauge induziert Nebenreaktionen (vgl. unten), zu schwache Lauge ergibt zu niedrige Ausbeuten;
- vom Wassergehalt der verwendeten Kalilauge;
- von der genauen Einhaltung der Verseifungsbedingungen.

2. Einfluß der Verseifungsdauer

Nach *Hadorn* und *Zürcher* (6) genügt eine Verseifungsdauer von 5 Minuten für eine vollständige Verseifung. Diese Erfahrung konnte bestätigt werden (Abb. 2). Allerdings ergaben sich nur Ausbeuten von ca. 96%.

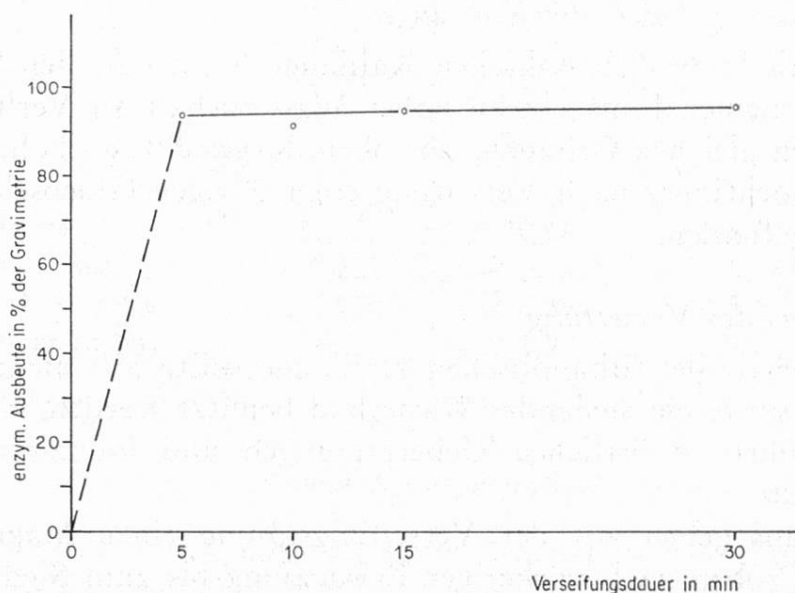


Abb. 2. Fettausbeute in Funktion der Verseifungsdauer

Gemäß Beutler benötigen aber Triglyceride gewisser Fettsäuren bis ca. 18 Minuten zur Verseifung.

Durch die Aenderung der Verseifungsdauer von 15 auf 20 Minuten konnten so die Ausbeuten an Glycerin auf Werte zwischen 98 und 100% verbessert werden.

Zu lange Verseifungszeiten führen allerdings bei den Proben zu Sekundäreffekten, da die darin enthaltenen Zucker zu Glycerin gespalten werden, was zu hohe Ausbeuten zur Folge hat.

* Unveröffentlichte Resultate der Firma Boehringer Mannheim, Werk Tutzing, BRD

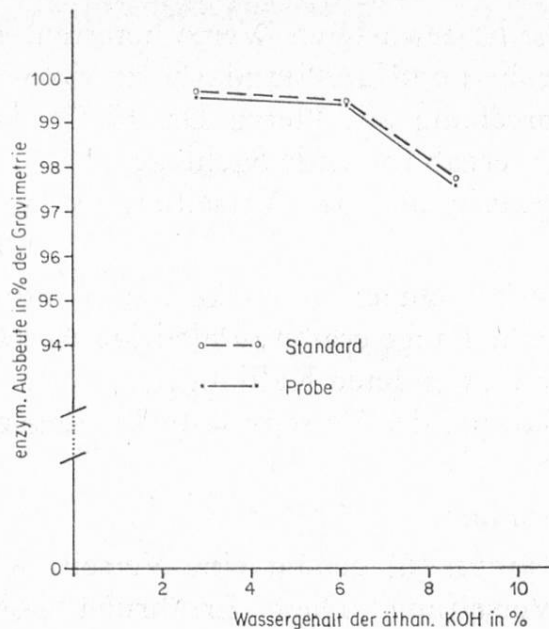


Abb. 3. Fettausbeute in Funktion des Wassergehaltes der äthanolischen KOH

3. Einfluß des Wassergehaltes der Kalilauge

Der Wassergehalt der äthanolischen Kalilauge beeinflusst den Siedepunkt der Lösung. Im allgemeinen führt ein zu hoher Wassergehalt zu Verlusten (Abb. 3), kann aber aus den gleichen Gründen, wie oben dargestellt, zu hohe Werte liefern. So wurden bei Boehringer nach Verseifung einer 5%igen Glucoselösung Glycerin und Milchsäure gefunden.

4. Bedingungen bei der Verseifung

Der Wassergehalt der äthanolischen Kalilauge sollte 5% nicht überschreiten.

Als Heizbad sollte ein siedendes Wasserbad benützt werden. Erhitzen auf offener Flamme führt zu örtlichen Ueberhitzungen und induziert die oben beschriebenen Effekte.

Darüber hinaus geben wir der Verseifungslösung einen Magnetrührstab bei und rühren die Proben nach vorheriger Erwärmung bis zum Siedepunkt kräftig, weil sonst leicht eine Verklumpung der Käseprobe stattfindet, was zu Verlusten führt.

Enzymatische Glycerinbestimmung

Sie verläuft nach dem Schema in Abbildung 1 und wurde mit einer Glycerin-Testkombination für Lebensmittelanalytik der Firma Boehringer, Mannheim*, durchgeführt. Die der Kombination beigelegte Arbeitsanweisung wurde geringfügig abgeändert (vgl. praktischer Teil).

Es wurden von jeder verseiften Probe jeweils Doppelbestimmungen ausgeführt und die daraus resultierenden Mittelwerte zur Berechnung verwendet.

* Wir danken der Firma Boehringer, Mannheim in Zürich für die Ueberlassung einiger Testkombinationen.

Reproduzierbarkeit

Tabelle 1 zeigt die Zusammenstellung der durchgeführten Reproduzierbarkeitsversuche.

Die statistischen Berechnungen erfolgten nach *Kaiser* und *Gottschalk* (7) und ergaben einen mittleren Streubereich von $\pm 0,5$ — $0,6\%$.

In Anbetracht dessen, daß Verdünnungen von 1 : 2500 verwendet werden und ein Unterschied von 0,001 Extinktionseinheiten auf dem Photometer Differenzen von mehr als 0,1% Fett ergibt, muß diese Streuung als sehr klein bezeichnet werden.

Tabelle 1. Reproduzierbarkeit

Käseprobe	1	2	3	4
Einzelwerte in %	37,83	30,61	27,84	19,90
	37,97	30,74	28,04	19,91
	38,13	30,63	28,34	19,91
	37,94	30,43	27,99	19,66
	38,50	30,60	28,15	19,90
	38,23	30,96		19,84
	38,36	30,73		
	38,25	30,80		
		30,43		
Mittelwerte in %	38,15	30,66	28,07	19,85
Standardabweichung	$\pm 0,227$	$\pm 0,171$	$\pm 0,187$	$\pm 0,098$
Streubereich (P = 95%)	$\pm 0,539$	$\pm 0,395$	$\pm 0,519$	$\pm 0,253$
Rel. Streubereich in %	$\pm 1,4$	$\pm 1,9$	$\pm 1,8$	$\pm 1,3$

Anwendungsgrenzen

Aufgrund der zur Verfügung stehenden Coenzym- und Enzymmengen sind richtige Resultate nur zwischen 0,25 und 4 g Triglyceriden pro Probe möglich. Unsere Versuche zeigten, daß die günstigsten Bedingungen bei Einwaagen zwischen 1,2 und 1,4 g Käse liegen.

Die enzymatische Triglyceridbestimmung eignet sich nur für einheitliche Fette, da die Bestimmung eines mittleren Molekulargewichtes nur dort reproduzierbar ist. Das Molekulargewicht für Milchfett beträgt 742* und läßt sich aus der Verseifungszahl bestimmen (8).

Aufgrund der weiter oben genannten Störungsmöglichkeiten darf bei paralleler Verseifung von Probe und Trioleinstandard die Ausbeute über den Standard (als 100% angenommen) berechnet werden. Dadurch eliminieren sich die aus den Bedingungen erwachsenen Ausbeuteverluste.

* Gemäß einem Brief der Firma Boehringer in die Laiterie vaudoise in Lausanne: $MG = 742 \pm 2,9\%$.

Tabelle 2. Ringversuch

Laboratorium	1		2		3		4		Gravimetrie	
	1206	1207	1206	1207	1206	1207	1206	1207	1206	1207
Käseprobe										
Einzelwerte in %	28,13 28,36 28,12 28,11 28,39	20,06 20,09 20,09 20,08 19,98	29,53 29,69 29,73 30,02 29,58	20,99 20,68 20,36 20,58 20,43	27,85 27,80 27,15 27,60 27,60	19,75 19,50 19,55 19,10 19,75	29,43 29,58 29,19 29,36 28,93	22,57 22,36 22,55 22,06 22,19		
Mittelwerte in %	28,22	20,06	29,71	20,61	27,80	19,53	29,30	22,35	28,52	20,14
Standardabweichung	± 0,140	± 0,046	± 0,191	± 0,248	± 0,226	± 0,266	± 0,249	± 0,223		
Streubereich (P = 95%)	± 0,389	± 0,129	± 0,531	± 0,688	± 0,629	± 0,739	± 0,692	± 0,619		
Rel. Streubereich in %	± 1,4	± 0,6	± 1,8	± 3,3	± 2,3	± 3,8	± 2,4	± 2,8		

Ringversuch

Zur Prüfung der Labortauglichkeit und Reproduzierbarkeit wurde ein Ringversuch durchgeführt.

Der Versuch fand statt bevor die Probleme bei der Verseifung erkannt waren. Die Verwendung verschieden hergestellter Kalilaugen führte deshalb in zwei Laboratorien zu erhöhten Werten, ohne aber die Aussage des Versuches zu beeinträchtigen.

Nach Vorversuchen, die einige Änderungen an der Versuchsanordnung ergaben, wurden je zwei Käseproben an die vier beteiligten Laboratorien verteilt. Von jeder Probe waren fünf Ansätze zu verseifen und jeweils eine doppelte enzymatische Bestimmung vorzunehmen.

Wie Tabelle 2 zeigt, konnten überall gut reproduzierbare Werte erreicht werden.

Auch der aus den Versuchen in Tabelle 1 ermittelte Streubereich von $\pm 0,5$ bis $0,6\%$ konnte fast durchwegs eingehalten werden. Abweichungen nach oben sind lediglich der noch nicht routinierten Arbeitstechnik zuzuschreiben.

Diskussion

Der erfolgreiche Einsatz in unserem Laboratorium beweist, daß sich die vorliegende Methode sehr gut zur routinemäßigen Kontrolle der Fettgehalte von Weichkäse eignet.

Die Beurteilung der Resultate gemäß Deklaration und Lebensmittelverordnung erfordert allerdings bei einzelnen Proben zusätzliche Untersuchungen. Denn wie zu erwarten findet man, enzymatisch ermittelt, leicht tiefere Werte als aus parallel ausgeführten gravimetrischen Bestimmungen.

Die vorliegende Methode bestimmt nämlich den Absolutgehalt an Triglyceriden, während gravimetrisch auch Fettalkohole, Kohlenwasserstoffe, Sterine usw. miterfaßt werden. So müssen Proben, deren enzymatisch ermittelter Fettgehalt unter dem deklarierten Wert liegt, zusätzlich gravimetrisch untersucht werden. Wie aus Tabelle 3 ersichtlich, wäre dies von den insgesamt 13 untersuchten Weichkäsemustern nur bei 3 Proben notwendig.

Untersuchungen über den Gehalt an freiem Glycerin in Weichkäse ergaben in allen Fällen negative Resultate, so daß von dieser Seite keine Verfälschungen der Ergebnisse zu erwarten sind.

Bei der enzymatischen Bestimmung lohnt es sich, den Verlauf der Reaktion auf dem Schreiber des Photometers mitzuverfolgen. Dadurch können Störungen sofort erkannt und oft auch ihre Ursache festgestellt werden.

Im Moment sind Untersuchungen im Gange, die vorliegende Methode auf weitere Milchprodukte wie Joghurt und Quark anzuwenden. Die vorläufigen Ergebnisse sind sehr ermutigend, und wir hoffen in Kürze darüber berichten zu können.

Tabelle 3

Vergleich Enzymatik — Gravimetrie anhand einiger Proben aus dem Handel

Käseprobe	Fett E	Fett G	TM	Fett in TM aus E	Fett in TM aus G	Angabe auf der Packung
Weichkäse CH %/o	23,05	23,45	48,62	47,41	48,32	Vollfett
Weichkäse CH %/o	19,79	20,01	44,86	44,12	44,61	Vollfett
Weichkäse F %/o	34,21	34,67	53,08	64,45	65,32	63% Fett in TM
Weichkäse CH %/o	25,05	25,72	51,39	48,74	50,01	Vollfett
Weichkäse F %/o	38,24	38,21	58,80	65,03	64,98	60% Fett in TM
Weichkäse CH %/o	19,02	19,50	40,73	46,70	47,86	Vollfett
Weichkäse CH %/o	20,96	21,08	44,09	47,58	47,81	Vollfett
Frischkäse F %/o	43,04	43,27	57,85	74,40	74,80	70% Fett in TM
Weichkäse F %/o	27,85	28,07	54,91	50,72	51,12	50% Fett in TM
Weichkäse F %/o	18,25	18,68	41,78	43,68	44,71	50% Fett in TM
Frischkäse F %/o	43,18	43,28	55,78	77,41	77,59	70% Fett in TM
Weichkäse F %/o	18,02	18,28	38,36	46,98	47,65	40% Fett in TM
Frischkäse F %/o	27,21	27,92	47,54	57,24	58,73	58% Fett in TM

E = enzymatisch G = gravimetrisch TM = Trockenmasse

Praktischer Teil*Reagenzien*

- 0,5 n äthanolische KOH: Man stellt eine mindestens 10 n wäßrige KOH her (titrimetrisch bestimmt). Daraus verdünnt man mit absolutem Alkohol auf 0,5 n. Dadurch wird der Wassergehalt maximal 5%. Die KOH p. A. der Firma Merck enthält garantiert kein Glycerin.
- 2,5 n Perchlorsäure
- Carrez-Lösung I: 150 g $K_4 [Fe (CN)_6] \cdot 3 H_2O$ zu 1 l lösen.
- Carrez-Lösung II: 300 g $ZnSO_4 \cdot 7 H_2O$ zu 1 l lösen.
- Glycerin-Testkombination für Lebensmittelanalytik, Boehringer für 3×10 Bestimmungen. Nr. 148270, erhältlich bei Boehringer, Mannheim (Schweiz) AG, Zürich.
- Triolein, Fluka, puriss.

Geräte

- 50 ml Schliffkolben NS 29/32
- Intensivkühler NS 29/32
- Kolbenhubpipetten 10 μ l, 100 μ l, 1 ml oder Enzymtestpipetten
- Glas- oder Kunststoffküvetten 1 cm
- UV/VIS Spektralphotometer, Wellenlänge 340 nm
Extinktionsbereich 0—2 E, möglichst mit Schreiber

Ausführung der Bestimmung

Probenvorbereitung

- Käse entrinden und gut mischen, Hart- und Halbhartkäse können gerieben werden.
- 1,2—1,4 g Käsemasse in 50-ml-Schliffkolben auf 0,1 mg genau einwiegen
- etwas Bimssteingrieß und einen Magnetrührstab zugeben
- mit 10 ml 0,5 n äthanolischer KOH versetzen
- im kochenden Wasserbad bis zum beginnenden Sieden erhitzen und anschließend auf dem Magnetrührer bis zur vollständigen Lösung rühren (ca. 1 Minute)
- am Rückfluß im kochenden Wasserbad vom Siedepunkt an 20 Minuten kräftig kochen lassen
- anschließend mit 2,5 n-Perchlorsäure (ca. 1 ml) mittels pH-Meter neutralisieren
- quantitativ in einen 250-ml-Meßkolben überführen
- mit je 2 ml Carrez I und II versetzen, zur Marke auffüllen und durch ein doppeltes Faltenfilter filtrieren, wobei die ersten 20 ml Filtrat verworfen werden
- vom Filtrat werden 0,1 ml zum Test eingesetzt.

Enzymatische Bestimmung

Die der Glycerin-Testkombination beigelegte Arbeitsanleitung wurde geringfügig abgeändert.

1. Vorbereitung der Test-Kombination

- Die Puffer-Coenzym-Mischung in Flasche 1 wird mit 12 ml bidest. Wasser versetzt und durch Schütteln oder mittels Magnetrührer gelöst.
- Die Enzymlösungen in Flasche 2 und 3 werden unverändert verwendet.

2. Bestimmungsansatz

Die enzymatische Bestimmung erfolgt nach dem Schema in Tabelle 4.

Der Leerwert muß pro Testkombination nur einmal bestimmt werden, da er sich innerhalb einer Packung nicht verändert.

Alle Proben werden doppelt angesetzt und der daraus resultierende Mittelwert für die Berechnung benützt.

3. Berechnung

Man bildet für Probe und Leerwert die Extinktionsdifferenz $E_1 - E_2$ und berechnet durch Differenzbildung ΔE .

$$\Delta E = (E_1 - E_2)_{\text{Probe}} - (E_1 - E_2)_{\text{Leerwert}}$$

Nach der allgemeinen Berechnungsformel für die Bestimmung der Konzentration gilt:

$$C \text{ [g/250 ml]} = \frac{V \cdot \text{MG}}{\epsilon \cdot d \cdot v \cdot 1000 \cdot 4} \cdot \Delta E \cdot f_{\text{st}}$$

V = Testvolumen = 3,02 ml

v = Probevolumen = 0,1 ml

MG = Molekulargewicht = 742 für Milchtriglyceride

d = Schichtdicke = 1 cm

ϵ = Extinktionskoeffizient von NADH = 6,3 bei 340 nm

f_{st} = Korrekturfaktor, aus dem Trioleinstandard bestimmt

Daraus ergibt sich:

$$C = \frac{3,02 \cdot 742}{6,3 \cdot 1 \cdot 0,1 \cdot 1000 \cdot 4} \cdot \Delta E_{340 \text{ nm}} \cdot f_{\text{st}} = 0,889 \cdot \Delta E_{340 \text{ nm}} \cdot f_{\text{st}}$$

Mit jeder Charge 0,5 n äthanolischer KOH wird eine Bestimmung des Trioleinstandards durchgeführt. Der Quotient aus Einwaage und dem enzymatisch ermittelten Wert ergibt den *Korrekturfaktor* f_{st} , mit welchem alle mit dieser KOH verseiften Proben zu multiplizieren sind.

Vom Triolein werden 0,4 g eingewogen. Bei der Berechnung ist in der Formel das Molekulargewicht 742 durch jenes von Triolein 885,5 zu ersetzen.

Tabelle 4. Bestimmungsansatz für die Enzymreaktion

In Küvetten pipettieren	Leerwert (ml)	Probe (ml)
Lösung 1	1,00	1,00
Bidest. Wasser	2,00	1,90
Probelösung	—	0,10
Suspension 2	0,01	0,01
Mischen und nach <i>genau</i> 10 Minuten Extinktion E_1 messen Reaktion starten durch Zugabe von		
Suspension 3	0,01	0,01
Mischen und nach <i>genau</i> 15 Minuten Extinktion E_2 messen		

Wellenlänge: 340 nm
Temperatur: 20—25°C

Messung gegen Luft
Testvolumen: 3,02 ml

Dank

Wir danken den an den Ringversuchen beteiligten amtlichen Laboratorien der Kantone Zug, Luzern und Bern, dem Zentrallabor des Migros-Genossenschaftsbundes in Zürich für ihre spontane Mitwirkung sowie der Firma Boehringer, Mannheim, für ihre wertvolle Unterstützung.

Unser Dank gehört auch Herrn *Tschirren* für die gewissenhafte Ausführung der laboreigenen Versuche.

Zusammenfassung

Es wird eine Methode zur Bestimmung des Fettgehaltes in Weichkäse vorgestellt. Der Käse wird mit 0,5 n äthanolischer KOH verseift und das daraus entstehende Glycerin enzymatisch bestimmt. Im Gegensatz zu gravimetrischen Methoden benötigt diese Bestimmung einen wesentlich geringeren Zeitaufwand und eignet sich deshalb gut zur routinemäßigen Kontrolle.

Résumé

On décrit une méthode pour déterminer la teneur en matière grasse du fromage. Le fromage est saponifié avec KOH 0,5 n alcoolique et la glycérine formée est dosée par une méthode enzymatique. Comparée aux méthodes gravimétriques, la détermination enzymatique est nettement plus rapide et se prête bien à des contrôles en série.

Summary

A new and short method for determination of fat in cheese is presented. The cheese is treated with alcoholic KOH. The resulting glycerol is determined by an enzymatic reaction. Compared with gravimetric methods it needs much less time and is qualified for routine controls.

Literatur

1. Schweizerisches Lebensmittelbuch, 5. Auflage, 1. Band S. 530—537. Eidg. Drucksachen- und Materialzentrale, Bern 1964.
2. Boehringer, Mannheim, Methoden der enzymatischen Lebensmittelanalytik, 1976/77.
3. *Bergmeyer, H. U.*: Methoden der enzymatischen Analyse, 3. Auflage, 2. Band S. 1878, Verlag Chemie, Weinheim 1974.
4. *ib.* S. 1874.
5. Schweizerisches Lebensmittelbuch, 5. Auflage, 2. Band Kapitel 7A, Methoden 33 und 40. Eidg. Drucksachen- und Materialzentrale, Bern 1969.
6. *Hadorn, H.* und *Zürcher, K.*: Gaschromatographische Buttersäure-Bestimmung und Ermittlung des Butterfettgehaltes in Lebensmitteln. Mitt. Gebiete Lebensm. Hyg. **59**, 369—387 (1968).
7. *Kaiser, R.* und *Gottschalk, G.*: Elementare Tests zur Beurteilung von Meßdaten, B. I. Hochschultaschenbuch Band 774. Bibliographisches Institut, Mannheim 1972.
8. Handbuch der Lebensmittelchemie, Band IV, Fette und Lipoide, S. 590. Springer-Verlag, Berlin 1969.

Dr. P. Kohler
Kantonales Laboratorium
Kapuzinerstraße 9
CH-4500 Solothurn