

## Ueber die Umikoff'sche Reaction in der Frauenmilch.

Von  
N. Sieber.

(Aus dem Laboratorium von M. Nencki in St. Petersburg.)

(Der Redaction zugegangen am 10. Juni 1900.)

In den Veröffentlichungen der Aerzte des Petersburger Findelhauses, Jahrgang 1898, hat Dr. N. Z. Umikoff<sup>1)</sup> eine Reaction beschrieben, mittelst welcher man im Stande ist, das Alter der Frauenmilch, von Beginn der Lactation ab gerechnet, zu bestimmen. Die Reaction besteht darin, dass eine bestimmte Menge, etwa 5 ccm. der zu untersuchenden Milch, mit dem halben Volumen, also 2,5 ccm. 10<sup>o</sup>/oigen wässerigen Ammoniak's versetzt und 15 bis 20 Minuten lang im Wasserbade auf 60<sup>o</sup> erwärmt wird. Die Milch nimmt dabei eine violett-röthliche Färbung an, und die Nüance ist um so intensiver, je älter die Milch, seit Beginn der Lactation, ist. Kuhmilch, verschiedenen Alters, in gleicher Weise behandelt, nimmt eine gelbe, höchstens gelblichbraune Färbung an, so dass durch diese einfache Reaction sofort die Frauenmilch von der Kuhmilch unterschieden werden kann. Es war nun von Interesse, zu erfahren, durch welchen specifischen Bestandtheil der Frauenmilch diese charakteristische Reaction bedingt ist und ob, ausser der Kuhmilch, die Milch anderer Thierspecies diese Reaction nicht gibt.

Dank der Liebenswürdigkeit des dirigirenden Arztes des Petersburger Findelhauses, Dr. M. D. van Puterén, der mich auf diese Reaction aufmerksam machte und mir Frauenmilch

<sup>1)</sup> Trudy Wratschej St. Petersburgskaogo wospitatelnaogo doma 1898.

in verschiedenen Lactationsperioden zur Verfügung stellte, wofür ich ihm meinen besten Dank ausspreche, konnte ich zunächst die Richtigkeit der Angaben von Dr. Umikoff bestätigen, und bei der praktischen Bedeutung dieser Reaction habe ich mir zur Aufgabe gestellt, die Ursache sowie die näheren Bedingungen derselben zu ermitteln.

Was den Eintritt und die äusseren Erscheinungen der Reaction betrifft, so wird beim längeren Erwärmen oder höherer Temperatur die Färbung bräunlich: ebenso wenn concentrirteres Ammoniak angewendet wird. Milch, die mehrere Tage, selbst einen Monat gestanden, auch aufgekochte Milch gibt die Reaction. Zusatz von Kochsalz, Soda, Natriumsulfat, nach meiner Beobachtung auch Natriumphosphat und Ammonsulfat, stören die Reaction nicht. Milch, der verschiedene Säuren zugesetzt sind und die dann mit Ammoniak neutralisirt worden ist, färbt sich ebenfalls violettroth. Ein Zusatz von 2—3 Volumen Alkohol schwächt die Färbung ab; bei weiterem Zusatz tritt sie nicht mehr ein, ebenso nach Vermischen mit Aether oder Chloroform, wenn mehr als das gleiche Volumen davon zugesetzt wurde. Zusatz von Salmiak zu der Milch vernichtet die Reaction.

Viel schwieriger war es, das Wesen dieser Reaction aufzuklären. Durch Extraction der neutralen, angesäuerten oder alkalisirten Milch mit Alkohol, Aether, Aceton, Chloroform, Essigäther oder Ligroin war der Stoff, der diese Reaction bedingt, nicht zu isoliren. Ebenso wenig war der entstandene Farbstoff durch die genannten Lösungsmittel, sei es aus alkalischer oder saurer Lösung, extrahirbar. Wurde die Milch mit Metallsalzen oder Tannin gefällt, so gab sowohl der Niederschlag als wie auch das Filtrat, wenn auch schwächer, die Reaction. Das Destillat alkalisirter oder angesäuertes Milch gibt die Reaction nicht. Wird Frauenmilch mit dem halben Volumen 10% iger Kali- oder Natronlauge versetzt, so färbt sich die Milch braun, aber nicht violettroth. Von organischen Basen habe ich folgende bei wechselnder Concentration und Erwärmen geprüft: Aethylamin, Anilin, Dimethylanilin, Pyridin, Pikolin, Piperidin, Nicotin, Chinolin und Benzylamin.

Aethylamin und Piperidin geben orange, Benzylamin

citronengelbe Färbung: die anderen Basen färbten die Milch schwach gelblich oder bräunlich, ebenso auch das Diamid.

Wird Frauenmilch auf dem Wasserbade verdunstet, der Rückstand mit dem ursprünglichen Volumen Wasser wieder aufgenommen, filtrirt, mit dem halben Volumen 10%igen Ammoniaks versetzt und auf 60° erwärmt, so tritt die Umikoff'sche Reaction schärfer und schöner als wie in der ursprünglichen Milch ein. Die Färbung ist schwach rosa, mit einem bläulichen Stich. Wird Milch aus einem Pergamentpapierschlauch gegen destillirtes Wasser dialysirt und das Dialysat mit 10%igem Ammoniak erwärmt, so erhält man damit, ebenfalls schöner und reiner die Umikoff'sche Reaction. Nicht allein mit dem Dialysat der Frauenmilch, sondern auch mit dem der Kuh-, Büffel-, Ziegen- und Schafmilch erhält man jetzt die gleiche Reaction, nur in verschiedener Stärke.

Auch nach Verdunsten der Milch der genannten Thiere und Aufnahme des Rückstandes mit kaltem Wasser verhalten sich die Filtrate wie die von der Frauenmilch. Die violett-rothen Lösungen zeigen im Spectrum keinen Absorptionsstreifen.

Mit der Umikoff'schen Reaction hat sich bereits Dr. Marchetti<sup>1)</sup> in Florenz beschäftigt und constatirt, dass das Filtrat von der coagulirten Milch sowie das Dialysat diese Reaction geben. Nach seiner Ansicht ist es der Milchzucker, welcher beim Erwärmen mit Ammoniak die Umikoff'sche Reaction bedingt. Nimmt man Frauenmilch von Individuen von verschiedenen Lactationsperioden, aber gleichem Gehalt an Milchzucker und stellt damit die Umikoff'sche Reaction an, so wird man finden, dass die Milch aus älterer Lactationszeit die Reaction intensiver zeigt. Der Milchzucker ist also hier nicht allein ausschlaggebend. Ich habe diesen Versuch sowohl mit Frauenmilch, als wie auch mit den Dialysaten derselben sehr häufig und stets mit gleichem Resultate angestellt, immer war bei gleichem Gehalt an Milchzucker die Reaction in der älteren Milch intensiver. Ich habe 10 Proben, je 5 ccm. von

---

1) Vgl. Maly's Jahresbericht für 1897, S. 266.

1—10<sup>o</sup> iger wässriger Milchzuckerlösung bereitet, zu jeder Probe 2.5 ccm. 10<sup>o</sup> igen Ammoniaks zugesetzt und dieselben 20—30 Minuten lang auf 60<sup>o</sup> erwärmt. Die Lösungen färbten sich röthlich, hatten aber eine andere Nüance als die, welche ich mit Milchzucker nach Ausfällung des Caseins oder mit Milchdialysaten erhalten habe. Der rosaviolette Farbenton fehlte. Erwärmt man dann solche Proben von reinem Milchzucker auf 70<sup>o</sup> oder 80<sup>o</sup>, so wird die Färbung nur bräunlicher und noch mehr von der typischen Umikoff'schen Nüance verschieden. Dass andererseits der Milchzucker für das Zustandekommen der Reaction absolut nothwendig ist, geht daraus hervor, dass nach Entfernung desselben aus dem Filtrat oder Dialysat der Milch die Reaction beim Erwärmen mit 10<sup>o</sup> igem Ammoniak ausbleibt. Es handelte sich nunmehr darum, herauszufinden, welcher andere Bestandtheil der Milch ausser dem Milchzucker für das Zustandekommen der charakteristischen Färbung nothwendig ist.

Dass sowohl Fett wie die Eiweissstoffe der Milch bei dieser Reaction ausser Betracht kommen, geht schon aus dem Umstande hervor, dass die Dialysate nicht allein der Frauen-, sondern auch der Milch der Kuh und anderer Pflanzenfresser die charakteristische Färbung geben. Eher konnte man denken, dass in den differenten Proteinstoffen der Pflanzenfressermilch die Ursache liegt, dass diese Milch nicht die gleiche Färbung wie die Frauenmilch zeigt. Das Nächste war daher, in den Bestandtheilen der Dialysate die beim Erwärmen mit Ammoniak sich violettroth färbenden Substanzen zu suchen.

Um grössere Mengen der Milch zu dialysiren, benutzte ich Schläuche aus Pergamentpapier. Bei kleinen Quantitäten — 10 bis 20 ccm., womit ich namentlich bei Frauenmilch aus verschiedenen Lactationsperioden zu thun hatte — benutzte ich an beiden Enden offene kleine Glasröhren, wovon das eine Ende, zwecks dichten Verschlusses, wulstig abgeschmolzen, mit Pergamentpapier überzogen und mit Bindfaden zugebunden war. Kleine Milchmengen dialysirte ich gewöhnlich gegen das vierfache Volumen destillirten Wassers, grössere — 100 bis 500 ccm. — gegen das doppelte bis dreifache Volumen.

Um die lästige Störung durch die Mikroorganismen zu vermeiden, war es unbedingt nothwendig, die Apparate vorher zu sterilisiren. Der Milch, sowie dem Aussenwasser setzte ich einige Krystalle von Thymol hinzu, nachdem ich mich überzeugt hatte, dass Thymol in wässriger oder ammoniakalischer Lösung auch beim Erwärmen keinen Einfluss auf den Verlauf der Reaction hat. Ich konnte damit sowohl die Milch wie das Dialysat Monate lang vor bakterieller Zersetzung bewahren. Gewöhnlich erhält man im Dialysate die Umikoffsche Reaction schon am dritten Tage, am stärksten jedoch am achten bis zehnten Tage. In den meisten Fällen dialysirte ich 5 bis 12 Tage lang.

Der Hauptbestandtheil des Dialysates ist, wie zu erwarten war, Milchzucker. In einem Falle, wo ich 200 cem. Frauenmilch mit 5,5% Zucker gegen 500 cem. Wasser 10 Tage lang dialysirte, enthielt das Dialysat 1,6% Zucker. Die Aussenflüssigkeit enthielt also ebenso viel davon, wie die Milch. In einem anderen Versuch wurden 100 cem. Frauenmilch gegen 400 cem. destillirtes Wasser 8 Tage lang dialysirt. Die Milch enthielt 12,01% festen Rückstand und 0,20% Asche. Das Dialysat hatte das specifische Gewicht 1,0075 und enthielt 1,15% festen Rückstand und 0,045% Asche. Das Dialysat von Frauenmilch gibt mit  $\text{NO}_3\text{Ag}$  keine Trübung. Das von der Kuh- oder Büffelmilch gibt einen Niederschlag von Chlorsilber. Bei der Reaction auf Eisen mit  $\text{HCl}$  und Ferrocyankalium erhielt ich meistens nur grünliche Färbung.

Von A. B. Macallum<sup>1)</sup> wird als das empfindlichste Reagens auf unorganisches Eisen eine 0,5% wässrige Lösung von chemisch reinem Hämatoxylin empfohlen. Die braungelbe Lösung gibt mit Spuren von Eisensalz eine blauschwarze Färbung; organische Eisenverbindungen, wie z. B. Hämoglobin oder Hämatin verändern die Färbung nicht. Das Dialysat von Frauenmilch nach einmonatlicher Lactation gab mit Hämatoxylin keine Färbung; dagegen färbte sich damit blauviolett das Dialysat der Frauenmilch nach einjähriger Lactationszeit.

<sup>1</sup> A. B. Macallum. Journ. of physiol. 22. 92 - 98. Ref. Malys Jahres-Bericht 1897. Seite 116.

Die Dialysate enthalten die Orthophosphorsäure in leicht durch molybdänsaures Ammoniak nachweisbarer Form.

Von A. Ascoli<sup>1)</sup> rührt die Angabe her, dass minimale Mengen von Eisenoxyd, nach H. Rose<sup>2)</sup> auch Eisenoxydulsalzen, mit Metaphosphorsäure und Ammoniak versetzt, eine portweinrothe Färbung geben. Es war nun denkbar, dass aus dem Nucleon der Milch beim Erwärmen mit Ammoniak nicht Ortho-, sondern Metaphosphorsäure abgespalten sein wird, und geringe Mengen von Eisen sind auch in der Milch vorhanden. Die bei der Einwirkung von Ammoniak auf Milchzucker bei Gegenwart von Metaphosphorsäure und Eisensalz entstehende Färbung konnte eventuell die Nüance der Umikoff'schen Reaction haben. 3% bis 7% Milchzuckerlösung, mit Spuren von Eisensalzen und Metaphosphorsäure versetzt, gaben beim Erwärmen mit 10% Ammoniak nur eine rothbraune Färbung: auch konnte ich in dem Dialysate der Frauenmilch nach der Vorschrift von L. Liebermann<sup>3)</sup> keine Metaphosphorsäure nachweisen.

Milchfett, so wie flüchtige Fettsäuren und Milchsäure waren ebenfalls ohne Einfluss auf die Reaction. Ein constanter Bestandtheil der Dialysate von Kuh- und Frauenmilch ist die Citronensäure, die wie bekannt von Soldner<sup>4)</sup>, Henkel und Soxhlet<sup>5)</sup> und Scheibe<sup>6)</sup> als constanter Bestandtheil der Milch nachgewiesen wurde. Bei Verarbeitung des ganzen Dialysates von 100 cem. Frauenmilch erhielt ich in einem Falle 0,02, im andern 0,023% Citronensäure auf die verwendeten 100 g Milch berechnet. Wie eben erwähnt, wurde die Citronensäure zuerst von Henkel<sup>7)</sup> als normaler Bestand-

1) A. Ascoli, Ueber die Plasminsäure. Zeitschrift für physiol. Chemie. Bd. XXVIII, Seite 430.

2) H. Rose. Ueber die isomeren Modificationen des phosphorsauren Pogg. A. 76. 1879.

3) L. Liebermann, Pflüger's Archiv. 47. 155—165. Ref. in Malys J. B. für 1891. 775.

4) Landwirthsch. Versuchsstat., Bd. 35. Seite 18.

5) Separatabdruck d. Gesellsch. f. Morphol. und Physiol. in München. Ref. Maly J. B. 1888—94.

6) Landwirthsch. Versuchsstat., 39, 153.

7) Molkereizeitung. 2, 259. Ref. Maly Jahr.-Bericht. 1888. 94.

theil der Kuhmilch nachgewiesen. Nach den späteren Untersuchungen von A. Scheibe ist sie auch ein constanter Bestandtheil der Frauenmilch. Nach seinen Bestimmungen enthält die Kuhmilch zwischen 1,7 bis 2,0‰, die Frauenmilch 0,54 bis 0,57‰ Citronensäure.

Ich fand nun, dass, wenn zu 0,5- bis 8%oigen Milchzuckerlösungen Citronensäure oder citronensaures Natron oder Kalk in der minimalen Menge, wie sie in der Milch vorhanden ist, zugesetzt wird, dann beim Erwärmen mit 10%oigem Ammoniak auf 60° der röthliche Farbenton einen mehr violetten Stich annimmt, ähnlich wie dies in der Frauenmilch bei der Umi-koff'schen Reaction der Fall ist. Bei diesen künstlichen Mischungen von Milchzucker und Citronensäure verblasst die Farbe schon nach einigen Stunden, falls der Zuckergehalt 4%o und mehr beträgt. Bei geringerem Zuckergehalte hält sich die Farbe über 24 Stunden. In den Milchdialysaten und in der Frauenmilch verblasst sie viel später, manchmal erst am zweiten Tage. Ueber den Citronensäuregehalt der Frauenmilch zu verschiedener Lactationszeit sind keine quantitativen Angaben vorhanden. Da mir hinreichend Frauenmilch von verschiedenen Lactationszeiten zur Verfügung stand, so habe ich darin den Gehalt an Citronensäure nach der Vorschrift von A. Scheibe,<sup>1)</sup> so wie auch alle übrigen Bestandtheile quantitativ bestimmt und gebe in nachfolgender Tabelle die erhaltenen Zahlen.

Der Gehalt an Eiweissstoffen wurde direkt durch Fällung der Milch mit Metaphosphorsäure und indirekt aus dem Stickstoff nach Kjeldahl bestimmt.<sup>2)</sup> Im Filtrate von der Metaphosphor-

1) A. Scheibe, Landwirthschaftl. Versuchsstat. 39, 153.

2) Das Filtrat von der Metaphosphorsäure enthielt zwar noch Spuren einer durch Phosphorwolframsäure und auch durch Tannin fällbaren Substanz; auch sind die Zahlen für den Procentgehalt an Eiweiss durch Multiplication des nach Kjeldahl gefundenen Stickstoffs mit 6,37 ein wenig grösser als wie der direkt gefundene Procenteiweissgehalt. Der Genauigkeit halber habe ich nach der Fällung mit der Metaphosphorsäure das Filtrat vom erhaltenen Niederschlage noch mit Phosphorwolframsäure gefällt und in dem jetzt erhaltenen Niederschlage den Stickstoff nach Kjeldahl bestimmt. Diese Stickstoffmenge jedoch ist sehr gering. Auf Eiweiss umgerechnet beträgt sie nur 0.1 bis 0.17% Eiweiss.

Nr.	Zeit nach der Geburt	In % Trocken- rück- stand	In % Eiweiss direkt bestimmt	In % Eiweiss nach Kjeldahl	In % Fett	In % Milch- zucker	In % Citronensäure	In % Asche	In 100g Asche Eisen	Urnikoff'sche Reaction
1.	9 Tage	11,34	1,61	1,70	5,0	4,52	0,035—0,05	0,25	0,13	sehr schwach.
2.	30 Tage	12,08	0,90	1,3	4,91	5,5	0,048	0,24	0,14	desgleichen.
3.	31 Tage	12,0	0,96	1,22	5,1	5,6	0,036—0,04	0,21	0,15	etwas stärker.
4.	35 Tage	11,48	1,00	1,2	4,44	5,45	0,024	0,18	0,13	wie die vorige.
5.	61 Tage	10,81	0,69	0,869	4,58	4,65	0,026—0,04	0,153	0,17	etwas stärker als die vorige.
6.	4 Monate u. 16 Tage	11,2	1,04	1,2	4,52	4,72	0,048	0,177	0,24	ziemlich starke Reaction.
7.	6 Monate u. 4 Tage	11,5	0,79	0,98	5,5	5,0	0,066—0,045	0,139	0,24	sehr stark.
8.	6 Monate u. 13 Tage	12,19	0,77	0,94	4,9	5,54	0,06—0,04	0,129	0,21	etwas schwächer als die vorige.
9.	7 Monate u. 8 Tage	10,6	1,16	1,3	4,5	4,52	0,05	0,119	0,18	gleich wie die letzte.
10.	8 Monate	11,36	1,03	1,25	4,4	5,14	0,055	0,239	0,23	ein wenig schwächer als die letzte.
11.	10 Monate	11,5	0,70	0,88	4,44	5,92	0,07—0,04	0,19	0,2	ziemlich stark.
12.	11 Monate	12,4	0,70	0,95	4,9	6,54	0,03—0,05	0,17	0,12	schwache Färbung.
13.	12 Monate	12,01	0,90	0,98	3,26	7,3	0,04—0,045	0,2	0,18	ziemlich starke Färbung.

säurefällung wurde die Citronensäure und der Milchzucker nach Soxhlet mit der Modification von E. Pfeiffer bestimmt.

Ein abgemessener Theil des Filtrates von der Eiweissfällung wurde nach entsprechender Verdünnung mit überschüssiger Fehlingscher Lösung erhitzt. Das abgeschiedene Kupferoxydul nach dem Trocknen durch Ammoniumnitrat in das Oxyd übergeführt und als solches gewogen.

Fett wurde in 10 ccm. der Milch nach Bondzyński bestimmt. In einem anderen Theil der Milch wurde der Trockenrückstand, Asche und darin der Eisengehalt ermittelt.

Ausser den in der ersten Rubrik der Tabelle mitgetheilten Bestimmungen der Citronensäure, habe ich bei anderen Individuen nur Citronensäure bestimmt und die erhaltenen Zahlen unter Citronensäure in der zweiten Rubrik angeführt. Die Bemerkungen über die Umikoff'sche Reaction beziehen sich nicht auf diese Zahlen.

Ich habe vorgezogen, die minimalen Eisenmengen, die ich beim Veraschen von 20 ccm. Milch erhielt, nicht colorimetrisch, sondern gewichtsanalytisch zu bestimmen. Anfangs versuchte ich das Eisen colorimetrisch mit dem Ferrometer von A. Jolles zu bestimmen: ich erhielt aber in der gleichen Milch keine übereinstimmenden Zahlen. In einigen Fällen, hauptsächlich im Anfang der Lactationsperiode, war die Asche nach Schmelzen mit Kaliumbisulfat auch nach Zusatz von Salzsäure trübe; in anderen war die Nüance der Lösung verschieden von der Vergleichslösung des Rhodanammoniums. Sie hatte keine röthliche, sondern rein gelbe Färbung. Ich halte für solche minimale Eisenmenge die von G. Knorre<sup>1)</sup> angegebene Fällung des Eisens als Ferrinitrosonaphtol für zweckmässiger und sind auch alle meine Bestimmungen nach dem Verfahren von G. Knorre ausgeführt worden. Die Milch- asche wurde in verdünnter Salzsäure gelöst, mit  $\text{NH}_3$  übersättigt und auf dem Wasserbade erwärmt. Das nach einigen Stunden abgeschiedene Eisenoxydhydrat wurde abfiltrirt, aus-

---

1) Berichte der deutsch. chem. Gesellschaft, Bd. XX, S. 283 und Zeitschr. für analytische Chemie, Bd. XXVIII, S. 234.

gewaschen und von Neuem in Salzsäure gelöst. Aus der salzsauren Lösung wurde dann das Eisen mit der essigsauren Lösung des Nitroso- $\beta$ -Naphthol gefällt und als Eisenoxyd gewogen.

Bezüglich des Milchzuckers ergeben meine Bestimmungen den höchsten Procentgehalt in den letzten 10 bis 12 Monaten. Der Citronensäuregehalt ist schwankend, zeigt aber die grössten Zahlen in dem 6. bis 11. Monate.

Dass die Intensität der Umikoff'schen Färbung nicht proportional dem Milchzucker ist, geht deutlich aus meinen Bestimmungen hervor. So ist in Nr. 2, 3 und 12 die Farbenreaction schwach, der Zuckergehalt verhältnissmässig stark. Auch geben die Dialysate, die ja nur 1—2% Milchzucker enthalten, die Reaction eben so gut wie die ursprüngliche Milch mit 5—7% Zuckergehalt. Auch in dem Gehalt an Citronensäure und der Stärke der Farbenintensität ist kein Parallelismus vorhanden. Möglicherweise ist der Eisengehalt der Milch für die Reaction der Milch von Bedeutung, zumal wie bekannt Eisenoxyd durch Citronensäure in Lösung gehalten wird.

Ich habe zu 5%iger Milchzuckerlösung in verschiedenen Proben 0,5‰, 1‰, 2‰ und 4‰ Citronensäure, citronensaures Natron resp. citronensauren Kalk zugesetzt. In zwei anderen Röhren mit 5% Milchzuckerlösung und 0,5‰ resp. 1‰ Citronensäure wurde die Luft durch Wasserstoff ausgetrieben. In zwei anderen wurde eine Spur Pepton Witte zugesetzt und daneben als Kontrolle 5%ige Milchzuckerlösung aufgestellt. Alle Röhren wurden zugleich auf 60° erwärmt. Die Färbung trat in allen Röhren etwas später als wie in der Milch resp. Milchdialysaten ein — erst nach 30 bis 45". — Die Kontrollprobe mit Milchzucker allein hatte eine röthliche Färbung. Den stärksten violetten Stich zeigten die Röhren mit Peptonzusatz und die, die bei Luftausschluss erwärmt wurden. In den Röhren, die bei Luftzutritt mit verschiedenem Citronensäuregehalt erwärmt wurden, war kein auffallender Unterschied bemerkbar. Die Färbung war in allen schwach violettrosa.

Wie bekannt, geben die citronensauren Salze mit Chlorcalcium im Ueberschuss versetzt, einen Niederschlag von

citronensaurem Kalk, der in Kali oder Natron unlöslich ist, dagegen von Salmiaklösung leicht aufgenommen wird. Kocht man die Lösung mit Salmiak, so scheidet sich der citronensaure Kalk in einer darin unlöslichen Form ab. Schon Umikoff gibt an, dass nach Salmiakzusatz die Milch beim Erwärmen mit Ammoniak die Reaction nicht mehr gibt. Die ammoniakhaltige und mit Chlорcalcium versetzte Lösung der Citronensäure gibt alsbald nach dem Erwärmen einen Niederschlag von dem trimetallischen Calciumcitrat. Ich fand in der That, dass Milchdialysat, mit etwas Chlорcalcium versetzt, beim Erwärmen mit Ammoniak die Umikoff'sche Reaction sehr abgeschwächt zeigt. In dem verschiedenen Kalkgehalte der Milch ist wohl auch der Grund zu suchen, weshalb die Kuhmilch die Reaction nicht gibt. Wie G. Bunge<sup>1)</sup> gezeigt hat, enthält die Kuhmilch in 100 Gewichtstheilen der Trockensubstanz 1,51 CaO, während die Frauenmilch nur 0,24 g CaO, also 6 Mal weniger davon enthält. Beim Erwärmen der Kuhmilch mit Ammoniak wird die Citronensäure als Kalksalz ausgefällt. Es wäre interessant, nach dieser Richtung hin die Milch von Omnivoren oder Fleischfressern wie z. B. vom Schwein oder Hündin, zu untersuchen. Leider stand mir die Milch dieser Thiere nicht zu Gebote. Wie das Eisenoxyd, so wird auch das Calciumphosphat durch die Citronensäure in Lösung gehalten. Wird nach den Versuchen von L. Vaudin<sup>2)</sup> frische Milch bei 0° durch Thonfilter filtrirt und dann das Filtrat erhitzt, so scheidet sich das Tricalciumphosphat aus, das sich beim Erkalten wieder löst. Nach Vaudin ist es die Citronensäure, welche als Alkalisalz das Tricalciumphosphat gelöst hält. Gelatinöses Calciumphosphat, durch Fällung einer verdünnten Knochenaschelösung mit Ammoniak und Auswaschen des Niederschlages erhalten, in Alkalicitrat gelöst, verhält sich bei Gegenwart von Lactose gegenüber der Wärme, der Filtration durch Thonzellen etc. wie das in der Milch in

---

1) G. Bunge, Lehrbuch der physiolog. und patholog. Chemie, 4. Auflage, 1898, S. 93.

2) L. Vaudin, Ann. de l'Institut Pasteur, Bd. 8, S. 502 u. 856.

Lösung gehaltene Calciumphosphat. Die Kuhmilch, die also 6 Mal mehr Kalk als die Frauenmilch enthält, enthält nur 1—3 Mal mehr Citronensäure als die Frauenmilch. Beim Erwärmen der Kuhmilch mit Ammoniak wird alle Citronensäure daraus als Calciumcitrat neben Calciumphosphat gefällt. In der Frauenmilch dürfte bei dem geringen Gehalte an Kalk ein Theil der Citronensäure in Lösung bleiben resp. einige Metalle in Lösung halten. Die Dialysate der Kuhmilch enthalten jedenfalls weniger Kalk, da ein wesentlicher Theil davon bei dem Eiweiss als phosphorsaurer Kalk zurückbleibt, während die Citronensäure in das Dialysat übergeht, und so erklärt sich die Thatsache, dass die Dialysate der Kuhmilch die Umikoff'sche Reaction geben, während die ganze Milch dies nicht thut.

Auf Grund meiner Beobachtungen erachte ich, dass die Umikoff'sche Reaction nicht allein ein werthvolles Mittel ist, um in einfacher Weise in kürzester Zeit Frauenmilch von der Milch der Kuh und anderer Pflanzenfresser zu unterscheiden, sondern es lässt sich damit die Frauenmilch in den ersten Lactationsmonaten von den späteren, vom 4. bis 8. Monate ab gerechnet, mit ziemlicher Sicherheit diagnosticiren. Vom 8. Monate ab ist die Reaction nicht mehr gleichmässig, indem sie manchmal ganz stark, bei anderen Individuen nur schwach ausfällt.