

福山市立女子短大 ○三谷 瑠子

広島大教育 佐藤 一精

目的 我々は，鶏卵中のビタミン B_{12} の形態が，ろ紙ならびにセルロースアセテート膜による電気泳動や PPC における挙動から，主としてアデノシル B_{12} ，シアノ B_{12} ，スルフィト B_{12} であると推定してきたが， B_{12} の形態を確定するためには，より確実な同定法の開発が望まれた。そこで，高速液体クロマトグラフィーと*E. coli* 215を用いる微生物学的定量法を組み合わせ， B_{12} 誘導体の分離と定量を試み，迅速で精度の高い方法の確立を目的として検討した。

方法 装置としては，マイクロ高速液体クロマトグラフ（日本分光製，FAMILIC-100-II 型）を，検出器は UVIDEC-100-II 型紫外分光検出器を用いた。クロマトグラフ条件は，カラム充填剤として SC-01（日本分光製），カラムは 0.5 × 128 mm テフロンカラムを用い，移動相としては 0.05 N 酢酸緩衝液中のメタノールの比率を 10 % より，ステップワイズ法で順次あげ，最終的に 97 % まで上げたものを用いた。流量は 8 μ l/min，試料は 1 μ l 注入し，感度 0.04 で，260 nm における吸収を測定した。また，100 μ l ずつ分取したものについては，*E. coli* 215 を用いる微生物学的定量を実施して， B_{12} 活性位置を検出した。

結果 ミクロ高速液体クロマトグラフィーによって，ビタミン B_{12} 誘導体は迅速に分離が可能であり，メタノール-酢酸緩衝液系の移動相において，順次メタノールの濃度を上げていくと，ヒドロキソ B_{12} ，スルフィト B_{12} ，シアノ B_{12} ，アデノシル B_{12} ，メチル B_{12} の順に溶出された。 B_{12} 活性位置を微生物学的定量法と組み合わせて検討することにより，さらに精度が高いものとなった。