

目的 前年度の本大会において、鶏卵からのビタミン B_{12} の形態把握のための抽出方法はエタノールにN-エチルマレイミドや酢酸緩衝液を添加した加熱抽出法で、常法より相当量上がることを報告したが、今回は、さらに加熱凝固沈殿物（残渣）中に残存している B_{12} の抽出条件について、物理的方法（酸化アルミナによる細胞摩擦）および化学的方法（プロテアーゼ処理）を行って検討した。

方法 鶏卵中に含まれる B_{12} 体は、80%エタノール-酢酸緩衝液（pH 4.8）にて 90°C で30分間加熱後、遠心分離を行って得られた上清と沈殿物について、*E. coli* 215を用いる微生物学的定量法を実施して検討した。次に、沈殿物については、それぞれ（1）から（5）の方法つまり（1）酸化アルミナ処理、（2）トリプシン処理、（3）ペプシン処理、（4）失活プロテアーゼ処理、（5）未処理で、残存 B_{12} 体を抽出し、SEP-PAKカラム、 C_{18} カートリッジを用いて部分精製後、微生物学的定量法により、 B_{12} 量を測定し、比較した。

結果 1. 市販の鶏卵/個（50 g）中の B_{12} 量は、KCN-酢酸緩衝液（pH 4.8）加熱抽出法によると800 μg であった。2. 1の抽出率を100%とすると形態測定用の抽出法である80%エタノール-酢酸緩衝液を用いた場合、上清中には、約38%の B_{12} が抽出され、沈殿物中に相当量の B_{12} 体が残存した。この沈殿物中の B_{12} 体は、KCNや（1）酸化アルミナ、（2）トリプシン処理を行った結果、充分抽出されなかった。（15~20%の抽出率）3. 沈殿物中の B_{12} 体はペプシンを至適pH 2.0、至適温度 37°C で作用させると、反応時間が30分より24時間と長時間処理ほど、抽出が進み、ほぼ100%抽出された。