報 文

プランクトンの脂質に関する研究 (第 4 報)

Calanus plumchrus の脂質の不ケン化物

山 田 実・太 田 亨

北海道大学水産学部 (函館市港町)

Studies on the Lipid of Plankton. IV.

Unsaponifiable Matter of Lipid of *Calanus plumchrus*

Minoru YAMADA and Tōru ŌTA

Faculty of Fisheries, Hokkaido University (Minato-machi, Hakodate)

The authors studied on the unsaponifiable matter of the lipid of crustacean plankton, *Calanus plumchrus*.

Calanus plumchrus belongs to the pelagic species living in cold sea, and it is distributed in the Kurile Current area of North Hokkaido, Sea of Okhotsk and Bering Sea.

The unsaponifiable matter was liquid of reddish brown color contained ca. 50% in the lipid, and its characteristics were as follows: n_D^{25} 1.4620, I.V. 98.7, and sterol content 2.0%.

The unsaponifiable matter was resolved into several constituents on silicic acid chromatography and these were analyzed.

It contained ca. 80% of fatty alcohol, ca. 2% of pristane and ca. 2% of sterol.

The fatty alcohols consisted of saturated alcohols (hexadecanol predominantly, octadecanol and eicosanol) and lower unsaturated alcohols (hexadecenol, octadecenol, eicosenol and docosenol). Higher unsaturated alcohols were contained in a small amount or not.

Specific gravity (d_4^{25}) of the lipid of *Calanus plumchrus* is 0.88~0.89 as previously reported⁹⁾, which is smaller than that of other genus of plankton and many marine fishes. The lowness of this value of the lipid depends upon the presence of 50% of unsaponifiable matter which contains 80% of fatty alcohols.

As one⁶⁾ of the authors already discussed about the ecological functions of these lipid, the reason for the high content of fatty alcohols seems probably that their functions are related to the plankton moving vigorously and especially vertically with depth, namely may be for buoyancy in such plankton.

Sperm whale and the sharks living in deep sea have the lipids rich in fatty alcohols and hydrocarbons respectively.

It seems that the formation and presence of such non-glyceride constituents as fatty alcohols and hydrocarbons are related to the ecological or physiological functions common to the marine organisms living in deep sea.

Recently, Nevenzel *et al.*^{9),10)} and Mori *et al.*^{11),12)} reported on the lipid of deep-sea fishes. They found that wax esters constituted greater part of the lipids from muscle. This finding is in accordance with our informations on the lipid rich in fatty alcohols.

Hydrocarbons in the lipid of plankton have been reported by Blumer^{13),14),15)}. They¹³⁾ have found that the hydrocarbon pristane occurred in unusually high concentration (1 to 3% of the body fat) in the three copepods *Calanus finmarchicus*, *C. glacialis*, and *C. hyperboreus*, and considered that these planktonic crustaceans appear to be the primary source of the pristane in liver oil of sharks and whales.

Authors also found 2% of pristane in the unsaponifiable matter of the lipid of *Calanus plumchrus*.

1 緒 言

前報¹⁾にひきつづき本報では *Calanus plumchrus* の脂質の不ケン化物について報告する。

Calanus plumchrus は節足動物門 Phylum ARTHROPODA, 甲殻綱 Class CRUSTACEA, 桡脚亜綱 Subclass COPEPODA, カラヌス目 Order Calanoida, カラヌス科 Family Calanidae, カラヌス属 Genus *Calanus* に属し, 体長 4.4~6.3 mm, 赤色を呈し, 寒海, 外洋性。北太平洋の特産で日本海北部親潮域, オホーツク海, ベーリング海に分布する。ニシン, サケの好餌料である²⁾。

Calanus 属のプランクトンは脂質含量が比較的多く, また脂質中の不ケン化物含量は 42.9~50.6% に達する³⁾。

2 実験および結果

2.1 試 料

試料は前報³⁾におけるプランクトン試料番号 1~7 である。すなわち函館近海および N 42°~51°, E 150°~176° の北洋海域で採集したもので, 採集方法, 脂質の抽出方法は第 3 報¹⁾で報告したとおりである。かくして得られた脂質(脂質含量: 試料の湿重量に対し平均 4.28%) より常法によって得られたアセトン可溶性脂質約 100 g をケン化して不ケン化物 50.0 g を得た。その量はアセトン可溶性脂質の約 50% にあたる。

不ケン化物は赤トウ色の液体で n_D^{25} 1.4620, ヨウ素価 98.7 (臭化ピリジン法), ステリン含量 2.0% (ジギトニン法) であった。

2.2 クロマトグラフィー

不ケン化物 48.84 g を 2,100 ml のヘキサンに溶かしクロマトグラフィーによって分別を行なった。

使用吸着剤: シリカゲル (マリンクロット) 1,464 g
(試料の 30 倍量)

100°C で 5 hr 活性化後シリカゲルのデシケーター中に 3 昼夜放置, 使用。

吸 着 柱: 高さ 91.5 cm, 内径 6.3 cm

1 画 分: 50 ml

溶剤の流下速度: 1 画分/40 min

ヘキサンに溶かした不ケン化物をシリカゲルカラムの上部より注加して展開を行ない, ヘキサン 2,200 ml, 2% ベンゼン-ヘキサン 1,975 ml, 10% ベンゼン-ヘキサン 1,000 ml, 20% ベンゼン-ヘキサン 1,900 ml, 30% ベンゼン-ヘキサン 1,900 ml, 2% エーテル-ヘキサン 2,300 ml, 5% エーテル-ヘキサン 27,900 ml, 8% エーテル-ヘキサン 6,000 ml, エーテル 6,000 ml, 2% エタノール-エーテル 2,500 ml, 8% エタノール-エーテル 3,135 ml で順次溶出を行なった。操作中は N_2 を

通じ空気との接触をできるだけ避けた。

最初最上層は茶カッ色の層 (2~3 cm) で, その下に淡黄色の層 (約 10 cm) があり, ヘキサンによる溶出過程の進行とともに淡黄色層が下降して約 20 cm の層となったがそれ以上下降せず, 溶出溶剤が変わるにつれて黄色系が選択的に下降してゆき, 茶カッ色の層は最後まで残留した。

各溶剤によって分離された各画分とその収量を Fig.-1 および Table-1 に示す。

Table-1 Chromatography of unsaponifiable matter (*Calanus plumchrus*).

Solvent	Fraction No.	Yield (g)	(%)
<i>n</i> -Hexane	31- 44	0.960	2.0
2% Benzene- <i>n</i> -Hexane	45- 121	0	
10% Benzene- <i>n</i> -Hexane			
20% Benzene- <i>n</i> -Hexane			
30% Benzene- <i>n</i> -Hexane	122- 135	0.437	0.9
2% Ether- <i>n</i> -Hexane	136- 313	0	
5% Ether- <i>n</i> -Hexane (1)			
(2)	314- 330	0.135	0.3
(3)	331- 484	25.110	51.4
(4)	485- 609	9.353	19.1
8% Ether- <i>n</i> -Hexane	610- 718	3.001	6.1
Ether (1)	719- 820	2.509	5.1
(2)	821- 825	0.783	1.6
(3)	826- 831	1.526	3.1
(4)	832- 850	0.576	1.2
2% Ethanol-Ether	851- 899	0.655	1.3
8% Ethanol-Ether	900- 939	0.197	0.4
Ethanol	940- 960	0.501	1.0
8% HCl-Ethanol	961- 991	1.275	2.6
	992-1025	0.957	2.0
Total		47.977	98.1
Residue		0.863	1.8

A : *n*-Hexane, B : Benzene-*n*-Hexane, C : Ether-*n*-Hexane, D : 8% Ether-*n*-Hexane, E : Ether, F : 2% Ethanol-Ether, G : 8% Ethanol-Ether, H : Ethanol, I : 8% HCl-Ethanol.

Fig.-1 Chromatogram of unsaponifiable matter (*Calanus plumchrus*).

2.3 各画分の検索

2.3.1 ヘキサン溶出部

収量 0.960 g (不ケン化物の 2.0%)。

このものは無色の液体で n_D^{20} 1.4390, ヨウ素価 3.3, メタノールに溶解せず, また -15°C で 1 昼夜放置したが固化しなかった。このものをヘキサンに溶かし約 30 倍量のシロカゲルで再クロマトグラフィーを行なって精製したものをガスクロマトグラフィーに附し, プリスタン (標準品) と比較したところ, 保持時間の一致をみた。

ガスクロマトグラフィーの条件はつぎのようである。

カラム: エチレングリコールサクシネート ポリエステル-ダイヤソリッド M 1/10 wt/wt,
2 m×5 mmφ, 210°C,

キャリアーガス: He 60 ml/min,

カラム入口圧: 1.2 kg/cm²,

ブリッジ電流: 170 mA,

スパーク: 2 mV,

チャート速度: 10 mm/min,

試料送入口: 1 μl,

使用機器: 柳本ガスクロマトグラフ GCG 2 型
(熱伝導度検出器)

プリスタン標準品および試料の保持時間は 0.55 min であった。さらにこのものについて赤外線吸収スペクトルを測定した結果は Fig.-2 のようであって, 1,380cm⁻¹ と 1,365 cm⁻¹ にイソプロピル基の枝分れ吸収帯および 1,170 cm⁻¹ と 1,145 cm⁻¹ の末端イソプロピル基の骨格振動による吸収を示し, プリスタン標準品と比較してプリスタンであることが明らかである。

2.3.2 5% エーテル-ヘキサンおよび 8% エーテル-ヘキサン溶出部

収量 40.108 g (不ケン化物の 82.0%), 各画分の性状は Table-2 に示すとおりである。

これらの画分は脂肪アルコールと考えられる。5% エーテル-ヘキサン溶出部 (2), (3), (4) のアセチル化物を

Table-2 Characteristics of eluates with 5% and 8% ether-*n*-hexane.

Fraction	State	OH-group*	L.B.**	Acetate	
				S.V.	I.V.
Eluate with 5% ether- <i>n</i> -hexane (1)	Liquid	+	—	200.3	62.9
(2)	Solid	+	—	165.6	70.4
(3)	Solid	+	—	178.4	54.4
(4)	Liquid	+	—	197.5	67.5
Eluate with 8% ether- <i>n</i> -hexane	Liquid	+	—	202.7	98.3

* Oxine-vanadate test⁴⁾

** Liebermann-Burchard reaction

Table-3 Fractional distillation of eluates with 5% ether-*n*-hexane (2), (3) and (4).

Fraction No.	Pressure (mmHg)	Distillation temp. (°C)	Yield (g)	n_D^{20}	S.V.	I.V.
1	2	~150	0.89	1.4444	196.7	21.8
2	"	150~155	1.70	1.4432	203.0	24.7
3	"	155~160	1.56	1.4440	202.1	27.8
4	"	160~165	1.37	1.4470	190.4	31.4
5	"	165~170	8.16	1.4525	172.4	72.1
6	"	170~175	3.54	1.4532	171.3	73.8
7	"	175~180	5.93	1.4535	171.1	74.4
8	"	180~185	3.01	1.4540	167.1	71.9
9	"	185~190	5.73	1.4548	162.5	69.7
10	1	~160	1.23	1.4550	158.2	69.6
11	< 1	"	1.84	1.4554	158.8	70.0
12	< 1	"	0.60	1.4575	157.9	76.5
13 Residue			0.87	1.4703	148.5	85.0
Loss			0.87			

合し, これをケン化しケン化液のエーテル抽出物を再びアセチル化した。このアセチル化物は n_D^{20} 1.4525, ケン化価 171.9, ヨウ素価 65.9 で, その 37.30 g をウィドマーの精留塔を用いて分留した結果は Table-3 に示す。

つぎに留分 5, 6, 7 を集めその 14.72 g につき再分留を行なった。その結果を Table-4 に示す。また留分 9 (4.77 g) を再分留した。その結果は Table-5 のとおりである。

つぎに以上の各留分中, そのケン化価の近似する留分を合一した。すなわち留分 1, 2, 3 を合して a 画分 (3.2 g), 留分 15, 16, 17 を合して b 画分 (9.0 g), 画分 8, 18 を合して c 画分 (3.6 g), 画分 20, 21, 22 を合して d 画分 (4.5 g), 画分 10, 11, 12, 19 を合して e 画分 (3.7 g) とした。これらの画分をそれぞれケン化して遊離アルコールを分取し, これらに 90% アセトンに 10 倍量加え -5°C に 1 夜放置, 析出してくる結晶を分離し, このものから再結晶により飽和アルコールを分離検索した。また結晶を分離した母液は

1: Pristane standard

2: Colorless liquid obtained from eluate with *n*-hexane on chromatography of unsaponifiable matter.

Fig.-2 Infrared spectra of pristane.

Table-4 Redistillation of fraction 5, 6 and 7.

Fraction No.	Pressure (mmHg)	Distillation temp. (°C)	Yield (g)	n_D^{20}	S.V.	I.V.
14	2	~168	0.96	1.4508	185.0	64.3
15	"	168~171	3.74	1.4524	171.7	
16	"	171~172	1.39	1.4531	171.3	
17	"	172~176	5.79	1.4532	170.4	
18	"	176~	1.30	1.4533	167.7	
19 Residue			1.46	1.4542	158.7	
Loss			0.08			

Table-5 Redistillation of fraction 9.

Fraction No.	Pressure (mmHg)	Distillation temp. (°C)	Yield (g)	n_D^{20}	S.V.
20	1.5	~176	1.84	1.4545	163.5
21	"	176~181	1.83	1.4548	161.6
22	"	181~	1.06	1.5551	161.5

アセトン を留去したのち 10 倍量のエーテルに溶かし、 -20°C に冷却し臭素を添加した。エーテル不溶性臭化物は e 画分においてのみ微量生じたのでこれをろ過して除き、エーテル溶液よりエーテルを留去した臭化物に 10 倍量の石油エーテルを加えた。この場合 e 画分においてのみ微量の不溶物を生じた。これらをさらに -5°C で 1 夜放置すると c, d および e 画分において結晶が析出してくる。これらは石油エーテル不溶部として石油エーテル可溶部より分離した。つぎにこの石油エーテル不溶部および石油エーテル可溶部についてそれぞれ脱臭素を行ない、アルコールを回収した。

以上のようにして、遊離アルコールに 90% アセトンを加え 1 夜放置して析出してくる結晶 (I), 臭化物の石油エーテル不溶部の脱臭素により得られたアルコール (II), および臭化物の石油エーテル可溶部の脱臭素により得られたアルコール (III) について検索を行なった。

(I) 遊離アルコールに 90% アセトンを加え 1 夜放置して析出してきた結晶

a-I : 再結晶により融点 $49.5\sim 49.7^{\circ}\text{C}$ の結晶を得た。セチルアルコールとの混融により融点降下せず。その赤外線吸収スペクトルには $1,350\text{ cm}^{-1}\sim 1,180\text{ cm}^{-1}$ の間に 8 個の小吸収体が現われ、したがってこのものはセチルアルコールと認められる⁵⁾。

b-I : 再結晶により $61\sim 64^{\circ}\text{C}$ の結晶を得た。オクタデカノールとエイコサノールの混合物と推定される。

c-I および de-I (d-I および e-I を合一したもの) : 得られた微量の結晶を石油エー

Table-6 Characteristics of acetate of (II) and (III).

Fraction	II		III	
	S.V.	I.V.	S.V.	I.V.
a	Not yielded		196.6	65.5
b	Not yielded		178.6	73.0
c	173.8	72.3	180.9	72.2
d	166.5	69.8	167.6	69.0
e	164.4	70.3	166.2	68.0

テルで軽く洗い、このものについて赤外線吸収スペクトルを測定したところ、 $1,350\text{ cm}^{-1}\sim 1,180\text{ cm}^{-1}$ の間に 10 個の小吸収が見られた。このものは恐らくエイコサノールを含むものと推定される (Fig.-3 および Fig.-4 参照)。

(II) 石油エーテル不溶性臭化物の脱臭素により得られたアルコール

および

(III) 石油エーテル可溶性臭化物の脱臭素により得られたアルコール

(II) および (III) をアセチル化しそのケン化価およびヨウ素価を測定した結果は Table-6 のようである。

(II) と (III) の間にはそのケン化価およびヨウ素価ともにあまり大きな差異はなく、そのヨウ素価から、

Fig.-3 Infrared spectrum of *n*-octadecanol in KBr. **Fig.-4** Infrared spectra of normal aliphatic alcohols in KBr.

Table-7 Fractional distillation of b-III acetate.

Fraction No.	Pressure (mmHg)	Distillation temp. (°C)	Yield (g)	n_D^{25}	S.V.
b-III-1	1	~145	0.710	1.4538	176.1
b-III-2	1	145~148	1.624	1.4545	175.4
b-III-3	1	148	0.686	1.4558	175.2
b-III-R	Residue		0.881	1.4570	170.4
	Loss		0.005		

二重結合を 2 個あるいはそれ以上もつアルコールの含量は非常にわずかであることが推定される。

a-III: 水素添加物より 50.5~52.2°C の結晶を得た。したがって原アルコールはヘキサデセノールおよびオクタデセノールを含むものようである。

b-III: n_D^{25} 1.4552, その 3.906 g を分留し **Table-7** の結果を得た。

b-III-2 より得た 遊離アルコールの水素添加生成物より融点 64.9~65.3°C の結晶を得た。エイコサノールとの混融により融点降下せず, またその赤外線吸収スペクトルによると 1,350 cm⁻¹~1,180 cm⁻¹ 間に 10 個の小吸収が現われる。したがってこの結晶はエイコサノールと認められ, 原アルコール中にはエイコセノールが存在するものと認められる。

b-III-1, b-III-3, b-III-R についても同様にエイコセノールの存在が認められた。

c-III: 遊離アルコールの水素添加生成物より融点 64.6~65.4°C の結晶を得, 前項同様エイコセノールの存在を認めた。

e-III: 遊離アルコールの水素添加生成物より融点 69.5~70.3°C の結晶を得た。この画分中にはドコセノールを含むものと考えられる。

以上 総合すると 5% エーテル-ヘキサン 溶出部 (2), (3), (4) は脂肪アルコールより成り, 飽和アルコールとしては多量のヘキサデカノールのほか, オクタデカノール, エイコサノール, また不飽和アルコールではヘキサデセノール, オクタデセノール, エイコセノール, ドコセノールを含み高度不飽和アルコールはほとんど存在しないものと考えられる。

2・3・3 エーテル溶出部 (1), (2), (3), (4)

収量 3.540 g (不ケン化物の 7.2%)。

エーテル溶出部について リーベルマン-ブルヒアルト反応およびステリン含量 (ジギトニン法による) を測定した結果は **Table-8** に示すとおりである。

各画分よりステリンを回収しメタノールより再結し, 融点 140~141.5°C の結晶を得た。このもののエタノール溶液について波長 240~300 mμ 間における吸光度を測定したところによるとプロビタミンDの吸収はほとんど認められず, またリ

Table-8 Characteristics of eluate with ether.

Fraction	Liebermann-Burchard reaction	Sterol content (%)
1	++	9.9
2	+++	35.6
3	++	9.7
4	+	7.4

ーベルマン-ブルヒアルト反応による 呈色の経時変化からこのものは主として 4^β 系ステリンよりなるものと認められた。再結晶により融点 146.5~147°C のものが得られ, 再結晶により融点上昇せず, コレステリンとの混融により融点降下を示さず, またその赤外線吸収スペクトル (KBr) は **Fig-5** に示すとおりで 850~790 cm⁻¹ 間に三置換オレフィンの δ C-H に起因する 1 対の吸収帯がみられ, とくに指紋領域においてコレステリンの吸収によく一致し, このものはコレステリンと認められる。

つぎにそれぞれの画分からステリンを除去した残部の性状は **Table-9** のようであって, (1) および (2) にグリセリンエーテルの存在が推定される。

Table-9 Characteristics of the residue sterol-removed from eluate with ether.

Fraction	n_D^{25}	Acetate	
		S.V.	I.V.
1	1.4733	235.2	141.2
2	1.4802	241.1	150.1
3	1.4850	329.7	69.4
4	1.4880	321.4	49.4

2・3・4 エタノール-エーテル, エタノールおよび HCl-エタノール溶出部

収量 2.930 g (不ケン化物の 6.0%)

エタノール-エーテル, エタノール および HCl-エタノール溶出部の性状を **Table-10** に示す。

以上の画分は恐らく極性の大きい分解生成物などを含

Fig-5 Infrared spectrum of sterol in KBr.

Table-10 Characteristics of eluates with ethanol-ether, ethanol and HCl-ethanol.

Fraction	n_D^{25}	Acetate	
		S.V.	I.V.
Eluate with ethanol-ether	1.5092	374.0	72.5
Ethanol	1.5154	452.9	66.3
HCl-Ethanol	1.4748	236.1	72.2

むものと思われる。

2.4 総括および考察

Calanus plumchrus 脂質不ケン化物は脂質の約50%を占め、赤トウ色の液体で n_D^{25} 1.4670, ヨウ素価(臭化ピリジン法) 98.7 を示す。不ケン化物中約80%の脂肪アルコール, 約2%のプリスタンおよび約2%のステリンを含む。脂肪アルコール中, 飽和アルコールとしてはヘキサデカノールを主成分としそのほかオクタデカノール, エイコサノールを含み, また不飽和アルコールとしてはヘキサデセノール, オクタデセノール, エイコセノール, ドコセノールを含み, 高度不飽和アルコールは非常に少ないかあるいはほとんど含まれないかである。

さきに報告した *Temisto japonica*¹⁾ の脂質の不ケン化物と比較すると, まず脂質の不ケン化物含量ははなはだ大きく約2倍であり, 脂肪アルコールは不ケン化物の約80%を占めていて *Temisto japonica* のそれよりかなり大きい, これに反してステリン含量は約2%ではるかに小さい。そのほか *Calanus plumchrus* ではプリスタンが約2%含まれている。

Calanus plumchrus の脂質はすでに報告³⁾したように d_4^{20} 0.88~0.89 で他の属のプランクトンあるいは一般海産魚類の脂質の比重よりかなり小さいが, これはこの脂質が不ケン化物含量ははなはだ大きくかつそれが脂肪アルコールを主成分としていることからきていることが明らかとなった。このような脂質の果たす生態学的役割についてもすでに論じたところであるが⁹⁾, カラス属がこのような脂質を含有しているのは, このプランクトンが非常に活発に移動し, とくに広範囲に垂直移動することと関係があるのではないかと, つまり浮力に関係をもつのではないかと考えられる。高級アルコールをもつマッコウクジラ, あるいは炭化水素にとむサメ類の生息範囲がいずれもかなり深いところに及んでいる(約1,200 mおよび2,200 mの深度の海底に敷設されていた海底電線に巻きついて死んでいたマッコウクジラが引上げられた例がある⁷⁾)。また最近, 鹿山⁸⁾はサメが生息深度により脂質中の炭化水素含有量を異にし深いところに住

むものの方がその含量の大きいことを報告している)ようであって, これら非グリセリド成分の生成と存在は垂直移動を含めて深所に生息範囲をもつ海の生物に共通する生理, 生態学的機能に関連していると考えられる。

深海魚の脂質成分について最近の報告としては Nevenzel ら^{9), 10)}森ら^{11), 12)}のものがあ, いずれも魚の筋肉中に多量のロウエステルが含まれることを報告しており, Nevenzel ら¹⁰⁾は魚類が大量にロウエステルを蓄積するのは, これによって魚体が釣合い浮力(neutral buoyancy)をもつようになるのであろうといっているがこれらの報告は脂肪アルコールに富む脂質に対する著者の考えによく一致している。

またプランクトン脂質中の炭化水素については Blumer らの報告^{13), 14), 15)}がある。Blumer ら¹³⁾はプリスタンが3種の橈脚類プランクトン, すなわち *Calanus finmarchicus*, *Calanus glacialis* および *Calanus hyperboreus* の脂質に1~3%含まれ, *Calanus* 属以外ではごく少量かあるいはまったく含まれないことを見だし, 橈脚類中 *Calanus* 属のプランクトンがプリスタンの主要な生産者であると考えているが, *Calanus plumchrus* の脂質不ケン化物中にも約2%のプリスタンが見いだし, Blumer らの結果とよく一致している。

(昭和45年2月6日受理)

文 献

- 1) 山田, 油化学, **19**, 294 (1970)
- 2) 山路“日本海洋プランクトン図鑑” p. 195 (1966), 保育社, 大阪
- 3) 山田, 日水誌, **30**, 673 (1964)
- 4) 日本化学会編“実験化学講座, 16, 有機化合物の分析, p. 272 (1959), 丸善, 東京
- 5) R.M. Meiklejohn, R.T. Meyer, S.M. Aronovic, H.A. Schuette, V.W. Meloch, *Anal. Chem.*, **29**, 329 (1957)
- 6) 山田, 日水誌, **30**, 693 (1964)
- 7) 西脇“鯨類, 鰭脚類” p. 88 (1965), 東大出版会, 東京
- 8) M. Kayama, Y. Tsuchiya, J.C. Nevenzel, *Bull. Japan. Soc. Sci. Fish.*, **35**, 653 (1969)
- 9) J.C. Nevenzel, W. Rodegker, J.F. Mead, *Biochemistry*, **4**, 1589 (1965)
- 10) J.C. Nevenzel, W. Rodegker, J.F. Mead, M.S. Gordon, *Science*, **152**, 1753 (1966)
- 11) M. Mori, T. Saito, Y. Nakanishi, Y. Hashimoto, *Bull. Japan. Soc. Sci. Fish.*, **32**, 137 (1966)
- 12) M. Mori, T. Saito, Y. Nakanishi, *Bull. Japan. Soc. Sci. Fish.*, **32**, 668 (1966)
- 13) M. Blumer, M. Mullin, D.W. Thomas, *Science*, **140**, 974 (1963)
- 14) M. Blumer, D.W. Thomas, *Science*, **147**, 1148 (1965)
- 15) M. Blumer, D.W. Thomas, *Science*, **148**, 370 (1965)