ゴウシュウマダイの ATP 関連物質の消長と イノシン酸分解酵素活性

根立恵子, 広田 望

(1990 年 7 月 18 日受付)

Changes in ATP Related Compounds and IMP-degrading Enzyme Activity of New Zealand Golden Snapper

Keiko Nedachi* and Nozomu Hirota*

The amounts of ATP related compounds during storage and some properties of IMP degrading enzyme in the ordinary muscle of the golden snapper *Pagrus auratus* from waters around New Zealand were examined.

When the muscle were stored for five days at 4°C, IMP remarkably decreased and hypoxanthine increased, whereas the amount of inosine was low and scarcely changed during storage. The amounts of IMP in the muscle hardly changed during storage for 43 days at -20°C.

IMP was degraded optimally at pH 6.2 and pH 8.4 in dorsal muscle homogenate of golden snapper. The IMP-degrading activity in the minced dorsal muscle decreased by the storage for one day at 4°C, showing 82.5% of initial activity, and since then, the activity decreased rapidly, showing 17.5% after seven days of storage.

The IMP-degrading activity of crude enzyme extracted from the golden snapper muscle using the detergent remarkably increased at pH 8.0 in the presence of 2 mM Mg^{2+} and stabilized at pH 7.0 for 48 h ($2 \pm 1^\circ C$).

近年日本への魚の輸入量は年々増加し, その中でニュージーランド海域で漁獲されるタイは, 生鮮および冷蔵魚を併せて 1986 年には 3,455 t にものぼり,¹⁾ 金額にして輸入タイの 42.5% (1988 年) を占める²⁾ など市場への進出は目覚ましいものがある。したがって日本近海のマダイと生活環境を異にするゴウシュウマダイを酵素学の見地から研究することは, 魚類の生理学上重要であるとともに水産資源の流通・消費における品質向上のためにも役立つと考えられる。本実験では漁獲後水詰めで 2 日経過した天然魚のゴウシュウマダイの普通肉を試料とし, 保蔵中の ATP 関連物質の動向と K 値の変動, 5'-IMP 分解に関与する酵素の性質などについて検討し, 二, 三 の知見を得たので報告する。

実験方法

試料 1988 年 5 月から 1989 年 4 月にかけてニュージーランド海域で漁獲され水蔵で空輸されたゴウシュウマダイ *Pagrus auratus* 15 尾 (体重 0.7~1.6 kg) を東京築地市場で漁獲 2 日後に入手し, ドライアイスで冷却しながら実験室に搬入した。

HPLC による ATP 関連物質の定量 島津製作所製の HPLC 自動分析 LC-6A システム (送液ユニット LC-6A, 検出器 SPD-6AV, カラムオープン CTO-6A, システムコントローラー SCL-6A, データー処理装置 C-R5A) を用い, カラムは同社の Shim-pack CLC-ODS (15 cm×6 mm) により, 試料注入量 10 μ l, 移動相流量 1.0 ml/min, カラム温度 45°C, 波長 254 nm で測定し, 各成分を定量した。また移動相には pH 5.5 のリン酸を含むジエチルアミノエタノールを用いた。核酸関連物質の標準液は, 和光純薬または Sigma 社の製品を, その他の試薬はすべて和光純薬の特級を用いた。ヌクレオチド, ヌクレオシド, 塩基の定量は標準物質から求めた検量線によった。試料液は過塩素酸抽出法³⁾ により調製し, それぞれの検液はメンブランフィルター (0.45 μ m) で濾過後 HPLC に供した。

イノシン酸分解酵素液の調製 試料魚の普通肉に 5 倍量の冷水を加え, 電気ミキサー (ナショナル MX-915C) で 3 min, 最高速度でホモジナイズして得られたホモジネートおよびその遠心分離 (8,000×g, 20 min) 後の上清をそれぞれ冷水に対して 40~80 時間透析したのち, ホ

* 昭和女子大学 (Showa Womens University, Taishido, Setagaya, Tokyo 154, Japan).

略語: HxR, inosine; Hx, hypoxanthine; IMP, 5'-inosine monophosphate.

モジネートはナイロクロス (100 メッシュ) で濾過した濾液を 2 倍に希釈し, 上清は透析後遠心分離 (13,000 ×g, 20 min) し沈殿を除いて用いた。以上の操作はすべて 4°C で行った。

酵素活性の測定 前報⁴⁾に準じ緩衝液 2.0 ml, 基質溶液 0.5 ml, 賦活剤溶液 0.5 ml に粗酵素液 2.0 ml を加え, 37°C, 40 min 反応させたのち, 20% 過塩素酸 1 ml を加え遠心分離 (11,500 ×g, 10 min) した上清液の Pi を Allen 法⁵⁾で測定した。緩衝液は各 0.5 M の acetate (pH 3~6.2), Tris-HCl (pH 6.5~8.8), グリシン-NaOH (pH 9~10) を用い, 基質溶液には 10 mM 5'-IMP, 賦活剤は $MgCl_2$ を終濃度 2 mM になるように調製した。

結果および考察

低温保蔵中の ATP 関連物質 試料魚 (3 尾) および器具はすべて 70% エタノールで処理し, 背部, 腹部の普通肉をそれぞれ冷却した乳鉢で均一に磨砕混合し, 約 20 g ずつラップフィルムで包み, ポリエチレン・ナイロン・ポリ塩化ビニリデンの 3 層ラミネート袋 (藤丸工業 K.K. 製) で真空包装をしてヒートシールし, -20°C および 4°C で保蔵した際の ATP 関連物質の消長を Fig. 1, Fig. 2 に示した。これらの結果から, -20°C 保蔵では背部肉および腹部肉とも 1 日で IMP はやや減少するもののそれ以後は保蔵日数が経過してもほとんど変化はみられず, Hx, HxR, ATP+ADP+AMP も 43 日保蔵で

Fig. 1. Changes in the amounts of ATP related compounds in the dorsal muscle of the golden snapper stored at -20°C or 4°C.

Fig. 2. Changes in the amounts of ATP related compounds in the ventral muscle of the golden snapper stored at -20°C or 4°C.

大きな変化はみられなかった。ATP+ADP+AMP は実験開始時から微量しか認められなかったが, これは漁獲後実験に供するまで氷蔵で 2 日経過しているためと考えられる。Jones ら⁶⁾は -78°C で凍結したマダラについて, -20°C 以下で保管すべきであることを示唆しているが, この実験からマダイ鮮魚でも IMP 量は -20°C ではほぼ保持されるものと思われる。次に 4°C 保蔵の背部肉では保蔵 1 日でわずかな IMP の減少と HxR, Hx の増加がみられ, 5 日で IMP は著しく減少し保蔵開始時の 64% となった。一方 Hx は 5 日で急激に増加し, 保蔵開始時の 9.5 倍となったが, HxR は 3 日, 5 日と減少した。7 日では IMP はさらに分解が進み開始時の 6.4% を残存するのみとなり, Hx は 14.5 倍と増加したが, HxR はわずかに増加したにすぎなかった。腹部肉では, 保蔵開始時の IMP 含量は背部肉の 9.49 μmole/g に対し 8.64 μmole/g であり, IMP 量は 3 日では比較的保持され, 5 日でも背部肉に比べ IMP の保持率は高く, 保蔵開始時の 85% を示した。また, 背部肉と同様 IMP の減少とともに Hx は増加した。

次にこれらの測定値から算出した K 値の推移は Fig. 3 に示すとおり, 4°C 保蔵では背部肉および腹部肉とも 3 日以降 K 値は上昇を続け, 5 日では 25%, 7 日では 75% となった。内山⁷⁾は高級まぐろや刺身の分析結果から, これらの魚肉の K 値はほとんどが 20% 以下を示していたと報告しているが, 今回の実験では, -20°C

Fig. 3. Changes in K values of the golden snapper in the dorsal and ventral muscle stored at -20°C or 4°C .

保蔵においては 43 日を経過しても 10% 前後を示すように鮮度保持は良好であり、 4°C 保蔵では 3 日以降は鮮度は急激に低下した。江平ら^{8,9)} は魚肉の鮮度低下は細菌作用によるよりもむしろ自己消化によるとしており、ATP 関連物質は初期腐敗前に著しい分解を示すと報告している。したがって、IMP の顕著な分解が始まる 5 日保蔵までの IMP の減少と Hx の増加は、自己消化による鮮度低下によるものであると推定されるが、7 日保蔵での ATP 関連物質の総量は 5 日保蔵時の 63.4% (背部肉), 54.5% (腹部肉) を示した。これは Hx の分解が進んだためと考えられ、また異臭を発生し粘着性を帯びるなど腐敗の段階に入ったこともこの現象を進捗させた原因と考えられる。また一般にマダイ *Pagrus major* の IMP 分解速度は小さいこと^{8,10)} が知られているが、今回の結果でも同様にゴウシュウマダイの鮮度低下は比較的遅く、背部肉と腹部肉で分解速度には大きな差は認められなかった。

また、ラップフィルムで包み、前記のラミネート袋で真空包装をしてヒートシールし凍結保蔵 (-20°C , 4 か月) した背側尾部肉を、魚体表面の表皮部分から 1 mm の層を取り除いたものを等分の厚さに 3 層に分け、ATP 関連物質の含量を調べたところ、Table 1 に示すように

Table 1. The amounts of ATP related compounds in frozen golden snapper caudal muscle

Part of muscle	IMP ($\mu\text{mol/g}$)	HxR ($\mu\text{mol/g}$)	Hx ($\mu\text{mol/g}$)	ATP ($\mu\text{mol/g}$)	ADP+AMP ($\mu\text{mol/g}$)	Total Nucleotide ($\mu\text{mol/g}$)	K value (%)
Exterior muscle	7.59 ± 0.35	0.56 ± 0.03	0.54 ± 0.02	0.14 ± 0.01	0.28 ± 0.02	9.11	12.1
Middle muscle	8.06 ± 0.20	0.61 ± 0.02	0.54 ± 0.01	0.13 ± 0.01	0.29 ± 0.01	9.63	11.9
Interior muscle	8.29 ± 0.32	0.61 ± 0.01	0.56 ± 0.00	0.06 ± 0.02	0.35 ± 0.03	9.87	11.9

Fig. 4. Effect of pH on 5'-IMP degrading activity of the supernatant (—) and the homogenate (---) prepared from several parts of the golden snapper muscle. A reaction mixture containing 1 mM 5'-IMP, 0.2 M buffer, 2 mM MgCl_2 , and muscle extraction was incubated for 40 min at 37°C . Acetate (pH 3–6.2), Tris-HCl (pH 6.5–8.5), and glycine-NaOH (pH 9–10) buffers were used. After incubation released Pi was measured by Allen's method.

IMP, HxR, Hx の含量には各肉層間で大きな差は認められず, Hx 含量は外層肉に多いという氷蔵 Halibut,¹¹⁾ 生鮮カツオ¹²⁾での報告や, IMP 含量が内層になるほど高い¹²⁾という結果のような明らかな差は認められなかった。

5'-IMP 分解酵素活性と pH 酵素活性と pH との関係は Fig. 4 に示すように, ホモジネートでは背部肉で pH 6.2 と 8.4 に高い活性が認められ, 腹部肉で pH 5.5 付近と pH 7.5~8.0 に活性が存在したが pH 7.5~8.0 の活性のほうが強く現れた。また尾部背側肉でも腹部肉と同様な傾向がみられた。一方, 上清では背部および腹部肉でそれぞれ pH 6.2 および 5.5~6.0 に強い活性がみられたが, ホモジネートでみられたアルカリ側の活性は極めて弱く尾部肉でも同様であった。

ホモジネートでアルカリ側に高い活性が認められたことについて, 小島¹³⁾はマサバ普通肉で指摘しているが, 今回のゴウシュウマダイについてもアルカリ側の活性は水に移行しにくい酵素によるためであると考えられる。また Tomioka ら^{14,15)}はアルカリ側に至適 pH を持つコイ肉の 5'-ヌクレオチダーゼ (5'-Ndase) がプラズマ膜に結合し, 界面活性剤により可溶化することを報告しているが, 本実験のアルカリ側の活性の出現は, このような事実に基づくものと考えられる。

また, 背部肉の活性が pH 6.2 と 8.4 付近にみられたのに比べ腹部肉は pH 5.5 および 7.5 付近とやや酸性側に移行し, また尾部背側肉では pH 5.5~6, pH 7.5~8 と魚体の部位によって活性のピークがわずかず異なることが認められた。5'-Ndase については動物の種類により,^{16,17)} また魚種により粗酵素の至適 pH は異なる^{4,10,13,17-21)}が, 同一個体の筋肉中にも存在形式の異なる複数の酵素が存在し, それらが部位によりその分布を異にするものと考えられ, 筋肉中のヌクレオチドは魚体部位により分布が異なるという内山²²⁾や Shirai ら²³⁾の報告にも通ずるものと思われる。

5'-IMP 分解酵素活性におよぼす保存の影響 前述したように, 保蔵 5 日までの IMP の分解は自己消化によるものと推定されるが, 鮮度低下に深く関わる酵素系の 1 つである 5'-IMP 分解酵素の活性が, 各保存日時においてどのように変化するかを調べるため, ゴウシュウマダイの背部肉の保存開始時の pH を尾藤の方法²⁴⁾により測定したところ, 6.5 であったことから酸性側 (pH 6) における上清の活性の経時的変化を ATP 関連物質の消費で用いたものと同じ試料で測定し, Fig. 5 に示した。すなわち磨砕して均質にした背部肉の -20°C 保存での活性は, 1 日で保存開始時の 40% まで急激に低下したが, その後は徐々に減少し 7 日以降は保存開始時の 30% 前後を示すのみとなった。4°C 保存では 1 日で保存開始時

Fig. 5. Changes in 5'-IMP degrading activity of supernatant separated from the minced golden snapper ordinary muscle stored at -20°C or 4°C. Activities were expressed as Pi released from IMP at pH 6.0 in the presence of 2 mM MgCl₂.

Fig. 6. Changes in 5'-IMP degrading activity of the golden snapper crude enzyme stored at -20°C. Activities were expressed as Pi released from IMP at pH 6.0 in the presence of 2 mM MgCl₂.

の 82.5% の活性を保持していたが, その後は急激に低下し 3 日で -20°C 保存と同程度にまで減少し, 鮮度低下の著しいとみられる 7 日には 17.5% を示したにすぎず, 保蔵 7 日の IMP の著しい分解は魚肉に由来する 5'-IMP 分解酵素によるものだけではなく, 微生物の影響など他の要因も考えなければならないであろう。

次に, これらの -20°C 処理の酵素活性への影響を Fig. 6 に示した。ホモジネートと上清の -20°C 保存では, 前者の活性は 1 日で開始時の 78% に, 7 日では 65% に減少した。これに比べ後者ではやや安定であり, 3 日で 76% に低下するが以後 61 日を経過してもその活性

Fig. 7. Effect of pH on 5'-IMP degrading activity of crude enzyme extracted from the golden snapper by the detergent (—) or the distilled water (---). A reaction mixture containing 1 mM 5'-IMP, 0.2 M buffer, 2 mM MgCl_2 , and muscle extraction was incubated for 40 min at 37°C. Acetate (pH 4-6) and Tris-acetate (pH 7-9) were used.

Fig. 8. Effect of pH on 5'-IMP degrading activity of crude enzyme extracted from the golden snapper by the detergent in the absence (---) or presence (—) of 2 mM MgCl_2 . Method for activity assay was the same as in Fig. 7.

は保持された。このように抽出液を -20°C で保存したところ1日でホモジネートでは 78%, 上清では 89% と減少するが、 -20°C 保存磨砕肉が1日で 40% に減少したことに比べ、活性は残存している。したがって、磨砕肉の -20°C 保存の活性が急激に低下したのは、凍結により酵素が水に移行し難くなったことも原因の1つであろう。

粗酵素抽出におよぼす界面活性剤の影響 魚肉に 2.5

Fig. 9. Stability of the crude enzyme activity at different pH. The crude enzyme solution extracted by the detergent was adjusted to the desirable pH with buffer solution, and allowed to stand at $2 \pm 1^\circ\text{C}$ for 48 h. Reaction buffers were pH 6.0 (---) and pH 8.0 (—).

倍量の冷水を加え、磨砕して得られたホモジネートを遠心分離 ($6,000 \times g$, 20 min) した上清に 1% の Emulgen 109P (花王 K.K.) を加えて攪拌し、遠心分離 ($8,000 \times g$, 20 min) して得た上清を水で透析してさらに遠心分離 ($8,000 \times g$, 20 min) した上清の活性は、Fig. 7 に示すように Emulgen を用いることにより pH 8 付近の活性が著しく高くなった。

前述のように、ゴウシュウマダイ普通肉の 5'-IMP 分解酵素は酸性側に至適 pH を持つ水に可溶化しやすい酵素と、アルカリ側に至適 pH を持つ水に移行しにくい酵素の 2 種類が存在することがわかったが、後者が生体膜に結合の酵素であれば界面活性剤を用いて可溶化することが可能であり、実際に種々の界面活性剤を用いて溶出した報告がある。^{14, 25-32)} また、Tomioka ら³³⁾ は Maki-nodan らの超遠心分離法³⁴⁾ で得た魚肉のミクロゾーム画分を用い、貯蔵温度と 5'-Ndase の活性の関係を検討している。このように 5'-Ndase の抽出には界面活性剤の使用や超遠心による方法などが考えられ、本報でも Emulgen によりアルカリ側に活性を有する酵素を効果的に抽出することができた。

粗酵素活性におよぼす Mg^{2+} の影響 Fig. 8 に示すように pH 4-5 の活性は Mg^{2+} によってほとんど影響を

受けないが, pH 6 付近からその活性は Mg^{2+} により賦活され, pH 8 では顕著な活性の増加が認められた。小嶋ら¹⁸⁾はマサバの普通肉で Mg^{2+} 無添加では pH 6 付近に活性が現れただけであり, Mg^{2+} の添加により pH 8 付近の活性が賦活されたと報告しているが, 戸田ら²¹⁾はシログチ・ニベ・キグチで Mg^{2+} の無添加でシログチは pH 9 付近に, ニベ・キグチは pH 5~6 と pH 9 付近に存在する活性が, Mg^{2+} の添加によって pH 5~6 は賦活されたが, pH 9 付近は阻害されたと報告している。また広田⁴⁾はカツオ普通肉で pH 5.0 と 9.5 付近に活性があり, Mg^{2+} によって pH 6 付近の活性が賦活されることを認めている。このように粗酵素に対する Mg^{2+} の影響は魚種により多様であるが, 本実験の活性曲線は比較的マサバの結果¹⁸⁾と類似していた。

pH 安定性 Emulgen 抽出上清液に各 0.5 M 緩衝液を 5:2 (v/v) の割合で加え, 48 h ($2 \pm 1^\circ C$) 保存し, pH 6 および 8 における活性を調べた結果は, Fig. 9 に示すとおり pH 7 での保存が最も安定であり, 特に pH 8 の活性は保存開始時の 97.2% を示した。

以上, 本報ではゴウシュウマダイについて市場に出回るレベルでの ATP 関連物質の消長を調べるとともに, 5'-IMP を分解する酵素の性質を検討した結果, IMP 量は $-20^\circ C$ 保蔵ではほぼ保持されるが, $4^\circ C$ 保蔵では 5 日から顕著に減少し, Hx が増加することがわかった。この Hx 量は保蔵初期の段階では HxR 量よりも低いが徐々に増加し, 5 日以降 HxR 量よりも高くなった。従来マダイは HxR から Hx に分解しにくい魚種とされてきた²⁰⁾が, これらの分解型式の違いは種々の因子の影響が考えられ, 今後検討が必要とされる。また IMP 量の減少は鮮度の低下と密接な関係にあるが, この 5'-IMP を分解する酵素については, 背部肉の上清では pH 6 付近に活性が現れたが, ホモジネートにおいて pH 8 付近にも強い活性が認められた。このアルカリ側の活性は水ではほとんど抽出されず界面活性剤によって抽出されることから, 膜結合の酵素であると推定され, この活性は Mg^{2+} により効果的に賦活された。 $4^\circ C$ 保存における磨砕背部普通肉の IMP の分解は, 保存開始時から 3 日の魚肉の pH が 6.5~6.6 であることから酸性側に活性が高い酵素の影響も少なくないと推定できる。なお, 5'-IMP を分解する酵素は pH 7 において安定であった。

終りに試料魚の入手にあたり, 並々ならぬご援助と適切なご助言をいただいた全国水産物卸組合連合会・福島輝夫専務理事に深く感謝いたします。

文 献

- 1) 食品流通センター: 水産物総合統計年報, 1988 年版, 山口北州, 東京, 1987, p. 71.
- 2) 水産庁: 水産貿易統計, 昭和 63 年 1 月~12 月, 1988, p. 360.
- 3) 江平重男, 内山 均, 宇田文昭: 水産生物化学・食品学実験書 (斉藤恒行, 内山 均, 棒本 滋, 河端俊治編) 恒星社厚生閣, 東京, 1974, pp. 17-31.
- 4) 広田 望: 日水誌, **39**, 1271-1278 (1973).
- 5) R. J. L. Allen: *Biochem. J.*, **34**, 858-865 (1940).
- 6) N. R. Jones and J. Murray: *Biochem. J.*, **80**, 26-27 (1961).
- 7) 内山 均, 江平重男, 小林 宏, 清水 亘: 日水誌, **36**, 177-187 (1970).
- 8) S. Ehira and H. Uchiyama: *Nippon Suisan Gakkaishi*, **40**, 479-487 (1974).
- 9) 江平重男, 姉川昌彦: 日水誌, **32**, 716-722 (1966).
- 10) 富岡和子, 遠藤金次: 日水誌, **50**, 889-892 (1984).
- 11) J. Spinelli: *J. Food Sci.*, **32**, 38-41 (1967).
- 12) 広田 望: 昭和女子大学生生活科学紀要, **No. 442**, 30-40 (1976).
- 13) 小嶋 渥, 土井敏男, 小野達也: 日水誌, **54**, 283-288 (1988).
- 14) K. Tomioka and K. Endo: *Nippon Suisan Gakkaishi*, **50**, 1077-1081 (1984).
- 15) K. Tomioka and K. Endo: *Nippon Suisan Gakkaishi*, **50**, 1739-1744 (1984).
- 16) 戸田 準, 中谷弘美, 石井清文, 藤田栄一郎: 栄養と食糧, **18**, 60-62 (1965).
- 17) 遠藤金次, 門脇蓉子, 荒木郁子, 高山直子, 山本喜男: 家政学研究, **12**, 78-81 (1965).
- 18) 富岡和子, 遠藤金次: 日水誌, **54**, 1947-1951 (1988).
- 19) 遠藤金次, 小坂紀子, 中部喜久子, 山本喜男: 家政学研究, **15**, 1-4 (1968).
- 20) 山本喜男, 遠藤金次, 門脇蓉子, 橋本慶子: 家政誌, **16**, 266-269 (1965).
- 21) 戸田 準, 中谷弘美, 石井清文, 藤田栄一郎: 栄養と食糧, **18**, 63-65 (1965).
- 22) 内山 均, 江平重男: 日水誌, **36**, 977-992 (1970).
- 23) T. Shirai, S. Fuke, K. Yamaguchi, and S. Konosu: *Nippon Suisan Gakkaishi*, **54**, 1199-1207 (1988).
- 24) 尾藤方通: 東海水研報, **103**, 65-72 (1980).
- 25) C. Fini, P. L. Ipata, C. A. Palmaerini, and A. Floridi: *Biochim. Biophys. Acta*, **748**, 405-412 (1983).
- 26) B. L. Riemer and C. C. Widnell: *Arch. Biochem. Biophys.*, **171**, 343-347 (1975).
- 27) C. S. Song and O. Bodanski: *J. Biol. Chem.*, **242**, 694-699 (1967).
- 28) H. B. Bosmann and G. Z. Pike: *Biochim. Biophys. Acta*, **227**, 402-412 (1971).
- 29) R. Tanaka, H. Morita, and A. Teruya: *Biochim. Biophys. Acta*, **298**, 842-849 (1973).
- 30) Y. Naito and J. M. Lowenstein: *Biochemistry*, **20**, 5188-5194 (1981).

- 31) J. M. J. Lamers, C. E. Heyliger, V. Panagia, and N. S. Dhalla: *Biochim. Biophys. Acta*, **742**, 568-575 (1983).
- 32) H. Yamamoto, K. Tomioka, H. Kawai, and K. Endo: *Agric. Biol. Chem.*, **50**, 1123-1129 (1986).
- 33) K. Tomioka, T. Kuragano, H. Yamamoto, and K. Endo: *Nippon Suisan Gakkaishi*, **53**, 503-507 (1987).
- 34) Y. Makinodan, N. N. Kyaw, and S. Ikeda: *Comp. Biochem. Physiol.*, **73B**, 785-789 (1982).
- 35) 内山 均, 江平重男, 加藤 登: 魚の品質 (日本水産学会編) 恒星社厚生閣, 東京, 1974, pp. 88-90.