HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	サケ卵発生過程中における脂質成分の変化
Author(s)	高間, 浩蔵; 座間, 宏一; 五十嵐, 久尚
Citation	北海道大學水産學部研究彙報, 20(2), 118-126
Issue Date	1969-08
Doc URL	http://hdl.handle.net/2115/23385
Type	bulletin (article)
File Information	20(2)_P118-126.pdf

Instructions for use

Hokkaido University Collection of Scholarly and Academic Papers : HUSCAP

サケ卵発生過程中における脂質成分の変化

高間　浩蔵*・座間　宏一*・五十嵐久尚*

Changes in the Lipids during the Development of Salmon Eggs

Kōzō TAKAMA, Kōichi ZAMA and Hisanao IGARASHI

Abstract

To determine the changes in the lipids occurring in salmon eggs during the development stages (listed in Table 1), a series of samples was obtained from a single lot of eggs.

Results obtained were as follows;

1) The lipid content of an egg was about 11–12%, which decreased markedly towards stage 5.

2) No marked changes were observed in ratio 3:1 (except stage 2), between acetone-soluble and conjugated lipids throughout the entire developing stages.

3) Marked decrease was seen in the lecithin; on the contrary, remarkable increase in the cephalin fraction was observed after stage 5.

4) Selective consumption of the unsaturated fatty acid during the development stages was hardly observed.

緒　　言

魚卵発生過程中における脂質成分は外部から餌料を摂取する直前までにおいては もっぱらエネルギー源として消費されるもの，体脂質成分として新たに合成されるものなど，その変化については極めて興味深いものがあり，それらに関する研究も例えば，サケ卵については Glover ら[1]，高見[2] など，またニジマス卵については安藤[3,4] の報告がある。著者[5,6] らもサケ未受精卵と受精直後卵の脂質成分の差異について既に報告した。しかし，それらの結果には比較的ばらつきが多く絶対的なものとは云い難い。このことは試料卵の差異（母体，熟度など）によるものの他に，脂質抽出法の違いや分析法の違いなどによるところも大きいものと考えられる。

サケ・マス類卵発生過程中の脂質変化に関する従来迄の知見は，ふ化前後におけるコレステロールの著しい合成とリン脂質の消失が行われること，アセトン可溶性脂質と複合脂質の消費パターンに差異のあること，またある時期において高度不飽和脂肪酸の選択的消費が見られることなどである。

著者らは同一腹サケ卵を試料とし，脂質抽出剤としてクロロホルム－メタノールを，また脂肪酸分析にはガスクロマトグラフ法を用い卵発生過程中の脂質成分の変化を検討した。

実　験　方　法

試料調製　1962年12月，水産庁北海道さけ・ますふ化場渡島支場にて捕獲したサケ（♀全長 80cm，体長 72.5cm; ♂72cm, 64.5cm）より採卵，受精させたものを試料卵とした。実験期は Table 1 に示

* 北海道大学水産学部食品化学第一講座
(*Laboratory of Foods Chemistry, Faculty of Fishcries, Hokkaido University*)

した様に (1)未受精，(2)受精直後，(3)原腸胚，(4)体節形成，(5)発眼，(6)動き始め，(7)ふ化（ふ化後15日目），(8)卵嚢吸収直前，及び (9)卵嚢吸収直後の9期に分けそれぞれ約 300 粒ずつ採取して実験に供した。

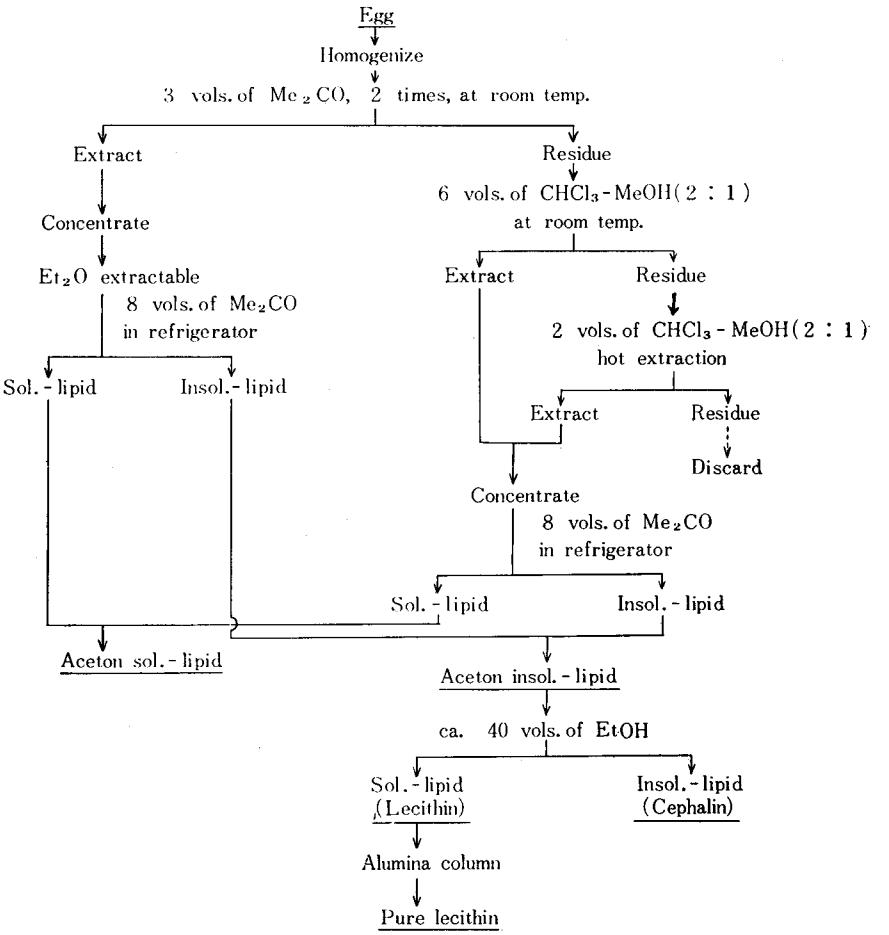


Fig. 1. Extraction and fractionation of lipid

脂質の調製　脂質抽出及び分別法は概略 Fig. 1 に示した様に，各期試料卵を擂潰し，直ちに3倍量のアセトンで2回室温抽出し，アセトン抽出液を濃縮後，エーテルと振り転溶部を集め溶剤留去したものを約8倍量のアセトン中に注加し冷室に保ち可溶部と不溶部に分けた。一方，アセトン抽出時の残渣は6倍量のクロロホルム-メタノール (2:1, v/v) で1回室温抽出した後，残渣をさらに2倍量のクロロホルム-メタノール混液で1回熱抽出を行なった。クロロホルム-メタノール抽出液を合一し濃縮後，約8倍量のアセトンを加え，アセトン可溶部と不溶部に分け，先きのものとそれぞれ合一した。

アセトン可溶性脂質については 2^N-KOH アルコール溶液と2時間還流して水解し，不ケン化物の定量と脂肪酸の検索を行なった。また不ケン化物中の全ステロールはジギトニン沈澱法によって定量した。

アセトン不溶性脂質（複合脂質）は約40倍量の無水エタノールによって可溶部と不溶部に完全に分別し，エタノール可溶部をレシチン部，不溶部をケファリン部とした。レシチン部についてはアルミナカラムクロマトグラフィーによって精製し，構成脂肪酸の検索を行なった。

ガスクロマトグラフィー アセトン可溶性脂質及びレシチンの構成脂肪酸検索に当っては，常法通りケン化し脂肪酸を調製後，1.5% HCl-メタノールで1.5時間還流し，あるいはジアゾメタン法でエステル化を行ないガスクロマト分析に供した。分析条件はジエチレングリコール・アジピン酸ポリエステル 2m カラムをセットした日立 KGL-2 を用い，He 40ml/min，展開温度 210°C で行なった。定量は半値巾法によって求めた各ピーク面積の相対面積比較法によって行なった。

その他の分析法 ヨウ素価は Wijs 法，P は Fiske-Subbarow 法[7]，N は微量拡散分析法，コリンは Beattie 法[8] によって測定した。

結果および考察

Table 1 及び Fig. 2 に脂質成分量を示したが，卵発生過程中，卵重量に対し 11～12% の全脂質が含有されるが発眼期 (Stage 5) を境いにして著しい減少を示している。とくに卵嚢吸収直後では 4.8% 含量になっている。

脂質中アセトン可溶性脂質は全脂質量の約 75% を占めるが発生過程が進むにつれ次第に減少し，動き始めの時期 (Stage 6) を過ぎると一層その度を増している。しかし不ケン化物（ステロール）量は有意な変化はなく主にグリセライドの消費が行なわれているものと考えられる。Glover ら[1] や高見[2] によれば全脂質量は約 8～9% とされており著者の結果 (11～12%) とは 3～4% の差がある。著者らの既報の結果[5,6] でもエタノール，エーテル系による脂質抽出は一般的に複合脂質部の抽出に難があり全脂質中に占めるアセトン可溶性脂質の割合が大きくなり従ってステロール含量も既報の場合全脂質量に対する比率が高く報告されている。

Table 1. Lipid content of individual egg

Stage* No.	Days	Egg weight (mg)	Total lipid (mg)	Acetone-sol. lipid (mg)				Conjugated lipid (mg)		
				Total	USM**	Sterol	Glyceride	Total	Lecithin	Cephalin
1	—	234.8	29.8	22.9	1.14	0.81	21.7	6.94	6.38	0.57
2	0	263.2	30.0	25.6	1.01	0.73	24.5	4.35	3.78	0.57
3	10	260.3	29.4	22.1	1.29	0.86	20.8	7.29	6.76	0.53
4	17	259.9	29.9	21.6	1.32	0.91	20.2	8.34	7.89	0.45
5	36	259.7	30.1	21.8	1.25	0.75	20.6	8.25	7.89	0.36
6	60	262.8	28.2	21.2	1.19	0.87	20.0	6.99	6.32	0.68
7-a***	96	136.3	23.0	17.0	0.85	0.58	16.2	5.96	5.59	0.37
7-b****		109.8	1.9	0.9	0.37	0.17	0.5	1.03	0.49	0.49
8	130	352.1	22.3	16.6	1.60	0.92	15.0	5.69	4.68	1.00
9	139	388.9	18.8	14.5	1.28	0.71	13.2	4.32	2.61	1.71

* 1. Unfertilized, 2. Just after fertilization, 3. Gastrula, 4. Formation of somites, 5. Pigmentation of retina (Eyed stage), 6. Motility, 7. Hatching (after 15 days), 8. Just before the disappearance of the yolk-sac, 9. Just after the disappearance of the yolk-sac

** Unsaponifiable matter

*** Yolk, **** Embryonic body

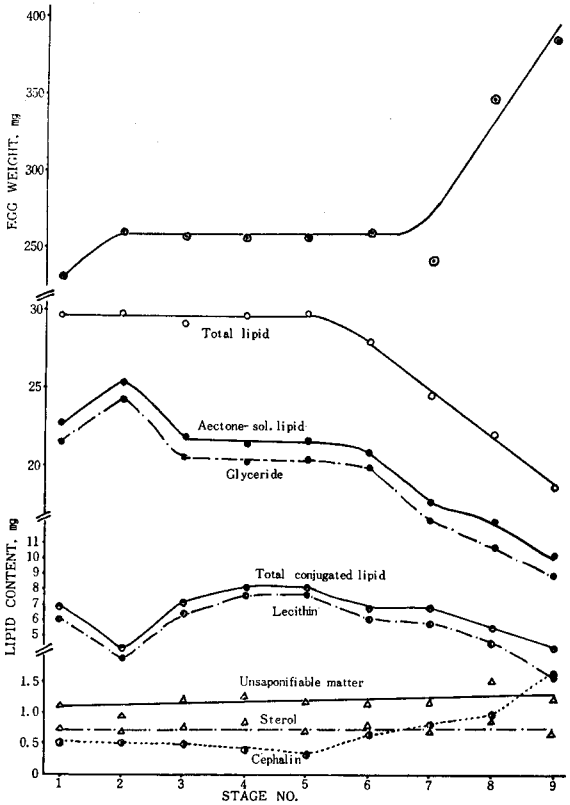


Fig. 2. Egg weight and lipid content

Table 2. Property of lipid

	Acetone sol.-lipid				Lecithin			Cephalin fract.	
	AV	SV	IV	n_D^{20}	N/P*	Choline/P*	IV	N/P*	IV
1	4.3	186.7	179.3	1.4848	0.9	0.9	76.4	1.0	61.8
2	3.6	189.6	181.0	1.4855	0.9	0.9	71.7	1.0	52.0
3	3.9	189.6	180.0	1.4842	0.8	0.9	91.9	0.9	49.4
4	5.0	191.3	180.7	1.4840	0.8	1.1	90.8	0.8	50.1
5	7.0	188.9	182.1	1.4840	0.8	1.0	90.4	0.8	73.0
6	8.1	188.3	182.2	1.4842	0.8	0.9	114.4	0.8	80.7
7-a	4.3	187.8	183.1	1.4843	0.8	1.1	157.6	0.9	73.5
7-b	—	—	—	solid	0.9	0.9	—	1.1	78.5
8	8.9	183.5	185.0	1.4858	1.0	1.1	99.2	1.4	80.5
9	12.0	181.8	184.4	1.4863	0.9	0.9	98.5	1.2	84.2

* Molar ratio

Table 2 に脂質の性状を示したがアセトン可溶性脂質は屈折率，ケン化価，ヨウ素価などからみると発眼期 (Stage 5) を境いにして若干，不飽和度の高い比較的分子量の大きな脂肪酸の存在している傾向が認められるがしかしその変化は顕著なものとは思われない。また酸価増大の結果から卵発生に伴い遊離脂肪酸が次第に多くなって行く傾向が見られ卵嚢吸収直後に至ってとくに著しくその傾向はニジマス[3] の場合と類似している。

複合脂質はその 80～90% (卵嚢吸収期で 60%) がレシチン部でありその変化が複合脂質全体の消長に影響している。レシチンは受精後，発眼期迄 (Stage 2～5) 若干の増加を見るがその後は次第に減少しアセトン可溶性脂質の消費パターンと類似している。しかしケファリン部はレシチン部の減少を見る発眼期 (Stage 5) あたりから逆に増加の傾向を示しとくに動き始めの時期 (Stage 6) 以後顕著である。

レシチンのヨウ素価 (Table 2) は動き始めの時期迄 (Stage 6) 漸増の傾向は示すが，ケファリン部の場合とは逆に体部の形成度が進むにつれて次第に低くなる傾向を示しておりふ化期 (Stage 7) を過ぎて体部の完成に近づくにつれてヨウ素価の増大を見るケファリン部の性状と異った動きが認められる。すなわち体部の形成の進行に伴ないレシチンは高度不飽和酸を構成するものが少くなり逆にケファリンは多くなるものと考えられる。またケファリン部分析の結果，体部完成に近づくにつれ N/P モル比が高くなり加水分解物のペーパークロマトグラムからもコリンが検出されたところからスフィンゴミエリンなども合成されているものと推定される。

アセトン可溶性脂質の主なる脂肪酸は Table 3 に示した様に $C_{18:1}$, $C_{16:0}$ 及び $C_{16:1}$ でありその他に $C_{14:0}$, $C_{22:1}$ 及び $C_{22:6}$ が構成分である。レシチン (Table 4) は主に $C_{16:0}$, $C_{18:1}$ であり，その他に $C_{18:0}$, $C_{16:1}$ で構成されている。アセトン可溶性脂質及びレシチンの脂肪酸では C_{16} 酸と C_{18} 酸で

Table 3. Fatty acid composition of acetone-sol. lipid

Carbon no. \ Stage no.	1	2	3	4	5	6	7-a	7-b	8	9
14	6.3	6.5	6.2	6.1	6.1	6.5	6.6	4.9	6.5	5.5
15	0.8	0.7	0.7	0.7	0.8	0.6	0.6	1.0	0.7	0.6
16	13.2	13.2	13.0	13.0	13.0	13.8	13.5	30.9	13.8	12.2
18	3.6	3.8	3.6	2.6	3.5	3.3	3.8	9.2	3.6	3.9
20	1.5	1.5	1.2	1.3	1.4	1.4	1.6	3.1	1.7	1.9
Satd.	25.4	25.7	24.7	23.7	24.8	25.6	26.1	49.1	26.3	24.1
14	0.9	1.0	0.8	0.8	0.9	0.8	0.8	tr	0.9	0.8
16	14.0	13.7	13.8	13.7	14.0	14.4	14.3	8.6	13.2	11.9
18	34.2	34.1	34.0	34.5	34.2	34.1	34.3	20.6	33.8	29.4
20	3.9	4.1	3.8	3.9	4.2	3.8	3.9	7.9	3.6	4.1
22	6.8	7.5	7.3	7.2	5.0	6.3	4.4	2.7	5.5	5.8
Mono-enoic	59.8	60.4	59.7	60.1	58.3	59.4	57.7	39.8	57.0	52.0
16	2.6	3.3	3.2	2.9	3.2	2.6	2.8	3.1	2.8	3.1
18	1.9	1.9	2.2	2.0	2.6	2.0	2.2	3.9	2.7	2.6
20	3.2	2.8	2.6	3.4	2.4	2.9	2.6	—	2.9	5.1
22	6.9	5.8	7.4	7.7	8.5	7.2	8.2	4.0	7.9	12.8
Poly-enoic	14.6	13.8	15.4	16.0	16.7	14.7	15.8	11.0	16.3	23.6
C_{16} acid	29.8	30.2	30.0	29.6	30.2	30.8	30.6	39.6	39.8	27.2
C_{18} acid	39.7	39.8	39.8	39.1	40.3	39.4	40.3	33.7	40.1	35.9
Satd.	25.4	25.7	24.7	23.7	24.8	25.6	26.1	49.1	26.3	24.1
Unsatd.	74.4	74.2	75.1	76.1	75.0	74.1	73.5	50.8	73.3	75.6

Table 4. Fatty acid composition of lecithin

Carbon no. \ Stage no.	1	2	3	4	5	6	7-a	7-b	8	9
14	5.1	5.5	4.8	5.2	5.4	4.9	4.6	4.6	3.8	4.3
15	0.7	0.7	0.7	0.7	0.8	0.5	0.6	0.9	0.8	0.7
16	30.8	31.5	31.7	33.2	31.4	31.0	31.9	38.2	35.3	40.0
18	13.2	13.0	12.4	12.6	12.5	12.0	13.7	5.0	10.0	6.4
Satd.	49.8	50.0	49.6	51.7	50.1	48.4	50.8	48.7	49.9	51.4
14	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr
16	11.4	10.2	9.7	8.3	10.0	10.2	9.7	11.0	10.7	12.4
18	28.8	28.2	28.8	26.2	26.4	26.2	25.3	26.2	26.1	25.1
20	3.0	3.4	3.1	2.9	2.8	2.8	3.0	5.8	2.5	1.7
22	1.7	1.9	1.9	2.1	3.0	2.5	2.2	—	2.4	1.3
Mono-enoic	44.9	43.7	43.5	39.5	42.2	41.7	40.2	43.0	41.7	40.5
16	2.2	2.5	2.4	2.2	1.7	2.0	2.2	2.7	2.6	2.3
18	0.7	1.0	1.0	0.7	1.0	0.8	1.0	3.3	1.7	0.9
20	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr
22	2.2	2.1	3.4	5.8	4.7	7.1	5.9	2.0	4.1	4.8
Poly-enoic	5.1	5.6	6.8	8.7	7.4	9.9	9.1	8.0	8.4	8.0
C_{16} acid	44.4	44.2	43.8	43.7	43.1	43.2	43.8	51.9	49.6	54.7
C_{18} acid	42.7	42.2	42.2	39.5	39.9	39.0	40.0	34.5	36.7	32.4
Satd.	49.8	50.0	49.6	51.7	50.1	48.4	50.8	48.7	49.9	51.4
Unsatd.	50.0	49.3	50.3	48.2	49.6	51.6	49.3	51.0	50.1	48.5

Table 5. Fatty acid content of acetone-sol. lipid (mg)

Carbon no. \ Stage no.	1	2	3	4	5	6	7-a	7-b	8	9
14	1.34	1.57	1.25	1.19	1.21	1.26	1.03	23μg	0.93	0.70
15	0.17	0.17	0.14	0.14	0.16	0.12	0.09	5	0.10	0.08
16	2.80	3.19	2.62	2.54	2.58	2.67	2.11	145	1.98	1.55
18	0.76	0.92	0.73	0.51	0.69	0.64	0.59	43	0.52	0.49
20	0.32	0.36	0.24	0.25	0.28	0.27	0.25	15	0.24	0.24
Satd.	5.39	6.21	4.98	4.63	4.92	4.96	4.08	231	3.77	3.05
14	0.19	0.24	0.16	0.16	0.18	0.15	0.12	tr	0.13	0.10
16	2.97	3.31	2.78	2.68	2.78	2.79	2.23	40	1.89	1.51
18	7.26	8.24	6.86	6.74	6.78	6.60	5.36	97	4.84	3.72
20	0.83	0.99	0.77	0.76	0.83	0.74	0.61	37	0.52	0.52
22	1.44	1.81	1.47	1.41	0.99	1.22	0.69	13	0.79	0.73
Mono-enoic	12.69	14.59	12.04	11.75	11.56	11.50	9.01	187	8.17	6.59
16	0.55	0.80	0.65	0.57	0.63	0.50	0.44	15	0.40	0.39
18	0.40	0.46	0.44	0.39	0.52	0.39	0.34	18	0.39	0.33
20	0.68	0.68	0.52	0.66	0.48	0.56	0.41	—	0.42	0.65
22	1.46	1.40	1.49	1.51	1.69	1.39	1.28	19	1.13	1.62
Poly-enoic	3.10	3.33	3.11	3.13	3.31	2.85	2.47	52	2.34	2.99
C_{16} acid	6.32	7.29	6.05	5.79	5.99	5.96	4.78	186	4.27	3.45
C_{18} acid	8.42	9.61	8.03	7.64	7.99	7.63	6.29	158	5.75	4.55
Satd.	5.39	6.21	4.98	4.63	4.92	4.96	4.08	231	3.77	3.05
Unsatd.	15.79	17.92	15.15	14.88	14.87	14.35	11.48	239	10.50	9.58

Table 6. Fatty acid content of lecithin (mg)

Carbon no. \ Stage no.	1	2	3	4	5	6	7-a	7-b	8	9
14	0.22	0.14	0.22	0.28	0.30	0.21	0.18	16μg	0.12	0.08
15	0.03	0.02	0.03	0.04	0.04	0.02	0.02	3	0.03	0.01
16	1.35	0.82	1.48	1.81	1.71	1.35	1.24	134	1.14	0.72
18	0.58	0.34	0.58	0.69	0.68	0.52	0.53	18	0.32	0.12
Satd.	2.19	1.31	2.31	2.82	2.74	2.11	1.97	170	1.62	0.93
14	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr
16	0.50	0.27	0.45	0.45	0.55	0.45	0.38	39	0.35	0.22
18	1.26	0.74	1.34	1.43	1.44	1.14	0.98	92	0.85	0.45
20	0.13	0.09	0.14	0.16	0.15	0.12	0.12	20	0.08	0.03
22	0.08	0.05	0.09	0.11	0.16	0.11	0.09	—	0.08	0.02
Mono-enoic	1.97	1.14	2.03	2.15	2.30	1.82	1.56	151	1.35	0.73
16	0.10	0.07	0.11	0.12	0.09	0.09	0.09	9	0.08	0.04
18	0.03	0.03	0.05	0.04	0.06	0.04	0.04	12	0.06	0.02
20	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr
22	0.10	0.06	0.16	0.32	0.26	0.31	0.23	7	0.13	0.09
Poly-enoic	0.22	0.15	0.32	0.47	0.40	0.43	0.35	28	0.27	0.14
C_{16} acid	1.95	1.15	2.04	2.38	2.35	1.88	1.70	182	1.61	0.99
C_{18} acid	1.88	1.10	1.97	2.15	2.18	1.70	1.55	121	1.19	0.58
Satd.	2.19	1.31	2.31	2.82	2.74	2.11	1.97	170	1.62	0.93
Unsatd.	2.20	1.29	2.34	2.63	2.71	2.25	1.91	179	1.62	0.87

それぞれ 70%, 及び 87% を占め C_{18}/C_{16} 酸比 (Fig. 5) が前者アセトン可溶性脂質の場合 1.32～1.35 と略一定であるのに対し, 後者レシチンでは原腸胚期 (Stage 3) まで 0.95～0.96, 体節形成期 (Stage 4) からふ化前 (Stage 7) までは 0.91～0.93, 卵嚢吸収直後 (Stage 9) では 0.59 となりとくにこの期のレシチン全脂肪酸中の C_{18} 酸の占める割合が小さくなっている。

不飽和酸は飽和酸との比がレシチンの場合 0.93～1.07 で殆んど変化ないがアセトン可溶性脂質の場合は飽和酸の約3倍存在し, とくに卵嚢吸収直後 (Stage 9) ではその比率がさらに若干高まっている。しかも一卵中の脂肪酸絶対量の変化を見ると Table 5, 6; Fig. 3, 4 に示した様に各脂肪酸間に特異的な消長は認められず殆んどすべてが同じ様な変化パターンを示している。すなわち発眼期から動き始めの時期 (Stage 5 から Stage 6) 以後, どの脂肪酸も平均して減少し, レシチン脂肪酸は全体から見ると量的には少ないが変化率が大きく現われている。ただ卵嚢が吸収された時期 (Stage 9, 索餌寸前) にはアセトン可溶性脂質にポリエチレン酸とくに $C_{22:6}$ が増大している結果が認められた。結局サケ卵発生過程中, 発眼期～動き始めの時期迄は顕著な脂質変化は認められず (ただし受精直後卵ではレシチンの減少とグリセライドの増大が認められレシチンについてはその後発眼期まで漸増する) それ以後の体部完成に近づく程, 脂質量は総体的に平均して減少する。その間, 脂肪酸には特異的消長を示すものはなく選択的に消費されるものは認め難い。しかし完全に卵嚢を吸収し索餌寸前の状態になった稚魚においてはアセトン可溶性脂質に高度不飽和酸 (とくに $C_{22:6}$) の増大が認められ, またレシチンでは C_{18} 酸に対し C_{18} 酸含量が低くなり, ケファリン部の合成が顕著となり, しかもスフィンゴミエリンなども合成されて来るものと考えられる。

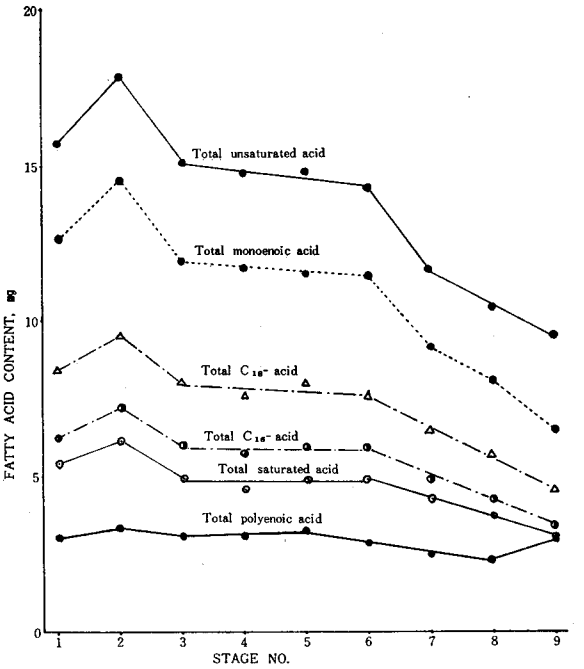


Fig. 3. Fatty acid content of acetone-sol. lipid.

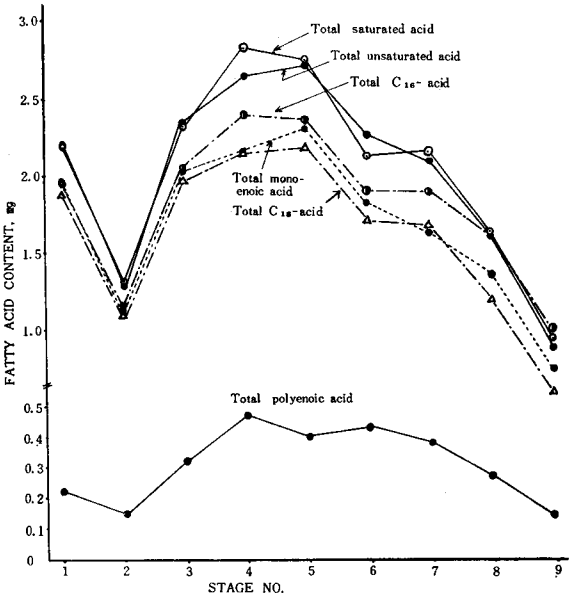
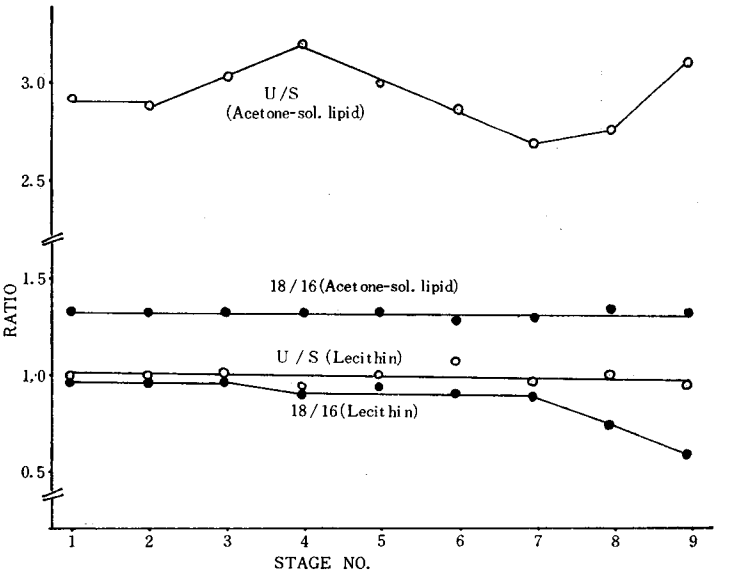


Fig. 4. Fatty acid content of lecithin



U / S : Unsaturated acid / Saturated acid
18 / 16 : Carbon number 18 acid / Carbon number 16 acid

Fig. 5. Ratio of fatty acid content

要　　約

1) サケ卵発生過程を9期に分け，脂質成分の変化を検討した。

2) 未受精卵から受精後，動き始めの時期までは卵重量に対し約 11～12% の脂質を含有する。

3) 脂質変化は主にグリセライド及びレシチンに顕著で，発眼期～動き始めの時期以後著しく減少する。

4) 消費される脂肪酸については選択的な傾向は認め難く平均してすべての脂肪酸が減少する。しかしレシチンにおいてはふ化後 C_{18} 酸の消費率がやや高くなり，アセトン可溶性脂質では卵嚢吸収後索餌寸前に至って $C_{22:6}$ を主とする高度不飽和酸がむしろ多くなっている。

5) 卵発生過程中，不ケン化物（ステロール）量には有意な変化はなく，ケファリン部が発眼期以後増大し，ヨウ素価の漸増から高度不飽和酸を構成分とするものが多くなることを認め，ふ化後，体部の完成に近づくにつれてスフィンゴミエリンなども合成蓄積されることを推察した。

試料サケ卵入手に当り御便宜を賜った，水産庁北海道さけ・ますふ化場渡島支場ならびに卵発生過程の管理に御尽力下さった本学七飯養魚場，久保達郎助教授，小坂　淳技官に厚く感謝の意を表する。

文　　献

1) Glover, M., Morton, R. A. & Rosen, D. G. (1952). *Biochem. J.* **50** 425-429.
2) 高見浩也 (1955). 北海道大学医学部提出 学位論文副論文.
3) 安藤一夫 (1962). 日水誌 **28** 73-76.
4) ——— (1962). 同誌 **28** 340-343.
5) 座間宏一・片田宗男・五十嵐久尚 (1958). 同誌 **24** 569-572.
6) ———・———・——— (1958). 同誌 **24** 739-742.
7) Fiske, C. H. & Subbarow, Y. C. (1925). *J. Biol. Chem.* **66** 375-400.
8) Beattie, F. J. R. (1936). *Biochem. J.* **30** 1554-1559.