

昭和53年度秋季
合同学術講演会
講演要旨

期 日：昭和 53 年 11 月 18 日 (土)
場 所：北大農学部農芸化学科

日本農芸化学会北海道支部

080 帯広市稲田町 帯広畜産大学農産化学科内
TEL 0155-48-5111-内線330

北海道農芸化学協会

060 札幌市北区北9条西9丁目 北海道大学農学部
農芸化学科内 TEL 011-711-2111-内線3838

〈 プ ロ グ ラ ム 〉

9:00 一般講演 (講演時間13分, 討論2分)

1. 小豆脂質と小豆澱粉の内在脂質との比較
(帯北大谷短大) 間野康男
2. うるち米の胚乳脂質に関する研究
(帯畜大農化) ○内藤雅之, 伊藤精亮, 藤野安彦
3. 米糠中のセロピオシルセラミドの存在と構造
(帯畜大農化) ○大西正男, 伊藤精亮, 藤野安彦
4. 乳酸菌の細胞表層の構造と機能に関する研究
Ⅲ. 乳酸菌中の新グリセロ糖脂質, ペンタグリコシルジグリセリドの構造
(帯畜大畜産環境) ○中野益男, 根岸 孝
5. アッケシソウ (*Salicornia europaea* L.) からのフラバノンの構造
(北大農化) ○荒川義人, 知地英征, 伊沢正夫
6. Propanil の酵素分解反応液に見出される dichloroquinaldines について
(北大農化) ○半澤 卓, 水谷純也
7. チーズの熟成に関する研究
Ⅳ. アフィニティークロマトグラフィーによるリパーゼの分離, 定量
(帯畜大酪化) ○祐川金次郎, 高橋睦子
8. チーズの熟成に関する研究
Ⅴ. アフィニティークロマトグラフィーによるペプシンの分離, 定量
(帯畜大酪化) 祐川金次郎, ○村沢久司
9. β -クロロアラニンの α , β 脱離反応と α -アミノイソ酪酸 (AIB) 分解酵素の共役的失活
(北大農化) ○佐藤総一郎, 本間 守, 下村得治
10. ミオグロビンの自動酸化速度におよぼす諸要因について
(帯畜大保蔵) ○塩見雅志, 泉本勝利, 三浦弘之
11. ある *Pseudomonas* 属の凍結処理による不活性化
(帯畜大保蔵) ○三浦弘之, 三上正幸, 佐々木修
12. 低温下における廃水処理の微生物学的研究
(第9報) *Trichoporon pullulans* について
(北大応菌, *ヤマサ醤油研) ○吉田 忠, *加藤裕久, 榆木泰彦, 高尾彰一

13:30 (日本農芸化学会北海道支部総会)

14:00 特別講演

1. グラム陽性菌のリン糖脂質の構造と機能
(帯畜大畜産環境) 中野益男
2. ブナ科植物のアミノ酸およびペプチド
(北大農化) 葛西隆則

一 般 講 演

9:00 1. 小豆脂質と小豆澱粉の内在脂質との比較

(帯広大谷短大) 間野康男

目的：前報では、小豆澱粉に内在する脂質の過半を占める糖脂質について、若干の知見を報告した。今回は、小豆そのものの脂質と、その澱粉に内在する脂質について、種々比較検討することを目的とした。

方法：小豆を200メッシュに粉碎したのち、小豆そのものと、それからドデシルベンゼンスルホン酸ナトリウム処理をして調製した小豆澱粉とから、最初にエーテル抽出、次いで水飽和ブタノール抽出により、それぞれ2つの脂質画分を得た。これらをケイ酸カラムクロマトグラフィーにより中性脂質、糖脂質、リン脂質に分別した。続いて薄層クロマトグラフィーとガスクロマトグラフィーにより、それぞれの脂質クラスと脂肪酸組成を分析した。

結果：脂質含量は、小豆そのものではエーテル抽出部が0.76%、そのあとの水飽和ブタノール抽出部が0.84%であった。一方、小豆澱粉では、前者が0.01%、後者が0.11%であった。小豆澱粉中の糖脂質は全脂質の過半を占めていたが、小豆そのものではエーテル抽出部がかなり多く、糖脂質は比較的少なかった。

9:15 2. うるち米の胚乳脂質に関する研究

(帯畜大農化) 〇内藤雅之、伊藤精亮、藤野安彦

目的：われわれは米の油脂の総合的研究を行ない、とくに玄米の糠部の脂質を系統的に追求してきた。本研究ではうるち米の胚乳脂質の組成、性状および構成脂肪酸を胚乳中の澱粉性脂質と比較検討しようとした。

方法：うるち玄米を80%にまで精米し、なお付着する胚芽部をカッターで除去して胚乳部を得た。これを粉碎し、水飽和ブタノールで全脂質を抽出した。また、胚乳部の粉砕物を超音波とドデシルベンゼンスルホン酸ナトリウムで処理して得た精製澱粉から、水飽和ブタノールで澱粉性脂質を抽出した。これらをケイ酸カラムクロマトグラフィーに供して、中性脂質、糖脂質およびリン脂質に分画した後、構成脂質の種類、性状および構成脂肪酸の組成をケイ酸薄層クロマトグラフィーおよびガスクロマトグラフィーで分析した。また主要リン脂質であるリゾレシチンを再ケイ酸カラムクロマトグラフィーとケイ酸薄層クロマトグラフィーで分離精製し、1-アシルと2-アシル異性体の分別を行った。

結果：米の胚乳脂質と澱粉性脂質の性状はある程度類

似していたが、相違も見られた。胚乳部ではトリグリセリドが比較的多く、一方、澱粉部では遊離脂肪酸、リゾレシチン、モノグリコシルモノグリセリドなどのモノアシル脂質が圧倒的に多かった。主要構成脂肪酸は、どちらもリノール酸とパルミチン酸であった。またどちらのリゾレシチンも1-アシル構造を有していた。

9:30 3. 米糠中のセロビオシルセラミドの存在と構造

(帯畜大農化) 〇大西正男、伊藤精亮、藤野安彦

目的：演者らは先に、米糠油脂中のアルカリに安定な脂質画分からステロール系の新しいオリゴ糖脂質を単離してその化学構造を報告した*。今回は引き続き、米糠からセラミド系のオリゴ糖脂質であるセラミドジヘキサソドを分離し、その構造を明らかにしようとした。

方法：米糠から常法に従って、アルカリに安定な糖脂質画分を分離調製した。次いで、クロロホルム-メタノール系による再ケイ酸カラムクロマトグラフィー、調製用ケイ酸薄層クロマトグラフィー、アセチル化などを行ない、セラミドジヘキサソドを単離した。これを赤外線吸収分析に供して純度を確めた後、構成成分の組成をガスクロマトグラフィー等で調べた。また完全メチル化物の質量スペクトル分析、無水クロム酸処理および部分メチル化糖のガスクロマトグラフィー-質量分析から、糖鎖部の結合様式を解析した。

結果：セラミドジヘキサソドの主な構成脂肪酸はオキシリグノセリン酸とオキシベヘン酸で、主要な長鎖塩基はスフィンガジエニンとオキシスフィンゲニンであった。構成糖はグルコースが大部分を占め、二糖鎖は主として β 1 \rightarrow 4結合で連結していることが示された。セロビオシルセラミドは天然に初めて見出されたものである。

*大西、伊藤、藤野：脂質生化学研究, 20, 299

(1978); M. Ohnishi and Y. Fujino: Agric. Biol. Chem.: 投稿中

9:45 4. 乳酸菌の細胞表層の構造と機能に関する研究

Ⅲ. 乳酸菌中の新グリセロ糖脂質、ペンタグリコシルジグリセリドの構造

(帯畜大畜産環境) 〇中野益男、根岸 孝

目的：先にわれわれは、乳酸菌中に分布するグリセロ糖脂質としてモノー、ジー、アシルジー、トリー、アシルトリー、テトラグリコシルジグリセリド

(MGDG, DGDG, AcDGDG, TGDG, AcTGDG,

TetraGDG)の6つを単離し、その構造を明らかにした。今回は、さらに乳酸菌の糖脂質画分中に存在する極性の高い未知の脂質を単離し、その構造を明らかにするとともに、先のグリセロ糖脂質との代謝相関についても比較考察しようとした。

方法：Bligh-Dyerの変法により全脂質を調製し、DEAE-セルロースカラムと薄層クロマトグラフィーに供してグリセロ糖脂質を単離精製した。このものの構成成分の組成とモル比はガスクロマトグラフィーで調べられた。また糖鎖部の結合様式はクロム酸酸化および完全メチル化物の質量スペクトル分析によって決定された。

結果：極性の高いグリセロ糖脂質が *L. casei* DSM 20021, IFO 3425 および *L. bulgaricus* AHU 1048 から見いだされた。この新オリゴグリコシルジグリセリドはグルコース、ガラクトース、グリセロールおよび脂肪酸のモル比が4:1:1:2からなるペンタグリコシルジグリセリドであった。その構造は、1,2-diacyl-Glc (β 1 \rightarrow 6)-Glc (β 1 \rightarrow 6)-Glc (β 1 \rightarrow 6)-Gal (α 1 \rightarrow 2)-Glc (α 1 \rightarrow 3)-sn-glycerol と同定された。

10:00 5. アッケシソウ (*Salicornia europaea* L.) からのフラバノンの構造

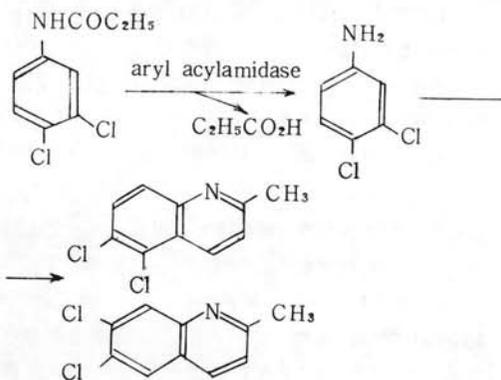
(北大農化) ○荒川義人, 知地英征, 伊沢正夫
 目的：アッケシソウの化学成分を検索中、既に報告したクロモン化合物2種、イソフラボン化合物1種の他に、今回光学活性を有するフラバノン化合物を単離できたので、機器分析及び合成により構造決定を行った。
 方法と結果：アッケシソウの赤色葉茎部のメタノール抽出液から、常法に従って得られた中性エーテル可溶画分を、ベンゼン-酢酸エチル系、次いで石油エーテル-エーテル系シリカゲルカラムクロマトグラフィーによって精製したところ、フェノール試薬陽性の白色針状晶(19.7 mg, mp. 193~195°C)が得られた。この化合物は以下の機器分析結果を示した。 $[\alpha]_D^{27}$ -82.4 ($c = 0.25$, in absolute MeOH); 高分解能MSによる分子式: $C_{16}H_{12}O_5$; IR $\nu_{max}^{KBr} cm^{-1}$: 1653 (C=O); MS m/e : 284 (M^+), 266 ($M^+ - H_2O$); UV $\lambda_{max}^{EtOH} nm$: 239, 273, 338; NMR $\delta_{TMS}^{(CD_3)_2CO} ppm$: 2.81~2.97 (2 H, m), 5.79 (1 H, dd), 6.08 (2 H, s), 6.58 (1 H, s), 6.84~7.00 (2 H, m), 7.12~7.24 (2 H, m), 7.52 (1 H, dd), 8.70 (1 H, s)。以上の結果から、この化合物の構造を(-)-2'-hydroxy-6,7-methylene-dioxyflavanone と推定し、更に確認のため合成を行っ

たところ、得られた合成物は機器分析データ等で天然物とよく一致した。なお両者のCDを測定し、天然物の2位がS配置であることを確認した。

10:15 6. Propanil の酵素分解反応液に見出される dichloroquinaldines について

(北大農化) ○半澤 卓, 水谷純也
 目的：除草剤 propanil をイネ(抵抗性)茎葉ジュース (pH 7.0, M/15リン酸緩衝液, 含0.8% ethanol, 2 mM EDTA, 10 mM 2-mercaptoethanol) 中でインキュベートすると, aryl acylamidase により, 3,4-dichloroaniline (3,4-DCA) が生成する。それと共に GC-MS により2つの dichloroquinaldines (DQ) が検出された。そこで、このDQの構造決定及び生成過程を明らかにするために本実験を行なった。

方法及び結果：GC-MS から予想された2つのDQ異性体を3,4-DCAとcrotonaldehydeから調製し、GLC及びGC-MSの比較により、茎葉ジュースから検出されたものは、5,6-DQ及び6,7-DQであると同定した。なお調製品の構造はPMRにより確認した。DQはpropanilの加水分解生成物3,4-DCAに炭素が4個導入されて非酵素的に生成した。これら炭素の由来については、基質溶解に使用したethanolによると予想されるが、DQの生成に2-mercaptoethanolは必須であった。



10:30 7. チーズの熟成に関する研究

IV. アフィニティークロマトグラフィーによるリパーゼの分離、定量

(帯畜大酪化) ○祐川金次郎, 高橋睦子
 CNBr-Sephrose 4Bにエタノールと0.1 M NaHCO₃ (0.5 M NaClを含む)の等量混合液中でn-dodecylamineをリガンドとして結合させ、Sephroseの残存活性基をエタノールアミンでマスクした

ものをカラムに充填し、pH 8.0, イオン強度 0.02, トリス緩衝液で平衡化した。

各種チーズから、0.1 M, pH 6.5 のリン酸緩衝液で抽出物を得、限外ろ過濃縮、透析後、上記カラムにセットしてアフィニティークロマトグラフィーを行なった。トリス緩衝液でリガンドに吸着されない窒素化合物を流出後、Na-deoxycholate (トリス緩衝液に溶解) 0→0.5%グラジェント法、またはアセトンと 0.1 M NaHCO₃ (0.5 M NaCl 含有) の等量混液によって吸着蛋白質を 4°C, 流速 30 ml/h で溶出した。

吸着蛋白質のディスクゲル電気泳動図では、リパーゼ以外の各種蛋白質の混在が認められた。しかし、オリーブ油を基質とした比色法による遊離脂肪酸の測定および免疫二重拡散法によって、リガンドに吸着された溶出画分にリパーゼが含まれていることを確めた。吸着蛋白質画分を緩衝液に対して透析、濃縮後、再クロマトグラフィーによって精製し、濃度既知リパーゼの Mancini 法による標準曲線から各種チーズ中のリパーゼ含量を定量した。

10:45 8. チーズの熟成に関する研究

V. アフィニティークロマトグラフィーによるペプシンの分離、定量

(帯畜大酪化) 祐川金次郎, ○村沢久司
ポリ-L-リジン を 0.1 M NaHCO₃ 溶液中で CNBr-Sephrose 4B と結合させてリガンドとしたものをカラムに充填し、pH 5.2, 0.01 M 酢酸ナトリウム緩衝液 (0.15 M NaCl 含有) で平衡化した。

ゴーダチーズ中の蛋白質分解酵素は、pH 5.2, 0.1 M 酢酸ナトリウムで抽出し、硫酸飽和で塩析したものを透析後、カラムにセットしてペプシンのアフィニティークロマトグラフィーを行なった。試料中の共存蛋白質を酢酸ナトリウム緩衝液で流出後 (ピーク 1), リガンドに吸着された蛋白質を同一緩衝液で NaCl 0.15→1.2 M グラジェント法によって、4°C, 流速 40 ml/h で溶出した (ピーク 2)。ピーク 2 におよび凝乳活性および免疫二重拡散法でペプシンの存在を確認した。この部分の Sephadex G-100 によるゲルろ過では 2 つのピークに分画されたが、免疫二重拡散法では両ピークにペプシンが認められた。市販ペプシンでも同様な結果が得られた。また、Sephadex G-100 によるゲルろ過およびアフィニティークロマトグラフィーによって、市販レンネット中にもペプシンが混在していることが確認されたので、ペプシンに対するウサギ抗血清を用いた Mancini 法によってチーズおよびレンネット中のペプシンを測定した。

11:00 9. β-クロロアラニンの α, β 脱離反応と α アミノイソ酪酸 (AIB) 分解酵素の共役的失活

(北大農化) ○佐藤総一郎, 本間 守, 下村得治

AIB 分解酵素は、脱炭酸依存性アミノ基転移反応や通常のアミノ基転移反応を触媒する。その触媒機構については、基質アナログを用いた方法や反応速度論、化学修飾法などを用いて調べられてきた。今回は基質アナログを用いたアフィニティラベリングにより、その触媒機構を調べる目的で β-クロロ-L-アラニンの影響を調べた。

β-クロロ-L-アラニンは、AIB 分解酵素の基質となりピルビン酸へ分解される。この反応はピリドキサール 5'-リン酸 (PLP) 依存性であるが、ケト酸を必須としない。また同時にピルビン酸と等モルのアンモニアや塩素イオンが生成することから、この反応は α, β 脱離反応であった。また AIB 分解酵素は同時に失活していった。α, β 脱離反応と失活反応は、直線関係にあることや失活反応も PLP 依存性であることから、失活反応は α, β 脱離反応に共役しているものと思われる。AIB 分解反応、アミノ基転移反応、α, β 脱離反応、失活反応は共に AIB 分解酵素によって触媒される反応であり、これらの反応はともにパラレルに起こることから、活性部位の同一性が考えられる。また反応速度論的研究によって β-クロロ-L-アラニンに対する K_m 値は 2.1×10^{-4} M であり、AIB や L-アラニンに比べて 1 オーダー低い値を示した。V_{max} はアミノ基転移反応とほぼ同じであった。また AIB 分解酵素 1 モルが失活する間の α, β 脱離反応のターンオーバー数は約 8,000 であった。

11:15 10. ミオグロビンの自動酸化速度におよぼす諸要因について

(帯畜大保蔵) ○塩見雅志, 泉本勝利, 三浦弘之
目的: 筋肉色素ミオグロビン (Mb) の自動酸化速度は、温度、pH によって異なることが明らかにされている。本実験では、その測定条件である還元剤の量、精製純度、Mb 濃度および初期酸素型 Mb の割合が自動酸化速度におよぼす影響について明らかにすることを目的とする。

方法: 硫酸分画およびリン酸塩分画で山羊 Mb を精製した。還元剤 Na₂S₂O₄ を用い酸素型 Mb を調製し、これのメト型 Mb に変化する自動酸化速度を 582 nm の吸光度の変化により測定した。反応は 24°C, 緩衝液 (0.4 M K₂HPO₄-0.2 M クエン酸系, pH 6.0) 中で行った。

結果: Mb の自動酸化速度は酸素型 Mb を調製する際

の還元剤の量に依存し、その最適濃度は0.2mg/mlであった。また、Mbの精製純度によっても影響され、純度が高いほど自動酸化速度は高くなった。さらにMb濃度、初期酸素型Mbの割合によって酸化速度が変化することが認められ、自動酸化速度定数の決定には、以上の諸要因を明記すべきであると考えられた。

11:30 11. ある *Pseudomonas* 属の凍結処理による不活性化

(帯畜大保蔵) ○三浦弘之, 三上正幸, 佐々木修
目的: 凍結肉があまり好まれない理由として解凍後の食肉はドリップが多い上, 商品寿命が短いことがあげられている。微生物が凍結によって損傷をうけることは知られているが, 食肉に自然汚染した微生物が凍結によってどの程度活性が損われるかについてはあまり知られていない。本研究では食肉に自然汚染した微生物群の中から低温性細菌として分離した *Pseudomonas* 属の2株と保存菌株である *Ps. fluorescens* を用い食肉に接種して凍結した時, どの程度活性が損われるかということについてしらべた。

方法: 供試株は *Ps. fluorescens* AHU 1143 の他に食肉から分離した *Pseudomonas* 属2株をペーパーディスクに浸ませ, ブロック肉に狭んで包装しドライアイス・アルコール系の冷媒(-70°C)で急速凍結した後, -27±2°Cのストッカーに2週間貯蔵した。ペーパーディスクは採り出した後肉汁培地で浸出し, 活性の程度は温度勾配培養フォトレコーダーによる生育曲線と

脱脂乳タンパクの分解力から推定した。

結果: *Pseudomonas* は, いずれも凍結処理によって lag phase の延長が認められ, 長いもので136分以上も遅延した。タンパク分解力は明確な差異がみられなかった。

11:45 12. 低温下における廃水処理の微生物学的研究 (第9報) *Trichosporon pullulans* について

(北大応菌, *ヤマサ醤油研) ○吉田 忠,

*加藤裕久, 榎木泰彦, 高尾彰一

目的: これまでに, 低温下における澱粉廃水処理には, 酵母の一種 *Trichosporon cutaneum* を中心として育成した活性汚泥が効果的であることを明らかにし, この酵母を未馴養の活性汚泥に添加利用する方法も開発して来た。今回はさらに, 北海道内の一澱粉工場廃水処理施設から分離した同属の酵母について, 低温での有効性を調べた。

方法及び結果: この酵母は LODDER (1970) の分類書に従い諸性質を調べた結果, *Trichosporon pullulans* (LINDNER) DIDDENS et LODDER と同定したが, これまで使用してきた *T. cutaneum* II-1 株よりも低温での生育がよく, 食塩耐性が強いことがわかった。また純粋培養による澱粉廃水処理能も, 10°C, 4°C のいずれにおいても II-1 株より10~20%上回る良好な除去率を示し, 従来使用の酵母よりもさらに効果的に利用しうるものと考えられた。

特別講演

4:00 1. グラム陽性菌のリン糖脂質の構造と機能

(帯畜大畜産環境) 中野益男

生体脂質のなかにリン糖脂質という一群の脂質がある。これは分子内にリンと糖を含む脂質で、グリセロ型とスフィンゴ型があり、前者は微生物界から、後者は植物界から見いだされている。

グラム陽性菌中に分布するリン糖脂質は、グリセロ糖脂質とグリセロリン酸またはホスファチジン酸を共通成分としており、構成糖および糖の結合様式の違いなどによって現在12種類のが数えられる。これらは、主として細胞膜から見いだされることから膜の構造や機能の発現に密接なつながりをもつと考えられる。一方、グラム陽性菌の細胞膜にのみ見いだされ、特異な膜を構築し、フェージ吸着や抗原抗体反応において多様な反応をするリポタイコイン酸は、グリセロ糖脂質が共通のコアとなって、これにポリオールまたは糖とリン酸が交互にリン酸ジエステル結合で長くつながった型をしている。この構造的なつながりからリン糖脂質がリポタイコイン酸生成のキャリアとして機能していることも推測される。しかし細部については未だ解明されていない。ここでは、グラム陽性菌中に分布するグリセロ糖脂質、リン糖脂質およびリポタイコイン酸の構造を解析し、それぞれの骨格成分の特色からお互いの代謝関係を推究することによってリン糖脂質の生体膜および生体における意義、役割および機能を解き明かそうとした。

15:00 2. ブナ科植物のアミノ酸およびペプチド

(北大農化) 葛西隆則

1. ブナ種子は古来食飼料として用いられているもので、多数の非タン白アミノ酸、 γ -グルタミルペプチドを含む事がLarsen 等により明らかにされている。筆者はそのアミノ酸、ペプチドパターンがブナ科植物に共通のものか、ブナ属だけのものか、或いは種レベルのものか、又種子以外の部位ではどうか、について調べ、更にその過程で赤ブナ種子より2種の新しい γ -グルタミルペプチドを単離した。
2. 天然物よりアミノ酸を単離する際、殆んどの場合強酸性及び強塩基性イオン交換樹脂による処理操作を行う。しかしその処理中に起るアミノ酸、ペプチドの変化についての組織的研究はなされていない。筆者は数種の市販 ^{14}C -アミノ酸、及び合成した ^{14}C - γ -グルタミルペプチドを用いてイオン交換樹脂処理中のそれらの挙動を追跡した。

以上2項目についてその過程と結果を報告し、尚時間的余裕があれば、その他得られたいくつかのポジティブ及びネガティブデータについても触れたい。

お 知 ら せ

合同学術講演会の前日、次の記念講演会と祝賀懇親会があります*。

日本農芸化学会北海道支部設立30周年記念講演会

日 時：昭和53年11月17日（金）13：00～17：30

場 所：北海道大学農学部4階講堂

13：10	北海道支部の歩み	北 大 農	下 村 得 治
13：50	「変歴」雑感	北 大 農	江 口 良 友
14：30	最近の土壌学の動向	専修大道短大	山 田 忍
15：20	農芸化学の歩み ー栄養・食糧の面からー	お茶大家政	藤 卷 正 生
16：00	においの化学30年の変遷	お茶大家政	山 西 貞
16：40	昆虫 chemobiodynamics の研究	京 大 農	中 島 稔

祝 賀 懇 親 会

日 時：昭和53年11月17日（金）18：30～20：30

場 所：共済サロン

（札幌市中央区北4条西1丁目共済ビル内 Tel 231 - 2111）

会 費：3,000円（学生1,500円）当日受付

*「記念特集」をご参照下さい。

北海道農芸化学協会特別会員御芳名

(ABC順)

旭 油 脂 株 式 会 社
福 山 醸 造 株 式 会 社
合 同 酒 精 株 式 会 社
北 海 道 朝 日 麦 酒 株 式 会 社
北 海 道 農 協 乳 業 株 式 会 社
北 海 道 日 産 化 学 株 式 会 社
北 海 道 理 化 器 械 株 式 会 社
北 海 道 糖 業 株 式 会 社
北 海 道 和 光 純 菓 株 式 会 社
北 海 三 共 株 式 会 社
北 開 水 工 測 量 社 (有限会社)
北 海 製 罐 株 式 会 社 罐 詰 研 究 所
ホ ク レ ン 開 発 研 究 部
池 田 町 ブ ド ウ ・ ブ ド ウ 酒 研 究 所
関 東 化 学 販 売 株 式 会 社
日 本 化 学 飼 料 株 式 会 社
~~日 本 理 化 学 器 械 株 式 会 社~~
日 本 清 酒 株 式 会 社
日 本 新 菓 株 式 会 社 札 幌 工 場
日 本 甜 菜 製 糖 株 式 会 社 技 術 部
ニ ッ カ ウ キ ス キ ー 株 式 会 社
サ ッ ポ ロ ビ ー ル 株 式 会 社 札 幌 工 場
札 幌 酒 精 工 業 株 式 会 社
サ ン ト リ ー 株 式 会 社 千 歳 工 場
宝 酒 造 株 式 会 社 札 幌 工 場
高 砂 香 料 工 業 株 式 会 社 札 幌 出 張 所
東 洋 科 学 産 業 株 式 会 社 札 幌 営 業 所
雪 印 乳 業 株 式 会 社
雪 印 食 品 株 式 会 社