

原著論文

加熱時間による手作りハンバーグ中のニコチン酸 およびニコチン酸アミド量の変量

Variation of Nicotinic Acid and Nicotinic Acid Amide Content Found in the Home-made Burgers According to Roasting Time

眞木俊夫^{***}、朝日直人^{*}、鈴木翔子^{**}、岩井秀明^{****}

Toshio Maki^{***}, Naoto Asahi^{*}, Shoko Suzuki^{**} and Hideaki Iwai^{****}

^{*}武蔵野栄養専門学校, ^{**}元東京聖栄大学, ^{***}武蔵丘短期大学

Abstract

Three kinds of burgers, using commercial beef, pork, and mixed meats, were divided into two batches. The first batch of burgers was roasted immediately in an oven at 250°C for 5, 15 and 25 minutes. The second batch of burgers was roasted after being refrigerated at 5°C overnight. Using high-performance liquid chromatography (HPLC), the influence of nicotinic acid and nicotinic acid amide content in the cooked burgers was investigated. The results showed that the nicotinic acid amide content in the burgers decreased slower in those that had been refrigerated than in those which were roasted immediately. No nicotinic acid was detected in the burgers during the cooking time either. Nicotinic acid did not form from nicotinic acid amide.

Key words : nicotinic acid, nicotinic acid amide, home-made burger, roasting time

I はじめに

ニコチン酸 (NA) およびニコチン酸アミド (NAA) は、水溶性ビタミン B 複合体で NAD および NADP などの酸化還元酵素の補酵素の構成成分でもあり栄養剤にも含有されている。しかし、NA を一度に多量摂取すると神経性中毒を呈することがある¹⁾。過去、米国においてミートボールを喫食して大規模な食中毒が発生し、原因は 225mg/100g²⁾ の NA であった。本邦でも昭和 55 年から 56 年にかけて、飲食店や家庭においてステーキ等を原因食品とした NA の過剰摂取によるもので、顔面の紅潮やかゆみなどを呈する急性中毒事件が散見された。検査結果から 200mg/100g の NA が検出され、畜肉類に発色剤の目的として過剰に添加されたものであった³⁾。このことが契機になって昭和 57 年に NA および NAA は、食肉並びに鯨肉を含む鮮魚介類への使用が禁止された⁴⁾。しかし、その後も市販挽き肉を用いた手作りハンバーグを家庭内で喫食したことによる食中毒事件が 3 件発生した³⁾。NA の食事摂取基準の耐容上限量は、成人男性で 75~85mgNE/日、成人

女性では 60~65mgNE/日⁵⁾ とされており、前述の中毒事件はそれらを大きく上回るものであった⁶⁾。

これまで NA、NAA の HPLC 分析法の検討や食肉類等の含有量実態調査の報告⁷⁻¹⁰⁾ が散見されているが、市販の食肉を加熱調理した際、バックグラウンドレベルの NA、NAA がどのような動きをするか明らかにした報告はない。そこで、本研究は市販の蓄肉類を用いて手作りハンバーグを作製し、高温加熱したときの調理中の NA、NAA の経時的変化を明らかにすることを試みた。併せて、2 成分の HPLC による定性、定量分析が可能な分析条件を検討した。

II 実験方法

(1) 試料

市販の国産牛挽き肉および豚挽き肉

(2) 試薬

ニコチン酸 (98.0%、和光純薬工業株式会社)、ニコチン酸アミド (98.0%、和光純薬工業株式会社) 各標準物質 100mg をメタノールで全量を 100mL と

して HPLC 用標準原液とした。0.1M 酢酸ナトリウム溶液と 0.1M 酢酸を 2:1 の割合で混合し、pH メーターで測定しながら pH5.0 に調製したものを酢酸緩衝液とした。NA および NAA 標準原液から同量混合し、2~20 $\mu\text{g}/\text{mL}$ になるように移動相で希釈して標準溶液を調製した。その後、ディスパーザブルメンブランフィルター DISMIC-25HP (0.45 μm 、東洋濾紙株式会社) を用いてろ過、精製した。

(3) 装置

高速液体クロマトグラフ LC-10AT 型、検出器 SPD-20Avp 型 (SHIMADZU 製)
東芝過熱水蒸気オープンレンジ ER-ND300-R
ワーリングブレンダー ULTRA TURRAX T-25 (IKA 製)

(4) HPLC の測定条件

カラム: Inertsil ODS-HG-5 (4.6 ϕ ×150mm)、移動相: 0.01M 臭化テトラ-*n*-ブチルアンモニウム含有 0.1M 酢酸ナトリウム溶液・酢酸 (pH5.0): メタノール (10:2)、測定波長: 261nm、流速: 0.6mL/min、注入量: 10 μL

(5) 手作りハンバーグの作製

牛挽き肉を 200g、玉ねぎ 120g (中 1/2 個: みじん切り)、パン粉 20g (1/2 カップ)、牛乳大さじ 2 杯と A: 卵 20g (1/2 個)、塩小さじ 1/3、こしょう少々を材料とした。ボウルに牛挽き肉、ラップなしで 600W、5 分間レンジ加熱した後、玉ねぎ、牛乳に浸したパン粉及び A の材料を入れ、粘りが出るまでよく混ぜた。豚挽き肉も牛挽き肉と同様に行った。次に合挽き肉は牛および豚各 50g を混合しハンバーグを成形、1 つは室温 (常温成形とする) のまま、他方は成形したハンバーグを 5℃の冷蔵庫に一晩保存 (冷蔵成形とする) し、その後 250℃に設定したオープンレンジでそれぞれ 5 分、15 分および 25 分間加熱し、これらを調製試料とした。

(6) HPLC 用試験溶液の調製

各試験溶液について、ワーリングブレンダーで粉砕・均一化した後、調製試料 10g を正確に量りメタノール 40mL を加え均一化抽出した。抽出液を減圧

下濾過した後、再度、残渣にメタノール 40mL を加え、均一化抽出した。抽出液を減圧下濾過して先の濾液と合わせ、メタノールで全量 100mL とした。この抽出液をメンブランフィルター-DISMIC-25HP で濾過し、この濾液に移動相で溶解したものを HPLC 用試験溶液とした。

(7) 定量

各 HPLC 用試験溶液 10 μL を HPLC に注入し、2~20 $\mu\text{g}/\text{mL}$ の範囲でピーク高法によって作成した検量線を用いて試料中の NA および NAA を定量した。HPLC による分析値は、3 回の繰り返し実験による平均値±標準偏差を乾燥重量に換算して mg/100g で示した。

(8) 水分量

試料 1.0g を 125℃に設定した常圧加熱乾燥器にて 2 時間加熱し、デシケーターで放冷後、精秤した。

III 結果

(1) HPLC カラムおよび移動相の検討

図 1 に NA および NAA 標準溶液、加熱前の生豚挽き肉の HPLC クロマトグラムを示した。NA、NAA の物性から移動相に水溶液やメタノールなどを自由に用いることができる逆相系カラムで検討した。Inertsil ODS、Inertsil ODS-HG、Inertsil ODS-HG-5 の 3 種を対象とした。移動相として、① 20mM リン酸・30%メタノール溶液、② 20mM リン酸・30%メタノール混合溶液に 1M ドデシル硫酸ナトリウム水溶液を加え 9:1 に調製した溶液、③ 0.03M リン酸緩衝液 pH7.0 のメタノール溶液に 5mM 臭化テトラ-*n*-プロピルアンモニウム水溶液を 9:1 に混和した溶液、④ 0.1M 酢酸緩衝液 pH5.0・メタノール溶液に 10mM/L 臭化テトラ-*n*-ブチルアンモニウム水溶液を加え 10:2 に混和した溶液を用いた。それぞれのカラムによる 2 成分の保持時間、挽き肉中の夾雑物質による妨害などを検証し、定性、定量分析が可能な分析条件を確立した。Inertsil ODS-HG-5 カラムに 0.1M 酢酸緩衝液 pH5.0・メタノール溶液に 10mM 臭化テトラ-*n*-ブチルアンモニウム水溶液を加え 10:2 に混和した溶液を移動相で分析したところ、NA および NAA のクロマ

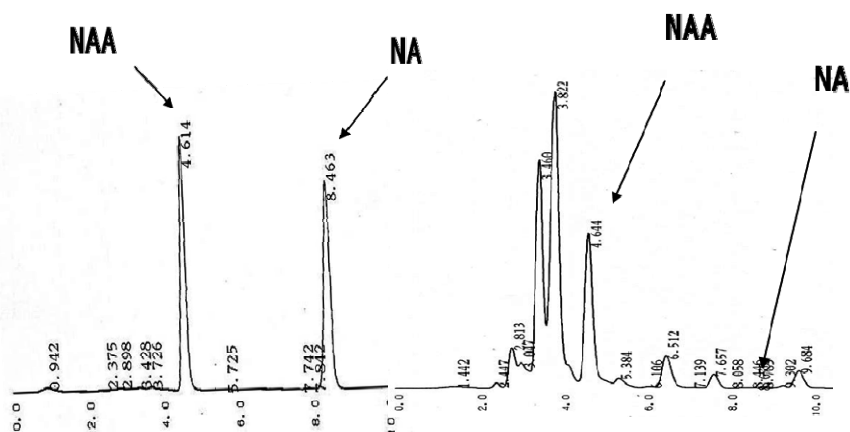


図 1 NA および NAA の HPLC クロマトグラム (Inertsil ODS-HG-5, 0.01M 臭化テトラ-*n*-ブチルアンモニウム含有 0.1M 酢酸ナトリウム溶液・酢酸 (pH5.0) : メタノール (10:2) 各 20 μ g の NA および NAA 標準溶液 (左)、加熱前の生豚挽き肉ハンバーグ抽出液 (右))

トピークは十分な保持時間が確保され、直線性のある検量線が得られた。また、挽き肉からの分析も妨害のない極めて安定した定量分析が可能であった。

(2) 常温成形挽き肉ハンバーグ中の NAA の変量

表 1 に牛、豚および合挽き肉を常温成形し、加熱時間 0 分、250℃ で 5 分、15 分および 25 分間加熱したときの NA および NAA 量を示した。NA は常温成形および冷蔵成形とも全条件において検出限界 (0.2mg/100g) 以下であった。NAA は、牛挽き肉の加熱時間 0 分が 21.2mg/100g、5 分後は 17.6mg/100g、15 分後では 13.8mg/100g、25 分後では 12.5mg/100g であった。加熱時間によって NAA 量に変動が見られたので、それぞれ t 検定を行った。加熱時間 0 分と 15 分および加熱時間 0 分と 25 分との間で有意差が認められた ($p < 0.05$)。しかし、15 分と 25 分との間では有意差は認められなかった。次に豚挽き肉の加熱時間 0 分は 51.3mg/100g、5 分後が 48.4mg/100g、15 分後は 40.7mg/100g、さらに 25 分後になると 39.1mg/100g であった。0 分と 15 分および 0 分と 25 分との間で t 検定を行ったところ、有意差が認められた ($p < 0.05$)。しかし、15 分と 25 分との間では有意差は認

められなかった。合挽き肉の加熱時間 0 分は 36.2mg/100g、5 分後では 33.5mg/100g、15 分後は 27.3mg/100g、25 分後では 26.9mg/100g を得た。加熱時間 0 分と 15 分および加熱時間 0 分と 25 分との間で t 検定を行ったところ、有意差が認められた ($p < 0.05$)。しかし、15 分と 25 分との間では有意差は認められなかった。次に、常温成形と冷蔵成形との間での NAA 量について t 検定を行った。豚挽き肉の 15 分加熱した常温成形と同時間の冷蔵成形との間でのみ有意差が認められた ($p < 0.05$)。

いずれの挽き肉ハンバーグは加熱時間により NAA 量は減少した (表 1)。そこで、各加熱時間で得られた NAA 量を加熱時間 0 分の生挽き肉中の NAA 量で割って残存率を求めた。

図 2 は牛挽き肉ハンバーグの NAA 残存率で 5 分後が 83%、15 分後になると 65%、25 分後は 59% を示した。図 3 は豚挽き肉ハンバーグで 5 分後が 94%、15 分後は 79%、25 分後には 76% を示した。図 4 は合挽き肉ハンバーグで 93%、15 分後が 75%、25 分後は 74% を示した。いずれの挽き肉ハンバーグでも加熱時間が長くなるに従い NAA の残存率は下降した。

表 1. 加熱による各挽き肉ハンバーグ中の NA および NAA 量

単位 : mg/100g n.d. : 0.2mg/100g 以下

試料	加熱時間	常温成形		冷蔵成形	
		NA	NAA±標準偏差	NA	NAA±標準偏差
牛挽き肉	0 分	n.d.	21.2±0.29 ^{A1}	n.d.	21.6±0.19 ^{a1}
豚挽き肉		n.d.	51.3±0.31 ^{B1}	n.d.	51.2±0.17 ^{b1}
合挽き肉		n.d.	36.2±0.17 ^{C1}	n.d.	36.1±0.22 ^{c1}
牛挽き肉	5 分	n.d.	17.6±1.51	n.d.	18.2±1.11
豚挽き肉		n.d.	48.4±2.09	n.d.	50.1±7.23
合挽き肉		n.d.	33.5±1.10	n.d.	33.9±1.06
牛挽き肉	15 分	n.d.	13.8±2.49 ^{A2}	n.d.	14.6±1.55 ^{a2}
豚挽き肉		n.d.	40.7±1.74 ^{B2}	n.d.	46.6±1.72 ^{b2}
合挽き肉		n.d.	27.3±1.67 ^{C2}	n.d.	30.1±1.19 ^{c2}
牛挽き肉	25 分	n.d.	12.5±2.37 ^{A3}	n.d.	13.0±1.19 ^{a3}
豚挽き肉		n.d.	39.1±2.58 ^{B3}	n.d.	43.6±1.08 ^{b3}
合挽き肉		n.d.	26.9±2.38 ^{C3}	n.d.	29.5±2.22 ^{c3}

常温成形、加熱時間 0 分 vs 加熱時間 15 分 : A1 vs A2、B1 vs B2、C1 vs C2 (P<0.05)

常温成形、加熱時間 0 分 vs 加熱時間 25 分 : A1 vs A3、B1 vs B3、C1 vs C3 (P<0.05)

冷蔵成形、加熱時間 0 分 vs 加熱時間 15 分 : a1 vs a2、b1 vs b2、c1 vs c2 (P<0.05)

冷蔵成形、加熱時間 0 分 vs 加熱時間 25 分 : a1 vs a3、b1 vs b3、c1 vs c3 (P<0.05)

加熱時間 15 分、豚挽き肉 : B2 vs b2 (P<0.05)

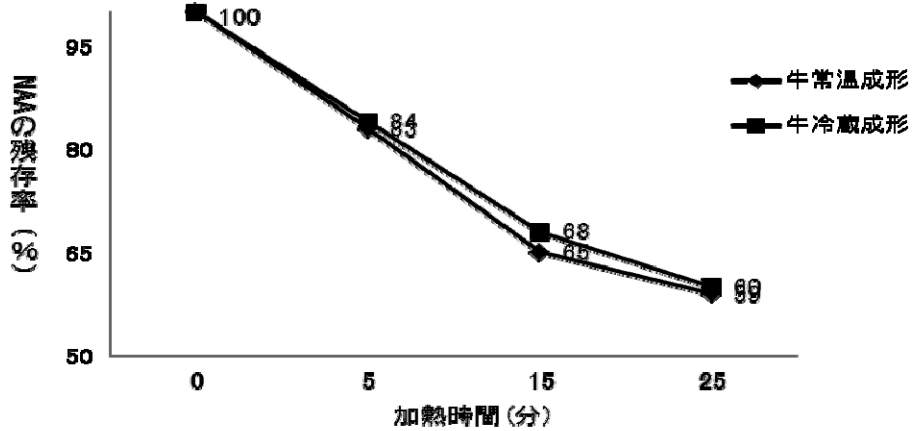


図2. 加熱時間と牛挽き肉ハンバーグ中のNAA残存率との関係

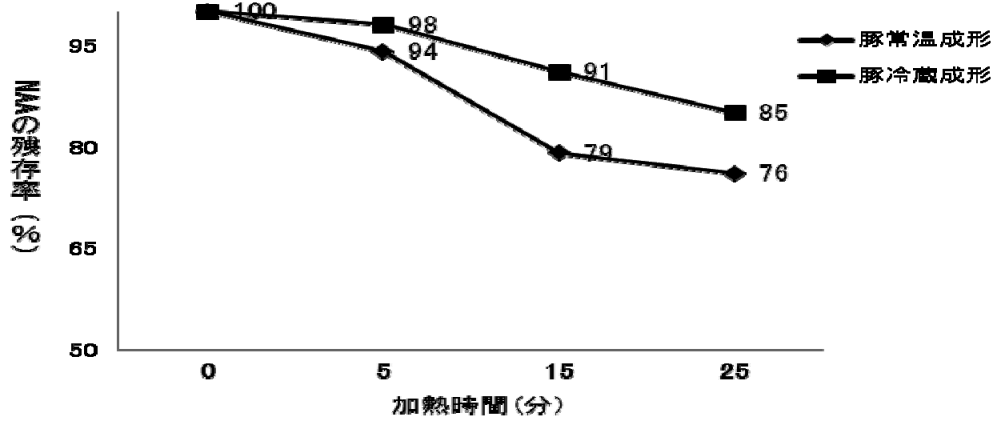


図3. 加熱時間と豚挽き肉ハンバーグ中のNAA残存率との関係

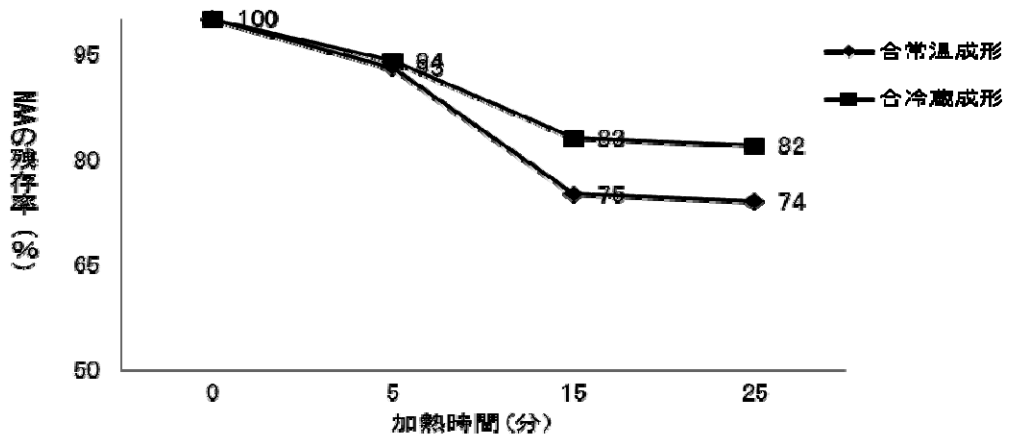


図4. 加熱時間と合挽き肉ハンバーグ中のNAA残存率との関係

(3) 冷蔵成形挽き肉ハンバーグ中の NAA の変量

表 1 に牛、豚および合挽き肉の冷温成形ハンバーグ中の NA および NAA 量を示した。牛挽き肉の加熱時間 0 分の NAA 量は 21.6mg/100g、5 分後は 18.2mg/100g、15 分後では 14.6mg/100g、25 分後は 13.0mg/100g であった。加熱時間により NAA 量に変量が見られたので t 検定を行ったところ、加熱時間 0 分と 15 分、0 分と 25 分との間で有意差が認められた ($p < 0.05$)。しかし、加熱時間 15 分と 25 分との間では有意差が認められなかった。次に、豚挽き肉の加熱時間 0 分の NAA 量は、51.2mg/100g、5 分後は 50.1mg/100g、15 分が 46.6mg/100g、25 分では 43.6mg/100g であった。t 検定の結果、加熱時間 0 分と 15 分、加熱時間 0 分と 25 分との間で有意差が認められた ($p < 0.05$)。しかし、15 分と 25 分との間では有意差は認められなかった。合挽き肉の加熱時間 0 分の NAA 量は、36.1mg/100g、5 分後では 33.9mg/100g、15 分は 30.1mg/100g、25 分後では 29.5mg/100g であった。t 検定を行い加熱時間 0 分と 15 分および 0 分と 25 分との間で有意差が認められた ($p < 0.05$)。しかし、加熱時間 15 分と 25 分との間では有意差は認められなかった。

いずれの挽き肉ハンバーグは、加熱時間により NAA 量は減少したことから、各時間で得られた NAA 量を加熱時間 0 分の生挽き肉中の NAA 量で割って残存率を求めた。図 2 は牛挽き肉の加熱時間に、図 3 は豚挽き肉の加熱時間に、図 4 は合挽き肉の加熱時間によるそれぞれの残存率を示した。牛挽き肉は 5 分後が 84%、15 分後は 68%、25 分後は 60%、豚挽き肉は 5 分後が 98%、15 分後は 91%、25 分後には 85%、合挽き肉は 5 分後が 94%、15 分後は 83%、25 分後は 82% であった。これらの結果から、いずれの挽き肉ハンバーグは、加熱時間と共に NAA の残存率は下降し、常温成形ハンバーグは冷蔵成形ハンバーグよりも残存率が低かった。

IV 考察

(1) HPLC カラムの選択

図 1 に各 20 μ g/mL の NA および NAA 標準溶液、図 2 に加熱前の豚挽き肉の HPLC クロマトグラムを示した。2 成分のクロマトグラムピークは対称形で十分な分離が得られ、挽き肉中からの NA および NAA の同時分析が可能かつ実用的な分析法であった。これまで、NA および NAA の HPLC 分析に用いられているカラムは、イオン交換系か逆相系カラムである⁷⁻¹⁰。NA、NAA の物性は水溶液中でイオン化がやや起きにくく分離が悪い。良好な分離を得るためにはイオン対試薬の添加が必要である。また、移動相に水やメタノールなどが使用できることが必須である。そこで、2 成分の標準溶液および挽き肉試料の分析が十分可能な分析条件を検討した。

今回、検討の対象とした HPLC カラムは、Inertsil ODS、Inertsil ODS-HG、Inertsil ODS-HG-5 の逆相系である。移動相は 20mM リン酸・30%メタノール混合溶液を用いた。クロマトピークは安定したが、NA および NAA の保持時間が極めて近似して分離が不可能であった。次に、この移動相にイオン対試薬の 1M・ドデシル硫酸ナトリウム水溶液 9:1 を加え、混和した移動相を用いると不安定なクロマトピークで定性分析に適していなかった。0.03M リン酸緩衝液 pH7.0 のメタノール溶液と 5mM 臭化テトラ-n-プロピルアンモニウム水溶液を 9:1 に混和した移動相では、2 成分の分離は十分であったもののショルダーピークが出現し、生挽き肉では夾雑物質のピークが標準物質と重なり定性、定量分析が困難であった。Inertsil ODS-HG-5 カラムの移動相として 0.1M 酢酸緩衝液 pH5.0 のメタノール溶液に 10mM 臭化テトラ-n-ブチルアンモニウム水溶液を加え 10:2 にした混和溶液で分析を行った。

2 成分の標準溶液やろ過操作によって取り除かれない妨害ピークの影響もなく極めて良好で安定したクロマトグラムが得られたので使用することに決定した。

(2) 3種の挽き肉による常温成形および冷蔵成形ハンバーグ

小売店で販売されている食肉類は、低温管理されたウインドケースに収められている。従って、常時、冷温になっていると考えてもさしつかえない。このような販売形態を鑑みて、常温成形のみならず冷蔵成形を加熱したときのNAおよびNAAの挙動の違いを観察した。これまでの食肉類中のNAおよびNAAのバックグランド値は既に報告^{11), 12)}されており、天然のNA含有レベルは6mg/100g程度とされている。新鮮な試料では不検出であることも少なくない¹⁰⁾。本研究を実施するにあたって、生の牛、豚および合挽き肉類中に含有するNAおよびNAAを事前に分析した。これまで報告されている濃度の範囲内のバックグランドレベルであって、NAおよびNAAが故意に添加された挽き肉ではないことを確認してから実験に供した。

表1に示したように、牛、豚および合挽き肉の常温成形、冷蔵成形ともNAは全条件において検出限界(0.2mg/100g)以下であった。加熱時間0分の生挽き肉のNAAは、常温成形および冷蔵成形とも同レベルであることより、5°Cの冷蔵庫に一晩保存した影響は全くなかった。図2、図3および図4に示したように、いずれの加熱時間においてもNAAは減少を示し、常に常温成形の方が残存率が低いことが分かった。3種の挽き肉中のNAAは、加熱前の0分と15分後あるいは加熱前の0分と25分との間で有意差が見られ、15分と25分との間では有意差が認められなかったが、このことは各挽き肉の成分濃度などの違いというよりは、熱が肉に伝わるまでに時間を要する差が原因であると考えられた。豚肉において25分加熱した残存率が冷蔵成形より常温成形の方が急峻であったことは、他の食肉に比較して、豚肉特有の成分が関与した可能性も考えたが、影響因子は不明である。即ち、250°Cのオーブンで5分間加熱すると、常温成形の表面は焼き目が付き始めたが、まだ中心は熱が十分通らず半生状態であった。一方、冷蔵成形は焼き目の程度が常温成形より少ない生状態であった。15分の加熱になると常温成形の表面は焦げが目立ち、肉汁がしたり落ちる状態になった。25分では肉汁が極端に少なくなり、中心部分はパサついた状態になった。常温成形と冷蔵成形

のNAAの残存率に差があったことは、熱伝導の違いが影響していることが推察された。合挽き肉中の残存率は、牛と豚の平均であり、熱伝導の影響も平均となった可能性もあった。しかし、その差の詳細な要因は不明である。

NAAの分解点は明確でないが200°C以上¹³⁾と思われ、250°Cの高温に晒されれば分解・減少は起きると推定されるが定かではない。このことから、NAAの減少はNAAの基本骨格であるピリジン環が250°Cの高温で開裂し、分解した可能性やNAAの酸アミド基が脱離してNAに変換することも考えられる。しかし、一般に*in vitro*では脱酸アミド化は高温条件だけでなく、酸性あるいはアルカリ性下で熱が加わるとことで加水分解反応が起きるとされている。従って、この反応をNAAに当てはめればNAの変換が予想されるが、ハンバーグ調理中には適当な酸やアルカリの存在は無く、この反応は起きなかったものと推察した。また、本研究では、結果的に加熱後にNAAが減少したもののNAが増加していないことから酸アミド基の脱離によるものではないと考えた。先に述べたように、NAは全く検出限界以下であったことから、このNAAの動態は否定された。長時間の加熱を行うと挽き肉から肉汁が徐々に滲み出てきて、この肉汁は滴り落ち始めた。NAAは、この肉汁に移行し一緒に滴り落ちながら減少し、肉汁が無くなるとNAAの移行は停止するのではないかと推察した。肉類を唐揚げにしたときのNAAは、20~40%が油の方に移行し減少するとされている¹⁴⁾。ある一定時間以上の加熱にもかかわらず、減少率が上昇し続けないのは、滴り落ちる肉汁がそれ以上存在しないことが要因である可能性が示唆され、本研究においても同様の原理で得られた結果であると考えられる。

食肉を25°Cに2日間放置すると、嫌気性菌が関与してNAAからNAにマイクロ単位で変換が起きると報告されているが¹²⁾、過去に発生した中毒事件を調査してみると、25°Cに保存されたものではなく、厳格に低温管理がなされた市販の挽き肉による中毒事件であった。本研究での250°Cの高温環境下で生存する嫌気性菌は皆無である。細菌の関与は考慮する必要がないと考えられた。従って、その調理形態から細菌類が増殖し、多量のNAが生成したとは考

えにくい。そのため、今回、100℃の沸騰湯に溶解し分析を行ったところ、NAA は分解もなく NA に変換・生成もしないことを確認した。今回のような高温条件下でのNAAの減少メカニズムは25℃で減少したメカニズムとは異なると思われた。従って、バックグランドレベルのNA、NAAの挽き肉で成形され、故意に多量のNA、NAAの混合粉末が添加されず、通常のレシピで調理する限り、250℃の高温で25分間焼いても、中毒を発症させる量のNAの生成増加は考えられない。即ち、NAAの減少は、高温によるピリジン環の開裂および脱酸アミド化による分解・減少したのではなく、肉汁への移行で減少したと結論づけた。

V 結論

市販の牛、豚および合挽き肉入り手作りハンバーグを250℃で加熱した時のNA、NAAをHPLCで測定した。25分までの加熱時間においてハンバーグ中のNAAは、加熱時間0分の生挽き肉と比較して全試料で減少した。加熱時間0分と15分および0分と25分との間でのNAA量には有意差が認められた。また、豚挽き肉を15分加熱した常温成形と冷蔵成形の残存率には有意差が認められた。NAAが減少した要因は、常温成形および冷蔵成形が高温加熱により肉汁が滲み出て、NAAはこの肉汁に移行したことであり、NAAの変換によりNAが増量することが原因ではなかった。NAAが故意に添加されない限り、食の安全上問題ないことが分かった。

【参考文献】

- 1) 鈴木裕：アルコールと神経障害、日大医誌、70(3)、150-154 (2011).
- 2) 山田明男：食品中のニコチン酸による急性中毒、生活衛生 30-2、107-109 (1986).
- 3) 全国食中毒事件録(厚生省 昭和61年発行)
- 4) 昭和57年2月27日厚生省告示環食第52号
- 5) 厚生労働省策定：日本人の食事摂取基準(2015年版)、第一出版(株)、東京、p.240 (2014)
- 6) 眞木俊夫、観公子、永山敏廣、田村行弘、二島太一郎：化学物質及び自然毒による食中毒事例(第4報)・昭和61年度・東京衛研年報 38、229-232 (1987).
- 7) 吉田宏三、山本行隆、藤原光雄：食品中のニコチン酸およびニコチン酸アミドの高速液体クロマトグラフィーによる分離分析法、食衛誌 23(6)、428-433 (1982).
- 8) Takatsuki K., Suzuki S, Sato M., Sakai K., Ushizawa I., Liquid chromatographic determination of free and added niacin and niacinamide in beef and pork J.Assoc.Off.Anal.Chem. 70、698-702 (1987).
- 9) 吉田綾子、尾花裕孝、今井田雅志：食肉中のニコチン酸及びニコチン酸アミド II 昭和59～61年度の検査結果のまとめ大阪府立公衆衛生研究所研究報告、食品衛生編5、29-32 (1987).
- 10) 角田光淳、井上典子、岩崎弘子、秋谷正人、長谷部昭久：食品中のニコチン酸及びニコチン酸アミドの迅速同時分析と貯蔵中における挙動 食衛誌 29(4)、262-266 (1988).
- 11) 北田善三、井上雅成、玉瀬喜久男、芋生真子、蓮池秋一、佐々木美智子：イオンペークロマトグラフィーによる食品中の遊離型ニコチン酸およびニコチン酸アミドの分析、栄養と食糧 35、121-124 (1982).
- 12) 大石充男、天川映子、荻原勉、田口信夫、大西和夫、西島基弘：食肉中のニコチン酸及びニコチン酸アミドの分析法及びそれらの保存中の変化 食衛誌 29(1)、32-37 (1988).
- 13) 左右田徳郎、高木誠司 監修：化合物辞典、共立出版株式会社 p.239 (1970).

- 14) 日本ビタミン学会編：ビタミンの事典、朝倉書店、東京、p.238-239 (2000).