DOI:10.12161/j.issn.1005-6521.2024.23.022

奶粉中β-烟酰胺单核苷酸及其类似物的检测

何敏恒,罗玮倩*,陈禹莹,吴滋灵,何婉莜
(广州检验检测认证集团有限公司,广东 广州 511400)

摘　要:该文建立一种高效液相色谱(high performance liquid chromatography,HPLC)法同时测定奶粉中β-烟酰胺单核糖核苷酸及其类似物的方法。样品经去离子水提取后,添加 45 mL 乙酸以沉淀蛋白质,经 C18 固相萃取柱净化后采用 Venusil HILIC 分析柱分离,β-烟酰胺单核糖核苷酸及其类似物经超纯水、乙腈和 0.1% 三氟乙酸水溶液梯度洗脱后,采用二极管阵列检测器进行检测。结果表明,该方法检测奶粉中的β-烟酰胺单核苷酸、烟酰胺腺嘌呤二核苷酸、烟酰胺鸟嘌呤二核苷酸、烟酰胺次黄嘌呤二核苷酸、黄素单核苷酸和黄素腺嘌呤二核苷酸在线性范围内的相关系数(R^2)为 0.999 1~0.999 7,方法检出限为 0.030 8~0.635 0 mg/kg,定量限为 0.102~2.120 mg/kg,回收率为 80.4%~101.7%,日内精密度相对标准偏差(relative standard deviation,RSD)(n=6)为 1.22%~8.20%。该方法操作简便、准确度高、回收率高和重现性好,适合用于奶粉中烟酰胺单核糖核苷酸及其类似物的检测。

关键词:高效液相色谱法;二极管阵列检测器;β-烟酰胺单核糖核苷酸;烟酰胺腺嘌呤二核苷酸;奶粉

Determination of β-Nicotinamide Mononucleotide and Its Analogues in Milk Powder

HE Minheng, LUO Weiqian*, CHEN Yuying, WU Ziling, HE Wanyou
(Guangzhou Inspection Testing and Certification Group Co., Ltd., Guangzhou 511400, Guangdong, China)

Abstract: A method for determining β-nicotinamide mononucleotide and its analogues in milk powder was established based on high performance liquid chromatography (HPLC). The sample was dissolved in deionized water, and 45 mL acetic acid was added for protein precipitation. The extract was then passed through a C18 solid-phase extraction cartridge. Gradient elution was carried out in the Venusil HILIC column with ultrapure water, acetonitrile, and 0.1% trifluoroacetic acid and the compounds were detected by a photo-diode array detector. The results showed that the correlation coefficients (R^2) of β-nicotinamide mononucleotide and its analogues ranged from 0.999 1 to 0.999 7 within the linear range. The method detection limits (MDLs) and method quantification limits (MQLs) were 0.030 8–0.635 0 mg/kg and 0.102–2.120 mg/kg, respectively. The recovery of the compounds varied within the range of 80.4%–101.7%, and the intra-day precision (RSD)(n=6) of the established method was within the range of 1.22%–8.20%. This method is not only simple and cost-effective but also enjoys excellent precision, recovery, and reproducibility. Therefore, it is suitable for determining β-nicotinamide mononucleotide and its analogues in milk powder.

Key words: high performance liquid chromatography (HPLC); photo-diode array detector; β-nicotinamide mononucleotide; nicotinamide adenine dinucleotide; milk powder

引文格式:
何敏恒,罗玮倩,陈禹莹,等. 奶粉中β-烟酰胺单核苷酸及其类似物的检测[J]. 食品研究与开发,2024,45(23):166-172.
HE Minheng, LUO Weiqian, CHEN Yuying, et al. Determination of β-Nicotinamide Mononucleotide and Its Analogues in Milk Powder[J]. Food Research and Development,2024,45(23):166-172.

烟酰胺单核苷酸(nicotinamide mononucleotide,NMN)是一种由烟酰胺基、核糖和磷酸基组成的天然生物活性核苷酸,具有α和β两种异构体形式,其中β-烟酰胺单核苷酸(β-nicotinamide mononucleotide,β-

基金项目:广东省市场监督管理局科技项目(2022CS03)
作者简介:何敏恒(1984—),男(汉),高级工程师,硕士研究生,研究方向:食品安全检测技术。
*通信作者:罗玮倩(1995—),女(汉),工程师,硕士研究生,研究方向:食品质量安全。

NMN)是烟酰胺腺嘌呤二核苷酸(nicotinamide adenine dinucleotide,NAD)的前体,在体内可将烟酰胺核糖(nicotinamide riboside,NR)转变为 NAD^+,与细胞和生物体的衰老过程息息相关[1]。研究表明,人体的衰老与其体内 NAD^+水平密切相关,随着年龄的增加,人体内 NAD^+水平将逐渐降低,这种 NAD^+合成与消耗平衡的打破最终将导致衰老[2-3]及相关疾病(如阿尔茨海默病[4])的产生。有研究指出,当通过某种方式(如膳食补充[5]、运动[6]等)提高体内 NAD^+含量,机体衰老过程将有所减缓,这是因为 NAD^+可通过修复 DNA 损伤、改善线粒体功能、诱导细胞自噬等方式延缓机体衰老[7],因此,NAD^+被认为是抗衰老的潜在靶标,其类似物烟酰胺鸟嘌呤二核苷酸(niacinamide guanine dinucleotide,NGD)、烟酰胺次黄嘌呤二核苷酸(nicotinamide hypoxanthine dinucleotide,NADH)、黄素单核苷酸(flavin mononucleotide,FMN)、黄素腺嘌呤二核苷酸(flavin adenine dinucleotide,FAD)具有与 NAD^+相似的性质,在抗衰老、预防老年疾病问题上具有相似的作用。

实际上,NMN 广泛存在于各种天然食品中,如西蓝花、牛油果和生牛肉等[8-9],但其含量相对较低,日常进食不足以达到延缓衰老的目的。2020 年 3 月,日本厚生劳动省批准了 NMN 在食品生产中的使用,从而掀起了“不老药”风潮。目前,市面上有含有 NMN 活性物质的食品大多以功能食品的形式出售,尽管目前有大量研究表明膳食补充 NMN 有助于提高体内 NAD^+水平,进而延缓衰老、改善神经性疾病[10],但关于 NMN 摄入的最佳剂量范围及长期服用的安全性尚未有充分的临床研究[11]。NMN 在我国并未获得药品、功能食品、食品添加剂和新食品原料许可,即 NMN 不能作为食品进行生产和经营,但对于 NAD^+类似物在食品中的添加,目前仍未见报道。因此,对于食品,尤其是宣称具有抗衰老、预防老年疾病功能食品中 NMN 及 NAD^+类似物含量的监测显得尤为重要。

目前,国内外有关的研究主要集中在 NMN 和 NAD^+的合成制备[12-13]、功效成分分析[14-15]以及医学[16-18]、食品和化妆品[19]领域方面的研究,对其检验检测分析方法的研究较少,且大多集中在果蔬[8,20-21]、茶叶[22]等天然食品中,再加上 NMN 难挥发、极性大、易溶于水但难溶于有机溶剂的特性,限制了许多常规定量方法的应用,我国至今仍未出台 NMN、NAD^+及其类似物的相关检测标准。目前 NMN 的检测方法主要有毛细管电泳法[23]、定量核磁共振法[24]、荧光酶联免疫法[25]、高效液相色谱法[26-27]和液质联用法[28-29]等,其中高效液相色谱法和液质联用法由于操作简单、普适性强,适合用于食品中 NMN、NAD^+及其类似物含量的检测。奶粉作为人们营养补充的重要来源,是潜在的 NMN 强化食品。基于此,本研究采用高效液相色谱法,对奶粉中 NMN、NAD^+及其类似物进行检测,通过优化前处理和色谱条件,建立一种可同时测定食品中 NMN、NAD^+及其类似物的高效液相色谱法,以期为营养强化奶粉产品的研发和监管提供参考。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

奶粉:市售;β-烟酰胺单核苷酸(纯度≥99.7%):上海安谱实验科技股份有限公司;烟酰胺腺嘌呤二核苷酸标准溶液(纯度≥99.0%)、烟酰胺鸟嘌呤二核苷酸标准溶液(纯度≥99.0%)、烟酰胺次黄嘌呤二核苷酸标准溶液(纯度≥95.0%)、黄素单核苷酸标准溶液(纯度≥95.0%)、黄素腺嘌呤二核苷酸标准溶液(纯度≥97.0%):美国 Sigma-Aldrich 公司;乙醇(纯度≥99.7%)、乙酸(纯度≥99.5%)、三氟乙酸(纯度≥99.0%)(均为分析纯):广州化学试剂厂;甲醇、乙腈、丙酮(均为色谱纯):德国 Merck 公司。

1.2 仪器与设备

2695/2998 液相色谱/二极管阵列检测器系统(high performance liquid chromatography-photo-diode arra,HPLC-PDA)、T3 分析柱(4.6 mm×250 mm,5 μm):美国 Waters 公司;Venusil HILIC 分析柱(4.6 mm×250 mm,5 μm):美国艾杰尔-飞诺美公司;氨基分析柱(Athena,4.6 mm×250 mm,3 μm):上海安谱实验科技股份有限公司;C18 分析柱(Syncronis,4.6 mm×250 mm,5 μm):美国赛默飞世尔科技公司;MS3 basic 涡旋混合器:德国 IKA 公司;Milli-Q 去离子水发生器:美国 Millipore 公司;C18 固相萃取柱(BOND HC-C18 SPE 小柱,500 mg,6 mL)、氨基固相萃取柱(BOND NH_2 SPE 小柱,500 mg,6 mL)、HLB 固相萃取柱(Poly-Sery HLB Pro SPE 小柱,500 mg,6 mL)、MCX 固相萃取柱(Poly-Sery MCX SPE 小柱,150 mg,6 mL):德国 CNW 公司;正压 48 孔处理装置:美国安捷伦公司;KDC-400 低速离心机:科大创新股份有限公司;有机相针式滤器(13 mm×0.22 μm):上海安谱科学仪器有限公司;XS205DU 电子天平(0.01 mg):瑞士梅特勒托利多公司。

1.3 方法

1.3.1 色谱柱的选择

为考察色谱柱对 NMN、NAD^+及其类似物分离度影响,首先用初始流动相配制出浓度为 50 mg/L 的 NMN、NAD^+及其类似物标液,然后分别选用 C18 分析柱、T3 分析柱、氨基分析柱和 Venusil HILIC 分析柱对其 NMN、NAD^+及其类似物进行分离,最终确定一条分离度最佳的色谱柱供后期试验使用。

1.3.2 提取溶剂的选择

为考察提取溶剂的种类及比例对 NMN、NAD^+及其类似物的影响,采用阴性样品加标回收的方式,探究添加量为 10 μg/kg 条件下,去离子水、10% 乙腈溶液、50% 乙腈溶液、10% 乙醇溶液、50% 乙醇溶液、10% 甲

醇溶液和 50% 甲醇溶液对奶粉中 NMN、NAD+及其类似物提取效果的影响。

1.3.3　乙酸添加量的确定

为考察乙酸添加量对 NMN、NAD+及其类似物的影响，本试验采用阴性样品加标回收的方式，探究添加量为 10 μg/kg 条件下，在提取液中加入 15、30、45、60、75 μL 乙酸对 NMN、NAD+及其类似物回收率的影响。

1.3.4　净化方式的选择

奶粉是复杂的食品体系，除蛋白质、多糖等高分子物质外，还含有大量易溶于水、可能对试验结果产生干扰的杂质，为进一步提高奶粉中 NMN、NAD+及其类似物的测定准确性，需对样品进行进一步净化。考察 C18、氨基、HLB 和 MCX 4 种固相萃取柱对 NMN、NAD+及其类似物加标回收率的影响。

1.3.5　线性关系及检出限的确定

在最优条件下，对质量浓度分别为 5.00、10.0、15.0、20.0、25.0、30.0 mg/L 的 NMN、NAD+及其类似物混合标准溶液进行分析，以 NMN、NAD+及其类似物混合标准溶液的质量浓度 X(mg/L)对峰面积 Y 建立标准工作曲线。

1.3.6　方法日内精密度的测定

为了验证方法的准确性，对空白样品（奶粉）进行 50、100、300 mg/kg 三水平的加标回收试验（n=6），考察方法日内精密度。

1.3.7　样品前处理

称取奶粉样品 0.5 g（精确到 0.01 mg）至 10 mL 玻璃比色管，加入 2.50 mL 去离子水和 45 μL 乙酸，涡旋混匀后用去离子水定容至 5 mL，涡旋 1 min 以充分提取，于 1 200 r/min 下离心 2 min。C18 固相萃取柱经活化（分别用 6 mL 甲醇和 6 mL 水进行活化）后，取上清液至 C18 固相萃取柱，收集洗脱液，过 0.22 μm 滤膜后用于高效液相色谱分析。

1.3.8　仪器条件

Venusil HILIC 分析柱；流速为 1 mL/min，自动进样量为 10 μL，柱温 25 ℃，二极管阵列检测器，检测波长为 254 nm，梯度洗脱条件见表 1。

表 1　梯度洗脱条件

Table 1　Gradient elution procedure

时间/min	超纯水/%	乙腈/%	0.1% 三氟乙酸水溶液/%
0.00	18	57	25
2.00	18	57	25
5.00	15	50	35
28.00	5	25	70
28.10	18	57	25
40.00	18	57	25

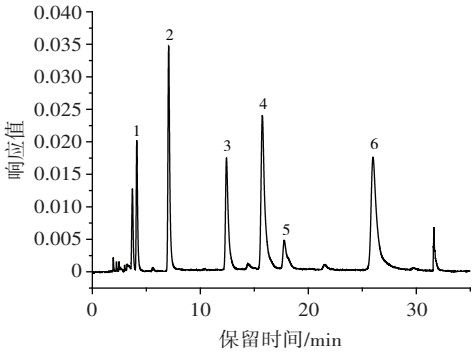
1.4　数据处理

使用 Origin Pro 2017 进行数据处理。

2　结果与分析

2.1　色谱柱的选择

在液相色谱中，一般选用 C18 分析柱、T3 分析柱、氨基分析柱和 Venusil HILIC 分析柱等对目标物进行分离。尽管 C18 分析柱对于极性和弱极性化合物适用性较高，在反相条件下适合大多数物质，但对于低 pH 值、高水相比例的流动相耐受性较弱。T3 分析柱和氨基分析柱也是常见的液相色谱分析柱，尽管其与 C18 分析柱相比具有更强的低 pH 值及高水相耐受性，但在高水相条件下，其重现性和使用寿命不如 Venusil HILIC 分析柱。Venusil HILIC 分析柱是一种键合中性酰胺基团的色谱柱，可保留或分离强极性、水溶性有机化合物，考虑到 NMN、NAD+及其类似物具有极性大、易溶于水但难溶于有机溶剂的特性，且前处理过程中需要加乙酸以沉淀蛋白质，故本试验采用 Venusil HILIC 分析柱对 NMN、NAD+及其类似物进行分离，其标准溶液色谱图如图 1 所示。



1. NMN；2. NAD+；3. NGD+；4. FMN；5. NADH；6. FAD。

图 1　NMN、NAD+及其类似物标准品色谱图

Fig.1　Chromatograms of NMN, NAD+, and analogue standards

2.2　提取溶剂的选择

提取溶剂对 NMN、NAD+及其类似物回收率的影响如图 2 所示。

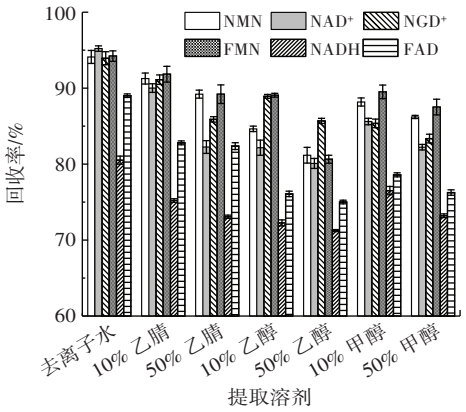


图 2　提取溶剂对 NMN、NAD+及其类似物回收率的影响

Fig.2　Effects of different extracts on the recovery of NMN, NAD+, and analogues

由图 2 可知，当提取溶剂中混入有机试剂时，NMN、NAD+及其类似物的回收率均低于采用去离子水提取的回收率，这可能是因为 NMN、NAD+及其类似物亲水性强、易溶于水但不溶于有机溶剂，尽管乙腈的存在可能有利于奶粉中蛋白质、多糖等大分子物质的沉淀，但同时也降低了 NMN、NAD+及其类似物在提取溶剂中的溶解度。因此，本研究最终选择去离子水作为提取溶剂。

2.3 乙酸添加量的确定

在样品含量为 0.5 g、最终定容体积为 5 mL 条件下，乙酸添加量对蛋白质、多糖等杂质沉淀效果的影响结果如图 3 所示。

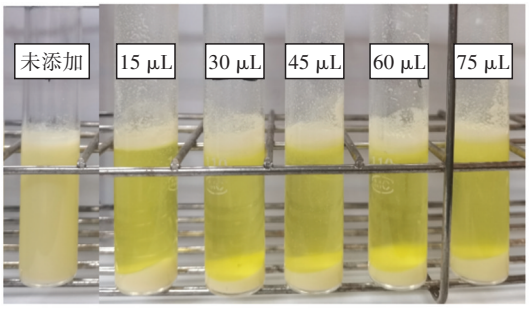


图 3 不同乙酸添加量体系的外观图

Fig.3 Appearance of the systems supplemented with different amounts of acetic acid

由图 3 可知，当体系中未添加乙酸时，体系外观呈均一的乳浊液状态，而当体系中分别添加 15、30、45、60、75 μL 乙酸时，体系内的蛋白质、多糖等杂质迅速沉淀，经离心后可获得澄清透明的提取液，这可能是因为酸的添加降低了体系的 pH 值，使蛋白质分子间的净电荷趋于零而发生沉淀，但从体系的外观上看，当乙酸添加量为 15~75 μL 时，不同乙酸添加量对蛋白质的沉淀效果无明显差异。

为进一步考察乙酸添加量对 NMN、NAD+及其类似物的影响，采用阴性样品加标回收的方式，探究在添加量为 10 μg/kg 条件下，乙酸添加量对 NMN、NAD+及其类似物回收率的影响，结果如图 4 所示。

由图 4 可知，随着乙酸添加量的增加，NMN、NAD+及其类似物的回收率总体呈先上升后下降的趋势，当乙酸添加量为 45 μL 时，NMN、NAD+及其类似物的加标回收率相对较高，这可能是因为当乙酸添加量为 45 μL 时最接近蛋白质的等电点，沉降效果最好，故确定乙酸添加量为 45 μL。

2.4 净化方式的选择

不同固相萃取柱对 NMN、NAD+及其类似物回收率的影响结果如图 5 所示。

由图 5 可知，采用氨基、HLB 和 MCX 3 种固相萃取柱对样品进行净化时，NMN、NAD+及其类似物的回

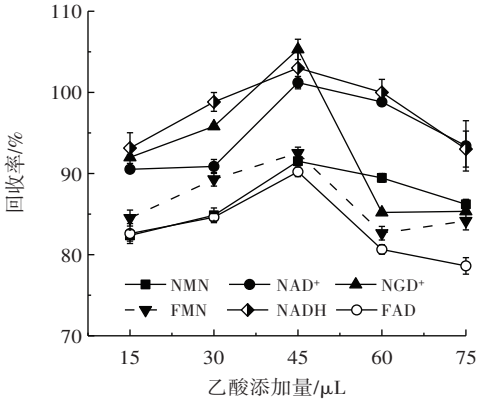


图 4 乙酸添加量对 NMN、NAD+及其类似物回收率的影响

Fig.4 Effects of different volumes of acetic acid on the recovery of NMN, NAD+, and analogues

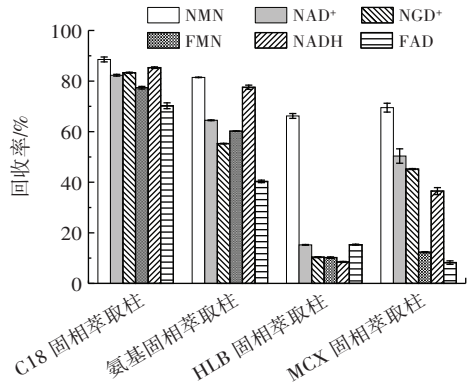


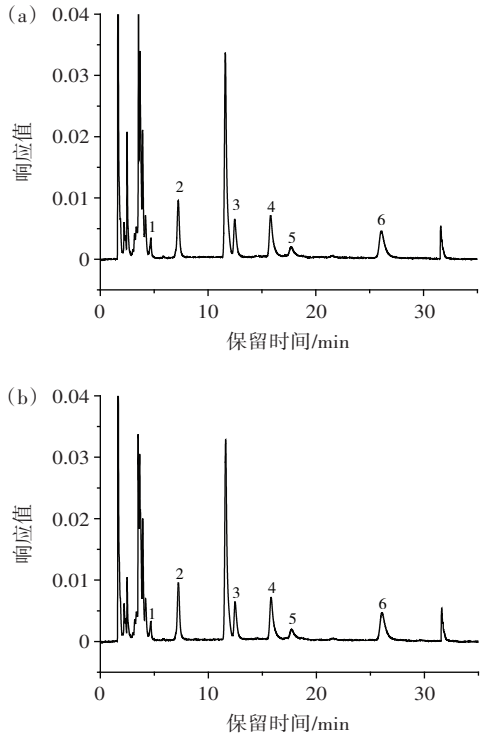
图 5 不同固相萃取柱对 NMN、NAD+及其类似物回收率的影响

Fig.5 Effects of different solid-phase extraction cartridges on the recovery of NMN, NAD+, and analogues

收率均低于 C18 固相萃取柱，这可能是因为氨基固相萃取柱和 MCX 固相萃取柱分别属于弱阴离子和强阳离子交换柱，在去除奶粉杂质的同时，可能对 NMN、NAD+及其类似物也有一定的吸附，因此回收率较低。而 HLB 固相萃取柱是一种亲水—亲脂平衡反相吸附柱，可吸附样品中的极性物质从而达到除去奶粉中极性物质的效果，但由于 NMN、NAD+及其类似物也具有较强的极性，因此在净化时可能与极性杂质一同被吸附而导致回收率较低。C18 固相萃取柱的填料是一种十八烷基硅烷化键合的不规则硅胶颗粒，主要吸附体系中的疏水性化合物，如奶粉中的脂类杂质，而 NMN、NAD+及其类似物属于亲水性化合物，在 C18 固相萃取柱上几乎不被吸附，因此，在实现除杂的同时也能实现较高的回收率。

未经 C18 固相萃取柱净化与经 C18 固相萃取柱净化的色谱图见图 6。

由图 6 可知，净化后的样品在出峰时间为 4~5 min 的杂质较未经 C18 固相萃取柱净化的样品有明显减少，说明 C18 固相萃取柱除杂效果良好。综合考虑，本试验采用 C18 固相萃取柱对奶粉样品进行净化。



(a)未经 C18 固相萃取柱处理;(b)经 C18 固相萃取柱处理。
1. NMN;2. NAD⁺;3. NGD⁺;4. FMN;5. NADH;6. FAD。

图 6 奶粉经 C18 固相萃取柱处理与未经 C18 固相萃取柱处理的 NMN、NAD⁺及其类似物色谱图

Fig.6 Chromatograms of NMN, NAD⁺, and analogues in milk powder before and after purification by C18 cartridges

2.5 线性关系及检出限

线性方程、相关系数、方法检出限(method detection limits,MDLs)(S/N=3)及定量限(method quantification limits,MQLs)(S/N=10)如表 2 所示。

由表 2 可知,相关系数为 0.999 1~0.999 7,线性关系良好。方法检出限为 0.030 8~0.635 0 mg/kg,定量限为 0.102~2.120 mg/kg。

2.6 方法日内精密度

方法日内精密度回收率及相对标准偏差(relative standard deviation,RSD)结果见表 3。

表 2 NMN、NAD⁺及其类似物线性方程、相关系数、检出限和定量限

Table 2 Linear equations, correlation coefficients (R^2), MDLs, and LOQs of NMN, NAD⁺, and analogues

组分	线性范围/(mg/L)	线性方程	相关系数(R^2)	方法检出限/(mg/kg)	方法定量限/(mg/kg)
NMN	5~30	Y=116.30X−95.00	0.999 6	0.380 0	1.270
NAD⁺	5~30	Y=71.52X−68.29	0.999 7	0.198 0	0.660
NGD⁺	5~30	Y=57.87X−117.30	0.999 1	0.391 0	1.300
FMN	5~30	Y=98.82X−47.40	0.999 3	0.030 8	0.102
NADH	5~30	Y=71.30X+61.11	0.999 1	0.635 0	2.120
FAD	5~30	Y=108.65X−27.12	0.999 6	0.157 0	0.525

表 3 方法日内精密度

Table 3 Intra-day precision

化合物	50 mg/kg		100 mg/kg		300 mg/kg	
	回收率/%	RSD/%	回收率/%	RSD/%	回收率/%	RSD/%
NMN	98.4	3.11	101.7	1.51	101.2	1.32
NAD⁺	90.2	7.14	94.6	1.22	97.1	1.70
NGD⁺	81.2	7.53	83.9	3.99	88.9	3.89
FMN	80.4	6.38	84.6	4.69	95.3	3.22
NADH	80.9	5.13	83.1	4.44	90.8	2.60
FAD	88.7	8.20	84.5	3.21	93.9	3.38

由表 3 可知,NMN、NAD⁺及其类似物的平均回收率为 80.4%~101.7%,日内精密度 RSD 为 1.22%~8.20%,由此看出,本检测方法准确性较高、精密度良好,可用于奶粉中 NMN、NAD⁺及其类似物的快速检测。

2.7 实际样品的测定结果分析

采用本方法对市售 7 种不同种类的奶粉进行检测分析,在所检测的普通纯牛奶粉、婴儿配方奶粉、较大婴儿配方奶粉、幼儿配方奶粉、儿童奶粉、孕妇奶粉和中老年配方奶粉中,均未检测出 NMN、NAD⁺及其类似物,对其进行加标检测,加标量为 100 mg/kg,其回收率见表 4。

表 4 不同奶粉中 NMN、NAD⁺及其类似物的回收率

Table 4 Recovery of NMN, NAD⁺, and analogues in different milk powder products

化合物	添加水平/(mg/kg)	回收率/%						
		普通纯牛奶粉	婴儿配方奶粉	较大婴儿配方奶粉	幼儿配方奶粉	儿童奶粉	孕妇奶粉	中老年配方奶粉
NMN	100	87.2	97.8	91.4	95.4	84.8	87.4	91.9
NAD⁺	100	87.3	102.0	105.0	90.5	97.6	89.5	82.7
NGD⁺	100	90.2	99.3	94.1	101.0	97.9	84.5	81.3
FMN	100	81.4	84.1	89.6	85.4	81.2	81.1	95.5
NADH	100	85.6	80.9	82.0	81.1	81.8	82.7	86.9
FAD	100	83.3	85.0	83.5	81.4	87.6	80.7	80.1

由表4可知，在加标量为100 mg/kg的条件下，普通纯牛奶粉、婴儿配方奶粉、较大婴儿配方奶粉、幼儿配方奶粉、儿童奶粉、孕妇奶粉和中老年配方奶粉中NMN、NAD^+及其类似物的回收率分别为81.4%~90.2%、80.9%~102.0%、82.0%~105.0%、81.1%~101.0%、81.2%~97.9%、80.7%~89.5%和80.1%~95.5%，说明本方法适用于检测市售奶粉中NMN、NAD^+及其类似物。

3 结论

本文建立了一种快速测定奶粉中NMN、NAD^+及其类似物含量的高效液相色谱分析法，试样经去离子水提取后，添加45 mL乙酸以沉淀蛋白质，经C18固相萃取柱除去样品中的脂肪杂质后，采用Venusil HILIC分析柱对6种目标物进行分离，二极管阵列检测器进行检测。该检测方法检出限和定量限较低，其线性范围、精密度和回收率能满足日常检测所需。同时，对市面上不同类型的奶粉进行加标检测，结果表明，所选奶粉中均未检出NMN、NAD^+及其类似物，在加标量为100 mg/kg的条件下，回收率为80.1%~105.0%，说明本检测方法准确性高，适合大规模测定奶粉中NMN、NAD^+及其类似物的含量，可为营养强化奶粉产品的研发和监管提供参考。

参考文献：

[1] XIE N, ZHANG L, GAO W, et al. NAD^+ metabolism: Pathophysiologic mechanisms and therapeutic potential[J]. Signal Transduction and Targeted Therapy, 2020, 5(1): 227.

[2] LIN J M, PAN Y C, WANG J Y. NAD^+ and its precursors in human longevity[J]. Quantitative Biology, 2015, 3(4): 193-198.

[3] IRIE J, ITOH H. Aging and homeostasis. Age-associated diseases and clinical application of NMN(Nicotinamide Mononucleotide)[J]. Clinical Calcium, 2017, 27(7): 983-990.

[4] PARK J H, LONG A, OWENS K, et al. Nicotinamide mononucleotide inhibits post-ischemic NAD(+) degradation and dramatically ameliorates brain damage following global cerebral ischemia[J]. Neurobiology of Disease, 2016, 95: 102-110.

[5] WANG L F, CAO Q, WEN K, et al. CD38 deficiency alleviates D-galactose-induced myocardial cell senescence through NAD^+/Sirt1 signaling pathway[J]. Frontiers in Physiology, 2019, 10: 1125.

[6] UDDIN G M, YOUNGSON N A, SINCLAIR D A, et al. Head to head comparison of short-term treatment with the NAD(+) precursor nicotinamide mononucleotide (NMN) and 6 weeks of exercise in obese female mice[J]. Frontiers in Pharmacology, 2016, 7: 258.

[7] 蒋智, 田子林, 胡帅, 等. NAD^+代谢与衰老及其运动适应研究进展[J]. 体育科研, 2021, 42(5): 12-19.
JIANG Zhi, TIAN Zilin, HU Shuai, et al. NAD^+ metabolism and aging and its adaptation to exercise[J]. Sport Science Research, 2021, 42(5): 12-19.

[8] MILLS K F, YOSHIDA S, STEIN L R, et al. Long-term administration of nicotinamide mononucleotide mitigates age-associated physiological decline in mice[J]. Cell Metabolism, 2016, 24(6): 795-806.

[9] HUANG N, SORCI L, ZHANG X J, et al. Bifunctional NMN adenyltransferase/ADP-ribose pyrophosphatase: Structure and function in bacterial NAD metabolism[J]. Structure, 2008, 16(2): 196-209.

[10] RAJMAN L, CHWALEK K, SINCLAIR D A. Therapeutic potential of NAD-boosting molecules: The *in vivo* evidence[J]. Cell Metabolism, 2018, 27(3): 529-547.

[11] 高煦丹, 王晨, 程永强. 烟酰胺单核苷酸功能研究进展[J]. 食品科技, 2023, 48(4): 252-257.
GAO Xudan, WANG Chen, CHENG Yongqiang. Research progress on the function of β-nicotinamide mononucleotide[J]. Food Science and Technology, 2023, 48(4): 252-257.

[12] 安俊侠, 王倩倩, 王昭颖, 等. 代谢工程改造大肠杆菌发酵生产β-烟酰胺单核苷酸[J]. 食品科学, 2023, 44(22): 158-164.
AN Junxia, WANG Qianqian, WANG Zhaoying, et al. Metabolic engineering of *Escherichia coli* for the production of β-nicotinamide mononucleotide[J]. Food Science, 2023, 44(22): 158-164.

[13] 陈宇娴, 周楚然, 黄建忠, 等. β-烟酰胺单核苷酸的生理活性与合成研究进展[J]. 生物工程学报, 2023, 39(2): 516-536.
CHEN Yuxian, ZHOU Churan, HUANG Jianzhong, et al. Advances in physiological activities and synthesis of β-nicotinamide mononucleotide[J]. Chinese Journal of Biotechnology, 2023, 39(2): 516-536.

[14] 张颖, 蒋雨馨, 朱逸浩, 等. β-烟酰胺单核苷酸合成技术研究进展[J]. 食品科技, 2020, 45(10): 236-240.
ZHANG Ying, JIANG Yuxin, ZHU Yihao, et al. Advance in synthesis of β-nicotinamide mononucleotide[J]. Food Science and Technology, 2020, 45(10): 236-240.

[15] 何盛梅, 赵厚育. NAD^+代谢在细胞功能及相关疾病中作用的研究进展[J]. 基础医学与临床, 2022, 42(2): 306-310.
HE Shengmei, ZHAO Houyu. Research progress on the role of NAD^+ metabolism in cell function and related-diseases[J]. Basic and Clinical Medicine, 2022, 42(2): 306-310.

[16] 孙先枝, 刘小杰, 张芬, 等. 烟酰胺单核苷酸的生理功能及其在药品和食品中的应用[J]. 中国食品添加剂, 2022, 33(11): 246-251.
SUN Xianzhi, LIU Xiaojie, ZHANG Fen, et al. Nicotinamide mononucleotides physiological functions and its applications in medicine and food industry[J]. China Food Additives, 2022, 33(11): 246-251.

[17] 陈韬, 曹卉, 董丽, 等. β-烟酰胺单核苷酸对生理机能影响的研究进展[J]. 食品科学, 2023, 44(9): 382-391.
CHEN Tao, CAO Hui, DONG Li, et al. Advance in understanding the effect of β-nicotinamide mononucleotide on physiological functions[J]. Food Science, 2023, 44(9): 382-391.

[18] 汤瑾如, 伍枫, 刘慧晴, 等. 酰胺单核苷酸在多囊卵巢综合征中的作用研究进展[J]. 中南医学科学杂志, 2023, 51(1): 150-153.
TANG Jinru, WU Feng, LIU Huiqing, et al. Research progress of nicotinamide mononucleotide in polycystic ovary syndrome[J]. Medical Science Journal of Central South China, 2023, 51(1): 150-153.

[19] 刘露, 白利强, 李炀. 烟酰胺单核苷酸在化妆品中的应用研究进展[J]. 日用化学品科学, 2023, 46(4): 40-45.
LIU Lu, BAI Liqiang, LI Yang. Research progress in the application of nicotinamide mononucleotide in cosmetics[J]. Detergent & Cosmetics, 2023, 46(4): 40-45.

[20] 李东芹. 液质联用法测定蔬菜和水果中的烟酰胺单核苷酸[J]. 实验技术与管理, 2019, 36(9): 57-59, 72.
LI Dongqin. Determination of nicotinamide mononucleotides in vegetables and fruits by liquid chromatography-mass spectrometry[J]. Experimental Technology and Management, 2019, 36(9): 57-59, 72.

[21] 刘小芳, 蒋永毅, 王超, 等. 高效液相色谱-串联质谱法测定食品

原料中烟酰胺单核苷酸的含量[J]. 食品科技, 2021, 46(8): 251-256, 262.
LIU Xiaofang, JIANG Yongyi, WANG Chao, et al. Determination of nicotinamide mononucleotide in the natural food materials by high performance liquid chromatography - mass spectrometry[J]. Food Science and Technology, 2021, 46(8): 251-256, 262.

[22] 邱世婷, 侯雪, 雷绍荣, 等 . 超高效液相色谱-串联质谱法同时测定茶叶中烟酰胺腺嘌呤二核苷酸及其 4 种前体化合物含量[J]. 茶叶科学, 2023, 43(2): 216-226.
QIU Shiting, HOU Xue, LEI Shaorong, et al. Simultaneous determination of nicotinamide adenine dinucleotide and its four precursors in tea by ultra - high performance liquid chromatography - tandem mass spectrometry[J]. Journal of Tea Science, 2023, 43(2): 216 - 226.

[23] LONG A N, OWENS K, SCHLAPPAL A E, et al. Effect of nicotinamide mononucleotide on brain mitochondrial respiratory deficits in an Alzheimer′s disease - relevant murine model[J]. BMC Neurology, 2015, 15: 19.

[24] 孟辰笑凝, 郭中原, 李春, 等 . 定量核磁共振法测定 β-烟酰胺单核苷酸的含量[J]. 中国药学杂志, 2021, 56(2): 135-139.
MENG Chenxiaoning, GUO Zhongyuan, LI Chun, et al. Determination of nicotinamide mononucleotide by quantitative nuclear magnetic resonance method[J]. Chinese Pharmaceutical Journal, 2021, 56(2): 135-139.

[25] UMMARINO S, MOZZON M, ZAMPORLINI F, et al. Simultaneous quantitation of nicotinamide riboside, nicotinamide mononucleotide and nicotinamide adenine dinucleotide in milk by a novel enzyme-coupled assay[J]. Food Chemistry, 2017, 221: 161-168.

[26] 冯雪萍, 朱银宏, 程倩, 等 . 高效液相色谱法测定保健食品中 β-烟酰胺单核苷酸[J]. 中国食品添加剂, 2021, 32(11): 153-157.
FENG Xueping, ZHU Yinhong, CHENG Qian, et al. Determination of β - nicotinamide mononucleotide in dietary supplements by high performance liquid chromatography[J]. China Food Additives, 2021, 32(11): 153-157.

[27] 张文宇, 兰韬, 赵溪, 等 . β-烟酰胺单核苷酸跨境产品中 NMN 含量的测定[J]. 食品工业科技, 2022, 43(10): 1-7.
ZHANG Wenyu, LAN Tao, ZHAO Xi, et al. Determination of β - nicotinamide mononucleotide (NMN) in NMN cross border products[J]. Science and Technology of Food Industry, 2022, 43(10): 1-7.

[28] BRAIDY N, VILLALVA M D, GRANT R. NADomics: Measuring NAD^+ and related metabolites using liquid chromatography mass spectrometry[J]. Life, 2021, 11(6): 512.

[29] 张萌 . 分子印迹固相萃取结合 UHPLC-MS 测定复杂样品中烟酰胺单核苷酸的方法研究[D]. 汉中: 陕西理工大学, 2022.
ZHANG Meng. Research on the determination of nicotinamide mononucleotide in complex samples by molecularly imprinted solid phase extraction combined with UHPLC-MS[D]. Hanzhong: Shaanxi University of Technology, 2022.

加工编辑:张昱
收稿日期:2023-08-30