

DOI: 10.19812/j.cnki.jfsq11-5956/ts.20241016004

引用格式: 解楠, 郑国建. 高效液相色谱法测定保健食品中的烟酰胺单核苷酸和烟酰胺腺嘌呤双核苷酸含量[J]. 食品安全质量检测学报, 2025, 16(2): 224–230.

XIE N, ZHENG GJ. Determination of nicotinamide mononucleotide and nicotinamide adenine dinucleotide in health food by high performance liquid chromatography [J]. Journal of Food Safety & Quality, 2025, 16(2): 224–230. (in Chinese with English abstract).

高效液相色谱法测定保健食品中的烟酰胺单核苷酸和烟酰胺腺嘌呤双核苷酸含量

解楠, 郑国建*

(上海市质量监督检验技术研究院, 上海 200233)

摘要: **目的** 建立高效液相色谱法精确定量保健食品中烟酰胺单核苷酸(nicotinamide mononucleotide, NMN)与烟酰胺腺嘌呤双核苷酸(nicotinamide adenine dinucleotide, NAD⁺)的含量的分析方法。**方法** 采用 Waters BEH-Amide 色谱柱, 0.1%磷酸溶液和乙腈为流动相, 进行梯度洗脱, 流速设定为 1.0 mL/min, 进样量为 2 μ L, 柱温箱温度设置为 35 $^{\circ}$ C, 选择 263 nm 作为检测波长。保健食品用 60%甲醇溶液超声提取 10 min, 将提取液通过微孔滤膜过滤后进行高效液相色谱法测定, 外标法定量。**结果** 在质量浓度 10~1000 μ g/mL 的范围内, NMN 和 NAD⁺均展现出优异的线性关系, 其线性相关系数(r)均不低于 0.999, 该方法的定量限为 0.50 g/kg, NMN 和 NAD⁺的回收率在 95.9%~98.8%范围内, 相对标准偏差在 1.19%~3.05%之间。**结论** 该方法可以准确测定保健食品中 NMN 和 NAD⁺含量。

关键词: 烟酰胺单核苷酸; 烟酰胺腺嘌呤双核苷酸; 保健食品; 高效液相色谱法

Determination of nicotinamide mononucleotide and nicotinamide adenine dinucleotide in health food by high performance liquid chromatography

XIE Nan, ZHENG Guo-Jian*

(Shanghai Institute of Quality Inspection and Technical Research, Shanghai 200233, China)

ABSTRACT: Objective To establish an analytical method for the determination of nicotinamide mononucleotide (NMN) and nicotinamide adenine dinucleotide (NAD⁺) in health food by high performance liquid chromatography. **Methods** Determination was performed on Waters BEH-Amide column with mobile phase consisting of 0.1% phosphoric acid solution-acetonitrile (gradient elution). The flow rate was 1.0 mL/min, and the sample size was 2 μ L. The column temperature was 35 $^{\circ}$ C, and the detection wavelength was set at 263 nm. Health food was extracted with 60% methanol solution in ultrasonic water bath for 10 min. The extract was filtered through micron filter, and analyzed by high performance liquid chromatography. **Results** The results showed that NMN and NAD⁺ exhibited excellent linear relationships, the correlation coefficient (r) was over 0.999 in the range of 10–1000 μ g/mL. The

收稿日期: 2024-10-16

第一作者: 解楠(1983—), 男, 硕士, 高级工程师, 主要研究方向为食品中营养素的检测。E-mail: xienan@sqi.org.cn

*通信作者: 郑国建(1983—), 男, 硕士, 高级工程师, 主要研究方向为食品中营养素的检测。E-mail: zhenggj@sqi.org.cn

method limit of quantitation was 0.50 g/kg. Recoveries were ranged from 95.9% to 98.8%, and relative standard deviations were ranged from 1.19% to 3.05%. **Conclusion** This method is accurate and suitable to determine NMN and NAD⁺ in health food.

KEY WORDS: nicotinamide mononucleotide; nicotinamide adenine dinucleotide; health food; high performance liquid chromatography

0 引言

烟酰胺单核苷酸(nicotinamide mononucleotide, NMN), 是生物体内一个至关重要的前体分子^[1], 它直接参与将烟酰胺核糖(nicotinamide riboside, NR)转化为关键的烟酰胺腺嘌呤双核苷酸(nicotinamide adenine dinucleotide, NAD⁺)的过程^[2-4]。NAD⁺在生物体内的作用广泛而深远, 它不仅是抗衰老策略中的核心分子^[5-6], 也在疾病预防中发挥着举足轻重的作用^[7-8]。此外, NAD⁺还深度嵌入到细胞分裂、蛋白质合成、以及能量代谢等多个基本生命活动之中, 是维持机体正常生理功能不可或缺的一环^[9]。多项研究表明, 通过外源性补充 NMN, 可以有效提升体内 NAD⁺的水平^[2], 从而促进 DNA 修复^[10], 对抗因衰老引起的多种代谢失衡和老年相关疾病^[11], 包括但不限于阿尔兹海默病^[12]、糖尿病^[13]、心血管疾病^[14]以及慢性炎症^[15]等, 它们在很大程度上影响着老年人的生活质量和寿命。2016年 MILLS 等^[9]的研究为 NMN 的抗衰老潜力提供了有力的实验证据, 研究发现长期对小鼠进行 NMN 灌胃处理, 能够显著减轻小鼠因年龄增长而出现的生理机能衰退, 展现出 NMN 在延缓衰老过程、促进健康长寿方面的巨大潜力。

鉴于 NMN 和 NAD⁺在促进健康方面的广泛益处, 市场上迅速涌现出众多以它们为核心成分的创新食品、营养膳食补充剂及保健品。为了保障这些产品的品质与安全性, 精确测定其中 NMN 和 NAD⁺的含量成为了至关重要的一环。目前, 针对这两种成分的检测, 主要技术包括液相色谱法(liquid chromatography, LC)^[11,16-18]和液相色谱-串联质谱法(liquid chromatography-tandem mass spectrometry, LC-MS/MS)^[19-24]。如冯雪萍等^[16]通过运用反相-LC 成功实现了保健食品中的 NMN 含量的准确测定; 刘晓谦等^[21]采用 LC-MS/MS 技术对铁皮石斛提取物中的 NMN 和 NAD⁺进行了分析。除此之外, UMMARINO 等^[25]还开发了基于酶联-荧光法的新型检测技术。

尽管 LC-MS/MS 灵敏度高、特异性好^[26-27], 但是在实际应用中该方法可能存在基质效应干扰目标物的准确定量和定量^[28]; 另一方面该设备成本高昂, 对实验室的硬件要求较高^[29]; 同时, 保健食品中 NMN 和 NAD⁺的添加量往往较高, 而 LC-MS/MS 在处理高浓度样品时可能需要额外的样品稀释步骤, 这也增加了操作的复杂性。文献中的 LC 通常选用 C₁₈ 色谱柱, 会遇到 NMN 和 NAD⁺这类强极性化

合物保留能力弱的问题^[17]。它们在 C₁₈ 色谱柱上的快速洗脱使得检测信号易受基质中复杂杂质的影响, 从而导致检测结果的准确性降低。这种保留行为的不足, 是 LC 在检测 NMN 和 NAD⁺时需要考虑并克服的重要问题。

本研究致力于开发一种高效液相色谱技术, 实现对 NMN 和 NAD⁺的快速、精确测定。本研究的成果将为保健食品的研发、生产以及质量控制等领域提供更加科学、可靠的技术支持, 促进该行业的健康发展。

1 材料与方 法

1.1 材料、试剂与仪器

8 批次保健食品采购于淘宝。

NMN 标准品、NAD⁺标准品(纯度不低于 95%, 美国 Sigma 公司); 甲酸、甲醇、乙腈(色谱纯, 美国 Thermo Fisher Scientific 公司); 盐酸、乙醇、冰醋酸(分析纯, 国药集团化学试剂有限公司)。

Agilent 1260 高效液相色谱仪(配有四元泵、自动进样器、柱温箱和二极阵列检测器, 美国安捷伦公司); MX104/A 型电子天平(感量为 0.1 mg, 瑞士梅特勒托利多公司); Wiggins Votex 3000 涡旋振荡仪(德国 WIGGENS 公司); SK250LHC 型超声波清洗机(上海科导公司); Eppendorf 5804 离心机(德国艾本德公司); Millipore Milli-Q 超纯水(美国密理博公司); Waters BEH-Amide 色谱柱(4.5 mm×250 mm, 5 μm, 美国沃特斯公司); 0.22 μm 聚四氟乙烯滤膜(上海安谱实验科技股份有限公司)。

1.2 实验方法

1.2.1 色谱条件

采用 Waters BEH-Amide 色谱柱(4.5 mm×250 mm, 5 μm)。流动相 A 为 0.1%(体积比)磷酸溶液, 流动相 B 为乙腈, 梯度洗脱程序: 0~1 min, B 相比比例保持 90%不变; 1~12 min, B 相比比例从 90%线性变化至 50%; 12~15 min, B 比例保持 50%不变; 15.1 min 时, B 相比比例变化至 90%, 并维持此比例平衡 5 min。柱温为: 35 °C。流速为: 1.0 mL/min。进样量为: 2 μL。检测波长设定为 263 nm。

1.2.2 标准溶液的配制

(1)标准储备溶液

准确称取 NMN 和 NAD⁺标准品各 50 mg(精确至 0.1 mg), 用 60%甲醇溶液转移至两个洁净的 50 mL 容

量瓶中, 涡旋使其完全溶解。用 60% 甲醇溶液定容至刻度, 充分摇匀, 配制成 1 mg/mL 的标准储备溶液。

(2) 标准系列溶液

从预先配制好的标准储备溶液中, 依次准确移取适量体积的溶液至多个清洁干燥的 10 mL 容量瓶中, 并用 60% 甲醇溶液定容至刻度, 充分摇匀。即可得到一系列质量浓度分别为 10、20、50、100、200、500、1000 $\mu\text{g/mL}$ 的标准系列溶液。

1.2.3 样品处理

进行 3 组平行实验。精确称取试样 0.5 g (精确至 0.1 mg) 于 50 mL 离心管中。向离心管中加入 40 mL 60% 甲醇溶液, 使用涡旋振荡器使样品与溶剂充分混合。将离心管置于超声设备中超声提取 10 min。结束后, 将全部液体用 60% 甲醇溶液分 2 次转移至 50 mL 容量瓶中, 用 60% 甲醇溶液定容至刻度, 混合均匀。取部分样液经 9000 r/min 离心 5 min, 取离心后的上清液, 通过 0.22 μm 聚四氟乙烯滤膜过滤后测定。若测定的样品浓度超出线性范围, 根据需要, 使用 60% 甲醇溶液进行适当稀释后重新测定。

1.2.4 提取溶剂的优化

精确称取 0.5 g 待测试样, 随后将其置于含有 40 mL 不同甲醇浓度比例的提取溶剂中。通过涡旋混合确保样品充分分散后, 利用超声波处理 10 min。之后, 将所得溶液转移至 50 mL 容量瓶中, 并用相同的提取溶剂定容至刻度线, 混匀。

从上述溶液中移取约 3 mL 的样品液, 置于离心管中, 在 9000 r/min 的转速下离心处理 5 min。小心吸取上层清液, 通过孔径为 0.22 μm 的聚四氟乙烯滤膜进行过滤, 将过滤后的清液用于后续的检测分析。

1.2.5 提取次数的优化

取 0.5 g 样品置于 50 mL 离心管中, 分别尝试了 1、2、3 次不同的提取次数, 每次提取均使用 15 mL 的提取溶剂, 并设定超声处理时间为 10 min 以确保充分提取。随后, 以 9000 r/min 的转速进行离心, 收集上清液, 最终使用 60% 甲醇溶液将上清液定容至 50 mL。

1.3 数据处理

使用 Excel 2016 进行数据处理, 使用 Origin 9.1 作图。

2 结果与分析

2.1 检测波长的确定

对图 1 中的 NMN 和 NAD^+ 的紫外光谱图进行分析。发现两者在紫外光区域均有特征性的吸收峰, 但最大吸收峰的位置略有不同: NMN 在 266 nm 处有最大吸收峰, NAD^+ 在 260 nm 处有最大吸收峰。为确保两种化合物具有相近的检测灵敏度, 将检测波长设定为 263 nm, 满足实验对于精确度和准确性的要求。

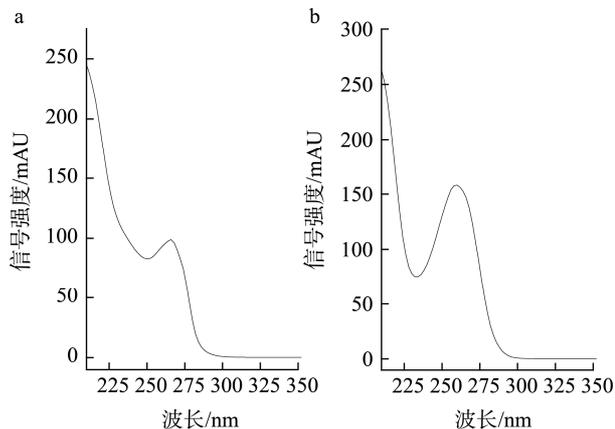


图 1 NMN (a) 和 NAD^+ (b) 的紫外光谱图

Fig.1 Ultraviolet absorption spectrum of NMN (a) and NAD^+ (b)

2.2 色谱柱及流动相的确定

在考察 NMN 与 NAD^+ 分子的色谱分离过程时, 鉴于两者均富含羟基基团, 展现出显著的极性特征, 传统的 C_{18} 色谱柱在分离这两种化合物时存在保留不强、容易受试样中其他杂质干扰的问题。本研究使用 Agilent XDB C_{18} 色谱柱 (4.5 mm \times 250 mm, 5.0 μm), 并以 0.1% 磷酸溶液与乙腈的混合液作为流动相进行实验 (图 2), 结果显示 NMN 与 NAD^+ 在柱上的保留能力不佳, 两者间难以实现有效分离。为了优化分离效果, 考察了更适合极性化合物分析的亲水色谱柱, 采用 Waters BEH-Amide 亲水色谱柱 (4.5 mm \times 250 mm, 5.0 μm) 进行后续实验。

在考察流动相体系时, 首先选用了水与乙腈组成的流动相体系, 相应的色谱图见图 3。结果显示, Waters BEH-Amide 亲水色谱柱对 NMN 和 NAD^+ 均展现出了良好的保留能力。然而, 在该流动相条件下, NMN 的色谱峰出现了较为严重的前伸现象, 这可能归因于 NMN 较强的亲水性, 使其与色谱柱中的酰胺基团发生了相互作用, 从而影响了峰形的质量。随后考察了加入少量酸的流动相体系, 具体为 0.1% 磷酸溶液与乙腈的混合液, 并观察其对 NMN 和 NAD^+ 的洗脱效果 (图 4)。实验结果表明, 向流动相中添加微量的磷酸能够有效抑制 NMN 的电离, 显著改善了 NMN 的色谱峰形, 使其更加清晰和尖锐。

基于上述实验结果, 最终确定以 0.1% 磷酸溶液与乙腈组成的流动相体系, 并辅以梯度洗脱的方法, 以确保 NMN 和 NAD^+ 在 Waters BEH-Amide 亲水色谱柱上能够实现高效且准确的分离与分析。

2.3 提取溶剂的确定

鉴于 NMN 和 NAD^+ 在极性溶剂如水、甲醇、乙醇及乙腈中具备良好的溶解性, 本研究选择实验室常规使用的水与甲醇作为样品提取溶剂, 以优化提取过程。

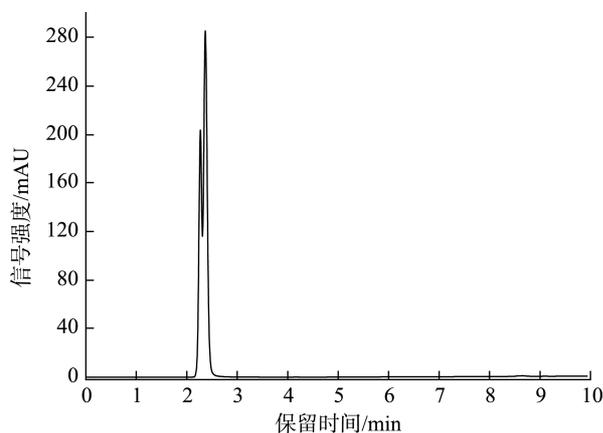


图2 NMN和 NAD^+ 在 C_{18} 色谱柱上的色谱图
Fig.2 Chromatogram of NMN and NAD^+ on C_{18} column

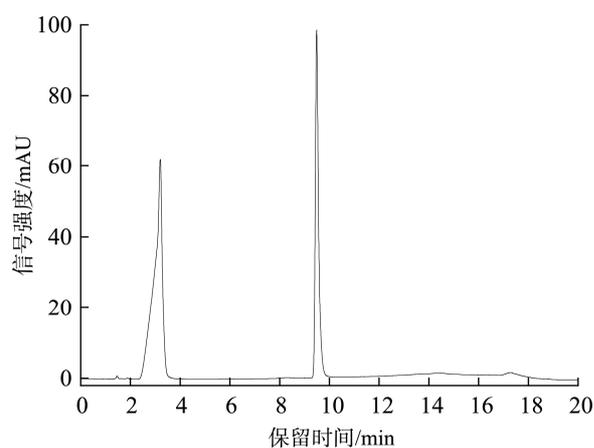


图3 以水和乙腈为流动相时 NMN和 NAD^+ 在 BEH-Amide 色谱柱上的色谱图
Fig.3 Chromatogram of NMN and NAD^+ on BEH-Amide column with water and acetonitrile as the mobile phase

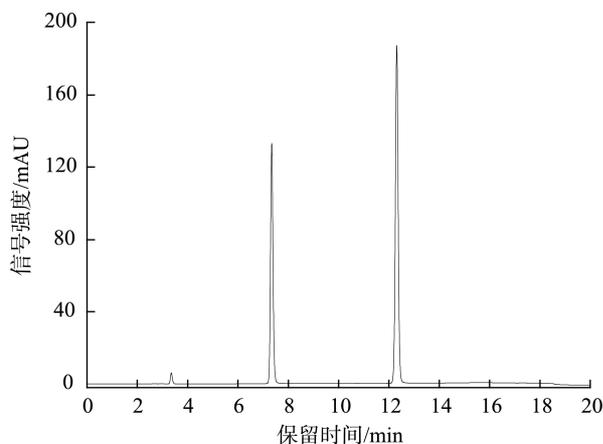


图4 以0.1%磷酸溶液和乙腈为流动相时 NMN和 NAD^+ 在 BEH-Amide 色谱柱上的色谱图
Fig.4 Chromatogram of NMN and NAD^+ on BEH-Amide column with 0.1% phosphoric acid in water and acetonitrile as the mobile phase

为评估不同溶剂组合对目标化合物提取效率的影响,本研究选取了包含白藜芦醇、花青素、吡咯喹啉醌、虾青素及辅酶 Q10 等多种成分的保健食品作为代表性基质,并设定加标浓度为 10 mg/g。不同溶剂条件下的提取效果结果如图 5 所示。

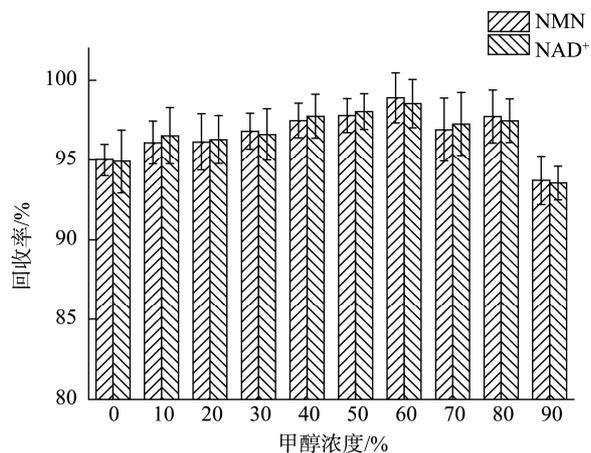


图5 不同提取溶剂的提取效率($n=3$)
Fig.5 Extraction efficiency of different extraction solvents ($n=3$)

根据图 5 的结果可知,在提取试样中的 NMN 和 NAD^+ 时,甲醇溶液展现出了良好的提取效能。特别地,当甲醇浓度调整至 60% 时,提取效率达到了最高,此时,回收率超过了 98%。

综上所述,为了获得最佳的提取效果,选定 60% 甲醇溶液作为本研究及后续相关工作中提的最佳溶剂。

2.4 超声时间的确定

通常情况下,超声波在提取过程中通过其机械效应、空化效应和热效应等机制,有助于加速溶剂渗透进入样品内部,促进目标化合物从固相转移到液相,从而提高提取效率^[30]。因此,考察不同超声时间对回收率的影响是优化提取条件的重要步骤。

根据图 6 的结果显示,超声时间对于 NMN 和 NAD^+ 的提取回收率具有一定影响。具体而言,超声处理 5 min 后,已经能够基本完成 NMN 和 NAD^+ 的提取过程,此时回收率稳定在 98% 左右,表明在短时间内超声波即能高效地将目标化合物从样品中提取出来。然而,为了确保提取过程的充分性和提取效率的最大化,基于冗余设计原则,将超声时间延长至 10 min。实验证明,当超声时间设为 10 min 时,回收率可保持在 98% 以上。

综上所述,为了确保提取效率并优化实验条件,将超声时间设定为 10 min,这样既能保证目标化合物的高效提取,又能确保实验结果的稳定性和可靠性。

2.5 提取次数考察

为优化提取流程,考察提取次数对提取效率的影响,加标浓度为 10 mg/g。

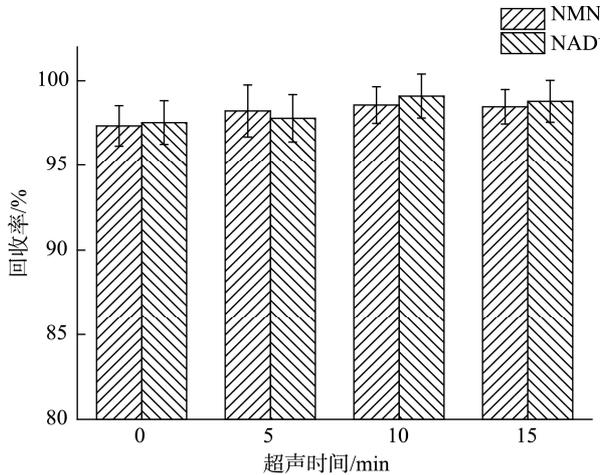


图 6 不同超声时间的提取效率(n=3)

Fig.6 Extration efficiency of different sonication time (n=3)

通过比较不同提取次数下的回收率,并将结果绘制成图 7。由图 7 可知,仅进行 1 次提取时,回收率已高达 97%以上,表明单次提取即能提取样品中大部分的目标化合物。当提取次数增加至 2 次时,回收率虽有轻微上升,达到 98%以上,但与直接使用 40 mL 提取液进行单次提取的效果相近(如 2.3 所述)。

在综合考虑提取效率、资源消耗以及工作效率等多方面因素后,最终采用单次 40 mL 提取液的方案进行提取。该方案既保证了较高的回收率,又简化了操作流程,提高了实验效率。

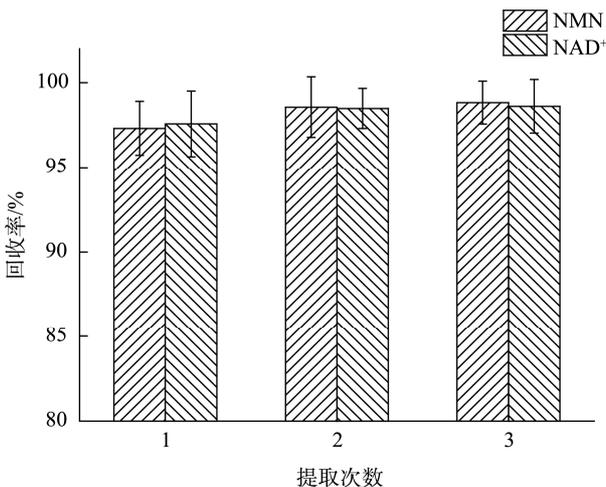


图 7 不同提取次数的提取效率 (n=3)

Fig.7 Extration efficiency of different extration times (n=3)

2.6 线性关系和检出限

对 NMN 和 NAD⁺的标准工作溶液进行了仪器测定,其质量浓度范围为 10~1000 $\mu\text{g/mL}$ 。以化合物的质量浓度为横坐标(X, $\mu\text{g/mL}$),相应的峰面积为纵坐标(Y),绘制了标准曲线。对于 NMN,其线性回归方程为 $Y=1.72749X-1.94237$,线性相关系数 $r=0.99995$,表明浓度

与峰面积之间具有极高的线性关系。对于 NAD⁺,其线性回归方程为 $Y=2.78483X-3.41243$,线性相关系数 $r=0.99995$,也显示了极好的线性相关性。

在评估方法的灵敏度时,采用了信噪比的方法来确定检出限(limit of detection, LOD)和定量限(limit of quantification, LOQ)。以 3 倍信噪比对应的浓度被定义为 LOD,以 10 倍信噪比对应的浓度被定义为 LOQ,因此方法 LOD 为 0.15 g/kg, LOQ 为 0.50 g/kg。

2.7 回收率和精密度

在保健食品基质(该基质包含白藜芦醇、花青素、吡咯喹啉醌、虾青素及辅酶 Q10 等多种成分)中进行了加标回收实验,以评估方法的准确性和可靠性。实验中,设定了 3 个不同的加标浓度水平:第一点为方法的 LOQ (0.50 g/kg),第二点则对应于保健食品中目标分析物的平均含量,第三点则是该平均含量的两倍。每个加标浓度均进行了 6 次重复测定,以确保数据的稳定性和可靠性。

实验结果显示,所有目标分析物的总体回收率均落在 95.9%至 98.8%的范围内,表明该方法在保健食品基质中的回收效率良好。同时,相对标准偏差(relative standard deviation, RSD)的计算结果显示为 1.19%至 3.05%,这一较低的 RSD 值反映了测量结果良好的重现性和精密度,结果见表 1,空白基质和加标回收色谱图见图 8、9。

表 1 方法的回收率和精密度(n=6)

Table 1 Recoveries and precisions of the method (n=6)

化合物	添加量/(g/kg)	回收率/%	RSDs/%
NMN	0.50	95.9	2.10
	400.00	96.2	2.07
	800.00	98.1	1.41
NAD ⁺	0.50	96.4	3.05
	400.00	97.8	2.78
	800.00	98.8	1.19

2.8 试样测定

采用已建立的分析方法,对市场上随机采购的 8 批次保健食品进行了检测分析,这些样品均标注含有 NMN 或同时含有 NMN 与 NAD⁺成分。通过检测,数据见表 2,样品 4 的色谱图见图 10。

根据表 2 中的检测结果,在所检测的 8 个保健食品样品中,第 2、4、6 号样品被检测出含有 NMN,尤为值得注意的是,4 号样品中不仅检测到了 NMN,还同时检测出了 NAD⁺。其余 5 个批次的样品中均未检测到 NMN 和 NAD⁺的存在。这一结果揭示了市场上部分保健食品可能存在成分标识与实际含量不符的问题。

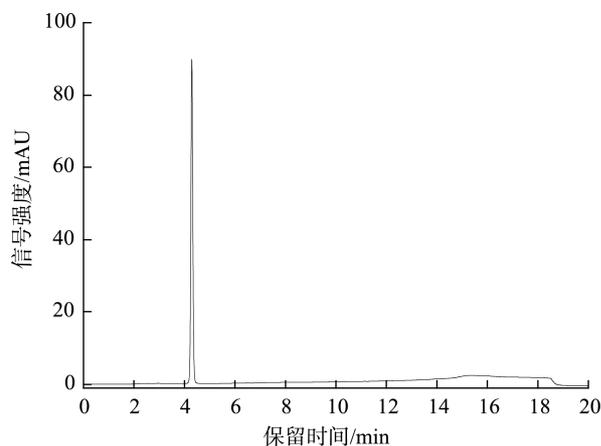


图8 空白基质的色谱图
Fig.8 Chromatogram of blank matrix

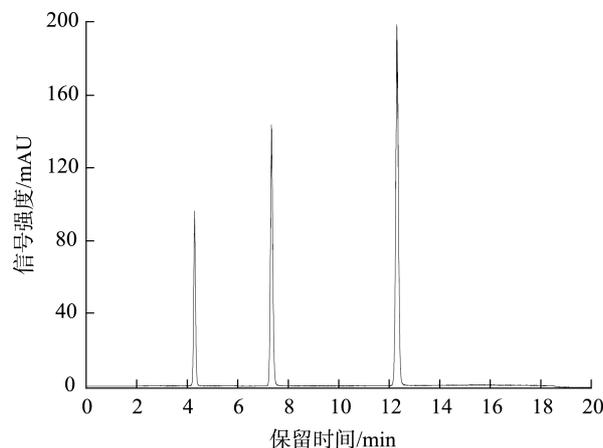


图9 加标样品的色谱图
Fig.9 Chromatogram of spiked sample

表2 样品中NMN和NAD⁺的含量
Table 2 Content of NMN and NAD⁺ in the samples

样品编号	1	2	3	4	5	6	7	8
NMN/(g/kg)	未检出	636	未检出	522	未检出	889	未检出	未检出
NAD ⁺ /(g/kg)	未检出	未检出	未检出	20	未检出	未检出	未检出	未检出

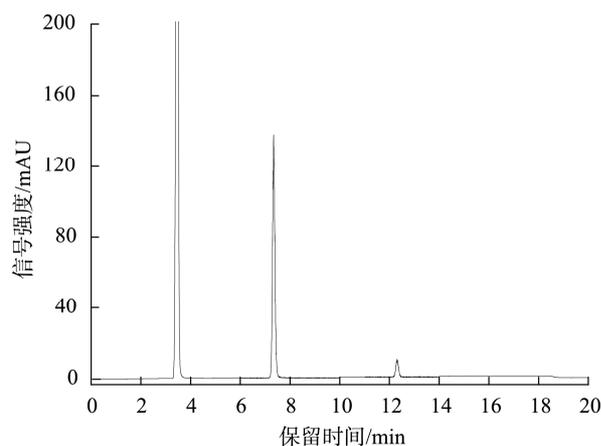


图10 4号样品的色谱图
Fig.10 Chromatogram of sample No.4

鉴于上述情况,建议相关监管部门加大对保健食品市场的监督与管理力度,特别是要针对声称添加了NMN和NAD⁺等热门保健食品成分的产品进行重点审查,确保产品标识的真实性与准确性。通过加强监管,有效防止虚假宣传和不实标注,保护消费者的合法权益,维护市场的公平与秩序。

3 结论

本研究成功开发了一种高效、精准的高效液相色谱法,用于测定保健食品中NMN与NAD⁺的含量。该方法具有良好的线性范围,在10~1000 μg/mL的质量浓度范围内,其线性相关系数高达0.999或以上,确保了测量结果的准

确。此外,该方法的LOQ为0.50 g/kg,充分满足了保健食品的检测需求。

在保健食品实际基质中,通过设定3个不同浓度的加标水平进行方法验证,该方法表现出了优异的回收率和精密度。该方法回收率稳定在95.9%至98.8%之间,RSDs在1.19%至3.05%之间,这充分证明了该方法在复杂基质中的稳定性和可靠性。

通过应用此方法对市场上实际购买的保健食品样品进行检测,获得了NMN和NAD⁺的准确含量数据,验证了该方法在测定保健食品中这两种重要生物活性成分方面的广泛适用性和高度可靠性。这一研究成果不仅为保健食品的质量控制和市场监管提供了强有力的技术支持,也为相关产业的发展奠定了坚实基础。

参考文献

- [1] 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 XZ, LIU XJ, ZHANG F, *et al.* Nicotinamide mononucleotides physiological functions and its applications in medicine and food industry [J]. China Food Additives, 2022, 33(11): 246-251.
- [2] KUEREK AH, WANG W, YI L, *et al.* Towards personalized nicotinamide mononucleotide (NMN) supplementation: Nicotinamide adenine dinucleotide (NAD) concentration [J]. Mechanisms of Ageing and Development, 2024, 218: 111917.
- [3] SONG Q, ZHOU X, XU K, *et al.* The safety and antiaging effects of nicotinamide mononucleotide in human clinical trials: An update [J]. Advances in Nutrition, 2023, 14(6): 1416-1435.
- [4] MO Y, YUE M, YIM LY, *et al.* Nicotinamide mononucleotide impacts HIV-1 infection by modulating immune activation in T lymphocytes and humanized mice [J]. eBioMedicine, 2023, 98: 104877.

- [5] TARANTINI S, VALCARCEL-ARES MN, TOTH P, *et al.* Nicotinamide mononucleotide (NMN) supplementation rescues cerebrovascular endothelial function and neurovascular coupling responses and improves cognitive function in aged mice [J]. *Redox Biology*, 2019, 24: 101192.
- [6] WANG M, CAO Y, LI Y, *et al.* Research advances in the function and anti-aging effects of nicotinamide mononucleotide [J]. *Journal of Zhejiang University-Science B (Biomedicine & Biotechnology)*, 2024, 25(9): 723–736.
- [7] LI H, LIU Q, ZHU C, *et al.* B-nicotinamide mononucleotide activates nad⁺/sirt1 pathway and attenuates inflammatory and oxidative responses in the hippocampus regions of septic mice [J]. *Redox Biology*, 2023, 63: 102745.
- [8] ARENAS-JAL M, SU-NEGRE JM, GARC AME. Therapeutic potential of nicotinamide adenine dinucleotide (NAD) [J]. *European Journal of Pharmacology*, 2020, 879: 173158.
- [9] MILLS KF, YOSHIDA S, STEIN LR, *et al.* Long-term administration of nicotinamide mononucleotide mitigates age-associated physiological decline in mice [J]. *Cell Metabolism*, 2016, 24(6): 795–806.
- [10] QIU S, SHAO S, ZHANG Y, *et al.* Comparison of protective effects of nicotinamide mononucleotide and nicotinamide riboside on DNA damage induced by cisplatin in hela cells [J]. *Biochemistry and Biophysics Reports*, 2024, 37: 101655.
- [11] 张文字, 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 WY, LAN T, ZHAO X, *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.
- [12] ZHAO X, KONG M, WANG Y, *et al.* Nicotinamide mononucleotide improves the alzheimer's disease by regulating intestinal microbiota [J]. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 2023, 670: 27–35.
- [13] YOSHINO J, MILLS KF, YOON MJ, *et al.* Nicotinamide mononucleotide, a key NAD⁺ intermediate, treats the pathophysiology of diet-and age-induced diabetes in mice [J]. *Cell Metabolism*, 2011, 14(4): 528–536.
- [14] ZHANG X, ZHANG Y, SUN A, *et al.* The effects of nicotinamide adenine dinucleotide in cardiovascular diseases: Molecular mechanisms, roles and therapeutic potential [J]. *Genes & Diseases*, 2022, 9(4): 959–972.
- [15] WANG Z, ZHOU S, HAO Y, *et al.* Nicotinamide mononucleotide protects against high-fat-diet-induced atherosclerosis in mice and dampens aortic inflammation and oxidative stress [J]. *Journal of Functional Foods*, 2024, 112: 105985.
- [16] 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 XP, ZHU YH, CHENG Q, *et al.* Determination of β -nicotinamide mononucleotide in dietary supplements by high performance liquid chromatography [J]. *China Food Additives*, 2021, 32(11): 153–157.
- [17] 白玮丽, 陈俊辰, 林欣怡, 等. 高效液相色谱法同时测定烟酰胺单核苷酸中5种有关物质[J]. *食品安全质量检测学报*, 2024, 15(1): 182–188.
BAI WL, CHEN JC, LIN XY, *et al.* Simultaneous determination of 5 kinds of related substances in nicotinamide mononucleotide by high performance liquid chromatography [J]. *Journal of Food Safety & Quality*, 2024, 15(1): 182–188.
- [18] 李雅玫, 李霞虹, 林伟坚, 等. 胶囊中 β -烟酰胺单核苷酸和烟酰胺腺嘌呤二核苷酸的测定[J]. *食品工业*, 2024, 45(6): 324–328.
LI YM, LI XH, LIN WJ, *et al.* Determination of β -nicotinamide mononucleotide and nicotinamide adenine dinucleotide in capsule [J]. *The Food Industry*, 2024, 45(6): 324–328.
- [19] GIANNATTASIO S, GAGLIARDI S, SAMAJA M, *et al.* Simultaneous determination of purine nucleotides, their metabolites and β -nicotinamide adenine dinucleotide in cerebellar granule cells by ion-pair high performance liquid chromatography [J]. *Brain Research Protocols*, 2003, 10(3): 168–174.
- [20] YAMADA K, HARA N, SHIBATA T, *et al.* The simultaneous measurement of nicotinamide adenine dinucleotide and related compounds by liquid chromatography/electrospray ionization tandem mass spectrometry [J]. *Analytical Biochemistry*, 2006, 352(2): 282–285.
- [21] 刘晓谦, 杨红, 赵靖源, 等. UPLC-MS/MS 测定铁皮石斛及其同属近源石斛品种中烟酰胺单核苷酸和烟酰胺腺嘌呤二核苷酸含量[J]. *中国中药杂志*, 2021, 46(16): 4034–4039.
LIU XQ, YANG H, ZHAO JY, *et al.* Determination of β -nicotinamide mononucleotide and nicotinamide adenine dinucleotide in dendrobium officinale and congeneric species by UPLC-MS/MS [J]. *China Journal of Chinese Materia Medica*, 2021, 46(16): 4034–4039.
- [22] YUTONG Z. M037 a robust liquid chromatography-tandem mass spectrometry method to simultaneously measure nicotinamide adenine dinucleotide, nicotinamide mononucleotide, 8-oxo-7,8-dihydroguanosine, and 8-oxo-7,8-dihydro-2'-deoxyguanosine in serum and urine [J]. *Clinica Chimica Acta*, 2022, 530: S18.
- [23] 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 DQ. Determination of nicotinamide mononucleotides in vegetables and fruits by liquid chromatography-mass spectrometry [J]. *Experimental Technology and Management*, 2019, 36(9): 57–59, 72.
- [24] 黄莹涓, 曾军, 白卫东, 等. 固相萃取-超高效液相色谱-串联质谱法同时检测食品中的烟酰胺单核苷酸 α 、 β 异构体和烟酰胺腺嘌呤二核苷酸[J]. *食品安全质量检测学报*, 2023, 14(15): 206–213.
HUANG YJ, ZENG J, BAI WD, *et al.* Simultaneous determination of nicotinamide mononucleotide α , β isomers and nicotinamide adenine dinucleotide in foods by solid phase extraction-ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. *Journal of Food Safety & Quality*, 2023, 14(15): 206–213.
- [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] 赵彤, 赵洪木, 宋美洁, 等. 超高效液相色谱-串联质谱法测定蜂王幼虫中烟酰胺单核苷酸的含量[J]. *食品与发酵工业*, 2022, 48(8): 265–269.
ZHAO T, ZHAO HM, SONG MJ, *et al.* Determination of nicotinamide mononucleotide in queen bee larva by ultra performance liquid chromatographic tandem mass spectrometry [J]. *Food and Fermentation Industries*, 2022, 48(8): 265–269.
- [27] 曾铮, 梁国华, 黄松清, 等. 基于超高效液相色谱-串联质谱法的一测多评法同时测定龙眼肉中8种核苷类成分含量[J]. *食品安全质量检测学报*, 2024, 15(13): 10–18.
ZENG Z, LIANG GH, HUANG SQ, *et al.* Simultaneous determination of 8 kinds of nucleosides in longan meat by multi-components by single-marker method based on ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. *Journal of Food Safety & Quality*, 2024, 15(13): 10–18.
- [28] HRVOLOV B, MART-NH-LAMO M, COLM NMNM, *et al.* Development of an advanced HPLC-MS/MS method for the determination of carotenoids and fat-soluble vitamins in human plasma [J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2016, 17: 1719.
- [29] 郑国建, 林毅侃, 杨晋青. 高效液相色谱法测定消毒剂中的7种季铵盐[J]. *分析仪器*, 2021(4): 49–53.
ZHENG GJ, LIN YK, YANG JQ. Determination of 7 kinds of quaternary ammonium salt disinfectants by HPLC [J]. *Analytical Instrumentation*, 2021(4): 49–53.
- [30] 陈炯朝, 马雪, 张研, 等. 响应面法优化超声辅助低共熔溶剂提取洋蓟花苞多糖工艺[J]. *中国食品添加剂*, 2024, 35(4): 57–64.
CHEN JZ, MA X, ZHANG Y, *et al.* Optimization of ultrasonic-assisted low eutectic reagents extraction of polysaccharides from artichoke buds by response surface methodology [J]. *China Food Additives*, 2024, 35(4): 57–64.

(责任编辑: 安香玉 韩晓红)