

保健食品中 7 种烟酰胺类化合物含量测定

Determination of seven nicotinamide compounds in health products

吴滋灵^{1,2} 何敏恒^{1,2} 黄嘉乐^{1,2} 蔡夏怡^{1,2} 孙雯雯³

WU Ziling^{1,2} HE Minheng^{1,2} HUANG Jiale^{1,2} CAI Xiaoyi^{1,2} SUN Wenwen³

(1. 广州检验检测认证集团有限公司, 广东 广州 511447; 2. 国家加工食品质量检验中心〔广东〕, 广东 广州 511447; 3. 上海爱博才思分析仪器贸易有限公司〔广东〕, 广东 广州 510623)

(1. Guangzhou Inspection Testing and Certification Group Co., Ltd., Guangzhou, Guangdong 511447, China; 2. National Quality Testing Center for Processed Food [Guangdong], Guangzhou, Guangdong 511447, China; 3. Shanghai AB Sciex Analytical Instrument Trading Co., Ltd., [Guangdong], Guangzhou, Guangdong 510623, China)

摘要:目的: 构建一种超高效液相色谱—串联质谱法 (UPLC-MS/MS) 同时测定保健食品中 7 种烟酰胺类化合物含量的方法。方法: 样品用 10% 甲醇水溶解, 通过超声提取, 以 10 mmol/L 乙酸铵—乙腈作为梯度洗脱的流动相, 采用电喷雾离子源 (ESI), 正负离子模式扫描, 多反应监测 (MRM) 模式对 7 种烟酰胺类化合物进行监测。结果: 7 种烟酰胺类化合物在各质量浓度范围内呈良好线性, 相关系数均 > 0.996 , 检出限 (LOD) 为 $0.075 \sim 0.600$ mg/kg, 回收率为 $84.6\% \sim 108.6\%$, 相对标准偏差为 $2.1\% \sim 8.7\%$ ($n=6$)。结论: 该方法操作简单、快速、高效, 回收率高, 精密度良好, 可用于保健食品中烟酰胺等类似物的定性定量分析。

关键词: 保健食品; 烟酰胺类化合物; 超高效液相色谱—串联质谱法; 多反应监测; 同时测定

Abstract: Objective: This study aimed to establish an ultra-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry (UPLC-MS/MS) method for simultaneous determination of 7 nicotinamide compounds in health food. **Methods:** The samples were dissolved in 10% methanol water, extracted by ultrasonic, and 10 mmol/L ammonium acetate-acetonitrile was used as the mobile phase of gradient elution. The seven nicotinamide compounds were monitored by ESI, positive and negative ion scanning mode, and multiple reaction monitoring (MRM) mode. **Results:** The 7 nicotinamide compounds showed good linearity in the mass concentration range, and the correlation coefficients were greater than 0.996. The limit of detection (LOD) was

$0.075 \sim 0.600$ mg/kg, the recovery was $84.6\% \sim 108.6\%$ with the relative standard deviation of $2.1\% \sim 8.7\%$ ($n=6$).

Conclusion: The method has the advantages of simple operation, high speed, high efficiency, high recovery rate and good precision, and can be used for qualitative and quantitative analysis of nicotinamide and other analogues in health care foods.

Keywords: health care foods; nicotinamide compounds; ultra-high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry; multiple reaction monitoring mode; simultaneous determination

近年来, 宣称具有“可延缓衰老”功效的烟酰胺单核苷酸 (NMN), 在各大型电商平台和保健品店“火热出圈”, 受到了大批消费者的关注和青睐^[1]。

分子水平上, NMN 为核糖核苷酸, 是核酸 RNA 的基本结构单位^[2-4]。NMN 是烟酰胺腺嘌呤二核苷酸 (NAD⁺) 的直接前体^[5-9], 被认为是增加细胞内 NAD⁺ 水平的关键成分^[10-12]。NAD⁺ 是一种参与了人体各种生理过程的辅酶, 如调节细胞的存活和死亡、参与氧化还原反应、调控细胞内信号传导过程等^[13-14], 其存在于所有的活细胞中, 既是催化还原—氧化反应的关键辅酶, 同时也是其他酶如 sirtuins 和聚合酶的共底物^[15-16], 也是人体中各类酶蛋白不可或缺的辅酶成分, 对人体的各种生理活动有重要作用。大量研究^[17-18]证实, NAD⁺ 还参与还原性物质合成、细胞信号转导、细胞衰亡等一系列生化反应, 对人体衰老有一定的调控作用。但 NAD⁺ 的合成和消耗水平与年龄有关, 均随着年龄的增加而降低^[19-24], 进而导致人类衰老过程中的代谢功能发生障碍^[25-26]。因此, 要想抗衰老, 实现真正的“青春永驻”, 需提升 NAD⁺ 在人体内的含量。但由于 NAD⁺ 制备难, 价

基金项目: 广东省市场监督管理局科技项目 (编号: 2022CS03)

作者简介: 吴滋灵 (1992—), 女, 广州检验检测认证集团有限公司工程师, 硕士。E-mail: 948486245@qq.com

收稿日期: 2023-08-21 改回日期: 2024-03-22

格昂贵,所以大多数的保健食品采用 NMN 为原料,主要宣传“预防老年痴呆、修复 DNA、抗衰老龄”等作用。但有关 NMN 有效性的研究大多停留在动物试验层面^[27],且 NMN 产品的安全性、有效性还取决于原料标准、生产条件等多种因素影响^[28]。国家市场监督管理总局食品经营安全监督管理局印发的《关于排查违法经营“不老药”的函》指出,目前 NMN 在中国未获得药品、保健食品、食品添加剂和新食品原料许可,表明在中国境内 NMN 不能作为食品进行生产和经营^[29]。而黄素单核苷酸^[30](FMN)、烟酰胺鸟嘌呤二核苷酸(NGD⁺)、烟酰胺次黄嘌呤二核苷酸(NADH)、黄素腺嘌呤二核苷酸^[31-33](FAD)、3-乙酰吡啶腺嘌呤二核苷酸(APAD)均具有与 NMN 相似的结构和性质,随着 NMN 在食品中禁止添加的禁令,未来可能会在保健食品中添加与其相关的类似物。

目前,有关烟酰胺类化合物含量的检测研究较少,主要是集中在 NMN^[34-35]和 NAD⁺^[36]。研究拟建立一种保健食品中 7 种烟酰胺类化合物含量测定的前处理方法和多种目标物质的定性定量分析方法,以期为市场监督管理部门开展 NMN 相关产品的监管提供依据。

1 材料和方法

1.1 材料和仪器

1.1.1 材料和试剂

烟酰胺腺嘌呤二核苷酸(NAD⁺)、烟酰胺鸟嘌呤二核苷酸(NGD⁺):纯度≥99.0%,美国 Sigma-Aldrich 公司;

烟酰胺次黄嘌呤二核苷酸(NADH)、黄素单核苷酸(FMN)、3-乙酰吡啶腺嘌呤二核苷酸(APAD):纯度≥95.0%,美国 Sigma-Aldrich 公司;

黄素腺嘌呤二核苷酸(FAD):纯度≥97.0%,美国 Sigma-Aldrich 公司;

烟酰胺单核苷酸(NMN):纯度≥99.7%,上海安谱实验科技股份有限公司;

乙醇、甲酸:分析纯,国药集团化学试剂有限公司;

甲醇、乙腈:色谱纯,德国 Merck 公司。

1.1.2 主要仪器设备

涡旋混合器:MS3 basic 型,德国 IKA 公司;

去离子水发生器:Milli-Q 型,美国 Millipore 公司;

数控超声波清洗仪:KQ-500DE 型,昆山市超声仪器有限公司;

高效液相色谱—串联质谱仪:Exion LC-AB Sciex Qtrap 5500 型,美国 AB SCIEX 公司;

电子分析天平:ME2002E 型,感量 0.01 g,瑞士梅特勒托利多仪器有限公司;

有机相针式滤器:13 mm×0.22 μm,上海安谱科学仪器有限公司;

色谱柱:ACQUITY UPLC Glycan BEH Amide, 2.1 mm×150 mm,1.7 μm,美国 Waters 公司。

1.2 方法

1.2.1 标准溶液配制 分别准确称取 7 种烟酰胺类化合物标准品约 10 mg,用纯净水溶解并定容,配制成质量浓度为 1 000 mg/L 的单标储备液。分别移取适量储备液,用纯净水配制 10.0 mg/L 的混合溶液,临用时根据浓度需要稀释成标准工作液。

1.2.2 提取溶剂类型、用量以及超声时间的选择 以保健食品为基质样,以 0.1% 甲酸—水、纯水、10% 乙腈—水、10% 甲醇—水、50% 甲醇—水为提取溶剂,分别加入 10,20,50,75,100 mL 提取溶剂,分析不同提取溶剂类型和用量对提取效果的影响,并考察超声时间(0,5,10,20,30,40,60 min)对目标物质提取效果的影响。

1.2.3 样品前处理 称取 1.00 g 样品,加入 75.0 mL 10% 的甲醇—水溶液,混匀,480 W 下超声提取 20 min,4 000 r/min 离心 2 min,过膜,收集滤液待测。

1.2.4 液相色谱条件 色谱柱为 ACQUITY UPLC Glycan BEH Amide 色谱柱(2.1 mm×150 mm,1.7 μm);柱温 30 ℃;进样体积 5 μL;流动相:10 mmol/L 乙酸铵—水溶液(A 相)和 10 mmol/L 乙酸铵—乙腈(B 相);流速 0.35 mL/min;梯度洗脱程序见表 1。

表 1 梯度洗脱程序

Table 1 Gradient elution procedure

时间/min	流动相 A/%	流动相 B/%
0	5	95
1.00	5	95
4.00	40	60
6.00	40	60
6.50	5	95
11.00	5	95

1.2.5 质谱条件 电喷雾电离源(ESI⁺/ESI⁻)正/负离子模式;多反应离子监测(MRM)模式;电喷雾电压 4 500 V;离子源温度 400 ℃;雾化器压力 0.34 MPa;辅助气压力 0.34 MPa;气帘气压力 0.20 MPa。

1.3 数据处理

采用 OriginPro 2021、Excel 软件进行绘图以及数据统计分析。

2 结果和讨论

2.1 前处理优化

2.1.1 提取溶剂 由图 1 可知,不同的提取溶剂对 7 种烟酰胺类物质有不同的提取效果,NMN、NAD⁺、NGD⁺和 APAD 对 10% 甲醇的响应较好,具有较高的回收率(>88%);而 NADH 对 10% 乙腈—水、10% 甲醇—水、50% 甲醇—水 3 种提取溶剂有较好的提取效果,回收率为 85%~90%;FMN 和 FAD 对 5 种提取溶剂的提取效

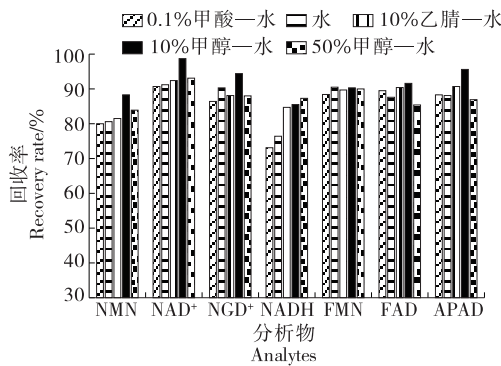


图 1 提取溶剂对提取效果的影响

Figure 1 Comparison of extraction effect of different extraction solvents

果无显著差异,回收率均为 80%~90%。综上,7 种烟酰胺类化合物对 5 种提取溶剂的提取效果以 10%甲醇-水的最好。甲醇是一种溶剂极性较强的有机化合物,可与许多有机物和无机物形成溶液,还可以与溶质之间形成氢键、范德华力等多种相互作用力,促进提取的进行,而烟酰胺及其类似物为水溶性物质,在水中加入少量的甲醇能够提高提取效果。因此,选择 10%甲醇-水为提取溶剂。

2.1.2 提取溶剂比例 由图 2 可知,随着提取溶剂比例从 1:10 (g/mL) 上升至 1:75 (g/mL),7 种烟酰胺类似物的加标回收率均逐渐升高(>85%);继续增大溶剂比例到 1:100 (g/mL),回收率基本保持不变,表明在 1:75 (g/mL) 时各目标物质已充分分散到溶剂中。因此,选择提取溶剂比例为 1:75 (g/mL)。

2.1.3 超声时间 由图 3 可知,超声时间越长,目标物质提取越充分;0~20 min 时,目标物回收率随提取时间的延长而升高;20~60 min 时,延长超声时间,回收率增长不明显,表明目标物质已被充分提取。因此,选择提取时间为 20 min。

2.2 仪器条件优化

2.2.1 质谱条件 试验表明,ESI⁺ 模式下,烟酰胺能够获得较高丰度的[M+H]⁺ 分子离子峰,其他类似物在 ESI⁻

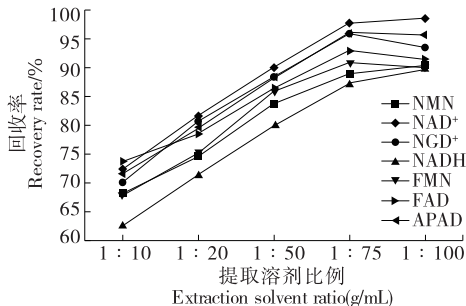


图 2 提取溶剂比例对 7 种烟酰胺类化合物回收率的影响

Figure 2 Effects of extraction solvents ratio on the recoveries of seven nicotinamide compounds

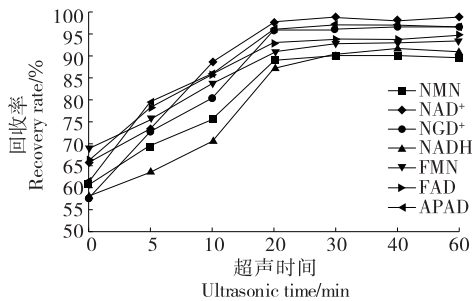


图 3 超声时间对 7 种烟酰胺类化合物回收率的影响

Figure 3 Effects of ultrasonic time on the recoveries of seven nicotinamide compounds

模式下有较高的分子离子峰,因此选择正负离子模式检测。继续对准分子离子进行二级质谱扫描,选择丰度较高的两个碎片离子作为定性和定量离子,并进一步优化确定了去簇电压(DP)和碰撞能量(CE),同步优化温度、离子源电压、雾化气等参数,使仪器的稳定性、灵敏度和分离效率处在较好状态,优化后 7 种烟酰胺类化合物质谱参数见表 2。

表 2 7 种烟酰胺类化合物的质谱参数

Table 2 Mass parameters of seven nicotinamide compounds

目标物	母离子 (<i>m/z</i>)	子离子 (<i>m/z</i>)	去簇电 压/V	碰撞能 量/eV
NMN	122.9	80.0,78.0	152	26,30
NAD ⁺	662.0	540.0,272.7	-70	-27,-53
NGD ⁺	678.1	556.1,344.0	-60	-30,-50
NADH	665.1	347.0,397.0	-60	-45,-45
FMN	455.2	212.9,198.9	-90	-25,-25
FAD	784.2	437.0,346.2	-60	-42,-42
APAD	661.0	540.0,273.0	-75	-28,-50

2.2.2 色谱条件 试验表明,C₁₈ 色谱柱对烟酰胺及其类似物保留较差,出峰时间为 0.5~1.0 min,峰形也较差;Hilic 色谱柱对烟酰胺等物质保留较差,出峰时间为 1 min 左右,但整体峰形较好;Synergi 4 μm Fusion-RP 柱的峰形展宽保留较差;Glycan BEH Amide 色谱柱对烟酰胺等物质保留较好,出峰时间为 1.5~7.0 min,峰形较好,峰宽较小。因此,选用 Glycan BEH Amide 色谱柱。采用多反应监测模式(MRM),各目标化合物标准谱图如图 4 所示。

2.3 方法学评价

2.3.1 线性关系及检出限、定量限 在优化条件下,对质量浓度为 0.02,0.05,0.10,0.20,0.50,0.80,1.00 mg/L 的 7 种烟酰胺及其类似物混合标准溶液进行分析,以混合标准溶液的质量浓度对峰面积建立对应的标准工作曲线,其对应的线性方程、相关系数见表 3。由表 3 可知,各标

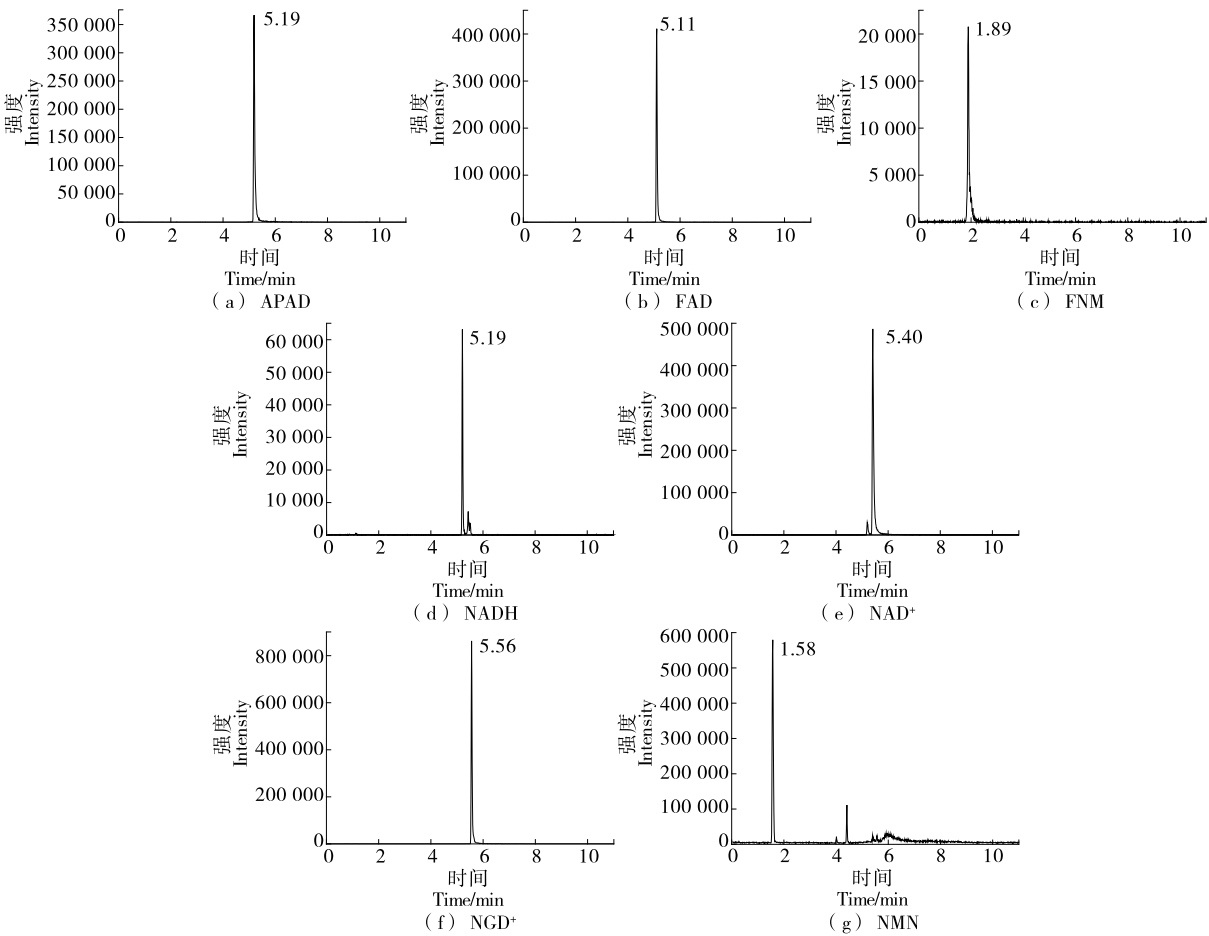


图 4 7 种烟酰胺类化合物标准品谱图

Figure 4 Seven nicotinamide compounds standards

准曲线的相关系数为 0.996~0.999,线性关系良好。

2.3.2 方法回收率和精密度 为了验证方法的准确性,对空白样品进行 5,10,50 mg/kg 三水平的加标回收试验;采用中间值连续测定 5 d,考察方法日间精密度,结果见表 4。由表 4 可知,7 种组分在低、中、高 3 个水平的平均回收率为 80%~110%,方法的日间精密密度为 85%~100%。

2.4 实际样品测定

对市售的宣称含有 NMN 和 NADH 保健食品进行检测,其中宣称含有 65.4,810.0 mg/g NMN 的保健食品实际样品检测含量分别为 66.0,807.0 mg/g,达到宣称值的 101% 和 99.6%,其他类似物均未检出;宣称含有 472 mg/g NADH 的保健食品实际样品检测含量为 387 mg/g,达到宣称值的 82.2%,其他类似物也未检出。

表 3 7 种烟酰胺类化合物的线性方程、相关系数、检出限和定量限

Table 3 Linear equations, correlation coefficients, LOQs and LOQs of seven nicotinamide compounds

目标物	线性范围/($\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$)	线性方程	相关系数	检出限/($\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)	定量限/($\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)
NMN	20.0~1 000.0	$Y=889.05X+37\ 551.40$	0.999 36	0.225	0.750
NAD ⁺	20.0~1 000.0	$Y=886.35X-6\ 993.62$	0.999 15	0.075	0.250
NGD ⁺	20.0~1 000.0	$Y=1\ 038.65X-11\ 140.42$	0.997 04	0.112	0.373
NADH	50.0~1 000.0	$Y=4.11X-173.20$	0.997 50	0.600	2.000
FMN	50.0~1 000.0	$Y=449.07X-4\ 394.85$	0.998 17	0.450	1.500
FAD	20.0~1 000.0	$Y=552.11X-7\ 499.39$	0.999 28	0.188	0.627
APAD	20.0~1 000.0	$Y=601.16X-4\ 893.83$	0.996 59	0.075	0.250

表 4 7 种烟酰胺类化合物的加标回收率及精密度
Table 4 Recovery and repeatability for seven nicotinamide compounds

目标物	日内精密度($n=6$)						日间精密度($n=5$)	
	5 mg/kg		10 mg/kg		20 mg/kg		回收率/%	RSD
	回收率/%	RSD	回收率/%	RSD	回收率/%	RSD		
NMN	84.6	4.6	89.5	3.8	90.6	4.5	87.6	5.7
NAD ⁺	108.6	3.2	96.2	3.9	96.8	4.0	95.3	6.2
NGD ⁺	96.3	4.9	95.5	5.3	94.1	4.1	93.4	5.9
NADH	89.3	6.5	88.3	4.8	103.7	4.4	87.1	7.8
FMN	104.4	7.9	92.1	6.1	88.6	8.0	90.8	9.4
FAD	90.6	3.6	93.5	2.5	89.3	2.1	94.2	4.4
APAD	101.6	5.2	96.8	5.6	98.6	4.1	95.3	6.0

3 结论

研究建立了一种超高效液相色谱—串联质谱法同时测定保健食品中 7 种烟酰胺类化合物含量的方法。结果表明,试验方法呈现良好线性,检出限为 0.075~0.600 mg/kg,定量限为 0.250~2.000 mg/kg,7 种烟酰胺类化合物的加标和日间精密度试验回收率为 84.6%~108.6%,日内重复性精密度为 2.1%~8.0%($n=6$),日间重复性精密度为 4.4%~9.4%($n=5$)。该方法前处理操作简单,提取效果好,定量准确,干扰少,方法的精密度和回收率均能满足试验检测的要求,同时检测成本较低,适合大规模保健食品中烟酰胺等物质的快速确认和准确定量。后续将进一步完善覆盖多种食品基质如奶粉基质、功能性食品基质的多种烟酰胺含量检验检测方法。

参考文献

[1] 张冬梅. 忽悠人的"不老药"该消停了[N]. 广州日报, 2021-01-22 (A4).
ZHANG D M. The "elixir of youth" should stop[N]. Guangzhou Daily, 2021-01-22(A4).

[2] 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 X F, JIANG Y Y, WANG C, 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.

[3] 赵娟, 张健, 余志坚, 等. 烟酰胺单核苷酸的研究及应用进展[J]. 食品科技, 2018, 43(4): 257-262.
ZHAO J, ZHANG J, YU Z J, et al. Progress in research and application of nicotinamide mononucleotide[J]. Food Science and Technology, 2018, 43(4): 257-262.

[4] 史海波, 赵海, 周春松, 等. β -烟酰胺单核苷酸制备研究进展[J]. 精细化工中间体, 2020, 50(4): 1-5.
SHI H B, ZHAO H, ZHOU C S, et al. Advances in the preparation of β -nicotinamide mononucleotides[J]. Fine Chemical Intermediates,

2020, 50(4): 1-5.

[5] 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 D Q. Determination of nicotinamide mononucleotides in vegetables and fruits by liquid chromatography-mass spectrometry [J]. Experimental Technology and Management, 2019, 36(9): 57-59, 72.

[6] YOSHINO J, BAUR J A, IMAI S I. NAD⁺ intermediates: The biology and therapeutic potential of NMN and NR [J]. Cell Metabolism, 2018, 27(3): 513-528.

[7] VERDIN E. NAD⁺ in aging, metabolism, and neurodegeneration[J]. Science, 2015, 350: 1 208-1 213.

[8] IMAI S I. The NAD world: A new systemic regulatory network for metabolism and aging-Sirt1, systemic NAD biosynthesis, and their importance[J]. Cell Biochemistry and Biophysics, 2009, 53(2): 65-74.

[9] YOSHINO J, MILLS K F, YOON M J, 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.

[10] ZHOU C L, FENG J, WANG J, et al. Design of an in vitro multienzyme cascade system for the biosynthesis of nicotinamide mononucleotide[J]. Catalysis Science & Technology, 2022, 12(4): 1 080-1 091.

[11] LUKASZ M, ROBERTO C, BARBARA K Z, et al. Reversal of endothelial dysfunction by nicotinamide mononucleotide via extracellular conversion to nicotinamide riboside[J]. Biochemical Pharmacology, 2020, 178: 114019.

[12] 任丽梅, 王晓茹, 祁永浩, 等. β -烟酰胺单核苷酸功能与合成研究进展[J]. 生物资源, 2021, 43(2): 127-132.
REN L M, WANG X R, QI Y H, et al. Advances in function and synthesis of β -nicotinamide mononucleotides[J]. Biotic Resources, 2021, 43(2): 127-132.

[13] CRISTOBAL J R, NAGORSKI R W, RICHARD J P. Utilization of cofactor binding energy for enzyme catalysis: Formate dehydrogenase-catalyzed reactions of the whole NAD cofactor and

- cofactor pieces[J]. *Biochemistry*, 2023, 62(15): 2 314-2 324.
- [14] RUSSO A, GOEL P, BRACE E, et al. The E3 ligase highwire promotes synaptic transmission by targeting the NAD⁺ Synthesizing enzyme dNmnat [J]. *EMBO Reports*, 2019, 20(3): e46975.
- [15] KUMAR A, DVIR-GINZBERG M. Sirtuins as NAD⁺-dependent deacetylases and their potential in medical therapy[J]. *Medical Epigenetics (Second Edition)*, 2021, 29: 633-664.
- [16] 廖一波. 烟酰胺单核苷酸的生物酶法合成[D]. 广州: 华南理工大学, 2020: 1-8.
- LIAO Y B. Bioenzymatic synthesis of nicotinamide mononucleotide [D]. Guangzhou: South China University of Technology, 2020: 1-8.
- [17] GRANT R, BERG J, MESTAYER R, et al. A pilot study investigating changes in the Human plasma and urine NAD⁺ metabolome during a 6 hour intravenous infusion of NAD⁺ [J]. *Frontiers in Aging Neuroscience*, 2019, 11: 257.
- [18] ZAMPORLINI F, RUGGIERI S, MAZZOLA F, et al. Novel assay for simultaneous measurement of pyridine mononucleotides synthesizing activities allows dissection of the NAD⁺ biosynthetic machinery in mammalian cells[J]. *FEBS Journal*, 2014, 281: 5 104-5 119.
- [19] ZHU X H, LU M, LEE B Y, et al. In vivo NAD assay reveals the intracellular NAD contents and redox state in healthy human brain and their age dependences[J]. *PNAS*, 2015, 112(9): 2 876-2 881.
- [20] MASSUDI H, GRANT R, BRAIDY N, et al. Age-associated changes in oxidative stress and NAD⁺ metabolism in human tissue [J]. *PLoS One*, 2012, 7(7): e42357.
- [21] VELPEN V V D, ROSENBERG N, MAILLARD V, et al. Sex-specific alterations in NAD⁺ metabolism in 3xTg Alzheimer's disease mouse brain assessed by quantitative targeted LC-MS[J]. *Journal of Neurochemistry*, 2021, 159: 378-388.
- [22] SHEN Q, ZHANG S J, XUE Y Z, et al. Biological synthesis of nicotinamide mononucleotide[J]. *Biotechnol Lett*, 2021, 43: 2 199-2 208.
- [23] MILLS K, YOSHIDA S, STEIN L, et al. Long-term administration of nicotinamide mononucleotide mitigates age-associated physiological decline in mice[J]. *Cell Metabolism*, 2016, 24(6): 795-806.
- [24] 李青卓, 梅兴国, 吴基良. NMN 在与年龄相关疾病中的研究进展[J]. *湖北科技学院学报*, 2021, 35(3): 270-273.
- LI Q Z, MEI G X, WU J L. Research progress of NMN in age-related diseases[J]. *Journal of Hubei University of Science and Technology*, 2021, 35(3): 270-273.
- [25] FORTUNATO C, MAZZOLA F, RAFFAELLI N. The key role of the NAD biosynthetic enzyme nicotinamide mononucleotide adenyltransferase in regulating cell functions[J]. *IUBMB Life*, 2022, 74(7): 562-572.
- [26] 李旺, 郭文彬, 王晓季. 烟酰胺单核苷酸(NMN)的活性与化学制备的研究进展[J]. *江西科技师范大学学报*, 2020(6): 112-115.
- LI W, GUO W B, WANG X J. Research progress on the activity and chemical preparation of nicotinamide mononucleotide (NMN) [J]. *Journal of Jiangxi Science & Technology Normal University*, 2020(6): 112-115.
- [27] 李涛, 周艳华, 孙桂芳, 等. HPLC 法测定特殊医学用途婴幼儿食品中视黄醇棕榈酸酯和视黄醇醋酸酯[J]. *食品与机械*, 2018, 34(5): 91-94.
- LI T, ZHOU Y H, SUN G F, et al. Determination of retinol palmitate and retinol acetate in baby food for special medical use by HPLC[J]. *Food & Machinery*, 2018, 34(5): 91-94.
- [28] 胡立彪. “抗衰老神药”NMN: 不合法何谈“神效”[N]. *中国质量报*, 2021-02-01(4).
- HU L B. "Anti-aging medicine" NMN: Illegal how to talk about "miraculous effect"[N]. *China Quality News*, 2021-02-01(4).
- [29] 郭旭光. 高效液相色谱—串联质谱法同时测定保健品中非法添加的烟酰胺, 氮甲环酸和氨基己酸的含量[J]. *中国卫生检验杂志*, 2021, 31(15): 1 827-1 831.
- GUO X G. Simultaneous determination of nicotinamide, tranexamic acid and aminocaproic acid illegally added in health care products by liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. *Chinese Journal of Health Laboratory Technology*, 2021, 31(15): 1 827-1 831.
- [30] 周良斌. 蓝光激发黄素单核苷酸产生的自由基抑制肝癌细胞研究[J]. *激光杂志*, 2016, 37(10): 150-153.
- ZHOU L B. Inhibition of free radicals produced by flavin mononucleotides stimulated by blue light on hepatocellular carcinoma cells[J]. *Laser Journal*, 2016, 37(10): 150-153.
- [31] 马智超, 秦学, 廖英勤, 等. 黄素腺嘌呤二核苷酸通过激活 SCAD 抑制大鼠病理性心肌肥厚和心肌纤维化[J]. *中国动脉硬化杂志*, 2020, 28(5): 421-428.
- MA Z C, QIN X, LIAO Y Q, et al. Flavin adenine dinucleotide inhibits pathological myocardial hypertrophy and myocardial fibrosis in rats by activating SCAD [J]. *Chinese Journal of Arteriosclerosis*, 2020, 28(5): 421-428.
- [32] 潘俏俏, 裴娟萍, 余志良. *Methanopyrus* sp. SNP6 源黄素腺嘌呤二核苷酸合成酶序列分析及在大肠杆菌中的异源表达[J]. *工业微生物*, 2018, 48(4): 5-11.
- PAN Q Q, QIU J P, YU Z L. Sequence analysis of flavin adenine dinucleotide synthetase from *Methanopyrus* sp. SNP6 and its heterologous expression in *Escherichia coli* [J]. *Industrial Microbiology*, 2018, 48(4): 5-11.
- [33] 侯玉林, 高延奇, 金士博, 等. 免疫防御酶类: 海洋动物 L-氨基酸氧化酶的研究进展[J]. *大连海洋大学学报*, 2017, 32(5): 625-630.
- HOU Y L, GAO Y Q, JIN S B, et al. L-amino acid oxidase as an enzyme related to innate immune defense in marine animals: Research progress[J]. *Journal of Dalian Ocean University*, 2017, 32(5): 625-630.

(下转第 160 页)

- [14] ZHANG W J, HUANG J, WANG W, et al. Extraction, purification, characterization and antioxidant activities of polysaccharides from *Cistanche tubulosa* [J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2016, 93(A): 448-458.
- [15] RE R, PELLEGRINI N, PROTEGGENTE A, et al. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay[J]. *Free Radical Biology and Medicine*, 1999, 26 (9/10): 1 231-1 237.
- [16] LIU S, JIA M Y, CHEN J J, et al. Removal of bound polyphenols and its effect on antioxidant and prebiotics properties of carrot dietary fiber[J]. *Food Hydrocolloids*, 2019, 93(8): 284-292.
- [17] RAZAK D L A, RASHID N Y A, JAMALUDDIN A B, et al. Enhancement of phenolic acid content and antioxidant activity of rice bran fermented with *Rhizopus oligosporus* and *Monascus purpureus*[J]. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 2015, 4 (1): 33-38.
- [18] CAI L L, ZOU S S, LIANG D P, et al. Structural characterization, antioxidant and hepatoprotective activities of polysaccharides from *Sophora tonkinensis Radix*[J]. *Carbohydrate Polymers*, 2018, 184 (15): 354-365.
- [19] 李如蕊, 陈欣, 茹月蓉, 等. 体外模拟消化过程中核桃花提取物抗氧化活性的变化[J]. *现代食品科技*, 2020, 36(11): 196-201, 169.
- LI R X, CHEN X, RU Y R, et al. Changes of antioxidant activity of walnut flower extract during simulated digestion in vitro[J]. *Modern Food Science and Technology*, 2020, 36 (11): 196-201, 169.
- [20] 朱秀灵, 叶精勤, 盛伊健, 等. 体外模拟消化对苹果多酚及其抗氧化活性的影响[J]. *食品与发酵工业*, 2020, 46(8): 63-71.
- ZHU X L, YE J Q, SHENG Y J, et al. Effect of simulated digestion on apple polyphenols and their antioxidant activity in vitro[J]. *Food and Fermentation Industry*, 2020, 46(8): 63-71.
- [21] 范利君, 宋安康, 王志鹏, 等. 葡萄籽多酚提取物在体外模拟消化过程中抗氧化成分及抗氧化活性的变化[J]. *食品科技*, 2022, 47(6): 235-242.
- FAN L J, SONG A K, WANG Z P, et al. Changes of antioxidant components and antioxidant activities of grape seed polyphenol extracts during simulated digestion in vitro[J]. *Food Technology*, 2022, 47(6): 235-242.
- [22] 师聪, 陈学红, 李茹, 等. 体外模拟胃肠消化对覆盆子抗氧化成分及其活性的影响[J]. *中国食品学报*, 2023, 23(2): 83-90.
- SHI C, CHEN X H, LI R, et al. Effects of simulated gastrointestinal digestion in vitro on antioxidant components and their activities in Raspberry[J]. *Chinese Journal of Food Science*, 2023, 23(2): 83-90.
- [23] 李进才, 刘梦杰, 陈银焕, 等. 模拟消化中藜麦的酚类化合物释放和抗氧化活性[J]. *天津大学学报(自然科学与工程技术版)*, 2020, 53(8): 785-794.
- LI J C, LIU M J, CHEN Y H, et al. Release of phenolic compounds and antioxidant activity of quinoa during simulated digestion[J]. *Journal of Tianjin University (Natural Science and Engineering Technology Edition)*, 2020, 53(8): 785-794.
- [24] WANG Z, LI S, GE S, et al. Review of distribution, extraction methods, and health benefits of bound phenolics in food plants[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2020, 68(11): 3 330-3 343.
- [25] FLOEGEL A, KIM D O, CHUNG S J, et al. Comparison of ABTS/DPPH assays to measure antioxidant capacity in popular antioxidant-rich US foods[J]. *Journal of Food Composition and Analysis*, 2011, 24(7): 1 043-1 048.
- [26] 许芳溢, 李五霞, 吕曼曼, 等. 苦荞芽粉馒头体外消化后抗氧化能力研究[J]. *中国粮油学报*, 2014, 29(12): 16-22.
- XU F Y, LI W X, LU M M, et al. Study on antioxidant capacity of Tartary buckwheat bread after digestion in vitro [J]. *Chinese Journal of Grain and Oils*, 2014, 29(12): 16-22.
- [27] DUDONNE S, VITRAC X, COUTIERE P, et al. Comparative study of antioxidant properties and total phenolic content of 30 plant extracts of industrial interest using DPPH, ABTS, FRAP, SOD, and ORAC assays [J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2009, 57(5): 1 768-1 774.
- [28] 封易成, 牟德华. 体外模拟胃肠消化过程中山楂的活性成分及抗氧化性规律[J]. *食品科学*, 2018, 39(7): 139-145.
- FENG Y C, MOU D H. Active components and antioxidant activity of Hawthorn during simulated gastrointestinal digestion in vitro[J]. *Food Science*, 2018, 39(7): 139-145.
-
- (上接第 72 页)
- [34] 梁嘉敏, 高芝炆, 陈绮梦, 等. 高效液相色谱法测定特殊医学用途全营养配方食品中烟酰胺[J]. *食品安全质量检测学报*, 2020, 11(23): 8 638-8 642.
- LIANG J M, GAO Z S, CHEN Q M, et al. Determination of nicotinamide in nutritive formula food for special medical purposes by high performance liquid chromatography[J]. *Journal of Food Safety & Quality*, 2020, 11(23): 8 638-8 642.
- [35] 陈彩云, 魏鲜娥, 蔡伟江, 等. 高效液相色谱法同时测定保健食品中泛酸、烟酰胺、维生素 B₁、维生素 B₂、维生素 B₆ 的含量[J]. *食品安全质量检测学报*, 2017, 8(5): 1 866-1 871.
- CHEN C Y, WEI X E, CAI W J, et al. Determination of pantothenate, nicotinamide, vitamin B₁, vitamin B₂, and vitamin B₆ in healthy food by high performance liquid chromatography[J]. *Journal of Food Safety & Quality*, 2017, 8(5): 1 866-1 871.
- [36] 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 S T, HOU X, LEI S R, 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.