

doi:10.11751/ISSN.1002-1280.2023.05.09

超高效液相色谱 - 串联质谱法测定牛羊可食性组织中巴氯芬残留量

吴剑平, 严凤, 张婧, 王博, 曹莹*

(上海市兽药饲料检测所, 上海 201103)

[收稿日期] 2022-12-26 [文献标识码] A [文章编号] 1002-1280 (2023) 05-0055-14 [中图分类号] S859.84

[摘要] 建立超高效液相色谱 - 串联质谱测定牛羊可食性组织中巴氯芬残留量的分析方法。取均质后的动物组织经 80% (V/V) 乙腈甲酸溶液提取, 加入无水硫酸镁和氯化钠进行脱水和盐析, 高速离心分层后合并提取液, 取适量乙腈层溶液经 prime HLB 直过式固相萃取柱净化后, 以 40 °C 氮气吹干。残渣以 15% 乙腈甲酸溶液复溶后以反相 C₁₈ 为固定相, 0.1% 甲酸与 0.1% 甲酸乙腈为流动相, 采用梯度洗脱程序进行分离, 以串联质谱进行同位素内标法定性定量分析。巴氯芬在 0.5 ~ 50 μg/kg 范围内线性关系良好 ($r=0.9994$), 方法的最低检出限为 0.25 μg/kg, 最低定量限为 0.50 μg/kg, 添加回收率在 89.09% ~ 109.52% 内, 批内批间变异系数 (CV) 小于 10%。该方法具有较好的准确度与精密度, 适用于牛羊可食性组织中巴氯芬残留量的测定。

[关键词] 巴氯芬; 直过式固相萃取; 牛羊可食性组织; 超高效液相色谱 - 串联质谱; 同位素内标法

Determination of Baclofen Residues in Edible Tissue of Ovine and Bovine with Ultra Performance Liquid Chromatography - Tandem Mass Spectrometry

WU Jian - ping, YAN Feng, ZHANG Jing, WANG Bo, CAO Ying*

(Shanghai Municipal Supervisory Institute Veterinary Drugs and Feedstuff, Shanghai 201103, China)

Corresponding author: CAO Ying, E - mail: caogengwen@yahoo.com.cn

Abstract: To establish a method for determination of baclofen residue in edible tissue of ovine and bovine by ultra performance liquid chromatography - triple quadrupole tandem mass spectrometry. Homogenized tissue samples were extracted with 80% (V/V) acetonitrile formic acid solution, and dehydrated and salted out with anhydrous magnesium sulfate and sodium chloride. After high speed centrifugation and stratification, the upper extract was purified with prime HLB column and dried with nitrogen at 40 °C. The residue was dissolved with 15% acetonitrile formic acid solution. The dissolved solution was separated by gradient elution procedure with C₁₈

作者简介: 吴剑平, 高级畜牧师, 从事畜牧业投入品安全评价工作。

通讯作者: 曹莹。E - mail: caogengwen@yahoo.com.cn

column as the stationary phase, and 0.1% formic acid together with 0.1% formic acid acetonitrile as the mobile phase. Triple quadrupole tandem mass spectrometry was used for qualitative and quantitative analysis with isotope internal method. Baclofen had good linear relationships in the range of 0.5 ~ 50 $\mu\text{g}/\text{kg}$ ($r = 0.9994$). The limit of detection (LOD) of the method was 0.25 $\mu\text{g}/\text{kg}$ and the limit of quantitative (LOQ) was 0.50 $\mu\text{g}/\text{kg}$. The recoveries were between 89.09% ~ 109.52%, the coefficient of variation (CV) within and between batches were both lower than 10%. This method has good accuracy and precision, which is suitable for the determination of baclofen residues in edible tissue of pig and chicken.

Key words: baclofen; direct pass solid phase extraction; edible tissue of ovine and bovine; ultra high performance liquid chromatography – triple quadrupole tandem mass; isotope internal standard method

巴氯芬 (Baclofen, 分子式 $\text{C}_{10}\text{H}_{12}\text{ClNO}_2$, CAS No.: 1134-47-0) 又名贝康芬、贝可芬, 结构式见图 1, 是一种 B 型 γ -氨基丁酸 (γ -aminobutyric acid type B, GABAB) 受体激动剂^[1], 临床上常被用作镇痛或镇静剂^[2]、抗痉挛剂和中枢肌肉松弛剂^[3]、酒精或药物成瘾治疗用药^[4]以及脑卒中等心脑血管疾病治疗用药^[5]。不当使用巴氯芬可能造成焦虑、幻觉、意识错乱等不良反应^[6-8], 因此并未允许在畜牧养殖业使用。目前国内现行有效标准只涉及饲料和尿液中检测巴氯芬含量, 另有少量研究猪尿和猪肉中巴氯芬残留的方法研究文献见诸报道^[9-11], 其定量限可达 5 $\mu\text{g}/\text{kg}$, 但对于违禁药物检测该方法灵敏度略显不足, 也没有覆盖牛羊等反刍动物, 因此有必要研究牛羊可食性组织中巴氯芬残留量的测定方法。

据现有文献报道, 巴氯芬含量的测定常见的仪器分析方法有紫外分光光度法^[12]、高效液相色谱-紫外可见光谱法^[13]、毛细管电泳-激光诱导荧光法^[14]以及液相色谱-串联质谱法等。其中紫外分光光度法只适用于基质相对单一的药物或原料成分分析; 液相色谱-紫外可见光谱法可用于临床研究分析血浆和体液中的微量巴氯芬; 而毛细管电泳-激光诱导荧光法由于其对生物大分子具有一定的分离能力, 常被用于研究药物靶组织中原药浓度。但上述这些基于光谱检测器的方法都存在易受背景干扰和灵敏度难以适应痕量分析要求的问题。液相色谱-串联质谱同时兼具较高的检测灵敏度和

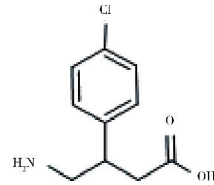


图 1 巴氯芬化学结构式

Fig 1 Structure of baclofen

方法特异性, 有研究表明其检测饲料中违规添加的巴氯芬灵敏度可达 20 $\mu\text{g}/\text{kg}$ ^[15], 但受制于当时的前处理技术和检测器灵敏度, 其只能以饲料作为检测对象, 难以适应基质更为复杂, 灵敏度要求更为苛刻的动物组织残留量测定的要求。直过式固相萃取技术具有简便、快捷、节省的前处理手段已被广泛运用于各种食品与农产品中的兽药或农药残留检测^[16-17], 其结合液相色谱-串联质谱技术运用于畜禽可食性组织中的巴氯芬残留测定可同时满足方法检测灵敏度、特异性、准确性和稳定性要求, 成为未来动物组织中巴氯芬残留监控的有效方法手段。

1 材料和方法

1.1 仪器 TSQ Quantiva 串联四级杆质谱带 H-ESI 电离喷雾源, Ultimate 3000RS 超高效液相色谱、Xcalibur 控制软件及数据处理系统 (Thermo Fisher Scientific 公司, 美国); Allegra X-22R 高速冷冻离心机 (Bechman Coulter 公司, 美国); AL204 电子天平 (Mettler Toledo 公司, 瑞士)。

1.2 材料、药品与试剂 巴氯芬对照品 (批号:

S098321, 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$, 天津阿尔塔科技有限公司); 巴氯芬 - D4 对照品 ($\text{C}_{10}\text{H}_8\text{D}_4\text{ClNO}_2$, CAS No: 1189938-30-4, 批号: S092233, 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$, 天津阿尔塔科技有限公司); 牛肉、牛脂肪、牛肝、牛肾、羊肉、羊脂肪、羊肝、羊肾; 甲酸、乙腈、甲醇、正己烷、异辛烷 (色谱纯, 德国 Merck 公司); 无水硫酸镁、氯化钠 (分析纯, 上海凌峰化学试剂有限公司); 阴离子交换柱 MAX、阳离子交换柱 MCX、直过式中性疏水作用净化柱 prime HLB (100mg/3mL, Waters 公司); 去离子水 (电阻率 $\geq 18 \text{ M}\Omega \cdot \text{cm}$)。

1.3 实验方法

1.3.1 色谱条件 固定相: 十八烷基键合硅胶色谱柱 (Agilent SB-C₁₈ 100 mm \times 2.1 mm, 1.8 μm), 柱温: 30 $^{\circ}\text{C}$, 流速: 0.3 mL/min, 进样量: 5 μL 。流动相: A 为 0.1% 甲酸水溶液, B 为 0.1% 甲酸乙腈溶液, 采用梯度洗脱, 0 ~ 1 min A 保持 85%, B 保持 15% 不变; 1 ~ 3 min A 由 85% 匀速变至 15%, B 由 15% 变至 85%; 3 ~ 5 min A 保持 15%, B 保持 85%; 5 ~ 8 min A 和 B 均回复至初始比例平衡 3 min。

1.3.2 质谱条件 采用电喷雾离子源 ESI+ 模式, 电离电压 3600 V, 辅助气 (aux gas) 流速 8 L/min, 鞘气 (sheath gas) 压力 380 kPa, 吹扫气 (sweep gas) 流速 0.4 L/min, 离子传输管 (ion transfer tube) 温度 350 $^{\circ}\text{C}$, 雾化器 (vapourizer) 温度 350 $^{\circ}\text{C}$, 检测模式为选择反应监控模式 (SRM), 一、二级离子半峰宽均设为 0.7 Da, 具体质谱条件参数如表 1 所示。

表 1 质谱选择反应监控参数

Table 1 Qualitative and quantitative ion pair for baclofen

化合物	电离模式	母离子 (m/z)	子离子 (m/z)	碰撞 能量/eV	透镜 电压/V
巴氯芬	ESI+	214	116	32	63
			151*	16	
巴氯芬-D4	ESI+	218	197	10	63
			155*	19	

* 为定量离子对

1.3.3 前处理条件 称取试料 2.00 g (准确至 $\pm 0.02 \text{ g}$) 于 50 mL 具盖离心管中, 添加 20 μL 的 100 ng/mL 巴氯芬 - D4 同位素内标工作液, 加入 10 mL 乙腈: 1 mol/L 高氯酸 = 80: 20 (V/V), 振荡提取 5 min, 9000 r/min 离心 3 min, 将上清液转移至 50 mL 具盖离心管中。重复上述操作步骤重复提取一次, 合并 2 次提取液, 依次加入无水硫酸镁 2 g 和氯化钠 2 g, 涡旋震荡 1 min 后 8000 r/min 离心 3 min, 取上清液备用。取备用液 10 mL, 直接通过 prime HLB 固相萃取净化小柱, 涡旋振荡 1 min 后经滤纸过滤, 收集全部滤液以 40 $^{\circ}\text{C}$ 水浴氮气吹干, 加入 1.00 mL 乙腈: 0.1% 甲酸 = 15: 85 (V/V), 取上层清液经 0.22 μm 尼龙针式滤膜过滤后, 续滤液供液相色谱 - 串联质谱仪测定。

1.3.4 线性定量范围 分别取巴氯芬标准工作溶液适量, 以 0.1% 甲酸溶液进行稀释, 配制含巴氯芬分别为 0.25、0.50、1.00、2.50、5.00、25.00 ng/mL, 巴氯芬 - D4 内标含量均为 1.00 ng/mL 的标准曲线系列溶液, 按 1.3.1 与 1.3.2 实验条件上机测定, 记录各通道积分面积, 以确定方法的定量范围。

1.3.5 基质效应 称取均质后空白组织样品 2.00 g 按 1.3.3 前处理条件进行预处理后获得空白基质溶液, 取适量巴氯芬 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 标准贮备液以该空白基质溶液稀释至 0.5、1.0 和 2.5 ng/mL 后按 1.3.1 与 1.3.2 仪器条件进样分析, 另以 15% 乙腈甲酸溶液为纯溶剂进行比较分析。基质效应 (%) = 基质溶液中分析物峰面积 / 纯溶剂中分析物峰面积 $\times 100\%$ 。

1.3.6 方法灵敏度 分别称取 2.00 g 组织样品各 3 份于离心管中, 其中 1 份作为空白基质, 另外 2 份依次加入已知浓度的巴氯芬标准溶液与巴氯芬 - D4 同位素内标溶液, 制成含巴氯芬含量为 0.25 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 和 0.50 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 的样品, 其中巴氯芬 - D4 同位素内标含量均为 1.00 $\mu\text{g}/\text{kg}$; 按前述 1.3.3 处理方法处理后, 以 1.3.1 与 1.3.2 仪器条件进样分析。依据检出限 (limit of detection, LOD) 信噪比 $S/N > 3$ 和定量限

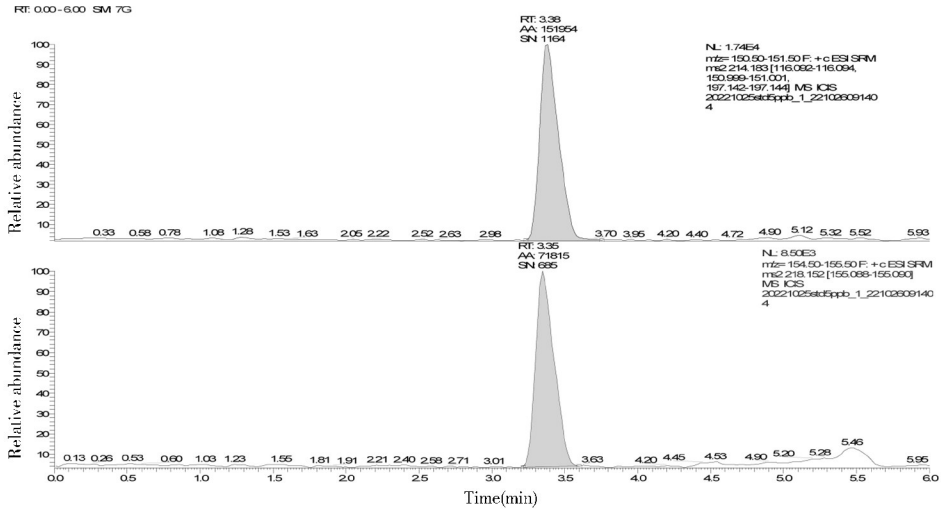
(limit of quantitation, LOQ) 信噪比 $S/N > 10$ 的原则对这两个添加含量水平的样品检测结果进行验证。

1.3.7 方法精密性与准确度 分别取均质后的牛、羊可食性组织各 3 批次,每批次称取 6 份样品,其中添加定量限 $0.50 \mu\text{g}/\text{kg}$ 、2 倍定量限 $1.00 \mu\text{g}/\text{kg}$ 和 5 倍定量限 $2.50 \mu\text{g}/\text{kg}$ 的巴氯芬,巴氯芬 - D4 同位素内标均添加 $1.00 \mu\text{g}/\text{kg}$,按前述 1.3.3 进行前处理后,以 1.3.1 与 1.3.2 中仪器条件进行检测,

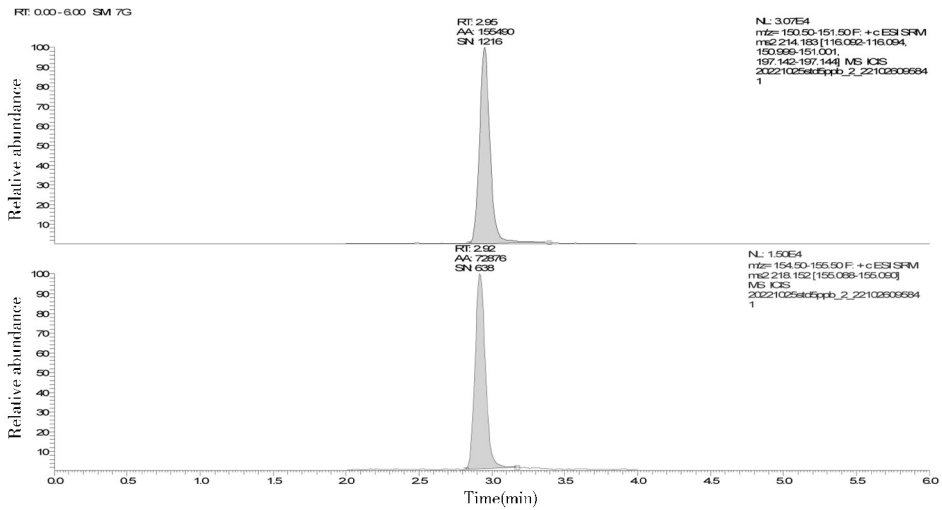
计算其回收率与批内批间变异系数 $CV\%$,以考察方法的准确度与精密性。

2 结果与分析

2.1 色谱条件的优化 固定相分别比较了同品牌的 C_{18} 和五氟苯基 (PFP) 色谱柱,规格均为 $100 \text{ mm} \times 2.1 \text{ mm}$, $2 \mu\text{m}$ 微米粒径填料,其色谱质谱图如图 2 所示,PFP 虽然加强了保留,但其柱效和峰形对称性不如 C_{18} 柱,因此选用 C_{18} 色谱柱。



(a)



(b)

(a) 五氟苯基 PFP 柱; (b) 十八烷基硅胶键合相 C_{18} 柱

上方均为巴氯芬定量离子对通道;下方均为巴氯芬 - D4 同位素内标定量离子对通道

图 2 色谱条件比较 SRM 色谱质谱图 ($5 \text{ ng}/\text{mL}$)

Fig 2 The effect of different chromatography columns on separation of baclofen

2.2 线性定量范围 按前述 1.3.4 条件进行实验,以巴氯芬进样浓度 x 为横轴,以其定量通道内目标峰与同位素内标定量通道内相应峰积分面积比 y 为纵轴,绘制曲线并线性拟合,获得线性拟合方程 $y = Ax + B$ 与线性相关系数 r ,其中 $A = 2.1236$, $B = -0.181923$,在 $0.5 \sim 50 \mu\text{g}/\text{kg}$ 添加含量范围内方法具有良好的线性, $r = 0.9994$ 。

2.3 提取效率与净化效率的优化 按 1.3.5 实验条件比较巴氯芬在牛羊肉中的绝对回收率以确定最优的前处理方式,结果见表 2。在同等条件下采用更高比例有机相的提取液具有更高的提取效率,无机相选择 $1 \text{ mol}/\text{L}$ 高氯酸相比 0.1% 甲酸和 $1 \text{ mol}/\text{L}$ 盐酸具有更高的提取效率;有机相选择乙腈相比甲醇具有更高的提取效率,对提取液的净

化过程中采用阳离子交换机理的 MCX 柱和直过式中性疏水作用柱 prime HLB 都得到了较为令人满意的回收率,但是相比较之下采用中性疏水作用柱 prime HLB 具有更便捷的操作和更好的回收率,因此最终选择其作为本方法的前处理方式。

2.4 基质效应研究 按 1.3.6 实验条件分别在牛、羊可食性组织中比较了 0.5 、 1.0 、 $2.5 \mu\text{g}/\text{kg}$ 这 3 个添加量的基质效应,所得结果在 $80.44\% \sim 98.09\%$ 之间,表明该方法条件下 4 种动物可食性组织基质中普遍存在基质抑制作用但并不显著,因此可采用同位素内标对检测结果进行校准,其有效降低了基质效应对检测结果准确性和稳定性的影响。

表 2 牛羊肉中巴氯芬提取效率和净化效率研究 (%)

Tab 2 Research on extract effect and purify effect of baclofen added in bovine and ovine muscle (%)

提取溶剂	动物组织	阴离子交换 MAX	阳离子交换 MCX	中性疏水作用 prime HLB
乙腈: 0.1% 甲酸 = 50:50	牛肉	2.4	46.2	55.8
	羊肉	3.3	48.6	52.6
乙腈: $1 \text{ mol}/\text{L}$ 盐酸 = 50:50	牛肉	3.1	44.8	69.8
	羊肉	6.7	52.1	67.6
乙腈: $1 \text{ mol}/\text{L}$ 高氯酸 = 50:50	牛肉	3.3	60.5	73.5
	羊肉	4.6	65.3	70.2
乙腈: $1 \text{ mol}/\text{L}$ 高氯酸 = 80:20	牛肉	2.3	75.6	82.6
	羊肉	3.1	78.6	87.1
甲醇: 0.1% 甲酸 = 80:20	牛肉	5.3	36.8	47.8
	羊肉	4.2	41.3	51.2
甲醇: $1 \text{ mol}/\text{L}$ 盐酸 = 80:20	牛肉	3.8	37.2	56.2
	羊肉	4.6	44.7	45.1
甲醇: $1 \text{ mol}/\text{L}$ 高氯酸 = 80:20	牛肉	3.3	32.8	54.7
	羊肉	1.6	36.6	55.6

2.5 方法灵敏度实验 分别取牛羊空白组织样品,按 1.3.7 实验条件进行实验,各可食性组织中巴氯芬检测限和定量限含量添加所得特征离子质量色谱图见图 3-图 6。实验结果表明,在牛羊可食性组织中该方法检测限可达 $0.25 \mu\text{g}/\text{kg}$,其信噪比均大于 3,定量限可达 $0.50 \mu\text{g}/\text{kg}$,其信噪比均大于 10,可满足牛羊可食性组织中违禁药物残留检测灵敏度要求。

2.6 方法准确度与精密度测定 按照 1.3.8 实验条件进行实验,结果见表 3 和表 4。结果表明,牛羊可食性组织中 3 个添加含量水平下添加回收率均在 $89.09\% \sim 109.52\%$ 范围内,且批内、批间 RSD 小于 10%,表明该方法在定量范围内具有较好的准确度与精密度。

3 讨论与结论

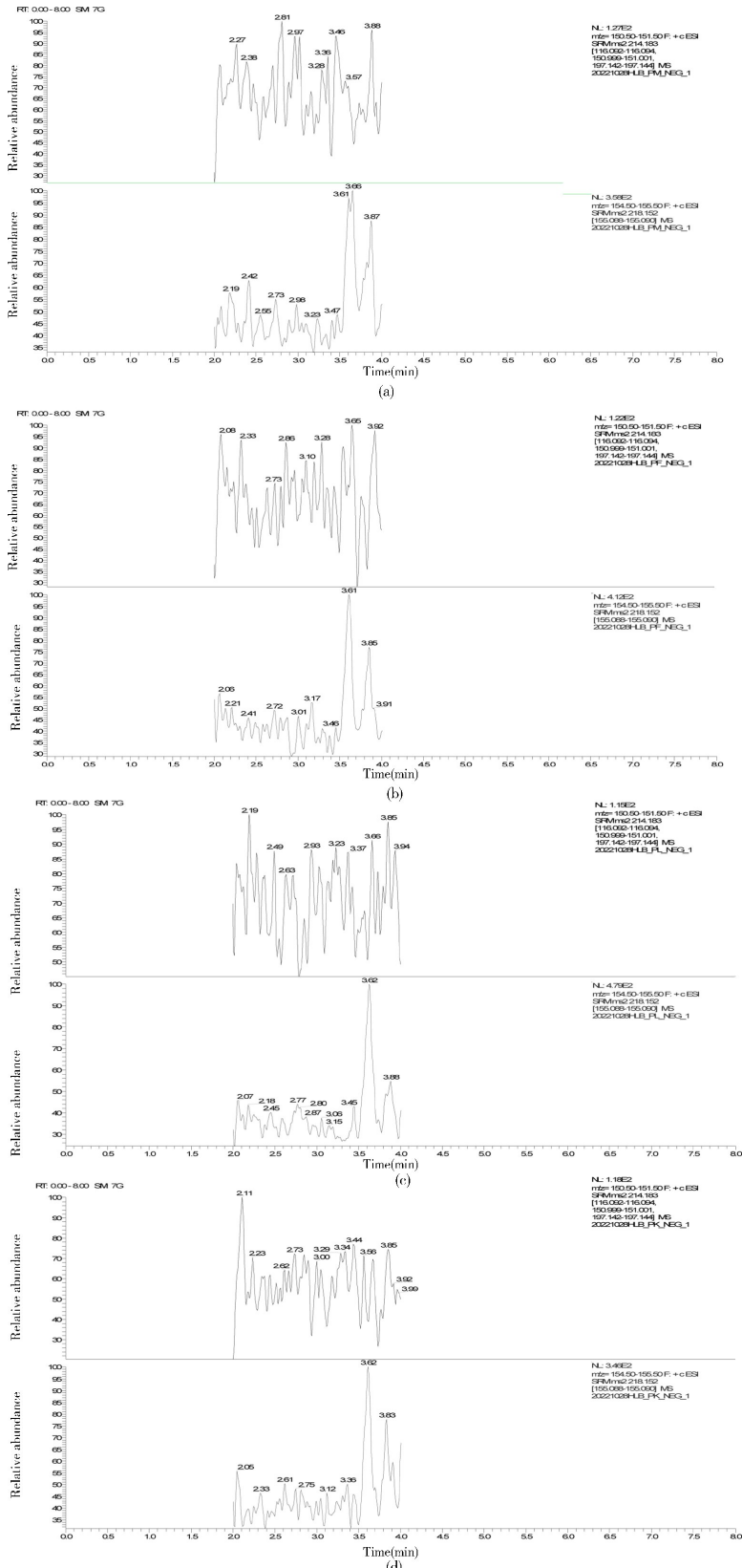
3.1 提取液的选择和优化 在牛、羊可食性组织中比较了七种不同提取溶剂组合下的绝对回收率以比较提取液的提取效率。动物可食性组织中富含蛋白、脂肪和磷脂等常见杂质,会对色谱质谱仪器造成污染而影响方法耐用性,因此在提取步骤中同时也要考虑初步除杂。结合巴氯芬的理化特性,酸性条件下巴氯芬因水解抑制而大多呈低极性的分子状态,在高比例的有机相中具有很好的溶解性;通过调节提取液 pH 破坏蛋白等电点,可造成蛋白质不可逆的凝结沉淀,结合高速离心有助于提取液的初步净化除杂;因此本方法选择酸性水溶液结合中强极性有机试剂可在提高提取效率的同时做到有效的初步净化,在提取剂中加入适量无水硫酸镁与氯化钠进行盐析,过程中通过乙腈与水相分层而使目标物提取具有更好的选择性。

3.2 传统保留-洗脱式固相萃取与直过式固相萃取净化效果的比较 本实验在完成提取和初步盐析除杂后,比较了传统的保留-洗脱方式固相萃取和最新的直过式固相萃取两种不同的技术路线,其中传统的保留-洗脱方式固相萃取最佳方案为使用混合型阳离子交换机理的固相萃取柱,其通过对

酸性水溶液中呈阳离子形态的化合物进行特异吸附,在完成洗涤后以碱性更强的有机溶剂进行洗脱,这种方案具有较强的选择性,但巴氯芬的化学结构中同时具有碱性的氨基基团和酸性的羧基基团,这会导致其在进行阳离子交换时有更多损失,同理使用阴离子交换机理的固相萃取柱也会存在同样的问题;而采用最新的直过式固相萃取技术方案可有效避免巴氯芬的两性化合物特性所造成的不利影响,避免在进行阳离子交换过程中的损失而提高绝对回收率,同时最新开发的直过式疏水作用固相萃取柱具备对动物组织中磷脂、蛋白质和脂肪的非特异性吸附作用,其在简化固相萃取流程的同时也能除去提取液中这些常见杂质,达到更简便、快速实现提取液净化的目的。

3.3 色谱方法的选择与优化 巴氯芬水中解离系数 $\text{pK}_a = 3.87 \pm 0.1 (\text{H}_2\text{O})$,水油分配系数 $\text{LogP} = 1.56$,其在酸性水溶液中水解易受抑制,更多呈现为分子状态,易于被反相色谱柱所保留,通过梯度程序增加流动相中的有机相比比例可增强其洗脱。考虑到后端接质谱仪,选用低分子量低沸点的 0.1% 甲酸溶液作为无机相,含 0.1% 甲酸乙腈溶液或含 0.1% 甲酸甲醇溶液作为有机相,经比较后选用含 0.1% 甲酸甲醇溶液在梯度洗脱过程中柱压会产生较大波动,不利于方法的稳定性和耐用性,而选用含 0.1% 甲酸乙腈溶液具有与前者接近的保留行为,因此选定含 0.1% 甲酸乙腈溶液作为有机相。固定相分别比较了同品牌的 C_{18} 和五氟苯基 (PFP) 色谱柱,PFP 虽然因和巴氯芬分子产生特异性作用而加强了保留,但同时也增加了峰的展宽和拖尾效应,造成其柱效和峰形对称性不如 C_{18} 柱,因此选用 C_{18} 色谱柱。

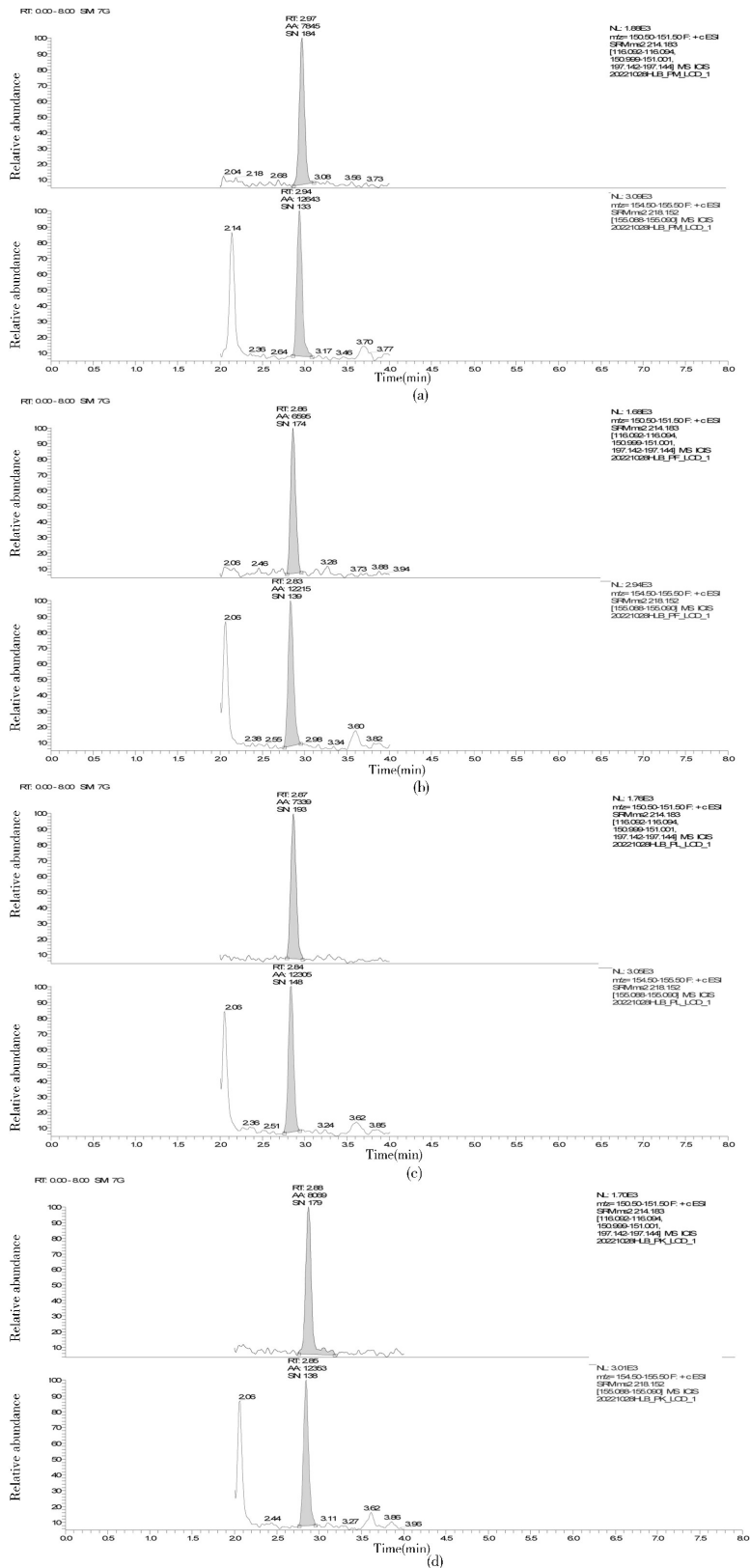
3.4 结论 本研究建立了牛羊可食性组织(肌肉、脂肪、肝脏和肾脏)中检测巴氯芬残留量的液相色谱-串联四级杆质谱方法。该方法具有较好的灵敏度、准确度与精密度,适用于牛羊可食性组织中巴氯芬残留量的测定。



(a) 空白牛肉; (b) 空白牛脂肪; (c) 空白牛肝; (d) 空白牛肾
 上方均为巴氯芬定量离子对通道; 下方均为巴氯芬 - D4 同位素内标定量离子对通道

图 3 空白牛可食性组织特征质量色谱图

Fig 3 SRM chromatogram of blank bovine edible tissue

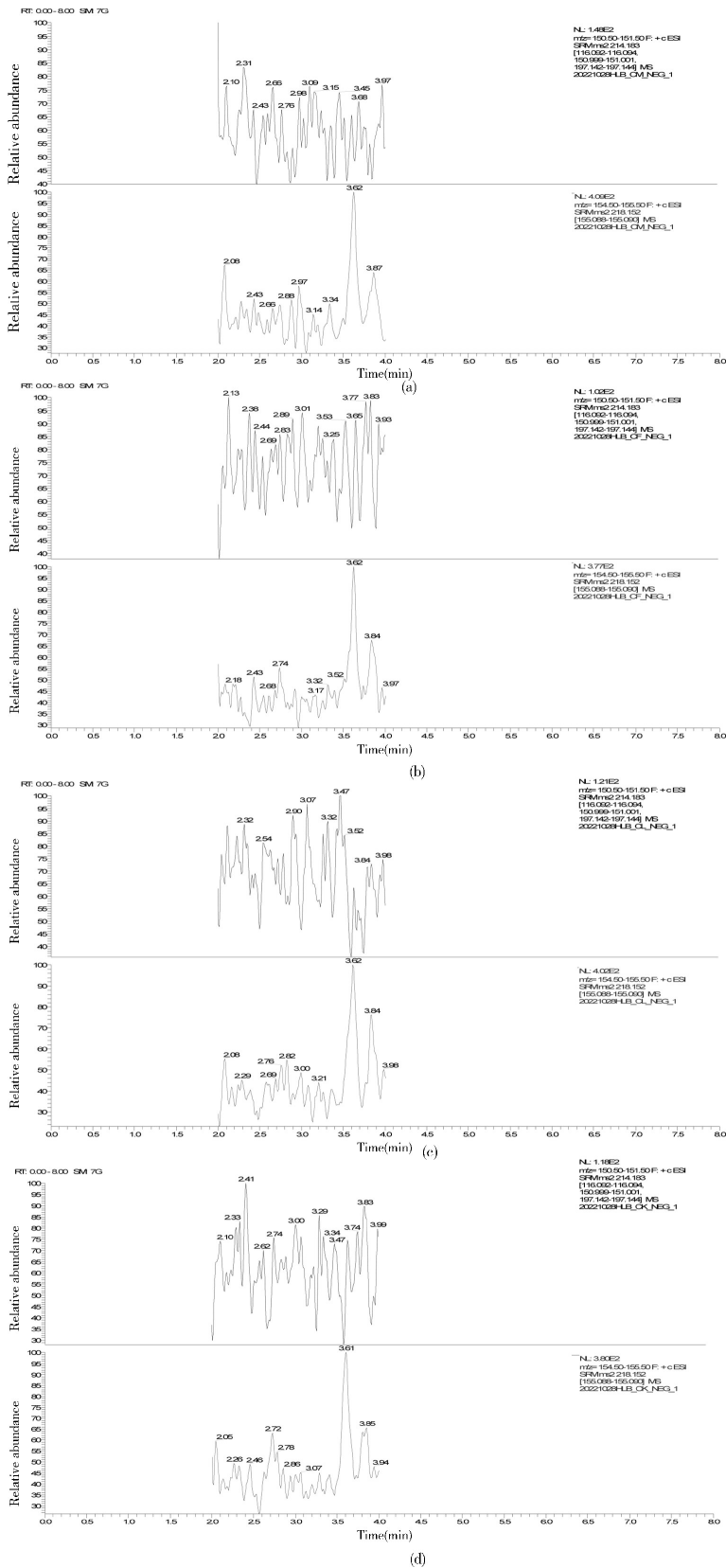


(a)牛肉;(b)牛脂肪;(c)牛牛肝;(d)牛肾

上方均为巴氯芬定量离子对通道;下方均为巴氯芬-D4 同位素内标定量离子对通道

图 4 牛可食性组织中巴氯芬检测限含量添加(0.25 μg/kg)特征质量色谱图

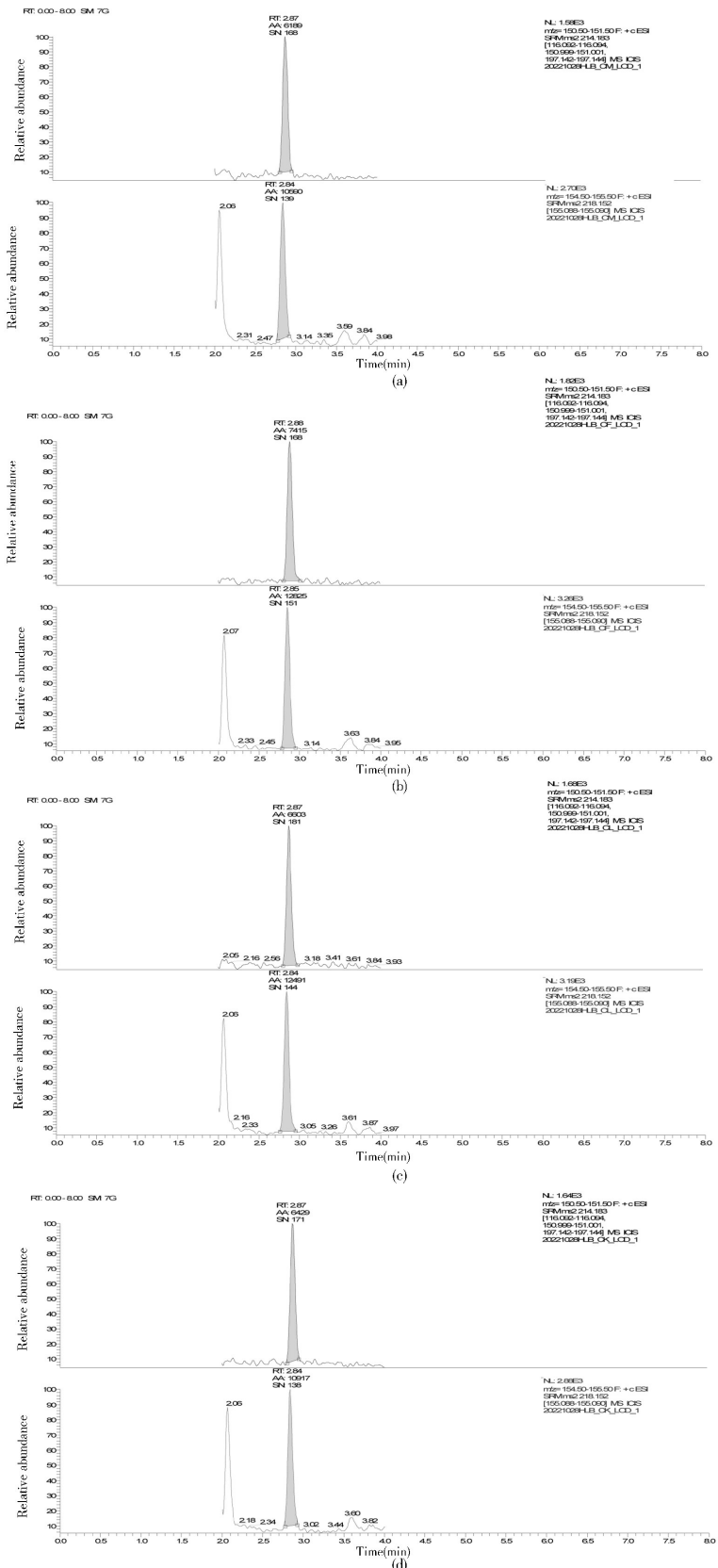
Fig 4 SRM chromatogram of baclofen LOD added in bovine edible tissue



(a) 空白羊肉; (b) 空白羊脂肪; (c) 空白羊肝; (d) 空白羊肾
 上方均为巴氯芬定量离子对通道; 下方均为巴氯芬 - D4 同位素内标定量离子对通道

图 5 空白羊可食性组织特征质量色谱图

Fig 5 SRM chromatogram of blank ovine edible tissue



(a)羊肉;(b)羊脂肪;(c)羊肝;(d)羊肾

上方均为巴氯芬定量离子对通道;下方均为巴氯芬-D4 同位素内标定量离子对通道
图 6 羊可食性组织中巴氯芬检测限含量添加(0.25 μg/kg)特征质量色谱图
Fig 6 SRM chromatogram of baicalifene LOD added in ovine edible tissue

表 3 牛可食性组织中巴氯芬残留量测定准确度和精密度 (n=6)
Tab 3 Accuracy and precision of determine the baclofen residue in bovine edible tissue (n=6)

样品	添加量/ ($\mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$)	批次	回收率/%						批内		批间	
									回收率均值/%	CV/%	回收率均值/%	CV/%
牛脂肪	0.5	I	108.77	108.04	106.68	106.30	109.06	106.99	107.64	1.07	105.32	2.6
		II	105.22	100.73	102.12	102.44	101.16	102.16	102.31	1.54		
		III	104.80	105.05	107.25	106.95	109.10	102.98	106.02	2.05		
	1.0	I	97.36	94.33	101.54	100.78	101.92	96.51	98.74	3.15	97.23	2.9
		II	93.57	95.12	99.92	96.87	95.56	93.53	95.76	2.50		
		III	93.08	98.33	99.00	96.57	96.77	99.38	97.19	2.38		
	2.5	I	88.38	87.87	91.56	90.89	87.92	90.07	89.45	1.80	89.57	2.1
		II	88.21	90.96	90.86	88.19	92.30	87.16	89.61	2.27		
		III	86.54	90.22	87.24	91.02	91.90	91.02	89.66	2.48		
牛肉	0.5	I	107.32	103.35	98.99	99.06	101.29	107.40	102.90	3.70	102.57	4.0
		II	96.93	99.10	101.04	105.79	96.38	104.93	100.70	3.96		
		III	108.67	103.90	106.25	105.51	104.25	96.12	104.12	4.10		
	1.0	I	102.05	97.89	101.10	96.71	93.37	95.71	97.81	3.36	97.21	2.9
		II	99.41	98.91	93.24	95.51	99.68	95.10	96.98	2.79		
		III	99.64	100.28	93.73	98.09	94.37	94.96	96.85	2.94		
	2.5	I	88.60	89.93	89.33	92.84	88.22	88.07	89.50	1.99	89.79	2.3
		II	88.50	91.69	91.71	93.19	89.76	88.62	90.58	2.10		
		III	91.48	87.50	86.78	87.78	88.97	93.18	89.28	2.83		
牛肝	0.5	I	99.01	96.84	97.68	106.79	96.88	104.46	100.28	4.27	102.10	4.3
		II	97.58	105.62	108.81	100.71	106.16	98.16	102.84	4.53		
		III	108.23	97.78	106.47	97.56	104.66	104.48	103.20	4.35		
	1.0	I	98.35	95.81	101.55	100.04	93.74	98.88	98.06	2.91	97.88	2.6
		II	97.79	95.48	98.29	101.43	95.16	101.63	98.30	2.84		
		III	99.82	100.80	96.06	94.39	95.68	96.94	97.28	2.57		
	2.5	I	90.59	93.05	88.05	88.86	92.44	90.86	90.64	2.15	90.45	2.6
		II	87.36	86.21	88.71	93.12	86.85	92.41	89.11	3.32		
		III	90.88	92.78	91.63	93.13	88.72	92.49	91.61	1.78		
牛肾	0.5	I	98.54	102.17	108.94	97.94	97.09	98.37	100.51	4.46	102.70	4.1
		II	107.89	107.00	108.95	108.57	102.18	102.58	106.20	2.85		
		III	98.98	103.70	104.65	103.03	98.60	99.41	101.40	2.65		
	1.0	I	100.09	98.80	95.04	99.09	96.03	99.71	98.13	2.12	97.89	2.9
		II	95.64	97.67	100.63	101.77	100.88	101.88	99.75	2.53		
		III	93.15	98.32	94.95	93.88	94.20	100.34	95.81	2.99		
	2.5	I	89.90	86.94	87.83	92.85	86.02	90.55	89.02	2.87	89.09	2.4
		II	89.49	92.60	89.90	86.43	87.93	92.81	89.86	2.81		
		III	86.65	90.60	87.36	89.11	88.48	88.24	88.41	1.56		

表 4 羊可食性组织中巴氯芬残留量测定准确度和精密度($n=6$)Tab 4 Accuracy and precision of determine the baclofen residue in ovine edible tissue($n=6$)

样品	添加量/ ($\mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$)	批次	回收率/%						批内		批间	
									回收率均值/%	CV/%	回收率均值/%	CV/%
羊脂肪	0.5	I	108.71	107.62	104.24	113.08	110.08	101.94	107.61	3.73	107.76	4.2
		II	103.29	103.55	105.68	115.35	106.05	113.43	107.89	4.81		
		III	103.78	101.73	104.64	109.73	111.11	115.74	107.79	4.92		
	1.0	I	90.23	91.19	91.75	90.75	89.52	92.57	91.00	1.20	90.74	1.1
		II	89.20	90.68	89.67	92.40	90.63	90.70	90.55	1.22		
		III	92.26	89.84	90.07	90.20	91.07	90.59	90.67	0.98		
	2.5	I	92.55	89.86	91.76	93.03	91.83	90.52	91.59	1.31	91.42	1.3
		II	92.97	91.64	89.65	91.06	91.20	92.69	91.54	1.32		
		III	92.31	90.18	92.75	89.82	90.33	91.43	91.14	1.33		
羊肉	0.5	I	115.85	114.89	107.67	105.06	109.66	104.95	109.68	4.33	109.52	3.9
		II	112.08	108.49	110.06	105.82	113.49	103.95	108.98	3.35		
		III	112.89	115.66	113.36	108.51	101.79	107.26	109.91	4.62		
	1.0	I	90.12	89.54	91.94	90.80	89.50	90.93	90.47	1.04	91.20	1.2
		II	91.08	89.24	92.51	91.38	92.76	92.01	91.50	1.40		
		III	91.73	92.02	92.91	90.50	91.33	91.32	91.63	0.88		
	2.5	I	90.28	92.98	91.49	89.81	89.64	89.56	90.63	1.50	90.57	1.0
		II	90.05	90.23	90.64	90.40	91.82	89.62	90.46	0.83		
		III	91.08	90.46	90.55	90.41	91.64	89.62	90.63	0.75		
羊肝	0.5	I	104.94	114.37	101.92	112.90	106.14	109.97	108.37	4.47	109.30	4.4
		II	114.27	116.49	112.04	107.06	101.69	112.68	110.71	4.89		
		III	113.77	113.15	104.74	110.14	109.06	102.13	108.83	4.24		
	1.0	I	91.08	90.46	89.95	90.95	91.28	92.59	91.05	0.98	90.92	1.3
		II	92.86	89.34	89.95	90.34	91.57	92.22	91.05	1.52		
		III	89.37	90.36	90.70	90.45	90.02	93.09	90.66	1.40		
	2.5	I	92.05	92.85	90.40	91.39	91.11	92.92	91.79	1.09	91.93	1.2
		II	92.58	89.84	92.84	91.29	93.10	89.56	91.54	1.70		
		III	92.74	92.28	92.89	92.96	92.17	91.81	92.48	0.50		
羊肾	0.5	I	113.51	105.77	102.30	111.41	109.57	104.72	107.88	3.99	108.33	3.5
		II	107.52	114.42	108.71	111.02	105.58	104.70	108.66	3.32		
		III	107.00	113.36	108.06	109.09	111.46	101.72	108.45	3.71		
	1.0	I	92.04	89.60	89.85	90.88	91.37	91.08	90.80	1.02	91.04	1.2
		II	90.14	90.19	91.25	91.95	90.33	92.66	91.09	1.15		
		III	89.97	90.40	92.06	92.30	89.60	93.07	91.23	1.56		
	2.5	I	89.84	90.23	91.16	89.72	89.76	91.29	90.33	0.79	90.90	1.1
		II	90.79	91.64	90.17	91.55	90.92	90.33	90.90	0.67		
		III	90.05	90.02	90.74	93.03	92.98	91.93	91.46	1.51		

参考文献:

- [1] Holajova M, Franek M. Effect of short - and long - term administration of baclofen on spatial learning and memory in rats [J]. *Physiological Research*, 2018, 67(1): 133 - 141.
- [2] Kraus T, Gegenleitner K, Svehlik M, *et al.* Long - term therapy with intrathecal baclofen improves quality of life in children with severe spastic cerebral palsy [J]. *European Journal of Paediatric Neurology*, 2017, 21(3): 565 - 569.
- [3] 姜曼, 张信芳. 巴氯芬联合腺苷钴胺治疗三叉神经痛的效果 [J]. *中国药物经济学*, 2022, 17(09): 105 - 107.
- Jiang M, Zhang X F. The effect of baclofen combined with adenosylcobalamin in the treatment of trigeminal neuralgia [J]. *China Journal of Pharmaceutical Economics*, 2022, 17(09): 105 - 107.
- [4] 任丽敏, 王磊, 李新旺. γ -氨基丁酸对药物成瘾的调节及机制 [J]. *中国药物滥用防治杂志*, 2008(03): 160 - 162.
- Ren L M, Wang L, Li X W. Regulation and mechanism of γ -aminobutyric acid on drug addiction [J]. *Chinese Journal of Drug Abuse Prevention and Treatment*, 2008(03): 160 - 162.
- [5] 肖敏, 郭莲军, 罗攀. 巴氯芬改善慢性脑缺血大鼠情感障碍的作用及其机制 [J]. *医药导报*, 2020, 39(05): 599 - 603.
- Xiao M, Guo L J, Luo P. Effect and mechanism of baclofen in alleviating the affective disorder in rats with chronic cerebral hypoperfusion [J]. *Herald of Medicine*, 2020, 39(05): 599 - 603.
- [6] 赵敏, 刘玥, 黄振光. 巴氯芬致肾功能不全者不良反应文献分析 [J]. *中国药物警戒*, 2020, 17(05): 296 - 299.
- Zhao M, Liu Y, Huang Z G. Systematic review on efficacy and safety of baclofen in the treatment of intractable hiccup [J]. *Chinese Journal of Pharmacovigilance*, 2020, 17(05): 296 - 299.
- [7] 康光明, 侯萍萍, 武俐君, 等. 都梁软胶囊联合巴氯芬片治疗慢性紧张型头痛的效果与安全性 [J]. *临床医学研究与实践*, 2022, 7(32): 139 - 141.
- Kang G M, Hou P P, Wu L J, *et al.* Effect and safety of Duliang soft capsule combined with baclofen tablets in the treatment of chronic tension - type headache [J]. *Clinical Research and Practice*, 2022, 7(32): 139 - 141.
- [8] 王霞, 康海燕. 中枢性肌松剂巴氯芬临床应用及不良反应 [J]. *临床医学*, 2011, 31(02): 114 - 115.
- Wang X, Kang H Y. Clinical application and adverse reactions of central muscle relaxant baclofen [J]. *Clinical Medicine*, 2011, 31(02): 114 - 115.
- [9] 严凤, 潘娟, 贡松松, 等. 超高效液相色谱 - 串联质谱法测定猪肉中巴氯芬的残留 [J]. *食品安全质量检测学报*, 2019, 10(11): 3390 - 3395.
- Yan F, Pan J, Gong S S, *et al.* Determination of baclofen in meat by ultra performance liquid chromatography - tandem mass spectrometry [J]. *Journal of Food Safety and Quality*, 2019, 10(11): 3390 - 3395.
- [10] 夏骏, 李勇, 徐国茂, 等. 固相萃取 - 液相色谱串联质谱法测定猪尿中的巴氯芬 [J]. *中国兽药杂志*, 2013, 47(05): 32 - 35.
- Xia J, Li Y, Xu G M, *et al.* Determination of baclofen in pig urine by high performance liquid chromatograph - tandem mass spectrometry [J]. *Chinese Journal of Veterinary Drug*, 2013, 47(05): 32 - 35.
- [11] 谢瑞满. 巴氯芬临床应用研究进展 [J]. *世界临床药物*, 2006, 27(3): 149 - 153.
- Xie R M. Research progress in clinical application of baclofen [J]. *World Clinical Drug*, 2006, 27(3): 149 - 153.
- [12] 杨淑珍. 用分光光度法测定巴氯芬 [J]. *国外医学·药学分册*, 1986(04): 256 - 257.
- Yang S Z. Determination of baclofen by spectrophotometer [J]. *Journal of International Pharmaceutical Research*, 1986(04): 256 - 257.
- [13] 黄朋勉, 陈巨涛, 吴莹, 等. 巴氯酚的高效液相色谱分析方法 [J]. *精细化工中间体*, 2014, 44(01): 64 - 66.
- Huang P M, Chen J T, Wu Y, *et al.* Analysis of baclofen by HPLC [J]. *Fine Chemical Intermediates*, 2014, 44(01): 64 - 66.
- [14] 曹丽伟, 胡杨. 毛细管电泳分离 - 激光诱导荧光检测血清中的巴氯芬 [J]. *光谱实验室*, 2011, 28(04): 1659 - 1662.
- Cao L W, Hu Y. Detection of baclofen in serum by capillary electrophoresis - laser induced fluorescence method [J]. *Chinese Journal of Spectroscopy Laboratory*, 2011, 28(04): 1659 - 1662.
- [15] 李阳, 苏晓鸥, 王培龙, 等. 超高效液相色谱 - 串联质谱法同时测定饲料中 3 种氯丙那林异构体和巴氯芬 [J]. *分析化学*, 2014, 42(04): 525 - 530.
- Li Y, Su X O, Wang P L, *et al.* Simultaneous determination of 3 kinds of isomers of clorprenaline and baclofen residues in feed by ultra performance liquid chromatography - tandem mass spectrometry [J]. *Chinese Journal of Analytical Chemistry*, 2014, 42(04): 525 - 530.
- [16] 辛晓晨, 鹿尘, 孙翠霞, 等. 通过式固相萃取/超高效液相色谱 - 串联质谱法测定鸡蛋中氯霉素、氟苯尼考和氟苯尼考胺残留 [J]. *中国食品卫生杂志*, 2022: 1 - 14.

- Xin X C, Lu C, Sun C X, *et al.* Determination of chloramphenicol, florfenicol and florfenicol amine residues in hen eggs by ultra - performance liquid chromatography - tandem mass spectrometry with pass - through solid extraction [J]. Chinese Journal of Food Hygiene, 2022; 1 - 14.
- [17] 吴剑平, 张婧, 贡松松, 等. 分散固相萃取结合液相色谱串联质谱法检测牛可食性组织中吡喹酮残留量[J]. 食品安全质量检测学报, 2019, 10(11): 3379 - 3389.
- Wu J P, Zhang J, Gong S S, *et al.* Determination of praziquantel in edible bovine tissues by dispersive solid phase extraction combined with liquid chromatography - tandem mass spectrometry [J]. Journal of Food Safety & Quality, 2019, 10 (11): 3379 - 3389.
- [18] 宋军, 艾连峰, 王敬, 等. 通过式固相萃取 - 液相色谱 - 串联质谱法快速测定中兽药制剂中硝基呋喃类药物[J]. 分析科学学报, 2021, 37(06): 807 - 813.
- Song J, Ai L F, Wang J, *et al.* Rapid determination of nitrofurans in traditional Chinese medicine for animals by liquid chromatography - tandem mass spectrometry with a through - type solid - phase extraction [J]. Journal of Analytical Science, 2021, 37(06): 807 - 813.

(编辑:李文平)