

doi:10.11751/ISSN.1002-1280.2021.10.03

农业执法案件中未知粉末的分析研究

熊 玥¹, 郑胜兰¹, 尹原妍¹, 吴 玲¹, 刘建晖^{1*}, 陈慧敏²

(1. 江苏省兽药饲料质量检验所, 南京 210036; 2. 上海爱博才思分析仪器贸易有限公司, 上海 200335)

[收稿日期] 2021-04-12 [文献标识码] A [文章编号] 1002-1280 (2021) 10-0014-11 [中图分类号] S859.79

[摘 要] 为了对农业执法案件中缴获的未知粉末进行分析研究, 采用超高效液相色谱-飞行时间高分辨质谱(UPLC-TOF-HRMS)获得未知物分子离子峰的精确质量数、天然同位素及高质量二级碎片信息, 并应用 SCIEX PeakView 及 MasterView 软件进行分析。经过靶向及非靶向筛查, 同时参考文献报道, 推导出未知粉末中的疑似化合物, 并采用高效液相色谱-二极管阵列检测器(HPLC-PDA)法及 UPLC-TOF-HRMS 法进行了双重确证。结果显示该未知粉末中含克仑特罗(16 g/kg)及其合成中间体克仑特罗杂质 B(455 g/kg)。研究中详述的分析技术可为未知添加物的筛查、确证提供思路和技术参考。

[关键词] 未知物; 筛查确证; 超高效液相色谱-飞行时间高分辨质谱; 高效液相色谱-二极管阵列检测器

Analysis of Unknown Powder in Agricultural Law Case

XIONG Yue¹, ZHENG Sheng-lan¹, YIN Yuan-yan¹, WU Lin¹, LIU Jian-hui^{1*}, CHEN Hui-min²

(1. Jiangsu Testing Institute of Veterinary Drug and Feed, Nanjing 210036, China;

2. Shanghai AB Sciex Analytical Instrument Trading Co., Ltd., Shanghai 200335, China)

Corresponding author: LIU Jian-hui, E-mail: liujianhuij@qq.com

Abstract: A study about the screening, analysis and confirmation of unknown compounds in agricultural law case had been implemented. First, the screening of the sample through ultra-performance liquid chromatography coupled with time of flight high resolution mass spectrometry (UPLC-TOF-HRMS) was carried out. Accurate mass of the precursor ion, isotopic intensity ratio, and characteristics of secondary ion fragments of two unknown substances were detected in the positive ion modes of mass spectrometry. Then this information was imported into SCIEX PeakView and MasterView software. Using targeted and non-targeted analysis technology combined with literature reports, unknown substances were presumed. Finally, double confirmation was accomplished by HPLC with photodiode array detector (HPLC-PDA) and UPLC-TOF-HRMS. Clenbuterol and clenbuterol impurity B as the unknown compounds were identified and detected at 16 g/kg and 455 g/kg respectively in this sample. The research may provide a technical reference for the screening and identifying of unknown additives.

Key words: unknown compound; screening and identifying; UPLC-TOF-HRMS; HPLC-PDA.

作者简介: 熊 玥, 高级兽医师, 从事兽药检验及非法添加物筛查研究工作。

通讯作者: 刘建晖。E-mail: liujianhuij@qq.com

近年来,由于养殖环节滥用兽药或饲料添加剂甚至违规使用禁用物质从而导致的食品安全问题时有报道,引起了人们的广泛关注^[1-2]。对于此类违法行为,农业农村部始终保持高压严打态势,不断更新发布相关的检验方法^[3-5]。然而不法分子受到利益驱使,在兽药或饲料中滥用其注册配方以外的非法添加物,手段新奇多样,种类频频更换。更有甚者直接将无生产许可证、无质量检验合格证、无产品标签的“三无”产品作为“秘方”销售给养殖户使用。对此,只有摸清产品中违规添加物的种类及其危害,才能有的放矢的制定相关国家标准,以满足监管需求。

目前,对于此类违规添加物的筛查主要基于两种模式。第一种是通过走访、调研、讯问后对样品进行研判,从而得到化合物的准确信息;如果未能获得有效信息,可利用高效液相色谱-二极管阵列检测(HPLC-PDA)法、超高效液相色谱-质谱(UPLC-MS)法、气相色谱-质谱(GC-MS)法等收集样品的信息,并将数据与已录入谱库的化合物进行比较,筛出疑似化合物种类。以上均可称为靶向筛查,得到目标化合物后,设计合理的实验方案确证即可^[6-7]。对于既无法获取确切信息又不在谱库中的未知物,其筛查鉴定主要依靠非靶向筛查模式,常借助高分辨质谱(HRMS)的全质量数采集功能,提取感兴趣的色谱峰,获得其精确质荷比及天然同位素分布;然后利用软件进行分子式拟合;最后通过高质量二级碎片信息进行结构解析,推测未知物的主要官能团和裂解途径,从而组成未知物的结构,再通过质谱、紫外光谱、红外光谱、核磁共振等方法进行多重确证^[8-9]。

本研究先后应用靶向及非靶向筛查技术对养殖环节中查获的“三无”产品进行了未知物的分析,通过超高压液相色谱-飞行时间高分辨质谱(UPLC-TOF-HRMS)采集的数据,推导出疑似化合物结构式;并采用 HPLC-PDA 法与 UPLC-TOF-HRMS 法对筛查发现的两种化合物进行了双重确证,以期为农业执法提供技术支持。

1 材料与方法

1.1 仪器 LC-30A 超高效液相色谱仪(日本 SHIMADZU 公司)-Triple TOF 4600 飞行时间高分辨质谱仪配 PeakView 及 MasterView 软件(美国 SCIEX 公司);ACQUITY Arc 高效液相色谱仪配 2998 二极管阵列检测器及 Empower 3 工作站(美国 Waters 公司);XS205DU 分析天平(瑞士 METTLER TOLEDO 公司)。

1.2 药品与试剂 待测未知粉末为某市公安局涉农案件查处过程中缴获的“三无”产品(性状:灰黄色粉末)。盐酸克仑特罗对照品购自中国食品药品检定研究院(批号 100072-201503;按克仑特罗($C_{12}H_{18}Cl_2N_2O$)计,含量为 90.5%);盐酸克仑特罗杂质 B 对照品购自 EDQM(批号 C2248010;含量为 100.0%)。甲醇、乙腈、甲酸为色谱纯(美国 MERCK 公司);所用水为超纯水。

1.3 溶液的制备

1.3.1 供试品溶液的制备 取未知粉末约 0.5 g,精密称定,置 100 mL 量瓶中,加甲醇适量,超声处理 10 min,冷却至室温,用甲醇定容至刻度,摇匀,滤过,取滤液作为 HPLC-PDA 供试品确证溶液。精密量取 HPLC-PDA 供试品确证溶液 1 mL,置 100 mL 量瓶中,加甲醇-水(1:9,V/V)溶液稀释至刻度,摇匀,滤过,取滤液作为 UPLC-TOF-HRMS 供试品初筛及确证溶液。

1.3.2 对照品溶液的制备 取盐酸克仑特罗及盐酸克仑特罗杂质 B 对照品各约 10 mg,精密称定,分别置 100 mL 量瓶中,加甲醇溶解并稀释至刻度,摇匀;用甲醇-水(1:1,V/V)溶液稀释制成每 1 mL 含 50 μ g 的溶液,摇匀,作为 HPLC-PDA 对照品确证溶液。用甲醇-水(1:9,V/V)溶液将 HPLC-PDA 对照品确证溶液稀释制成每 1 mL 含 100 ng 的溶液,摇匀,作为 UPLC-TOF-HRMS 对照品确证溶液。

1.4 仪器条件

1.4.1 UPLC-TOF-HRMS 法条件 ACQUITY UPLC HSS T3 C18 色谱柱(100 mm $\times$ 2.1 mm,1.7 μ m);柱温:40 $^{\circ}$ C;进样体积:5 μ L;流速:0.3 mL/min;流动相 A 为 0.1% 甲酸水溶液,流动相 B 为 0.1% 甲

酸乙腈溶液,梯度洗脱:0~1.0 min,保持 98% A; 1.0~8.0 min,98% A~55% A;8.0~10.0 min, 55% A~2% A;10.0~12.0 min,保持 2% A;12.0~12.1 min,2% A~98% A;12.1~16 min,保持 98% A。采用 ESI 离子源,在正离子模式下采集数据,电喷雾电压为 5500 V,离子源温度为 500 ℃,雾化气(氮气)压力为 344.75 kPa(50 psi),辅助雾化气(氮气)压力为 344.75 kPa(50 psi),气帘气(氮气)压力为 172.37 kPa(25 psi);一级质谱扫描范围为 50~1000 Da,去簇电压为 60 V;碰撞能量为 10 eV;二级质谱扫描范围为 40~1000 Da,去簇电压为 60 V,碰撞能量(CE)为 35 eV,碰撞电压扩展能量(CES)为 15 eV;开启动态背景扣除(DBS)。

1.4.2 HPLC-PDA 法条件 XBridge C18 色谱柱(150 mm × 4.6 mm,5 μm);柱温:30 ℃;进样体积:10 μL;流速:1.0 mL/min;流动相 A 为 0.1% 甲酸水

溶液,流动相 B 为 0.1% 甲酸乙腈溶液,梯度洗脱:0~10.0 min,95% A~40% A;10.0~11.0 min, 40% A~95% A;11.0~16 min,保持 95% A。二极管阵列检测器,采集波长范围 190 nm~400 nm,分辨率 1.2 nm,记录 276 nm 波长处的色谱图。

2 结果与分析

2.1 “三无”产品中未知物的发现与初步分析 按 1.4.1 项条件采集正离子模式下 UPLC-TOF-HRMS 供试品初筛溶液的色谱图,对总离子流图进行基峰提取(即把一段时间内响应比较高的信号提取出来,简称 BPC),可见保留时间 6.50 min(未知物 1)及 6.69 min(未知物 2)处有较强响应(图 1)。借助 MasterView 软件与自建化合物谱库(主要为常见兽药及养殖禁用药物)进行检索,并使用 PeakView 软件对分子式进行拟合,参考文献报道推导未知物结构。

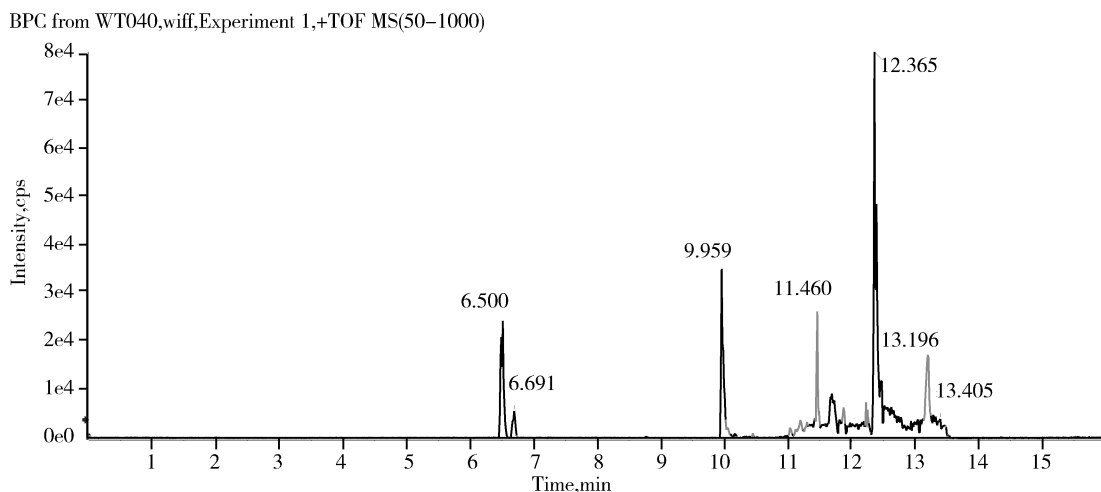


图 1 UPLC-TOF-HRMS 供试品初筛溶液正离子模式下的 BPC 图

Fig 1 Base peak chromatogram (BPC) of test solution in positive ion mode

2.1.1 未知物 2 结构式的分析推测 保留时间 6.69 min 的未知物 2,精确质荷比为 277.0870(图 2),其母离子裂解产生 m/z 259.0761、203.0135、168.0443、132.0670、57.0693 的二级特征碎片离子(图 3),与谱库中化合物克仑特罗的二级碎片匹配度高达 99.2%。其母离子精

确质量数与克仑特罗的理论质量数(m/z 为 277.0869)偏差仅为 0.2×10^{-6} ,天然同位素匹配度高,二级碎片与文献报道中克仑特罗的裂解碎片一致^[10-11](图 4)。结合该产品最终将用于养殖环节等信息,推测未知物 2 为养殖禁用药物“瘦肉精”克仑特罗。

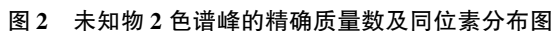


Fig 2 Precise m/z , natural isotope distribution of unknown compound 2

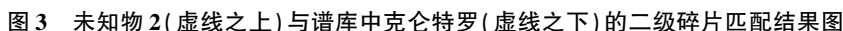


Fig 3 Matching diagrams between unknown compound 2 and clenbuterol in the library

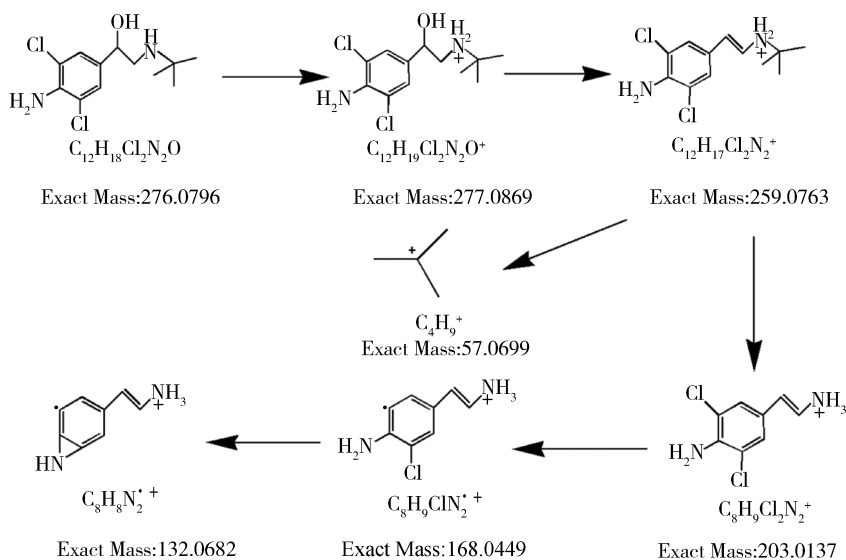


图4 文献报道的克仑特罗裂解途径

Fig 4 Fragmentation pathway of clenbuterol

2.1.2 未知物 1 结构式的分析推测 保留时间 6.50 min 的未知物 1, 精确质荷比为 275. 0716 (图 5), 借助 PeakView 软件中的分子式拟合功能对其分子式进行预测, 结合其母离子的同位素丰度比(图 5), 元素组成设置为有机物常见的 C、H、O、N、S、P、F、Cl、Br, 允许误差范围设置为 5×10^{-6} , 软件计算出质量数偏差最小结果为 $C_{12}H_{16}Cl_2N_2O$ (m/z 为 275. 0712), 质量相对误差 1.3×10^{-6} , 同位素匹

配(图 5、表 1), 该分子式相较于克仑特罗分子式少 2 个 H。该峰主要二级碎片 m/z 200. 9978 推测分子式为 $C_8H_7Cl_2N_2$ 、 m/z 166. 0291 推测分子式为 $C_8H_7ClN_2$ (图 6), 均比克仑特罗主要二级碎片分子式 $C_8H_9Cl_2N_2$ 、 $C_8H_9ClN_2$ 少 2 个 H, 推测该未知化合物与克仑特罗结构相似, 可能为其类似物。排名第二的预测分子式 $C_9H_{17}N_2O_2FCl_2$, 其不饱和度 (RDB) 仅为 1, 二级碎片偏差也较大, 故未做分析。

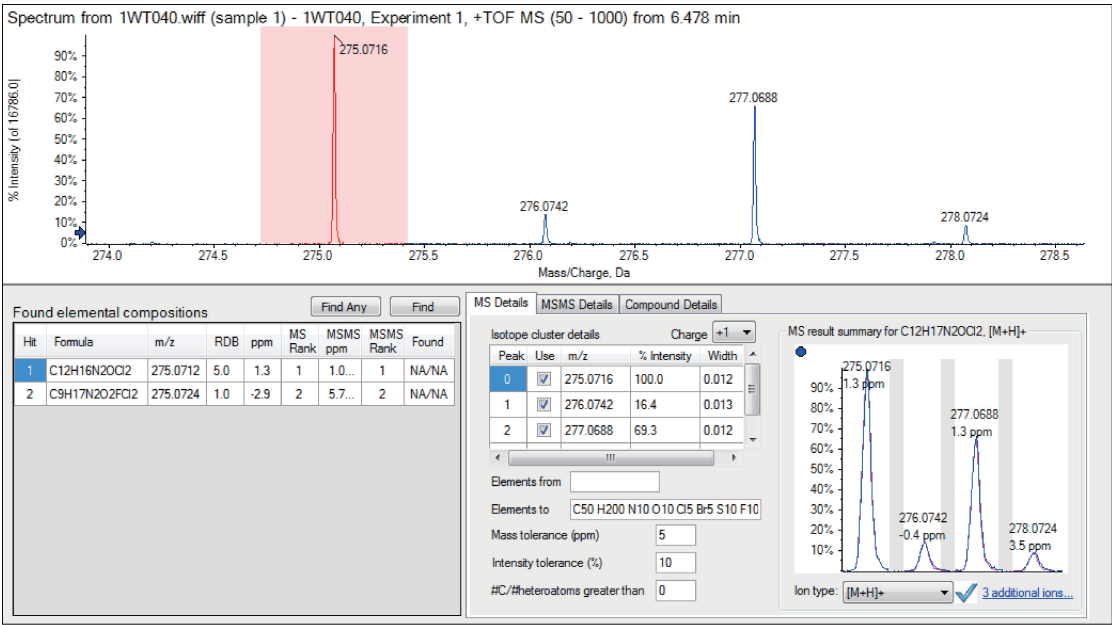


图 5 未知物 1 色谱峰的精确质量数及同位素分布图及软件对于未知物 1 分子式的推测结果

Fig 5 Precise m/z , natural isotope distribution and molecular formula calculation of unknown compound 1

表 1 软件推测的未知物 1 可能的分子式及排名

Tab 1 Formula prediction and ranking of unknown compound 1 by software

序号	分子式	m/z	不饱和度	MS 偏差	MS 排名	MSMS 偏差	MSMS 排名
1	$C_{12}H_{16}N_2OCl_2$	275. 0712	5.0	1.3×10^{-6}	1	1.0×10^{-6}	1
2	$C_9H_{17}N_2O_2FCl_2$	275. 0724	1.0	-2.9×10^{-6}	2	5.7×10^{-6}	2

查阅国内外文献,未发现关于分子式为 $C_{12}H_{16}Cl_2N_2O$ 的“瘦肉精”的报道,仅发现在克仑特罗的合成工艺^[12]中给出克仑特罗合成中间体为 $C_{12}H_{16}Cl_2N_2O$ (图 7),该结构式与欧洲药典(EP)中克仑特罗杂质 B 相同。克仑特罗与克仑特罗杂质 B 的主要结构区别为苯乙醇胺部分,羟基变成了酮基

(图 8、图 9)。参考克仑特罗裂解途径,推导出克仑特罗杂质 B 可能的裂解途径(图 10),与未知物 1 的二级碎片基本吻合,由此推测未知物 1 为克仑特罗杂质 B。

2.2 未知物的确证

2.2.1 HPLC - PDA 法确证 取 HPLC - PDA 供试

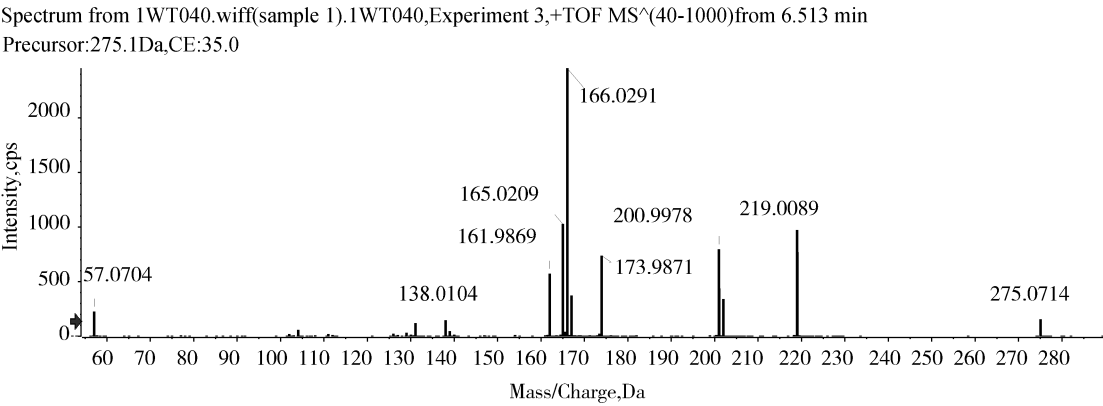


图 6 未知物 1 的二级碎片图

Fig 6 fragment ion spectrum from unknown compound 1

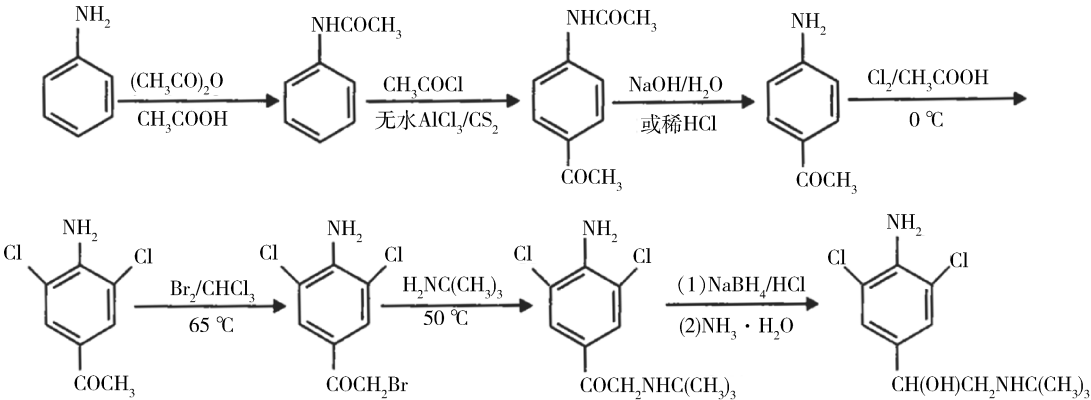


图 7 文献报道的克仑特罗合成工艺图

Fig 7 Synthesis process of clenbuterol

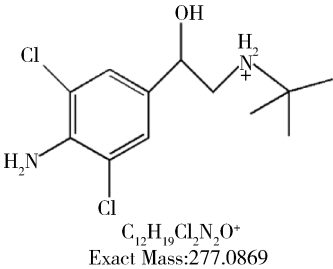


图 8 克仑特罗结构式

Fig 8 Structure of clenbuterol

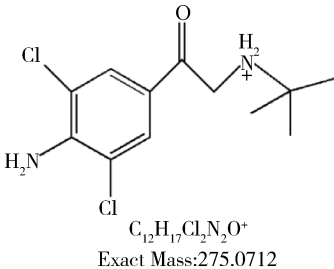


图 9 克仑特罗杂质 B 结构式

Fig 9 Structure of clenbuterol impurity B

品确证溶液、HPLC - PDA 对照品确证溶液，按 1.4.2 项条件分别进样。将 HPLC - PDA 供试品确证溶液色谱图中未知物 1 及未知物 2 的色谱峰分别与 HPLC - PDA 对照品确证溶液中主峰的保留时间及紫外光谱图进行比对。在该试验条件下，

HPLC - PDA 供试品确证溶液色谱图中未知物 1 色谱峰与对照品溶液中克仑特罗杂质 B 的保留时间一致，紫外光谱无明显差异；未知物 2 色谱峰与对照品溶液中克仑特罗对照品的保留时间一致，紫外光谱无明显差异（图 11、图 12）。依据农业农村部

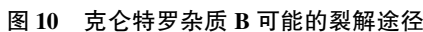


Figure 1 displays the mass spectra and UV-Vis spectra of two unknown compounds, labeled 1 and 2.

The top row shows the mass spectra. The x-axis represents the mass-to-charge ratio (m/z) from 198.00 to 396.00. The y-axis represents relative intensity. For unknown compound 1, the major peaks are labeled at m/z 216.9, 245.2, and 320.2. For unknown compound 2, the major peaks are labeled at m/z 214.0, 244.0, and 297.5.

The bottom row shows the UV-Vis spectra. The x-axis represents the wavelength in nanometers (nm) from 0.00 to 12.00. The y-axis represents Absorbance Units (AU) from 0.00 to 0.24. For unknown compound 1, the major peaks are labeled at 6.175 nm and 6.395 nm. For unknown compound 2, the major peak is labeled at 6.175 nm.

Fig 11 Chromatograms and UV spectra of test solution

公告第 289 号《兽药中非特定非法添加物质检查方法》液相色谱-二极管阵列法^[3]进行结果判定,供试品色谱图中如出现与对照品峰保留时间一致的色谱峰(差异不大于±5%);在一定的波长范围内,两者光谱图无明显差异;最大吸收波长一致(差异不大于±2 nm),判定该未知粉末中检出克仑特罗杂质 B 及克仑特罗。

2.2.2 UPLC-TOF-HRMS 法确证 在相同条件下,采集克仑特罗杂质 B 对照品、克仑特罗对照品的二级谱图并载入软件谱库中。使用 MasterView 软件进行靶向分析:未知物 1 与克仑特罗杂质 B 对照品保留时间一致,母离子精确质量数的实测值与

理论计算值偏差为 0.8×10^{-6} ,二级质谱图匹配,见图 13;未知物 2 与克仑特罗对照品保留时间一致,母离子精确质量数的实测值与理论计算值偏差为 0.2×10^{-6} ,二级质谱图匹配,见图 3。参照农业农村部公告第 289 号《兽药中非特定非法添加物质检查方法》液相色谱-高分辨质谱法^[3]进行结果判定,供试品色谱图中如出现与对照品峰保留时间一致的色谱峰(保留时间相对偏差 $\leq 2.5\%$);供试品与对照品分子离子峰的质量数偏差 $\leq 5 \times 10^{-6}$,且二级质谱图与对照品的二级质谱图一致,判定该未知粉末中检出克仑特罗杂质 B 及克仑特罗。

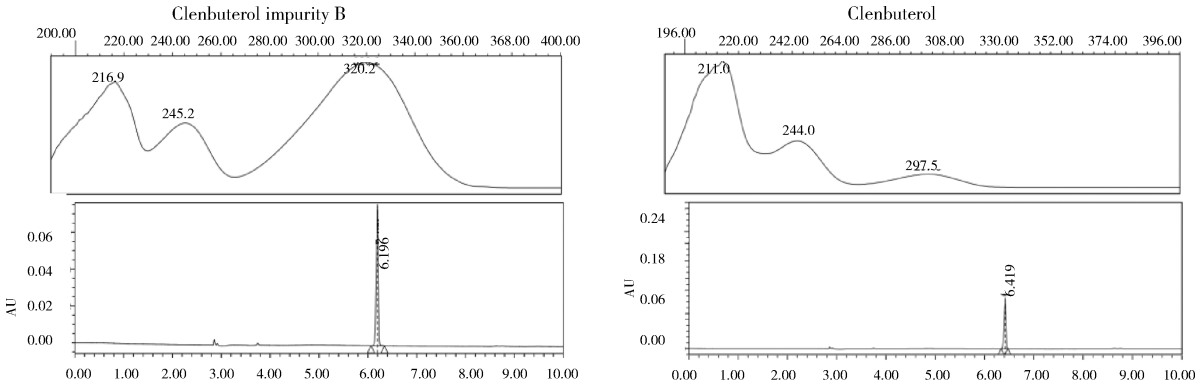


图 12 对照品溶液中克仑特罗杂质 B 和克仑特罗的色谱图及紫外光谱图

Fig 12 Chromatograms and UV spectra of clenbuterol impurity B and clenbuterol standards

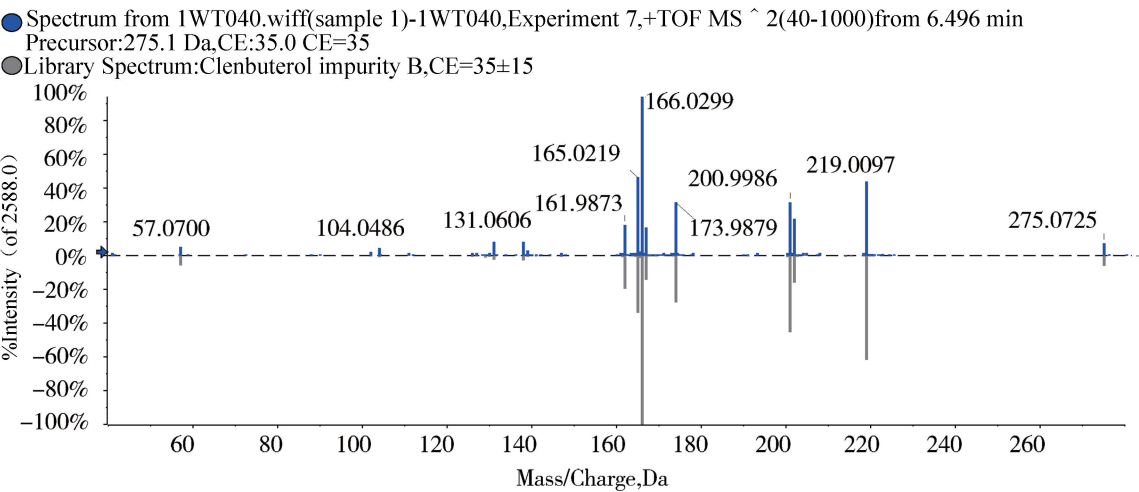


图 13 未知物 1(虚线之上)与谱库中克仑特罗杂质 B(虚线之下)的匹配结果图

Fig 13 Matching diagrams between unknown compound 1 and clenbuterol impurity B in the library

3 讨论与结论

3.1 样品前处理及仪器方法的选择 对于未知样品来说,前处理方法是否合适直接关系到化合物的检出率。HRMS 借助超高的分辨率可以区分复杂背景中的杂质及共流出物,降低了对样品前处理的要求^[13]。本样品加入甲醇超声后即可全部溶解,为防止出现溶剂效应,本实验采用了不同比例的甲醇-水溶液作为后续稀释液。为使不同极性的化合物均有可能分离流出,未知物筛查流动相一般采用有机相由低到高的梯度洗脱。HRMS 一般不需要使用对照品来优化仪器参数^[13], SCIEX QTOF 系列常采用 35 ± 15 eV 或者 40 ± 20 eV 作为未知物筛查时二级质谱采集的 CE 及 CES,该条件下采集的二级裂解碎片基本可以满足一般化合物的分析需求。

3.2 克仑特罗及克仑特罗杂质 B 添加原因分析 “瘦肉精”是一类可用来促进动物体肌肉生长、脂肪代谢,增加瘦肉比例的药物的俗称^[14],当消费者食用含有“瘦肉精”残留的动物产品时,会对其心血管和中枢神经系统产生不利影响,严重的可引发中毒^[15]。我国在 2002 年就已严禁“瘦肉精”作为兽药和饲料添加剂应用于食品动物的养殖环节^[16-17]。但是在利益面前,违法生产销售使用“瘦肉精”的行为仍然屡禁不止。经 HPLC 法定量分析,该“三无”产品中约含克仑特罗 16 g/kg;约含克仑特罗杂质 B 455 g/kg。在养殖环节中检出克仑特罗杂质 B 属于首次报道,其与“瘦肉精”克仑特罗结构相似,目前未查询到有关克仑特罗杂质 B 药理及毒理方面的文献报道,使用后可能出现不确定的风险,需要引起有关部门的重视。本案结案后,警方反馈,在检测结果面前,“三无”产品生产商交代,因克仑特罗合成的收率太低,故添加大量克仑特罗合成中间体(即克仑特罗杂质 B)进行销售以降低成本,由此也佐证了研究结果。

3.3 结论与展望 本文介绍了一种使用 UPLC -

TOF - HRMS 对执法送检样品进行未知化合物筛查确证的分析研究方法,为案件的侦破提供了强有力的技术支持。HRMS 采取的是高分辨率的全扫描数据采集模式,具有扫描速率快、质量范围宽等特点,生成的文件具有可回顾性,便于对历史数据进行重新分析。运用高精度分子质量、同位素丰度信息结合软件的强大计算功能,可进行谱库检索、分子式预测及结构解析。因此,应用 HRMS 技术进行定性筛查已经成为了一种趋势^[18-19]。目前我国瘦肉精监管主要集中在以克仑特罗、沙丁胺醇、莱克多巴胺等^[14]为代表的传统“瘦肉精”,不法商贩为了逃避监管和处罚,近几年衍生出了苯乙醇胺 A、赛庚啉等许多新型“瘦肉精”药物^[20],隐蔽性更高,安全隐患更大,给“瘦肉精”的监管带来了极大的挑战。因此提高“瘦肉精”、尤其是新型“瘦肉精”及其他用于养殖环节中的违规添加物的检测技术,刻不容缓。

参考文献:

- [1] 农业农村部新闻办公室. 农业农村部派出工作组督促查处肉羊养殖违禁使用“瘦肉精”行为[EB/OL]. (2021-03-15) [2021-04-11] http://www.moa.gov.cn/xw/zwdt/202103/t20210315_6363733.htm.
Ministry of Agriculture and Rural Affairs Information Office. The Ministry of Agriculture and Rural Affairs has sent a working group to urge and punish the illegal using clenbuterol in mutton and sheep breeding [EB/OL]. (2021-03-15) [2021-04-11] http://www.moa.gov.cn/xw/zwdt/202103/t20210315_6363733.htm.
- [2] 农业农村部办公室. 农业农村部办公厅关于 2017 年度查处兽药违法行为典型案例的通报[EB/OL]. (2018-08-20) [2021-04-11] http://www.moa.gov.cn/nybgb/2018/201808/201809/t20180922_6157870.htm.
Ministry of Agriculture and Rural Affairs Office. Notification of the General Office of the Ministry of Agriculture and Rural Affairs on circular with typical cases of illegal behavior of veterinary drugs in 2017 [DB/OL]. (2018-08-20) [2021-04-11] http://www.moa.gov.cn/nybgb/2018/201808/201809/t20180922_6157870.htm.

- [3] 农业农村部. 中华人民共和国农业农村部公告第 289 号[S]. Ministry of Agriculture and Rural Affairs. No.289 Bulletin of the Ministry of Agriculture and Rural Affairs of the People's Republic of China[S].
- [4] 农业农村部. 中华人民共和国农业农村部公告第 197 号[S]. Ministry of Agriculture and Rural Affairs. No.197 Bulletin of the Ministry of Agriculture and Rural Affairs of the People's Republic of China[S].
- [5] 农业农村部. 中华人民共和国农业农村部公告第 312 号[S]. Ministry of Agriculture and Rural Affairs. No.312 Bulletin of the Ministry of Agriculture and Rural Affairs of the People's Republic of China[S].
- [6] 姚婷, 刘钧, 王继彤, 等. 宠物饲料中药物及违禁添加物的分析研究[J]. 饲料研究, 2019, 42(1): 83–88.
Yao T, Liu J, Wang J T, *et al.* Research of analysis on drugs and undesirable substances in pet feed [J]. Feed Research, 2019, 42(1): 83–88.
- [7] 熊玥, 宋慧敏, 汪云花, 等. HPLC–PDA 法同时测定硫酸新霉素可溶性粉中非法添加 4 种化学药物[J]. 中国兽药杂志, 2018, 52(11): 40–46.
Xiong Y, Song H M, Wang Y H, *et al.* Simultaneous determination of four kinds of illegally added chemical drugs in Neomycin Sulfate Soluble Powder by HPLC–PDA [J]. Chinese Journal of Veterinary Drug, 2018, 52(11): 40–46.
- [8] 宋慧敏, 熊玥, 汪云花, 等. HPLC–PDA 联合 UPLC–Triple TOF MS 法确证恩诺沙星注射液中的非法添加物[J]. 中国兽药杂志, 2021, 55(8): 54–59.
Song H M, Xiong Y, Wang Y H, *et al.* Identification of illegal additive in enrofloxacin injection by UPLC–Triple TOF MS and HPLC–PDA method [J]. Chinese Journal of Veterinary Drug, 2021, 55(8): 54–59.
- [9] 熊玥, 汪澄, 刘建晖, 等. 恩诺沙星粉中未知添加物的确证[J]. 色谱, 2021, 39(6): 633–641.
Xiong Y, Wang C, Liu J H, *et al.* Confirmation of unknown additives in enrofloxacin powder [J]. Chinese Journal of Chromatography, 2021, 39(6): 633–641.
- [10] 应永飞, 朱聪英, 周炜, 等. β –受体激动剂质谱裂解特征研究[J]. 中国兽药杂志, 2015, 49(1): 52–57.
Ying Y F, Zhu C Y, Zhou W, *et al.* Study on mass spectral characteristics of β –receptor agonists [J]. Chinese Journal of Veterinary Drug, 2015, 49(1): 52–57.
- [11] 王聪, 梁瑞强, 钮正睿, 等. 7 个 β –受体激动剂的电喷雾质谱裂解规律研究[J]. 药物分析杂志, 2018, 38(8): 1419–1426.
Wang C, Liang R Q, Niu Z R, *et al.* Fragmentation pattern analysis of 7 β –adrenergic agonists by electrospray ionization mass spectrometry [J]. Chinese Journal of Pharmaceutical Analysis, 2018, 38(8): 1419–1426.
- [12] 张坐省. “ β –兴奋剂”–克仑特罗的合成研究[J]. 西北农林科技大学学报(自然科学版), 2002(6): 225–228.
Zhang Z X. Study on the synthesis of clenbuterol, a “ β –stimulant” [J]. Journal of Northwest A & F University (Natural Science Edition), 2002(6): 225–228.
- [13] 李晓雯, 沈保华, 卓先义. 液相色谱–高分辨质谱联用技术在毒物筛选分析中的应用[J]. 法医学杂志, 2011, 27(5): 376–381.
Li X W, Shen B H, Zhuo X Y. Application of liquid chromatography–high resolution mass spectrometry in toxicological screening [J]. Journal of Forensic Medicine, 2011, 27(5): 376–381.
- [14] 杨菲, 王培龙, 石雷, 等. β –受体激动剂速测技术研究[J]. 农产品质量与安全, 2015, 25(4): 41–47.
Yang F, Wang P L, Shi L, *et al.* Study on rapid measurement technology of β –adrenergic agonists [J]. Quality and Safety of Agro–Products, 2015, 25(4): 41–47.
- [15] 李松杨. 瘦肉精中毒性心脏损害迁延不愈 1 例报告[J]. 中国医药科学, 2020, 10(20): 244–247.
Li S Y. A case report of delayed healing toxic cardiac damage caused by clenbuterol [J]. China Medicine and Pharmacy, 2020, 10(20): 244–247.
- [16] 农业部. 中华人民共和国农业部公告第 176 号[S]. Ministry of Agriculture. Announcement No. 176 of the Ministry of Agriculture of the People's Republic of China[S].
- [17] 农业部. 中华人民共和国农业部公告第 193 号[S]. Ministry of Agriculture. Announcement No. 193 of the Ministry of Agriculture of the People's Republic of China[S].
- [18] 杜秋瑶, 张云峰, 王继芬, 等. 超高效液相色谱–四极杆–飞行时间质谱法定性筛查和定量分析血液中 110 种农药[J]. 理化检验(化学分册), 2020, 56(8): 851–864.
Du Q Y, Zhang Y F, Wang J F, *et al.* Qualitative screening and quantitative analysis of 110 pesticides in blood by ultra–high performance liquid chromatography–quadrupole–time of flight mass spectrometry [J]. Physical Testing and Chemical Analysis (Part B: Chemical Analysis), 2020, 56(8): 851–864.

- [19] 孙兴权, 赵禹, 杨春光, 等. 液相色谱-高分辨质谱联用技术在食品欺诈检测鉴别中的应用[J]. 色谱, 2016, 34(7): 647-656.

Sun X Q, Zhao Y, Yang C G, *et al.* Application of liquid chromatography-high resolution mass spectrometry in the identification and detection of food fraud[J]. Chinese Journal of Chromatography, 2016, 34(7): 647-656.

- [20] 曹金博, 王耀, 李燕虹, 等. 食品中“新型瘦肉精”的检测方法研究进展[J]. 安徽农业科学, 2019, 47(8): 1-4.

Cao J B, Wang Y, Li Y H, *et al.* Research progress of new type lean meat powder detection methods in food[J]. Journal of Anhui Agricultural Sciences, 2019, 47(8): 1-4.

(编辑:李文平)