

固相萃取-超高效合相色谱法测定猪肉中氟苯尼考对映体及其代谢物氟苯尼考胺的含量

张文华^{1,2}, 胡起立^{1,2}, 侯建波^{1,2}, 毛壬熠², 徐可², 王良莉², 谢文^{1,2}, 徐敦明³, 沈伟健⁴

(1. 杭州海关技术中心, 杭州 310016; 2. 浙江省检验检疫科学技术研究院, 杭州 310016;

3. 厦门海关技术中心, 厦门 361013; 4. 南京海关动植物与食品检测中心, 南京 210019)

摘要:在 10.0 g 猪肉样品中加入含 3% (体积分数) 氨水的乙酸乙酯溶液 25 mL, 涡旋 1 min 混匀, 离心 5 min, 所得沉淀用上述方法再重复提取一次。合并两次提取液, 于 40 °C 减压浓缩至近干, 用 10 mL 磷酸盐缓冲溶液 (pH 6.0) 溶解残渣。所得溶液过活化好的 HLB 固相萃取柱, 用 10 mL 水淋洗, 真空抽柱 1 min, 用 6 mL 甲醇洗脱。收集洗脱液, 于 40 °C 氮吹至近干, 加入体积比 8:2 的正庚烷-异丙醇混合溶液 1 mL, 涡旋 3 min 溶解残渣, 过 0.22 μm 有机滤膜, 滤液供超高效合相色谱仪分析。采用 CHIRALPAK AD-3 手性色谱柱作固定相, 设置柱温 40 °C, 系统背压 13.8 MPa, 以不同体积比的超临界二氧化碳和含 0.5% (体积分数) 氨水的甲醇溶液的混合溶液为流动相进行梯度洗脱, 在检测波长 224 nm 处用外标法测定 (-)-氟苯尼考、(+)-氟苯尼考及它们的代谢物氟苯尼考胺的含量。结果显示: 3 种目标化合物的质量浓度在 0.50~20.00 mg·L⁻¹ 内与其对应的峰面积呈线性关系, 测定下限为 0.05 mg·kg⁻¹ [(-)-氟苯尼考和(+)-氟苯尼考] 和 0.1 mg·kg⁻¹ (氟苯尼考胺)。以阴性猪肉样品为基质进行 3 个浓度水平的加标回收试验, 3 种目标化合物的回收率为 81.2%~107%, 测定值的相对标准偏差 (n=6) 为 5.0%~9.0%。方法用于 20 份猪肉样品的分析, 仅在 1 份样品中检出 (-)-氟苯尼考 (248 μg·kg⁻¹)。

关键词:超高效合相色谱法; 氟苯尼考对映体; 手性分离; 氟苯尼考胺; 猪肉

中图分类号: O658

文献标志码: A

文章编号: 1001-4020(2022)05-0575-06

氟苯尼考 (FF) 又称氟甲砜霉素, 是一种新型的氯霉素类动物专用抗生素, 主要代谢产物为氟苯尼考胺 (FFA)^[1-2], 具有抗菌谱广、高效、安全等特点, 在防治畜禽养殖过程中的细菌性疾病方面有广泛应用^[3-4]。氟苯尼考在畜禽动物体内的半衰期长、分布较广, 人长期食用氟苯尼考残留量超标的畜禽产品, 可能产生头晕、呕吐、腹泻、过敏等症状。氟苯尼考存在两种对映体^[5], 分别为 (-)-氟苯尼考左旋体 [(-)-FF] 和 (+)-氟苯尼考右旋体 [(+)-FF]。其中 (-)-氟苯尼考左旋体具有抗菌活性, 而 (+)-氟苯尼考右旋体无活性甚至对 (-)-氟苯尼考的活性

有一定抑制作用^[6-8]。GB 31650-2019^[9] 只规定猪肉中氟苯尼考及其代谢物氟苯尼考胺总残留限量为 300 μg·kg⁻¹, 并未单独规定对映体及代谢物的残留量。如果能进一步研究氟苯尼考的两种对映体及其代谢物氟苯尼考胺在猪肉中的残留量, 将为氟苯尼考对映体残留分析提供更精准的判定。

目前国内外检测氟苯尼考对映体的方法主要为高效液相色谱法^[7-8, 10-12]。该方法分离度好, 但存在检测时间较长、有机试剂消耗量大等问题, 无法实现样品的快速分离检测。因此, 开发一种快速、高效的检测方法具有广泛的应用前景。超高效合相色谱法 (UPC²) 主要以超临界状态的二氧化碳为流动相主体, 加入少量甲醇、乙腈、异丙醇等助溶剂, 通过调节柱温、系统背压及助溶剂的比例来改变二氧化碳的密度和洗脱能力, 从而精确调控目标化合物的分离, 该方法对结构相似的手性化合物具有很好的分离效

收稿日期: 2021-12-09

基金项目: 国家重点研发计划项目 (2019YFC1605400); 海关总署科研项目 (2020HK196); 浙江省科技计划项目 (2018C37014)

作者简介: 张文华, 高级工程师, 博士, 研究方向为食品中药物残留分析, zwh@zaiq.org.cn

果^[13-17],但还未见其在氟苯尼考对映体的分离及残留量测定分析中的报道。鉴于此,本工作开发了UPC²分离和测定两种氟苯尼考对映体及其代谢物氟苯尼考胺含量的方法,并应用于猪肉中氟苯尼考及其代谢物的分离和残留量的测定,以期为畜禽类产品中的氟苯尼考对映体及代谢物残留测定提供技术支持。

1 试验部分

1.1 仪器与试剂

Acquity 型超高效合相色谱仪;AE260 型电子天平;R215 型旋转蒸发仪;ELGA CLXXXUVM2 型超纯水净化系统;MS2 型涡旋混匀器;N-EVAPTM 111 型氮吹仪;Oasis HLB 固相萃取柱(3 mL,60 mg)。

单标准储备溶液:1.0 g·L⁻¹,取两种氟苯尼考对映体和氟苯尼考胺标准品各 0.01 g(精确至 0.1 mg),用甲醇溶解并定容至 10 mL 容量瓶中。

混合标准溶液系列:取一定量的两种氟苯尼考对映体和氟苯尼考胺的单标准储备溶液,用体积比 8:2 的正庚烷-异丙醇混合溶液逐级稀释,配制成 0.50,1.00,2.00,4.00,10.00,20.00 mg·L⁻¹ 的混合标准溶液系列。

磷酸盐缓冲溶液:pH 6.0,取 8.00 g 磷酸氢二钾和 2.00 g 磷酸二氢钾,用水溶解并定容至 1 L 容量瓶中。

氟苯尼考胺标准品的纯度不小于 99.7%;(-)-氟苯尼考和(+)-氟苯尼考标准品的纯度不小于 99.0%。

乙腈、甲醇、乙醇、异丙醇、正庚烷、乙酸乙酯均为色谱纯;氨水、磷酸氢二钾、磷酸二氢钾均为分析纯;二氧化碳纯度为 99.999%;其他所用试剂均为分析纯;试验用水为超纯水。

1.2 仪器工作条件

CHIRALPAK AD-3 手性色谱柱(150 mm×3.0 mm,3 μm),填料为直链淀粉-三(3,5-二甲基苯基氨基甲酸酯);检测波长 224 nm;系统背压 13.8 MPa;柱温 40 °C;流动相 A 为二氧化碳,B 为含 0.5%(体积分数,下同)氨水的甲醇溶液;梯度洗脱程序:0~2.0 min 时,B 为 10%;2.0~3.0 min 时,B 由 10%升至 25%,保持 3.0 min;6.0~6.1 min 时,B 由 25%跳转至 10%,保持 2.0 min。流量 1.0 mL·min⁻¹;进样量 5.0 μL。

1.3 试验方法

1.3.1 样品的提取

取 10.0 g(精确至 0.01 g)猪肉样品置于 50 mL 具塞离心管中,加入 25 mL 含 3%(体积分数,下同)氨水的乙酸乙酯溶液,涡旋 1 min 混匀,在 3 000 r·min⁻¹ 转速下离心 5 min,吸取上清液至浓缩瓶中,以 25 mL 含 3%氨水的乙酸乙酯溶液重复提取一次。合并两次上清液,于 40 °C 水浴中减压浓缩至近干,加入 10 mL 磷酸盐缓冲溶液分次溶解残渣,待净化。

1.3.2 样品的净化和测定

依次用 3 mL 甲醇、3 mL 水活化 HLB 固相萃取柱。将上述待净化溶液注入活化好的 HLB 固相萃取柱中,用 10 mL 水淋洗,弃去淋洗液,真空抽柱 1 min,用 6 mL 甲醇洗脱,洗脱液收集在 15 mL 离心管中,于 40 °C 氮吹至近干,加入 1 mL 体积比 8:2 的正庚烷-异丙醇混合溶液,涡旋 3 min 充分溶解残渣,过 0.22 μm 有机滤膜,滤液供 UPC² 分析。

2 结果与讨论

2.1 提取试剂的选择

文献报道的氟苯尼考及其代谢物氟苯尼考胺的提取试剂通常为乙酸乙酯^[18-20]、水-丙酮混合溶液^[21]、乙腈^[22-23]、甲醇^[24]等,因此试验比较了这几种试剂的提取效果。结果显示:采用水-丙酮混合溶液、乙腈或甲醇提取时,典型目标物氟苯尼考胺的回收率分别为 71.3%,75.7%,53.2%;采用乙酸乙酯提取时,氟苯尼考胺的回收率为 76.9%,提取效果相对较好。氟苯尼考胺为弱碱性物质,为增加其提取率,试验选择在乙酸乙酯中加入适量氨水,当氨水的体积分数为 3%时,氟苯尼考胺的回收率为 95.4%,且其色谱峰附近的干扰峰较少。因此,试验选择含 3%氨水的乙酸乙酯溶液作为提取试剂。

2.2 固相萃取柱的选择

试验考察了 Oasis HLB 混合型阳离子交换固相萃取柱(3 mL,60 mg)、亲水亲脂 Oasis HLB 固相萃取柱(6 mL,200 mg)和非极性疏水 Supleco C₁₈ 固相萃取柱(3 mL,500 mg)对猪肉中氟苯尼考及其代谢物净化效果的影响。结果表明:与 MCX 固相萃取柱相比,采用 C₁₈ 或 HLB 固相萃取柱净化后的色谱图中目标化合物色谱峰附近的干扰峰较少;采用 3 种固相萃取柱净化后,3 种目标化合物的回收率依次为 32.8%,97.7%,80.1%,HLB 固相萃取柱

所得结果的准确度较高。因此,试验选择 HLB 固相萃取柱对样品进行净化。

2.3 定容试剂的选择

试验比较了 5 种常用定容试剂甲醇、乙醇、乙腈、异丙醇、正庚烷对两种氟苯尼考对映体和氟苯尼考胺分离效果的影响。结果显示,在 5 种定容试剂中,正庚烷所得两种氟苯尼考对映体的色谱分离度

和响应情况较好,异丙醇所得氟苯尼考胺的色谱响应情况较好。

为了保证两种氟苯尼考对映体和氟苯尼考胺具有良好的色谱分离及响应效果,试验选择以正庚烷-异丙醇混合溶液作定容试剂,并考察了不同体积比正庚烷-异丙醇的混合溶液对 3 种目标化合物分离效果的影响,见图 1。

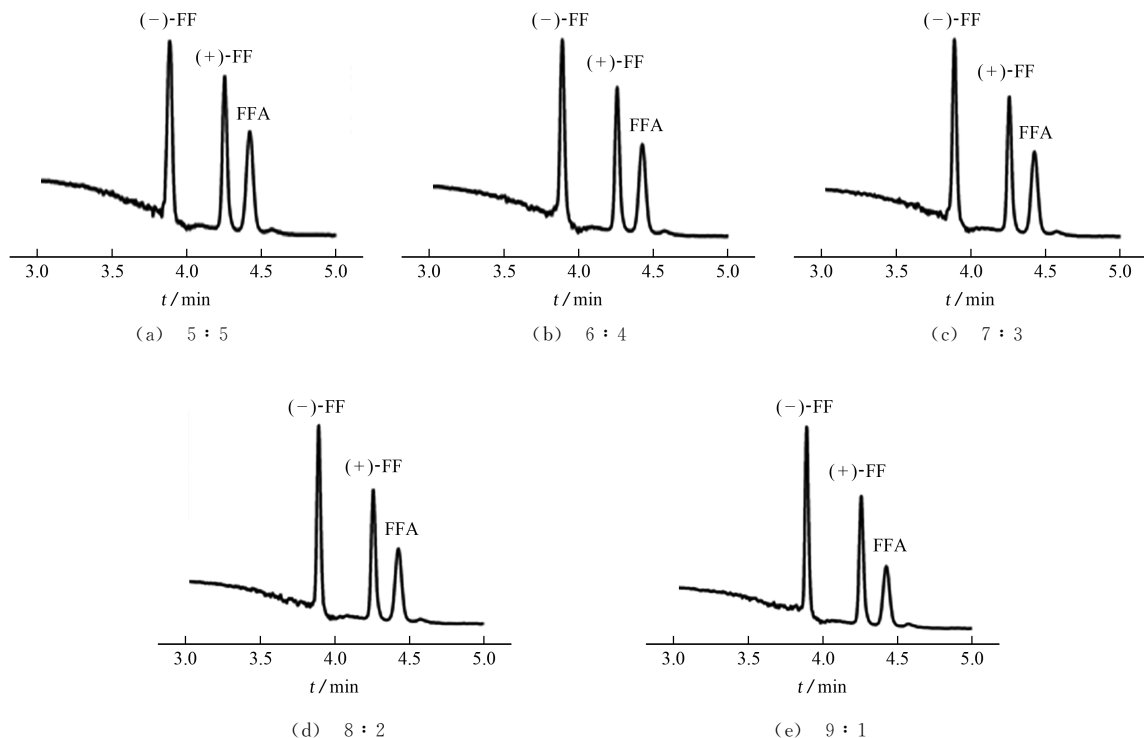


图 1 正庚烷-异丙醇的体积比对(+)-氟苯尼考、(-)-氟苯尼考和氟苯尼考胺分离效果的影响
Fig. 1 Effect of volume ratio of *n*-heptane to isopropanol on the separation of (+)-florfenicol, (-)-florfenicol and florfenicol amine

由图 1 可知:混合溶液中正庚烷的占比越高,(-)-氟苯尼考的峰形越尖锐;异丙醇的占比越高,氟苯尼考胺的峰形越尖锐。综合考虑 3 种目标化合物的峰形,试验选择体积比 8 : 2 的正庚烷-异丙醇混合溶液作为定容试剂。

2.4 系统背压的选择

在 UPC² 分析中,常通过调节系统背压来控制二氧化碳在仪器运行过程中的超临界状态,从而改变其对物质的洗脱能力、溶解能力和选择性。由于二氧化碳在压力超过 7.38 MPa、温度不小于 31 °C 时才会进入超临界状态,因此试验在此基础上,考察了系统背压分别为 10.3, 13.8, 17.2, 20.7, 24.1 MPa 时对目标化合物分离效果的影响。结果表明,随着系统背压的增加,3 种目标化合物的分析时间逐渐缩短,(-)-氟苯尼考峰高逐渐降低,(+)-

氟苯尼考和氟苯尼考胺的色谱峰高逐渐升高。综合考虑色谱峰形、峰高、保留时间等因素,试验选择的系统背压为 13.8 MPa。

2.5 柱温的选择

在 UPC² 分析中,柱温对目标化合物的保留时间和分离度有一定影响,当柱温升高,超临界二氧化碳流体的密度发生改变,流动相黏度减小,目标化合物的洗脱能力也随之降低,保留时间相应延长。以 CHIRALPAK AD-3 手性色谱柱的最高使用温度(40 °C)和二氧化碳进入超临界状态的最低温度(31 °C)为限值,试验考察了柱温分别为 31, 35, 40 °C 对 3 种目标化合物分离效果的影响,如图 2 所示。

由图 2 可知:当柱温为 31 °C 和 35 °C 时,3 种目标化合物中只有(-)-氟苯尼考得到完全分离,

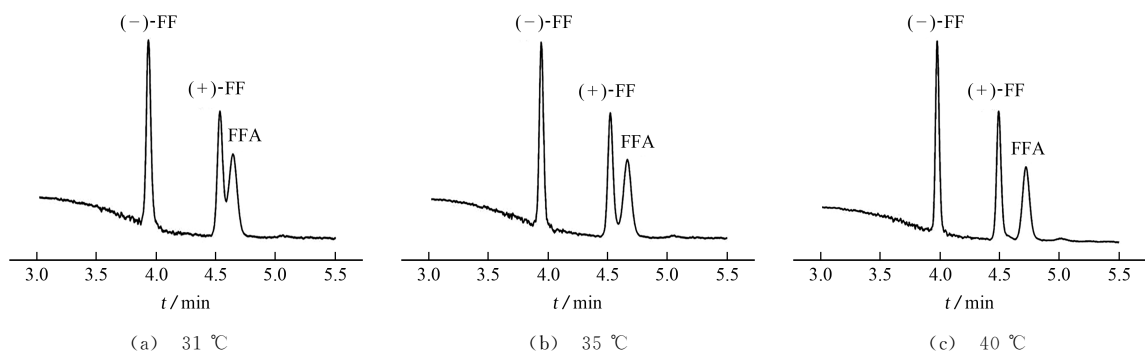


图2 柱温对(+)-氟苯尼考、(-)-氟苯尼考和氟苯尼考胺分离效果的影响

Fig. 2 Effect of column temperature on the separation of (+)-florfenicol, (-)-florfenicol and florfenicol amine

(+)-氟苯尼考和氟苯尼考胺的色谱峰未能实现完全分离;当柱温达到 40 °C 时,3 种目标化合物完全分离,且峰形良好。因此,试验选择的色谱柱柱温为 40 °C。

2.6 色谱行为

按照仪器工作条件分析混合标准溶液,如图 3 所示。

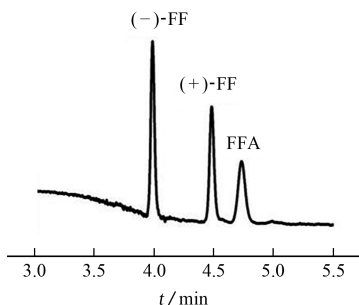


图3 混合标准溶液的色谱图

Fig. 3 Chromatogram of the mixed standard solution

由图 3 可知,(-)-氟苯尼考、(+)-氟苯尼考和氟苯尼考胺的分离效果良好,在 5.0 min 内全部实现了有效分离,分离度分别为 4.0 和 1.8,均大于 1.5,符合完全分离的要求^[25]。

2.7 标准曲线和测定下限

按照仪器工作条件分析混合标准溶液系列,以 3 种目标化合物的质量浓度为横坐标,其对应的峰面积为纵坐标绘制标准曲线。结果显示,3 种目标化合物标准曲线的线性范围均为 0.50~20.00 mg · L⁻¹,线性回归方程和相关系数见表 1。

以阴性猪肉样品加标的方法进行试验,以不小于 10 倍信噪比对应的含量作为测定下限,所得结果见表 1。

表 1 线性参数和测定下限

Tab. 1 Linearity parameters and lower limits of determination

目标化合物	线性回归方程	相关系数	测定下限 $w/(mg \cdot kg^{-1})$
(-)-氟苯尼考	$y = 1.150 \times 10^4 x + 5.190 \times 10^3$	0.999 2	0.05
(+)-氟苯尼考	$y = 9.200 \times 10^3 x + 3.240 \times 10^3$	0.999 7	0.05
氟苯尼考胺	$y = 1.100 \times 10^4 x - 2.510 \times 10^4$	0.999 0	0.1

2.8 精密度和回收试验

按照试验方法对阴性猪肉样品进行 3 个浓度水平的加标回收试验,每个浓度水平平行测定 6 次,计算回收率和测定值的相对标准偏差(RSD),结果见表 2。

表 2 精密度和回收试验结果($n=6$)Tab. 2 Results of tests for precision and recovery($n=6$)

目标化合物	加标量 $w/(mg \cdot kg^{-1})$	回收率/%	RSD/%
(-)-氟苯尼考	0.05	81.5~104	8.8
	0.1	85.7~99.8	7.4
	0.3	90.4~103	5.3
(+) - 氟苯尼考	0.05	81.2~104	9.0
	0.1	87.5~107	7.3
	0.3	91.6~98.5	6.4
氟苯尼考胺	0.1	85.5~99.4	8.9
	0.2	82.5~102	7.8
	0.3	91.4~103	5.0

由表 2 可知,3 种目标化合物的回收率为 81.2%~107%,测定值的 RSD 为 5.0%~9.0%,回

收率和精密度符合 GB/T 27404—2008《实验室质量控制规范 食品理化检测》^[26]的要求,能够满足猪肉样品的分析要求,可用于日常分析检测。

2.9 样品分析

按照试验方法分析 20 份市售猪肉样品。结果显示,20 份猪肉样品中均未检出 (+)-氟苯尼考,1 份猪肉样品中检出 (-)-氟苯尼考 ($248 \mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$),与文献[8,11,13]采用 HPLC 分析氟苯尼考样品所得的结论相符,即供试品中的氟苯尼考主要为 (-)-氟苯尼考。

本工作采用 UPC² 分离氟苯尼考对映体和氟苯尼考胺,并对猪肉中氟苯尼考对映体和氟苯尼考胺的残留量进行测定。使用氨化乙酸乙酯对样品进行提取,通过 HLB 固相萃取柱对样品进行净化后,采用 CHIRALPAK AD-3 手性色谱柱分离,以超临界二氧化碳和含 0.5% 氨水的甲醇溶液为流动相进行梯度洗脱,外标法定量,方法精密度和准确度均较好,可用于猪肉中相关物质的检测。

参考文献:

- [1] SHIROMA L S, QUEIROZ S C N, JONSSON C M, et al. Extraction strategies for simultaneous determination of florfenicol and florfenicol amine in tilapia (*Oreochromis niloticus*) muscle: Quantification by LC-MS/MS[J]. Food Analytical Methods, 2020, 13(1): 291-302.
- [2] 李广. 氟苯尼考及氟苯尼考胺药物残留检测方法及应用[J]. 辽宁农业科学, 2019(5): 59-62.
- [3] 李涛, 杨伟, 杨丽芬, 等. 高效液相色谱-紫外法检测畜禽肉中氟苯尼考残留[J]. 现代食品, 2020(9): 130-132.
- [4] 李然. 兽药氟苯尼考及其代谢物与甲砒霉素残留免疫分析方法的研究[D]. 广州: 华南农业大学, 2018.
- [5] 文丽, 吴泽华, 李仕超. 氟苯尼考手性特性及在临床上的应用[J]. 猪业科学, 2016, 33(8): 70-71.
- [6] 肖建森, 刘在青, 宋凤香, 等. 一种动物专用复方左旋氟苯尼考注射液及其制备方法: 201310322969. 6 [P]. (2014.01.15)[2021.11.14].
- [7] 赵梅仙, 张传良, 马佳颖, 等. 氟苯尼考对映异构体手性拆分及其光学纯度的测定[J]. 分析测试学报, 2013, 32(4): 459-462.
- [8] 吴东林, 王铭宏. 一种测定氟苯尼考中手性活性成分含量的方法: 201310244316.0 [P]. (2013.10.02)[2021.07.14].
- [9] 中华人民共和国农业农村部, 中华人民共和国国家卫生健康委员会, 国家市场监督管理总局. 食品安全国家标准 食品中兽药最大残留限量: GB 31650—2019[S]. 北京: 中国标准出版社, 2019.
- [10] 何红梅, 徐秀珠, 潘春秀, 等. 氯霉素类药物的高效液相色谱手性分离研究[J]. 分析化学, 2005, 33(2): 165-168.
- [11] RAJ T J S, SRINIVAS N, PRASAD C H S, et al. Validated chiral liquid chromatographic method for the enantiomeric separation of florfenicol[J]. Journal of Liquid Chromatography & Related Technologies, 2007, 31(2): 231-239.
- [12] 王宇, 王炎, 叶晶晶, 等. 氟苯尼考光学异构体的分离测定方法研究[J]. 化工管理, 2021(24): 136-137.
- [13] 张文华, 谢文, 侯建波, 等. 超高效液相色谱法对 6 种三唑类农药对映体的拆分及其在黄瓜中的残留分析[J]. 色谱, 2019, 37(12): 1356-1362.
- [14] JIANG H, YANG L, XING X D, et al. Development of an analytical method for separation of phenolic acids by ultra-performance convergence chromatography (UPC²) using a column packed with a sub-2- μm particle[J]. Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis, 2018, 153: 117-125.
- [15] YU W S, LIU X, ZHANG Y Z, et al. Simultaneous determination of pigments in tea by ultra-performance convergence chromatography (UPC²) [J]. Analytical Letters, 2020, 53(10): 1654-1666.
- [16] CHANG X Q, SUN P, MA Y, et al. A new method for determination of thymol and carvacrol in thymi herba by ultraperformance convergence chromatography (UPC²) [J]. Molecules (Basel, Switzerland), 2020, 25(3): 502-514.
- [17] LUCKEY B, MEKILE V. Vitamin A analysis by ultra-performance convergence chromatography [J]. Journal of AOAC International, 2019, 102(2): 659-661.
- [18] 宋菲, 黄瑶, 张利明, 等. 猪肉中氟苯尼考残留量高效液相色谱-串联质谱检测方法的建立[J]. 国外畜牧学(猪与禽), 2021, 41(2): 89-93.
- [19] 刁志祥, 张培杨, 王旭堂, 等. 加速溶剂萃取/超高效液相色谱-荧光法检测猪肉中氟苯尼考和氟苯尼考胺残留[J]. 中国畜牧兽医, 2019, 46(9): 2753-2759.
- [20] YANG J J, SUN G Z, QIAN M R, et al. Development of a high-performance liquid chromatography method for the determination of florfenicol in animal feedstuffs[J]. Journal of Chromatography B, 2017, 1068/1069: 9-14.
- [21] 张守明. 高效液相色谱法检测猪肉中氟苯尼考及其代谢物氟苯尼考胺的残留[D]. 长春: 吉林大学, 2010.
- [22] 刘柏林, 谢继安, 赵紫薇, 等. 固相萃取-超高效液相色谱-串联质谱法同时测定动物源性食品中 11 种禁限

- 兽药及代谢物[J].色谱, 2021,39(4):406-414.
- [23] LI J, GONG J Y, YUAN H N, et al. Determination of chloramphenicol, thiamphenicol and florfenicol in Chinese gelatin medicines using dispersive solid-phase extraction coupled with ultra high-performance liquid chromatography-mass spectrometry [J]. *Journal of Chromatographic Science*, 2020,58(5):471-476.
- [24] RASHEED C M, FAKHRE N A. Derivative spectrophotometric determination of florfenicol in chicken samples[J]. *Zanco Journal of Pure and Applied Sciences*, 2018, 29(6): 49-58.
- [25] 国家药典委员会.中华人民共和国药典 2020 年版 [M].北京:中国医药科技出版社, 2020.
- [26] 国家质量监督检验检疫总局,中国国家标准化管理委员会.实验室质量控制规范 食品理化检测:GB/T 27404—2008[S].北京:中国标准出版社, 2008.

Determination of Florfenicol Enantiomers and Their Metabolite Florfenicol Amine in Pork by Ultra-Performance Convergence Chromatography with Solid Phase Extraction

ZHANG Wenhua^{1,2}, HU Qili^{1,2}, HOU Jianbo^{1,2}, MAO Renyi², XU Ke²,
WANG Liangli², XIE Wen^{1,2}, XU Dunming³, SHEN Weijian⁴

(1. *The Technical Center of Hangzhou Customs, Hangzhou 310016, China*;

2. *Zhejiang Academy of Science and Technology for Inspection and Quarantine, Hangzhou 310016, China*;

3. *The Technical Center of Xiamen Customs, Xiamen 361013, China*;

4. *Animal, Plant and Food Inspection Center, Nanjing Customs, Nanjing 210019, China*)

Abstract: Ethyl acetate solution (25 mL) containing 3% (φ) aqueous ammonia was added into 10.0 g of pork sample, the mixture was vortexed for 1 min, centrifuged for 5 min, and the precipitation was extracted once again as the method described above. The two extracts were combined and evaporated to nearly dry under vacuum at 40 °C, and the residue was redissolved with 10 mL of phosphate buffer solution (pH 6.0). The HLB solid phase column activated beforehand was used for loading the solution, washed with 10 mL of water, drained by vacuum for 1 min, and eluted with 6 mL of methanol. The eluate was collected and dried by nitrogen at 40 °C to nearly dry. The residue was dissolved by vortex for 3 min with 1 mL of mixed solution of *n*-heptane and isopropanol at volume ratio of 8 : 2, filtered through a 0.22 μm filter membrane and the filtrate was analyzed by ultra-performance convergence chromatography. CHIRALPAK AD-3 chiral column was used as the stationary phase with column temperature of 40 °C and the system back pressure of 13.8 MPa. The mixture of supercritical carbon dioxide and methanol solution containing 0.5% (φ) aqueous ammonia at different volume ratios was used as the mobile phase for gradient elution. (–)-Florfenicol, (+)-florfenicol and their metabolite florfenicol amine were determined by external standard method at wavelength of 224 nm. It was shown that the mass concentrations of the 3 targets were linearly related with their corresponding peak areas in the range of 0.50–20.00 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$, and the lower limits of determination were 0.05 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ [for (–)-florfenicol and (+)-florfenicol] and 0.1 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ (for florfenicol amine). Test for the spiked recovery was made on the negative pork samples at the 3 concentration levels, giving recoveries of the 3 targets in the range of 81.2%–107%, and RSDs ($n=6$) of the determined values ranged from 5.0% to 9.0%. The proposed method was used for the analysis of 20 pork samples, and (–)-florfenicol (248 $\mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$) was detected in one sample.

Keywords: ultra-performance convergence chromatography; florfenicol enantiomer; chiral separation; florfenicol amine; pork