

二维液相色谱切换技术及其应用

王智聪^{1,2} 张庆合^{1,2} 赵中一¹ 张维冰^{*2} 李彤²

¹ (中国地质大学材料与化学工程学院, 武汉 430074)

² (中国科学院大连化学物理研究所, 大连依利特分析仪器有限公司, 大连 116011)

摘要 多维液相色谱已成为复杂样品研究的重要工具。本文在介绍多维液相色谱原理与方法的基础上, 重点讨论了二维液相色谱接口切换技术的近期发展, 并对其应用现状进行了总结分析。

关键词 二维液相色谱, 切换技术, 接口, 蛋白质组, 评述

1 引言

现代色谱法已成为分析化学中复杂体系组分分离和分析的强有力工具。对于复杂样品的分离, 一种分离模式往往不能提供足够的分辨率, 组合不同的分离模式构建多维系统是解决这一问题的有效途径。1984年 Giddings^[1]提出多维分离的概念以来, 随着色谱方法的完善、控制及微加工技术的发展, 多维分离技术得到较快的发展, 并已在生命科学、环境科学等诸多领域得到应用。全二维气相色谱是最先商品化的多维分离技术, 在石油样品的分离、天然药物中有效成分研究等方面已表现出明显的优势。与其他色谱分离技术相比, 多维液相色谱因其高的分辨率及快速自动化等特点, 具有更广阔的应用前景, 已成为复杂样品研究的重要工具。多维液相色谱实现的关键技术在于样品在两种分离模式之间的转换, 接口与控制技术是束缚该项技术应用的瓶颈。目前, 已发展了多种柱间切换模式。本文在介绍二维液相色谱原理与方法的基础上, 系统地总结了二维液相色谱柱间切换技术的近期发展, 并对其应用现状进行了总结分析。

2 二维液相色谱原理

二维液相色谱 (2D-LC) 是将分离机理不同而又相互独立的两支色谱柱串联起来构成的分离系统。样品经过第一维的色谱柱进入接口中, 通过浓缩、捕集或切割后被切换进入第二维色谱柱及检测器中。二维液相色谱通常采用两种不同的分离机理分析样品, 即利用样品的不同特性把复杂混合物 (如肽) 分成单一组分, 这些特性包括分子尺寸、等电点、亲水性、电荷、特殊分子间作用 (亲和) 等, 在一维分离系统中不能完全分离的组分, 可能在二维系统中得到更好的分离, 分离能力、分辨率得到极大的提高。完全正交的二维液相色谱, 峰容量是两种一维分离模式单独运行时峰容量的乘积^[2~4]。假如两种分离系统都有 100 的峰容量, 那么良好的二维系统理论上可产生 10000 的峰容量。

二维液相色谱大多使用两支或多支色谱柱, 并通过柱结合技术实现样品的柱间切换。柱切换通常可分为部分和整体切换两种模式。按切割组分是否直接进入二维中, 二维分离又可分为离线和在线两种方式。早期的中心切割技术, 大都先在容器中收集一维洗脱产物, 再进样到第二维中。随着现代仪器的发展和适应自动化分离的需要, 目前二维色谱大多采用在线方式, 使一维洗脱产物 (部分或全部) 直接进入第二维柱系统中进行分离分析。

部分模式即采用中心切割技术, 只使第一维分离的部分感兴趣的组分进入第二维中进一步分析。为了将样品有效地转移到下一维柱系统中, 必须先在第一维分离模式用标准物进行实验, 根据得到的分离信息设计切换程序。部分模式不能得到样品所有组分的信息, 此外, 还有操作繁琐、样品易损失与污染及可能降低分辨率等缺点。

整体模式即全多维液相色谱模式 (comprehensive HPLC)。基于 Giddings^[5]的理论, 一般认为全多维

2003-12-25 收稿; 2004-05-14 接受

本文系国家自然科学基金资助项目 (No. 20375040) 和“十五”国家科技攻关重大项目 (No. 2001BA210A01)

分离应满足 3 个条件: (1)样品的每一部分都受到不同模式的分离; (2)所有样品组分以相等的比例 (100%或稍低一些,即并不要求 100%分析物,只要分流的部分能代表所有样品组分信息即可)转移到二维及检测器中; (3)在一维中已得到的分辨率基本上维持不变。“基本”指通过测量全二维中第一维轴上的某个特殊峰所对应的第一维的分辨率与一维情况相比减少不超过 10%。其中,第一条和第三条说明了传统的中心切割技术与全二维的区别。Schoenmakers等^[6]认为在二维分离之前进行分流也可称为全二维分离,进一步拓宽了全二维分离的概念。

在全二维系统中,从一维洗脱出来的不连续的组分,有规则间隔的进入下一维分离模式中。Frei等^[7]采用 SEC/RPLC分离植物萃取物,建立了二维液相色谱的基本框架。Jorgenson等^[8]改进了 Frei的方法,使一维洗脱产物全部进入第二维系统中,实现了真正意义上的全二维液相色谱分离。一维洗脱产物进入第二维系统,要考虑两者的兼容性。Murphy等^[9]指出对同步采样来说,从一维洗脱出来的组分的任一个峰要在下一维中至少进样 3 次;而对非同步采样,则至少要进行 4 次采样。进入第二维分离的采样时间越短,整个系统的选择性就越高。

基于不同的分离目的,可以采用不同分离机理的柱系统构建多维液相色谱分离系统,离子交换色谱 (IEC)、反相色谱 (RPLC)、亲和色谱 (AC)、尺寸排阻色谱 (SEC)和正相色谱 (NP)等分离模式皆可以组合用于特殊目的分离。对于两种分离模式的组合,不仅应考虑分离选择性、分辨率、峰容量、柱容量及分析速度等因素,对于生物样品的分离、样品回收率和活性等因素也可能非常重要。在实际多维分离系统的构建过程中,必须综合考虑不同因素的影响,选择合理的分离模式和柱系统。

3 二维液相色谱切换技术

将一维分离的样品组分有效地转移到第二维柱系统中的过程在切换接口中完成,可根据需要使用不同的接口形式。使用捕集柱捕集一维洗脱产物、使用样品环储存一维洗脱产物、使用平行柱交替分析样品是几种常用的接口切换技术。此外,分流及溶剂置换也是接口与切换系统设计中通常需要考虑的问题。针对不同的色谱柱系统,需选择合适的切换接口形式。为了达到更好的切换与分离效果,不同的切换技术也可以组合使用^[10]。不管是哪种接口形式,接口中选用的阀一般有 4、6、8、10 和 12 通道等。其中全二维液相色谱系统的接口切换阀通常由 2 个 4 通或 2 个 6 通、1 个 8 通、1 个 10 通、1 个 12 通构成,1 个 6 通多用于部分模式的二维系统中,如适当控制二维系统的流速、分析时间和样品环的体积等也可用于全二维液相色谱系统中。

3.1 捕集柱切换技术

Sweeney等^[11]在二维液相色谱中,采用低温捕集柱连接第一和第二维色谱柱,实现中心切割,用低分子质量的聚苯乙烯聚合物评价了捕集与分离效果,结果显示从一维切割的 32 个连续的部分可被很好地捕集,回收率很高,没有明显的损失。Chen等^[12]用毛细管等电聚焦和毛细管 RPLC 组成二维分离系统,接口采用两个 6 通阀,在两个阀之间连接 6 个 15 cm × 180 μm i.d. 填充 5 μm 多孔 C₁₈ 填料的反相柱,以捕集 12 个等电点不同的组分,并将其进一步洗脱到第二维 C₁₈ 毛细管柱中,采用质谱检测。此方法对复杂蛋白质组分表现出良好的富集效果和分离能力,对低丰度蛋白的分离效果更为明显。Davis等^[13]以强阳离子交换和反相色谱构建二维系统,结合 LC-MS 检测分析复杂肽水解混合物,如图 1 所示。接口 6 通阀中外接 50 mm × 2.1 mm i.d. 的捕集柱,进样 20 min 后捕集物被有机溶剂梯度洗脱到第二维分析柱中。与一维 LC-MS 相比,二维系统可以提供更大的信息量。

3.2 样品环储存切换技术

一维洗脱产物可使用两个样品环交替地储存转移到第二维中,通过改变样品环的体积可以改变第

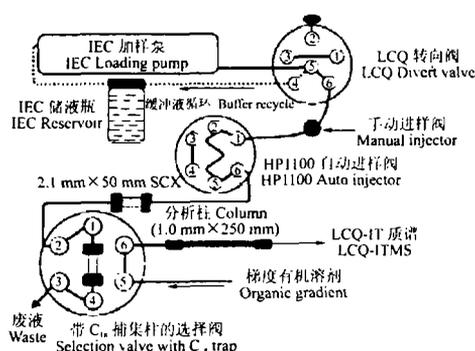


图 1 使用捕集柱的二维液相色谱切换技术^[13]

Fig 1 The Interface of two-dimensional liquid chromatography (2D-LC) with trap columns^[13]

二维的进样体积。样品环的体积由第一维色谱柱的流速和二维色谱柱的运行及平衡时间决定。Opiteck 等^[14]采用配两个样品环的 8 通阀组合阳离子交换和反相色谱两种模式构建二维液相色谱分离系统,如图 2 所示。当其中一个样品环储阳离子柱的洗脱产物时,另一个样品环内的分析物被转移到反相柱中。Stroink 等^[15]用 SEC 组合 RPLC 分离血清中的脑啡肽,第一维采用 30 mm ×4.6 mm i d 的 SEC 柱,第二维采用 125 mm ×2.0 mm i d 的反相柱,接口采用两个电控 6 通阀,并在其间连接两个 300 μL 的样品环,检出限达到 5 ng。

3.3 平行柱交替分析切换技术

平行柱交替分析切换技术在第二维中使用两支或多支色谱柱,当其中一支色谱柱进样时,第二支色谱柱正在洗脱,其原理如图 3 所示。Unger 等^[16,17]以 35 mm ×4.6 mm i d 离子交换柱作第一维分离系统,两个平行的 14 mm ×4.6 mm i d 反相柱作为第二维分离系统,通过一个 10 通阀完成切换,两支反相柱如同样品环一样交替地储存一维洗脱产物。他们采用该系统分离蛋白质样品,采用等时间切割(1 次 /min),每部分交替进入两个反相柱。在一维中不能被分离的蛋白质在二维中大部分可得到分离,总峰容量可达 600。保留时间的 RSD 小于 1% ($n = 15$),峰面积的 RSD 小于 15% ($n = 15$),蛋白质的平均检出限为 300 ng,总分析时间小于 20 min。Opiteck 等^[18]使用两个 4 通阀将一维洗脱产物导入第二维中,并用两支平行的 RPLC 交替捕集分析。Unger 等^[19]对原系统加以改进,为满足二维的分辨率,及不减少进样速率和降低一维分离,使用 4 个平行的 14 mm ×4.6 mm i d 的反相柱作第二维。总的峰容量理论计算可得 3000,保留时间的 RSD 小于 0.5%,峰高和峰面积的 RSD 在 5% ~ 25% 之间,总蛋白质的检出限可达 50 ng。

3.4 几种切换技术的比较及其他辅助切换技术

捕集柱切换技术利用捕集柱预先捕集第一维洗脱产物,可以方便地控制其中感兴趣的组分进入二维系统中,常用于部分模式。因此,在结合亲和色谱的二维液相色谱系统中常用捕集柱切换接口。而使用两个样品环和平行柱都是交替地储存、转移样品到下一维系统中,其中平行柱还同时起着分离样品的作用,常用于整体模式。采用平行柱交替捕集分析切换接口形式,一维洗脱产物在第二维柱上富集,不保留的盐分等随流动相流出,对一维洗脱产物的切换体积没有要求。而采用样品环储存形式,还要考虑样品环的容量。使用大体积样品环,增加了系统的死体积,显然不利于快速分析。使用微柱或毛细管柱时,采用低流速,减小了储存在样品环中的体积,因此,样品环储存切换接口更适于微柱二维液相色谱系统。相比而言,平行柱交替捕集分析技术更适于由常规柱组成的二维液相色谱系统。不管采用哪种切换接口形式,都要使两种分离模式相匹配,要精确控制第二维的进样量,分流及溶剂置换等辅助切换技术经常用于二维分离系统。

分流是控制匹配二维分离系统流动相流量的常用技术。例如 SEC/RPLC 组成的二维系统,当 SEC 的流速为 10 μL/min 时,如果 RPLC 的分析时间是 5 min,在这段时间内 SEC 柱的洗脱产物为 50 μL。假设 RPLC 的进样体积为 20 μL,这样 60% 的 SEC 洗脱产物将不能进入反相色谱柱。使用分流器可使 SEC 洗脱产物的一部分在进入 RPLC 之前转移到废液系统或进行收集。在此例中,在 SEC 和 RPLC 之间使用 40/60 的分流器可转移 SEC 6 μL/min 的流量到废液中,剩下的 4 μL/min 的流量转移到样品环

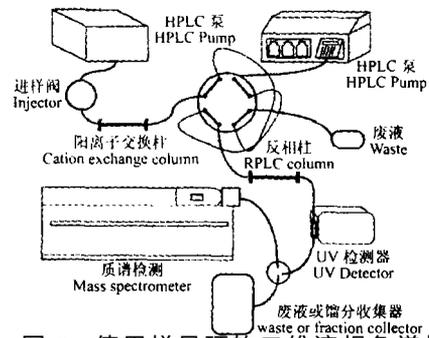


图 2 使用样品环的二维液相色谱切换技术^[14]

Fig 2 The Interface of 2D-LC with two sample loops^[14]

离子交换柱作第一维分离系统,两个平行的

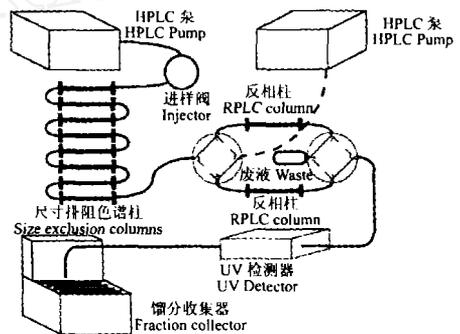


图 3 使用平行柱的二维液相色谱切换技术^[18]

Fig 3 The Interface of 2D-LC with parallel columns^[18]

中,满足 RPLC 系统 5 min 要求的 20 μ L 进样量。在 Jorgenson 等^[20]的系统中,SEC 的流速是 11 μ L/min,使用分流器后,只有 1 μ L/min 的流量转移到 RPLC 中。为了获得高的进样频率,Jorgenson 等^[21]采用 90 cm \times 100 μ m i d 强阴离子交换柱作为第一维,以低流量 33 nL/min 通过阴离子交换柱,并使用 3 个分流器与两个切换阀连接(如图 4)。调节流量使一定量的一维洗脱产物储存在样品环中,再通过调节流量以 6 μ L/min 进入 3 cm \times 100 μ m i d 的第二维反相柱,可以得到更好的分析效果。

在组合不同色谱模式构建二维液相系统时,必须考虑溶剂的匹配问题。使用捕集柱和平行柱交替分析接口,第一维洗脱产物在柱上富集,而不保留的盐分和多余的一维流动相进入废液装置。而采用样品环储存切换接口,第一维洗脱产物储存在样品环中,切换后进入第二维色谱柱中,因此要特别注意流动相的匹配情况。溶剂置换技术可以使二维系统中两种分离模式的流动相体系匹配。其方法是在第一维洗脱之后加调节器,稀释或导入其他溶剂调节第一维流动相使之产生与后续分离相匹配的流动相后再进入切换接口中。如在 Jorgenson 等^[20]的 SEC/RPLC/CZE 三维系统中,开始 RPLC 流动相只含 6% 的己腈,而 SEC 流动相则含 85% 的甲醇,即使只有 5 μ L 的 SEC 洗脱产物进入第二维中,在 RPLC 分析中也会导致溶剂峰的显著变型。因为第一维 SEC 流动相的高甲醇浓度使得其分流部分很难直接进入 RPLC 柱,因此在进入 RPLC 之前必须进行溶剂置换。为此,SEC 洗脱产物与适当组成的缓冲溶液按一定比例稀释,最后大约 17% 浓度的甲醇溶剂进入 RPLC 的样品环中,完成最终分离。

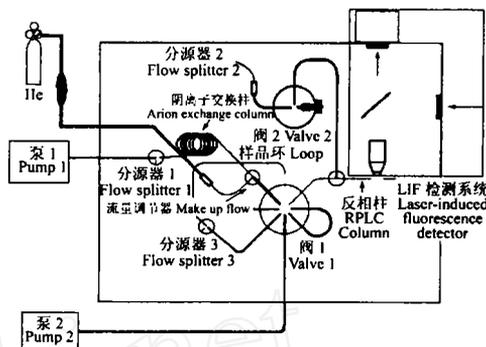


图 4 使用分流技术^[21]

Fig 4 Use flow splitting technology^[21]

4 二维液相色谱的应用

二维液相色谱在环境分析^[22-24]、聚合物分析^[25,26]中的应用越来越多,尤其在生命科学如蛋白质组学的研究。Regnier 等^[27]认为,由于细胞组成的复杂性,针对全部蛋白质的分离,采用一维电泳或液相色谱的分离模式不可能达到理想的分离效果。而二维聚丙烯酰胺凝胶电泳(2D-PAGE)利用蛋白质等电点和分子尺寸的差异进行正交分离,分辨率高,重现性好,尤其是与质谱技术的联用是蛋白质组研究的重要工具。2D-PAGE 在蛋白质组研究中也有其局限性,如有限的动态范围、存在歧视效应、操作繁琐,不易实现自动化等。而多维液相色谱克服了二维凝胶电泳的缺陷,避开了相对分子质量和等电点的限制,通过不同分离模式的偶联,消除了存在于 2D-PAGE 的歧视效应,可以实现对样品分子尺寸大小差异较大的蛋白质、低丰度的蛋白质以及疏水性蛋白质等的分析。同时易与质谱连接,具有高灵敏度、分析速度快和自动化程度高等优点^[28]。因此,二维液相色谱作为 2D-PAGE 技术的一个重要补充,在蛋白质组研究中发挥着重要的作用^[8,12-21,29-37](见表 1)。

表 1 二维液相色谱在蛋白质组研究中的应用举例

Table 1 Applications of two-dimensional liquid chromatography for the research of proteomics

| 分离模式(检测) Separation mode (detector) | 接口形式 Interface | 阀 Valve | 样品 Samples | 特点 Properties | 文献 References |
|---|--------------------------|-----------------------------|---|---|------------------|
| IEC/RP(MS) | 1个捕集柱 One trap column | 1个 6通 One 6-port valve | 人肺纤维原细胞蛋白水解物 Protein digest mixtures derived from human lung fibroblasts | 中心切割技术 Heart cutting | 13 |
| MAC/RP(MS) | 亲和捕集柱 AC trap column | 2个 10通 Two 10-port valve | 牛奶蛋白水解 Tryptic digests of milk | MAC 捕集磷酸化肽,自动化 MAC select phosphorylated peptides, automated | 29 |
| AC/RP(MS) | 亲和捕集柱 AC trap column | 2个 6通 Two 6-port valve | 重组蛋白药物 Recombinant protein drugs | 固定胰岛素柱作为酶解反应器 Immobilized trypsin column acted as enzyme reactor for digestion | 30 |

续表 1 (continued Table 1)

| 分离模式 (检测) Separation mode (detector) | 接口形式 Interface | 阀 Valve | 样品 Sample | 特点 Properties | 文献 References |
|--|--------------------------------|-------------------------------|---|---|------------------|
| AC/IEC/RP(MS) | 亲和捕集柱 AC trap column | 3个 10通 Three 10-port valve | 人血红蛋白初级结构鉴定 Examination of protein primary structure of hemoglobin | 自动化 Automated | 31 |
| IEF/RP(MS) | 6个捕集柱 Six trap column | 2个 6通 Two 6-port Valve | Saccharomyces 细胞萃取蛋白水解物 Tryptic digest of soluble protein extract from saccharomyces | 低丰度蛋白 Low-abundance proteins | 12 |
| IEC/RP(LIF) | 1个样品环 One sample loop | 1个 8通 One 8-port valve | 猪甲状腺球蛋白水解产物 Tryptic digest of porcine thyroglobulin | 分流调节流量,峰容量 1050 Flow split, PC = 1050 | 21 |
| IEC/RP(LIF) | 1个样品环 One sample loop | 1个 8通 One 8-port valve | 猪甲状腺球蛋白水解产物 Tryptic digest of porcine thyroglobulin | 峰容量 (PC) = 2028 | 32 |
| SEC/RP/CZE | 1个样品环 One sample loop | 1个 6通 One 6-port valve | FITC标记的卵清蛋白水解产物 FITC-Tagged ovalbumin in digest | 三维系统,分流与溶剂置换 3D, Flow split, solvent dilution | 20 |
| IEC/SEC(UV) | 2个样品环 Two sample loops | 1个 8通 One 8-port valve | 标准蛋白、人血清、马血清 Standard proteins, human serum, horse serum | 峰容量 (PC) = 126 | 8 |
| IEC/RP(UV orMS) | 2个样品环 Two sample loops | 1个 8通 One 8-port valve | 标准蛋白及 E. coli溶解液 Standard proteins and escherichia coli cell lysate | 峰容量 (PC) = 512 | 14 |
| SEC/RP(UV) | 2个样品环 Two sample loops | 2个 6通 Two 6-port valve | 血清中的脑啡肽 Enkephalins in albumin | 中心切割技术 Heart cutting | 15 |
| SEC/RP(UV and MS) | 平行柱捕集 Two parallel columns | 2个 4通 Two 4-port valve | 卵清蛋白和血清蛋白水解产物 Tryptic digest of ovalbumin and serum albumin | 峰容量 (PC) = 495 | 33 |
| SEC/RP(MS) | 平行柱捕集 Two parallel columns | 2个 4通 Two 4-port valve | 牛血清白蛋白水解产物 Tryptic digest of bovine serum albumin | 峰容量 (PC) = 520 | 34 |
| SEC/RP(UV orMS) | 平行柱捕集 Two parallel columns | 2个 4通 Two 4-port valve | E. coli 细胞中的蛋白 Proteins from the lysis of Escherichiacoli cells | 峰容量 (PC) = 800 | 18 |
| IEC/RP(UV) | 平行柱捕集 Two parallel columns | 1个 10通 One ten-port valve | 标准蛋白及人纤维原细胞萃取物 Standard proteins and extraction from human fibroblasts | RAM 预处理,峰容量 600 RAM used in sample preparation, PC = 600 | 16 17 |
| IEC/RP(MS) | 平行柱捕集 Fore parallel columns | 4 ×10通 Fore ten-port valve | 人血滤液水解 Peptide extraction from human hemofiltrate | 第二维采用 4 个平行的反相柱,峰容量 3000,自动化 Fore parallel columns, PC = 3000, automated | 19 35 |
| AC/RP(UV) | | 3 ×10通 Three 10-port valve | 发酵液中的重组抗体和抗体碎片 Recombinant antibodies and antibody fragments in fermentation broth | 中心切割 Heart cutting | 36 |
| SEC/IEC/RI | | 1 ×6通 One 6-port valve | 多糖和寡糖 Poly- and oligosaccharides | | 37 |

PC: peak capacity; LIF: laser-induced fluorescence detector; RI: refractive index detector; IEC: ion exchange chromatography; AC: affinity chromatography; SEC: size exclusion chromatography; RP: reversed phase; UV: ultraviolet; MS: mass spectrometry

5 展 望

二维液相色谱采用柱结合模式,柱间切换接口的设计对样品的分离效果及整个系统的性能都有很大影响,因此设计和优化切换模式是二维液相色谱研究的重点。不同分离模式之间的匹配组合、与质谱的联用和自动化分析等也是二维液相色谱研究的重要内容和方向。芯片上的多维色谱分离顺应分析仪器的微型化趋势,在生物样品分离分析中显示出极大的优势^[38~43]。随着色谱联用技术的不断发展完

善,二维液相色谱在蛋白质组研究、制药及临床等领域必将起到更大的作用。

References

- 1 Giddings J C. *Anal Chem.*, **1984**, 56: 1258A ~ 1270A
- 2 Davis J M, Giddings J C. *Anal Chem.*, **1983**, 55: 418 ~ 424
- 3 Davis J M, Giddings J C. *Anal Chem.*, **1985**, 57: 2168 ~ 2177
- 4 Davis J M. *J. High Resolut Chromatogr.*, **1987**, 10: 319 ~ 323
- 5 Cortes H J, Ed. *Multidimensional Chromatography Techniques and Applications*, Chapter I, New York: Marcel Dekker, Inc., **1990**
- 6 Schoenmakers P, Marriott P, Beens J. *LC-GC (Europe)*, **2003**, 16: 335 ~ 336, 338 ~ 339
- 7 Emi F, Frei R W. *J. Chromatogr.*, **1978**, 749: 561 ~ 569
- 8 Bushey M M, Jorgenson J W. *Anal Chem.*, **1990**, 62: 161 ~ 167
- 9 Murphy R E, Schure M R, Foley J P. *Anal Chem.*, **1998**, 70: 1585 ~ 1594
- 10 Andersson T, Hyotylainen T, Marja-Liisa R. *J. Chromatogr A*, **2000**, 896: 343 ~ 349
- 11 Sweeney A P, Shalliker R A. *J. Chromatogr A*, **2002**, 968: 41 ~ 52
- 12 Chen J Z, Balgley B M, Devoe D L, Cheng S L. *Anal Chem.*, **2003**, 75: 3145 ~ 3152
- 13 Davis M T, Beierle J, Bures E D, McGinley M D. *J. Chromatogr B*, **2001**, 752: 281 ~ 291
- 14 Opiteck G J, Lewis K L, Jorgenson J W. *Anal Chem.*, **1997**, 69: 1518 ~ 1524
- 15 Stroink T, Wiese G, Lingeman H, Bult A, Underberg W J M. *Analytica Chimica Acta*, **2001**, 444: 193 ~ 203
- 16 Unger K K, Racaityte K, Wagner K. *J. High Resol Chromatogr.*, **2000**, 23 (3): 259 ~ 265
- 17 Wagner K, Racaityte K, Unger K K, Miliotis T. *J. Chromatogr A*, **2000**, 893: 293 ~ 305
- 18 Opiteck G J, Ramirez S M, Jorgenson J W. *Analytical Biochemistry*, **1998**, 258: 349 ~ 361
- 19 Wagner K, Miliotis T, Marko-Varga G, Bischoff R, Unger K K. *Anal Chem.*, **2002**, 74: 809 ~ 820
- 20 Moore A W, Jorgenson J W. *Anal Chem.*, **1995**, 67: 3456 ~ 3463
- 21 Holland L A, Jorgenson J W. *Anal Chem.*, **1995**, 67: 3275 ~ 3283
- 22 Hogendoorn E A, Zoonen P V. *J. Chromatogr A*, **1995**, 703: 149 ~ 166
- 23 Venkatramani C J, Zelechok Y. *Anal Chem.*, **2003**, 75: 3484 ~ 3494
- 24 Tanaka N, Kimura H, Tokuda D, Hosoya K, Ikegami T, Ishizuka N, Minakuchi H, Nakanishi K, Shintani Y, Furuno M, Cabrera K. *Anal Chem.*, **2004**, 76: 1273 ~ 1281
- 25 Berek D. *Prog Polym. Sci.*, **2000**, 25: 873 ~ 908
- 26 Horst A V, Schoenmakers P J. *J. Chromatogr A*, **2003**, 1000: 693 ~ 709
- 27 Regnier F, Amiri A, Chakraborty A, Geng M, J J, Riggs L, Sioma C, Wang S, Zhang X. *LC-GC*, **2001**, 19: 200 ~ 213
- 28 Zhang Lihua (张丽华), Zhang Weibing (张维冰), Zhang Yukui (张玉奎), BABA Yoshinohu. *Chinese Journal of Chromatography (色谱)*, **2003**, 21(1): 32 ~ 37
- 29 Giggs L, Sioma C, Regnier F E. *J. Chromatogr A*, **2001**, 924: 359 ~ 368
- 30 Canarelli S, Fisch I, Freitag R. *J. Chromatogr B*, **2002**, 775: 27 ~ 35
- 31 Frank Hsieh Y L, Wang H Q, Elicone C, Jonathan M, Stephen A M, Regnier F. *Anal Chem.*, **1996**, 68: 455 ~ 462
- 32 Holland L A, Jorgenson J W. *J. Microcolumn Separations*, **2000**, 126(6): 371 ~ 377
- 33 Opiteck G J, Jorgenson J W. *Anal Chem.*, **1997**, 69: 2283 ~ 2291
- 34 Opiteck G J, Jorgenson J W, Moseley M A, Anderegg R J. *J. Microcolumn Separations*, **1998**, 10(4): 365 ~ 375
- 35 Machtejevas E, Harald J, Wagner K, Standker L, Marko-Varga G, Wolf-Georg F, Bischoff F, Unger K K. *J. Chromatogr B*, **2004**, 803(1): 121 ~ 130
- 36 Battersby J E, Snedecor B, Chen C, Champion K M, Riddle L, Vanderlaan M. *J. Chromatogr A*, **2001**, 927: 61 ~ 76
- 37 Suortti T. *J. Chromatogr A*, **1997**, 763: 331 ~ 335
- 38 Slentz B E, Penner N A, regnier F E. *J. Chromatogr.*, **2003**, 984: 97 ~ 107
- 39 Ramsey J D, Jacobsen S C, Culbertson C T, Ramsey J M. *Anal Chem.*, **2003**, 75: 3758 ~ 3764
- 40 Wang Y, Choi M H, Han J. *Anal Chem.*, **2004**, 76: 4426 ~ 4431
- 41 Li Y, Buch J S, rosenberger F, de Voe D L, Lee C S. *Anal Chem.*, **2004**, 76: 742 ~ 748

- 42 Herr A E, Molho J I, Drouvalakis K A, Mikkelsen J C, Utz P J, Santiago J G, Kenny T W, *Anal Chem.*, **2003**, 75: 1180 ~ 1187
- 43 Chen X X, Wu H K, Mao C D, Whitesides G M. *Anal Chem.*, **2002**, 74: 1772 ~ 1778

The Switching Technique of Two-dimensional Liquid Chromatography and Its Applications

Wang Zhicong^{1,2}, Zhang Qinghe², Zhao Zhongyi¹, Zhang Weibing^{*,2}, Li Tong²

¹ (Faculty of Material Science and Chemical Engineering, China University of Geosciences, Wuhan 430074)

² (Dalian Institute of Chemical Physics, Chinese Academy of Sciences, Dalian Elite Analytical Instruments Co., Ltd., Dalian 116011)

Abstract Multidimensional liquid chromatography has been one of the important tools for the study of complex mixtures. Based on the theory and technology of multidimensional chromatography, this article discusses the recent developments of the switching technique in the interface of two-dimensional liquid chromatography, and illustrates its applications which emphasizes on the research of proteomics.

Keywords Two-dimensional liquid chromatography, switching technique, interface, proteomics, review

(Received 25 December 2003; accepted 14 May 2004)

《石化技术与应用》杂志征订启事

《石化技术与应用》是中国石油兰州石化公司和兰州化学工业公司联合主办的石油化工技术性刊物。国内外公开发行。国内统一刊号 CN 62 - 1138/TQ, 国际标准刊号 ISSN 1009-0045。广告经营许可证号 6201004000005。自 1983 年创刊以来, 始终坚持科研开发与工业生产相结合的办刊思想, 深受广大读者、作者的厚爱的好评。主要报道内容: 石油化工、三大合成材料、催化剂、助剂及石油炼制等方面新产品、新工艺、新设备的开发、技术改造、分析测试及与石油化工有关的环境保护、自动控制、计算机技术等。本刊曾多次被评为全国石油化工行业及甘肃省优秀期刊, 并已被全国各地大多数图书馆、相关高等院校、科研单位及企业订阅和收藏。现已被俄罗斯《文摘杂志》(AJ)、美国《化学文摘》(CA)及《工程材料文摘》(EMA)等国际著名检索机构收录。

《石化技术与应用》为双月刊, 大 16 开, 单月 10 日出版。每期定价 10 元, 全年定价 60 元。欢迎您在全国各地邮局(所)订阅, 国内邮发代号 54-102。如错过邮局每年的订阅时间, 可直接从本刊编辑部订阅。国外读者可通过中国国际图书贸易总公司(北京 399 信箱, 邮编 100044)订阅, 邮发代号 4859BM。同时, 热诚欢迎您在本刊刊登新产品、新技术广告及企业、公司形象宣传广告。

编辑部通讯地址: 730060 甘肃省兰州市西固区合水北路 1 号《石化技术与应用》编辑部

联系电话: (0931) 7314247, 7981693 联系人: 赵丰砂

E-mail: shjs@0931mail.com, shjs@public.lz.gs.cn