

单分散大孔亲水弱阳离子交换填料的制备 及其对鱼精蛋白的分离纯化

杨春霞¹, 周 晶², 龚波林^{1*}

(1. 宁夏大学能源化工重点实验室, 宁夏 银川 750021 ; 2. 宁夏大学生命科学学院, 宁夏 银川 750021)

摘要 :以自制的 5.0 μm 单分散大孔亲水交联聚甲基丙烯酸环氧丙酯($\text{P}_{\text{GMA/EDMA}}$)微球为基质,对其表面进行化学改性,合成弱阳离子交换色谱填料(WCX)。详细考察了该填料对标准蛋白质的分离性能、表面亲水性能、稳定性和重现性以及流速对蛋白保留的影响。实验结果表明,该色谱填料对蛋白的分离性能、重现性及稳定性良好;在流速为 3 mL/min 时,采用线性梯度洗脱 6 min 内可分离 4 种标准碱性蛋白质,以溶菌酶测定的该填料的动力学吸附容量为 29.86 mg/g。将其用于鱼精蛋白的分离纯化,经反相高效液相色谱测定纯化后鱼精蛋白的纯度为 99.2% ;与商品 Shodex IEC SP-825 强阳离子交换色谱柱比较,纯化结果几乎一样。

关键词 :单分散大孔亲水交联聚甲基丙烯酸环氧丙酯微球;弱阳离子交换填料;蛋白质纯化;鱼精蛋白

中图分类号 :O658 文献标识码 :A 文章编号 :1000-8713(2009)02-0191-06 栏目类别 :研究论文

Preparation of weak cation exchange packing based on macroporous monodisperse hydrophilic resins and their application for the separation and purification of protamine

YANG Chunxia¹, ZHOU Jing², GONG Bolin^{1*}

(1. Key Laboratory of Energy & Chemical Engineering, Ningxia University, Yinchuan 750021, China ;

2. School of Life Science, Ningxia University, Yinchuan 750021, China)

Abstract : A new kind of weak cation exchange (WCX) stationary phase for high performance liquid chromatography (HPLC) was synthesized by the chemical modification of 5.0 μm macroporous monodisperse hydrophilic poly(glycidylmethacrylate-co-ethylenedimethacrylate) ($\text{P}_{\text{GMA/EDMA}}$) beads. The stationary phase was evaluated in detail to determine its separability, hydrophilicity, reproducibility and stability. It was found that the column exhibited excellent properties on the protein separation, reproducibility and stability. Four proteins were separated with linear gradient elution on the synthesized WCX stationary phase in 6 min. The highest dynamics protein loading capacity of the WCX packing for lysozyme (Lys) was 29.86 mg/g. The WCX packing was used for the fast separation and purification of protamine from carp with only one step. The purity of the obtained protamine detected by reversed-phase HPLC was 99.2%. Therefore satisfactory results have been obtained. Compared with the Shodex IEC SP-825 strong cation exchange column for the purification of protamine, the purity of protamine obtained from this column was almost same.

Key words : macroporous monodisperse hydrophilic polymeric beads ; weak caion-exchange packing ; purification of proteins ; protamine

随着生命科学的发展,对于各种生物活性物质,特别是蛋白质(包括酶)、核酸和多糖等与生命科学密切相关的生物大分子的分析、分离和纯化已成为当前分离科学、基因工程等领域的研究热点。离子

交换色谱在蛋白质的多级纯化、基因工程下游产品的分离纯化中发挥着至关重要的作用^[1]。目前,离子交换填料的基质主要有多糖(葡聚糖、琼脂糖、纤维素)、硅胶和有机聚合物三大类^[2]。多糖类基质

* 通讯联系人:龚波林,博士,教授,研究方向为色谱固定相的制备及应用。Tel : (0951) 2062300, E-mail : gongbl@nxu.edu.cn.

基金项目:科技部国际科技合作重点基金项目(2006DFA33690)。

收稿日期:2008-08-26

胶质软,不耐压。以硅胶为基质的离子交换填料机械强度高、柱效高,但这种介质只能在 pH 2~8 范围内使用,并且表面有较强的非特异性吸附,对蛋白质产生不可逆吸附,蛋白质的活性回收率低,因此使其应用受到限制。有机聚合物填料具有一定的机械强度、良好的亲水性、不可逆吸附小、柱效率高等优点,在离子交换色谱中发挥着重要的作用^[3]。

弱阳离子交换色谱(WCX)填料作为离子交换色谱的一种,在蛋白质的分离纯化中发挥着重要的作用。目前,国外的 Caude 等^[4]和 Alpent 等^[5]以硅胶为基质,制备了高效弱阳离子交换色谱固定相;国内的常建华等^[6,7]也采用硅胶基质制备了性能较好的弱阳离子交换色谱填料,并将其用于生物大分子的分离。我们曾采用“一步种子溶胀聚合法”制备了单分散多孔氯甲基苯乙烯-二乙烯苯($P_{CMS/DVB}$)微球^[8]和无孔^[9]、多孔的亲水交联聚甲基丙烯酸环氧丙酯($P_{GMA/EDMA}$)微球^[10],并用于生物大分子的分离纯化。但无论 $P_{CMS/DVB}$ 微球还是 $P_{GMA/EDMA}$ 微球都是以线性聚苯乙烯为种子。而聚苯乙烯的疏水性强,对生物大分子会产生较强的不可逆吸附。为了提高基质的亲水性,我们以亲水性单分散线性聚甲基丙烯酸环氧丙酯微球为种子制备了大孔亲水 $P_{GMA/EDMA}$ 微球,并以其为基质制备了新型的两性离子交换色谱填料^[11],将该填料用于蛋白质的分离,取得了令人满意的效果。本文进一步以该亲水性微球为基质,采用一种简单的改性方法合成了高效弱阳离子交换色谱填料,并详细地考察了该填料的色谱性能及蛋白质的质量回收率。

鱼精蛋白(protamine)是从鱼精中提取的核酸和蛋白质的天然复合物,它具有广谱抑菌活性,能抑制枯草杆菌、巨大芽孢杆菌、地衣形芽孢杆菌等的生长,已作为天然食品防腐剂在食品工业中得到了应用^[12]。文献^[13,14]报道分离纯化鱼精蛋白一般采用葡聚糖凝胶柱和离子交换色谱,而以聚合物为载体合成的 WCX 柱对鲤鱼鱼精蛋白的分离纯化尚未见报道。本文应用自制的 WCX 填料对鲤鱼鱼精蛋白进行了快速分离纯化,并采用反相高效液相色谱对

分离纯化的鱼精蛋白进行纯度测定,结果令人满意。

1 实验部分

1.1 仪器与试剂

LC-20AT 高效液相色谱仪(日本岛津), Sep1100 液相色谱仪(上海通微分析技术有限公司), CGY-100 型高压气动泵(北京福思源机械加工厂), 2003 型电动搅拌器, JY-92 超声波细胞破碎仪(宁波新芝生物科技股份有限公司), KQ-250B 超声波清洗仪(昆山市超声仪器有限公司), TGL-20M 高速台式冷冻离心机(长沙湘仪离心机仪器有限公司), PHS-3D pH 计(上海三信仪表厂)。

单分散大孔亲水 $P_{GMA/EDMA}$ 微球^[11](粒径: 5.0 μm ; 比表面积: 11.2 m^2/g ; 环氧值: 3.0 mmol/g ; 孔径主要分布在大孔(孔径 > 100 nm)和超大孔(孔径 > 500 nm)区域)。商品 Shodex IEC SP-825 强阳离子交换色谱柱。丁二酸酐(分析纯,中国医药上海化学试剂公司), 甲醇(色谱纯,天津市科密欧化学试剂有限公司), 三氟乙酸(TFA)(分析纯,纯国药集团化学试剂有限公司), 其他试剂均为分析纯,实验用水为二次蒸馏水。

肌红蛋白(Myo, 马心)、核糖核酸酶(RNase-A, 牛红细胞)、 α -糜蛋白酶原-A(α -Chy-A, 牛胰脏)、细胞色素-C(Cyt-C, 马心)、溶菌酶(Lys)、 β -乳球蛋白(β -Lact, 牛奶)、牛血清白蛋白(BSA)、胰岛素(Ins, 牛胰脏)、卵清蛋白(OVA, 鸡蛋清)、伴清蛋白(CON, 鸡蛋)均购自美国 Sigma 公司。鲤鱼精巢组织(市售)。

1.2 弱阳离子交换填料的制备

取一定量的单分散大孔亲水 $P_{GMA/EDMA}$ 微球置于三口瓶中,加入适量的 0.1 mol/L H_2SO_4 溶液,在 60 $^\circ\text{C}$ 水浴中搅拌反应 24 h,产物用水洗至中性,再用丙酮洗涤,真空干燥,即得水解的微球。取水解微球置于 100 mL 三口瓶中,加入少量的丁二酸酐,以吡啶为溶剂,将其超声分散均匀,在 60 $^\circ\text{C}$ 水浴中搅拌反应 24 h,用乙醇、水和丙酮反复洗涤,真空干燥,即得新型大孔 WCX 填料。合成路线见图 1。

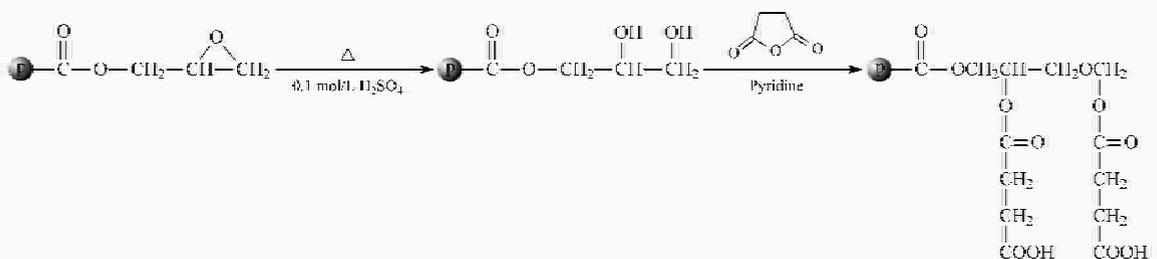


图 1 弱阳离子交换填料的合成路线

Fig. 1 Chemical modification scheme for the preparation of the weak cation ion exchange packings

1.3 填料的表征

利用酸碱滴定法测定树脂表面的羧基含量^[15]。

1.4 弱阳离子交换色谱柱的装填

以水为匀浆液,在 30 MPa 压力下将自制的大孔弱阳离子交换填料装柱(15 cm × 0.46 cm)。

1.5 色谱条件

离子交换色谱条件 流动相:A液(平衡液)为 20 mmol/L 磷酸盐(PBS) (pH 7.0);B液(洗脱液)为 20 mmol PBS + 0.5 mol/L NaCl (pH 7.0);分离标准蛋白的线性梯度洗脱程序:0→10 min,100% A→100% B;纯化鱼精蛋白的线性梯度洗脱程序:0→15 min,20% B→60% B。检测波长:280 nm。所有流动相在使用前均经 0.45 μm 滤膜过滤。

反相液相色谱条件 流动相:A液为水-0.1% TFA;B液为甲醇-0.1% TFA;梯度洗脱程序:0→10 min,100% A→100% B。检测波长为 280 nm。所有流动相在使用前均经 0.45 μm 滤膜过滤。

1.6 WCX 填料动态吸附容量的前沿色谱法测定

使用 5 cm × 0.46 cm WCX 柱,在流动相为 20 mmol/L PBS + 2 g/L Lys,流速为 0.3 mL/min 的条件下,采用前沿突破曲线法测定该 WCX 填料的动态吸附容量。

1.7 鲤鱼鱼精蛋白样品的处理

1.7.1 鲤鱼鱼精蛋白的提取

取成熟鲤鱼精巢组织,除去附着在精巢上的其他杂物(如腺体、脂肪、结缔组织、血块和污物等)后,加入两倍量的 0.15 mol/L NaCl 溶液,匀浆捣碎,将其过滤后离心,所得沉淀用 0.75 mol/L H₂SO₄ 溶液在 40 °C 下水解 1.5 h,在 4 °C、4 000 r/min 条件下离心分离 10 min。上清液用冷乙醇沉淀,然后用 0.15 mol/L NaCl 溶液抽提,抽提后沉淀分别用丙酮和乙醇洗涤两次,干燥沉淀,得鱼精蛋白硫酸盐。

1.7.2 鲤鱼鱼精蛋白的纯化

在分离提取鱼精蛋白的过程中,可能会混入杂蛋白、核酸等其他物质。将提取的鱼精蛋白粗品溶解于水中,取上清液用所制备的 WCX 柱和 Shodex IEC SP-825 强阳离子交换色谱柱分离纯化鱼精蛋白。

将 WCX 柱和商品柱纯化收集的鱼精蛋白纯化液透析除盐,再溶于适量的二次蒸馏水中进行反相色谱分析。

2 结果与讨论

2.1 填料表面羧基含量的测定

经测定该填料表面羧基含量高达 0.83 mmol/g,说明离子交换基团已键合到聚合物微球表面。

2.2 生物大分子的离子交换色谱分离

为了鉴定所合成填料的离子交换特性,在 pH 7.0 的磷酸盐缓冲液中分别考察了等电点(pI)小于 7.0 的酸性蛋白质和等电点大于 7.0 的碱性蛋白质的色谱行为,结果发现等电点为 6.9 的弱酸性蛋白 Myo 有弱保留,而其他酸性蛋白 β-Lact、BSA、Ins、OVA 和 CON 都不保留;碱性蛋白 α-Chy-A、RNase-A、Cyt-C 和 Lys 都保留,并且碱性蛋白按等电点由小到大的顺序洗脱,完全符合碱性蛋白在阳离子交换色谱上的保留规律。图 2 是 Myo、RNase-A、Cyt-C 和 Lys 在弱阳离子交换色谱柱的分离图。实验结果表明,在流速为 1.0 mL/min、洗脱盐浓度为 0.5 mol/L 条件下,10 min 的线性梯度洗脱可将上述 4 种标准蛋白分离,Myo、RNase-A、Cyt-C 和 Lys 的柱效分别为 0,1 876,1 192 和 968 理论塔板/m,与文献[10]相比,洗脱盐的浓度低,这对保持生物大分子的活性非常有利。图 2-c 是流速为 3.0 mL/min,

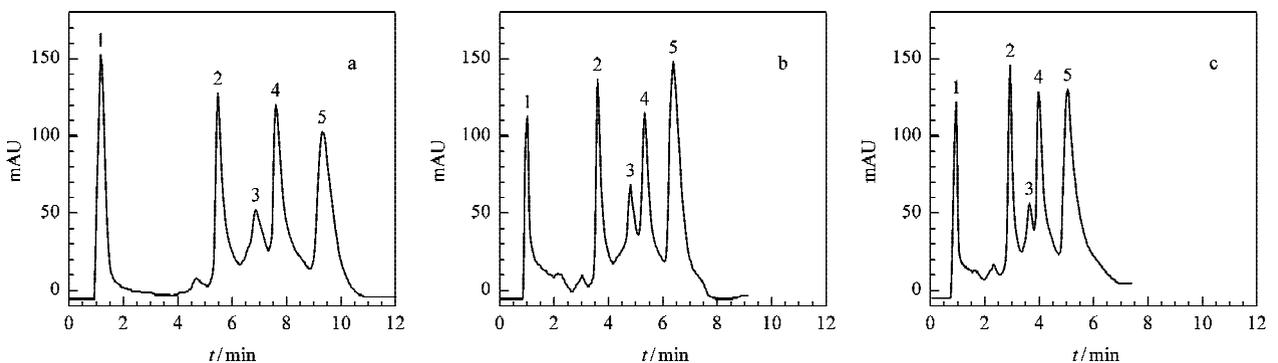


图 2 标准蛋白在 WCX 柱上的色谱分离图

Fig. 2 Chromatograms of standard proteins by the WCX column

Flow rate (mL/min): a. 1.0; b. 2.0; c. 3.0. The linear gradient elution was from 100% mobile phase A (20 mmol/L phosphate, pH 7) to 100% mobile phase B (20 mmol/L phosphate + 0.5 mol/L NaCl, pH 7.0) in 10 min. UV detection at 280 nm.

Proteins: 1. Myo; 2. RNase-A; 3, 4. Cyt-C; 5. Lys.

6 min 的线性梯度洗脱同样可分离 4 种标准蛋白, 与图 2-a 所示的流速为 1.0 mL/min 时的柱效几乎完全相同(Myo、RNase-A、Cyt-C 和 Lys 的柱效分别为 0, 1 706, 1 072 和 834 理论塔板/m)。这表明所合成的大孔亲水性 WCX 填料具备高效和快速传质的特征, 可用于生物大分子的快速分离纯化。

2.3 填料表面的亲水性

用于分离生物大分子的聚合物填料应具有足够强的亲水性才能减少生物大分子与填料之间的非特异性吸附, 增加其生物活性的回收率。根据疏溶剂化理论, 流动相中加入有机溶剂能够抑制蛋白与固定相之间的疏水相互作用, 从而减小蛋白的保留时间或洗脱体积。本文考察了在流动相中加入 5% 的异丙醇与不加异丙醇对蛋白质分离的影响。从表 1 看出, 蛋白保留时间有一定程度的减小, 但减小量非常小。这表明, 该基质表面的疏水性很弱。

表 1 异丙醇对蛋白保留的影响

Table 1 Effect of isopropanol on the retention of proteins by a WCX column

Eluent	Retention times/min			
	Myo	RNase-A	Cyt-C	Lys
Eluent 1 ¹⁾	0.82	5.63	6.46, 7.10	8.96
Eluent 2 ²⁾	0.80	5.52	6.25, 7.03	8.77

1) without isopropanol in the mobile phases A and B. 2) 5% isopropanol added in the mobile phases A and B. Mobile phase A : 20 mmol/L PBS ; mobile phase B : 20 mmol/L PBS + 0.5 mol/L NaCl (pH 7.0). Other conditions are the same as in Fig. 2.

2.4 WCX 柱对标准蛋白的质量回收率

色谱柱对标准蛋白的质量回收率也是评价填料亲水性能的重要指标。蛋白的质量回收率高说明固定相表面的亲水性强。表 2 为 4 种蛋白在 WCX 柱上的 3 次平行测定的平均质量回收率。由表 2 中的数据可以看出, 该柱对这 4 种标准蛋白的质量回收率均超过了 94%, 并且 3 次平行测定的相对标准偏差(RSD) 低于 4%, 进一步表明所合成的弱阳离子交换色谱固定相的非特异性吸附小, 亲水性强。

表 2 WCX 柱对标准蛋白的质量回收率(n = 3)

Table 2 Mass recoveries of proteins on the WCX column (n = 3)

Protein	Recovery/%	RSD/%
Myo	96.11	2.3
RNase-A	94.16	3.7
Cyt-C	96.71	3.5
Lys	97.78	3.0

2.5 WCX 柱的稳定性和重现性

色谱柱的稳定性、重现性和柱寿命是考察色谱柱性能好坏的重要指标之一。用 1 000 mL 的 1 mol/L HCl 和 0.5 mol/L NaOH 溶液分别循环通过

WCX 柱后再用于分离标准蛋白。图 3-a 是新柱和酸碱循环后色谱柱分离 4 种蛋白的色谱图比较。从图 3 可发现该色谱柱用强酸、强碱循环过柱后分离性能基本没有改变, 蛋白的保留时间略有变化, 说明该填料具有良好的稳定性和广泛的 pH 使用范围。此外还考察了该色谱柱的重现性。对该色谱柱重复进样上百次, 发现柱效、分离度等几乎没有改变(结果见图 3-b 和表 3)。连续使用 1 个月(约 300 h) 后, 在相同条件下分离标准蛋白, 蛋白保留时间略有变化, 但分离效果基本未改变(结果见表 3), 柱压由原来的 7.6 MPa 上升到 9.8 MPa。这些结果表明, 该 WCX 柱具有良好的重现性和稳定性。

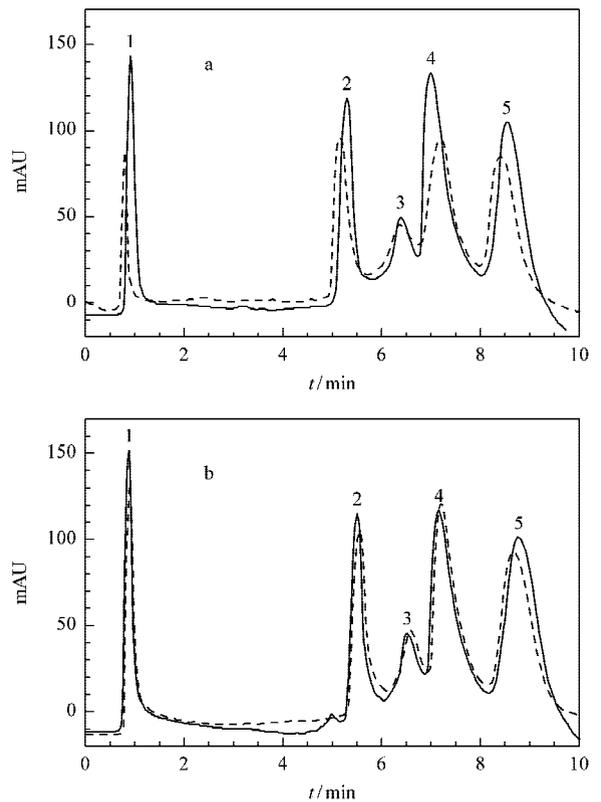


图 3 WCX 柱的稳定性和重现性

Fig. 3 Stability and reproducibility of a WCX column

a. chromatogram of standard proteins separated by the WCX column before (solid line) and after (dashed line) treated by strong acid and strong base ; b. chromatogram of standard proteins separated by a new column (solid line) and a column used hundreds of times (dashed line). Chromatographic conditions are the same as in Fig. 2-a.

Proteins : 1. Myo ; 2. RNase-A ; 3, 4. Cyt-C ; 5. Lys.

表 3 WCX 柱的稳定性和重现性

Table 3 Stability and reproducibility of the WCX column

R_s	New column	Treated by strong acid and strong base	Used hundreds of times	After 300 h used continuously
$R_{(2,1)}$	1.50	1.50	1.50	1.50
$R_{(3,2)}$	1.23	1.16	1.21	1.19
$R_{(5,4)}$	1.25	1.21	1.25	1.25

Proteins : 1. Myo ; 2. RNase-A ; 3, 4. Cyt-C ; 5. Lys.

2.6 弱阳离子交换填料的动态吸附容量

离子交换色谱中柱容量的大小与固定相基质的结构及比表面积的大小、配基的结构及交换基团的密度、色谱条件及分离对象等因素有关。若单位体积的填料中交换基团多,对蛋白质的吸附点就多,柱容量就大。本实验以 Lys 测定所合成的 WCX 填料的动态吸附容量为 29.86 mg/g,比文献[8]报道的弱阳离子交换色谱填料的吸附容量高。

2.7 鲤鱼鱼精蛋白的分离纯化

鱼精蛋白是一种存在于各类动物的成熟精巢组织中的多聚阳离子抗菌短肽,与脱氧核糖核酸

(DNA)以离子键的形式紧密结合在一起。鱼精蛋白是一种小而简单的球形碱性蛋白质,其相对分子质量比较小(从几千到一万多),一般由 30 个左右的氨基酸组成,其中 2/3 以上是精氨酸。它能溶于水或稀酸中,但可被稀氨水沉淀;其加热不凝固且较为稳定,pI 为 10~12^[16]。图 4-a,b 分别为采用自制的 WCX 柱和商品化的 Shodex IEC SP-825 强阳离子交换色谱柱对鲤鱼鱼精蛋白的分离纯化色谱图,其中峰 1 为杂蛋白,峰 2 为鱼精蛋白。从图 4 可以看出,鱼精蛋白与其他杂蛋白之间得到了良好的分离。

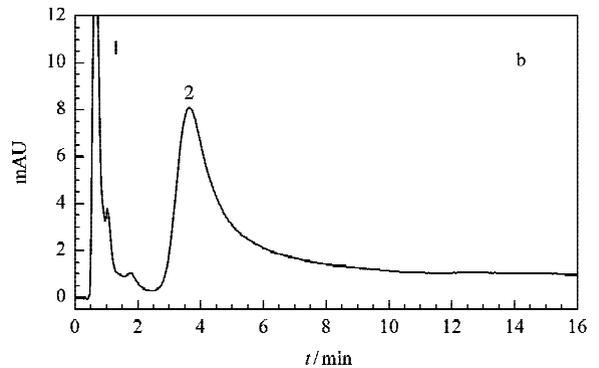
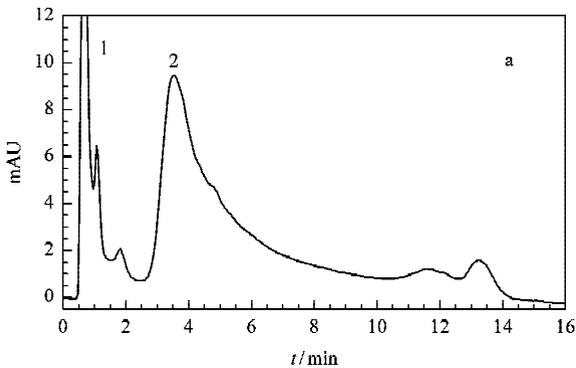


图 4 鱼精蛋白在(a)自制的 WCX 柱和(b)商品 Shodex IEC SP-825 柱上的色谱分离图

Fig. 4 Chromatograms of protamine on (a) the synthesized WCX column and (b) a Shodex IEC SP-825 column

Linear gradient elution: from 20% solution B (20 mmol/L phosphate-0.5 mol/L NaCl, pH 7.0) to 60% solution B in 15 min. UV detection wavelength: 280 nm; flow rate: 1.0 mL/min.

1. impurity; 2. protamine.

2.8 鱼精蛋白反相色谱分析

本文采用反相高效液相色谱法鉴定了经自制的 WCX 色谱柱和商品 Shodex IEC SP-825 强阳离子交换色谱柱纯化的鲤鱼鱼精蛋白的纯度。图 5 为鱼精蛋白粗样、经自制的 WCX 色谱柱纯化的鱼精蛋白粗样、经 Shodex IEC SP-825 强阳离子交换色谱

柱纯化的鱼精蛋白在 C_{18} 反相色谱柱上的色谱图。从图 5-a 可以看出,未经纯化的鱼精蛋白在 C_{18} 柱上有许多保留峰,而用 WCX 色谱柱和商品 Shodex IEC SP-825 柱纯化后的鲤鱼鱼精蛋白只有单一峰,其纯度达到 99.2%,表明所制备的 WCX 色谱柱对鱼精蛋白具有良好的分离纯化性能。

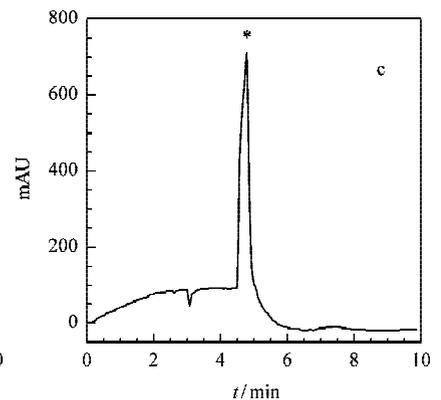
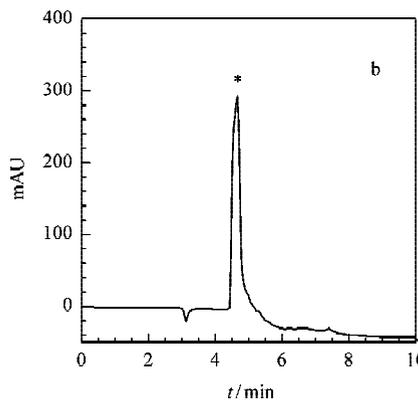
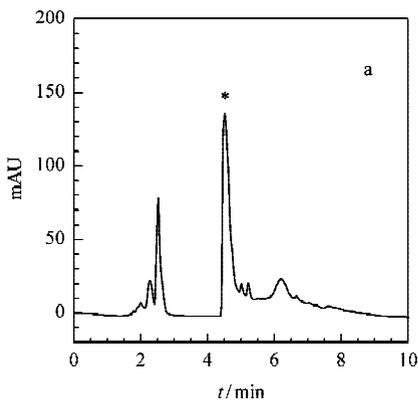


图 5 鱼精蛋白在反相色谱柱上的色谱图

Fig. 5 Chromatograms of protamine on the reversed-phase C_{18} column

Linear gradient elution: from 100% solution A ($H_2O + 0.1\%$ TFA) to 100% solution B ($CH_3OH + 0.1\%$ TFA) in 10 min; flow rate: 1.0 mL/min. UV detection wavelength: 280 nm.

a. crude protamine; b. purified protamine by the WCX column; c. purified protamine by a Shodex SP-825 column.

* protamine.

3 结论

本文以单分散大孔亲水交联聚甲基丙烯酸环氧丙酯微球为基质,对其表面进行简单的化学改性,合成了一种新型的弱阳离子交换色谱填料。考察了该填料的分离性能、稳定性、重现性等。结果表明,该填料具有良好的色谱性能,将其应用于鲤鱼鱼精蛋白的分离纯化,取得了较好的效果,并与 Shodex IEC SP-825 商品柱进行了比较,纯化效果几乎一样,纯化后的鱼精蛋白纯度达到 99.2%。

参考文献:

[1] Liu T, Geng X D. Chinese Journal of Chromatography (刘彤, 耿信笃. 色谱), 2000, 18(1): 30
 [2] Boschetti E. J Chromatogr A, 1994, 658 : 207
 [3] Tan Y D. [MS Dissertation]. Wuhan : Central China Normal University (覃艳东. [硕士学位论文]. 武汉 : 华中师范大学), 2001 : 1
 [4] Caude M, Rosset R. J Chromatogr Sci, 1997, 15 : 405
 [5] Alpent A J. J Chromatogr, 1983, 266 : 23
 [6] Chang J H, Liu X H. Chinese Journal of Chromatography (常建华, 刘新华. 色谱), 1994, 12(6): 435

[7] Chang J H, Han Y P. Chemical Journal of Chinese Universities (常建华, 韩亚萍. 高等学校化学学报), 1994, 15(9): 1317
 [8] Li L, Ma G J, Gong B L. Chinese Journal of Chromatography (李龙, 马桂娟, 龚波林. 色谱), 2005, 23(6): 567
 [9] Gong B L, Zhu J X, Li L, et al. Talanta, 2006, 68 : 666
 [10] Gong B L, Ke C Y, Geng X D. Chinese Journal of Chemistry, 2004, 22 : 283
 [11] Gong B L, Ren L, Yan C, et al. Chemical Journal of Chinese Universities (龚波林, 任丽, 阎超, 等. 高等学校化学学报), 2007, 28(5): 831
 [12] Fu H X, Du R M, Ying T J, et al. Food Science and Technology (傅红霞, 杜荣茂, 应铁进, 等. 食品科技), 2003 (4): 25
 [13] Zhong L R, Wu J C, Zhang Y P, et al. Journal of Fisheries of China (钟立人, 毋瑾超, 张燕平, 等. 水产学报), 1999, 23(1): 104
 [14] Shangguan X C. [PhD Dissertation]. Xi 'an : Shaanxi Normal University (上官星辰. [博士学位论文]. 西安 : 陕西师范大学), 2004 : 34
 [15] Chang J H. Analysis of organic. Xi 'an : Northwestern University Press (常建华. 有机分析. 西安 : 西北大学出版社), 1995 : 35
 [16] Mu Y L, Yu X Y, Meng Q X, et al. Food and Drug (穆云龙, 余旭亚, 孟庆雄, 等. 食品与药品), 2006, 8(9): 11

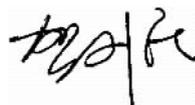
致 歉

本人发表在《色谱》2008 年第 26 卷第 1 期第 98 ~ 104 页上的题为“气相色谱分析农药残留的基质效应及其解决方法”一文是编译(基本上是翻译)了 Colin F. Poole 发表在 *J Chromatogr A* 2007 年第 1158 卷第 241 ~ 250 页上的论文“Matrix-induced response enhancement in pesticide residue analysis by gas chromatography”。在阅读了 Poole 的综述文章后,本人认为该文对分析检测工作有重要的指导作用,便对其进行了翻译,整理成文后投给《色谱》,期望与国内同仁共享。但本人在未取得原作者许可的情况下使用该文,且在使用中未做相应说明,违反了《中华人民共和国著作权法》中的相关规定,本人感到非常抱歉,也非常惭愧。在此,本人向原作者、《色谱》读者及《色谱》编辑部致以深深的歉意。本人将深刻反省,引以为戒,在今后的工作中不犯类似的错误。

此致

敬礼!

贺利民



2009 年 3 月 18 日