

# HPLC-ICPMS 微量进样测试细胞培养液中多元素含量

ICPMS-159

**摘要：**本文建立了高效液相色谱 LC-20Ai 直接进样，岛津 ICPMS-2030 系列测试细胞培养液中多元素含量的方法。实验结果表明：各个元素线性系数均大于 0.9993，方法检出限在 0.042~0.90  $\mu\text{g/L}$  之间，加标回收率在 87%~106% 之间，该方法适用于样本量少的细胞培养液中多元素含量的快速分析。

**关键词：**HPLC-ICPMS 微量进样 细胞培养液 元素含量

细胞培养液既是培养细胞中供给细胞营养和促使细胞生殖增殖的基础物质，也是培养细胞生长和繁殖的生存环境。细胞培养液的主要成分是氨基酸、维生素、碳水化合物以及无机盐离子等。维生素是维持细胞生长的生物活性物质，在细胞代谢中起调节及控制作用；碳水化合物是细胞生长主要能量来源；无机盐中的钠、钾、镁、钙等无机离子则是帮助细胞维持渗透压平衡。无机元素含量对细胞代谢途径的调节、对某些酶和信号分子的活性起关键作用，如低含量的锌、铜等可以促进细胞生长，提高蛋白类药物产率，但含量过高也会增加抗体产物的基本变体的相对量。

培养基中无机元素的变化，对细胞生长会产生一定影响，如细胞生长形态、分裂速度等。严格把控培养基中无机元素含量，优化细胞培养工艺对于提高蛋白类药物的产率，保证细胞培养批次之间的一致性、稳定关键质量属性等因素至关重要。

细胞培养液样品一般样品量少，而微量元素的检测需要保证灵敏度高，结果准确。本文采用岛津高效液相色谱 LC-20Ai 直接进样，电感耦合等离子体质谱仪 ICPMS-2030 系列对细胞培养液中多元素含量进行了测试。

## ■ 实验部分

### 1.1 仪器

本实验使用岛津高效液相色谱仪 LC-20Ai 与电感耦合等离子体质谱仪 ICPMS-2030 系列联用系统。具体配置为 LC-20Ai $\times$ 2 输液泵，DGU-20A<sub>3R</sub> 在线脱气机，SIL-20AC 自动进样器，CTO-20AC 柱温箱，CBM-20A 系统控制器，ICPMS-2030 系列电感耦合等离子体质谱仪，LabSolutions ICPMS TRM 工作站。

### 1.2 实验样品

细胞培养液

### 1.3 试剂

硝酸为优级纯；实验用水由 Milli-Q 水净化系统经去离子与二次净化制得。

### 1.4 样品前处理

用移液枪移取 1 mL 细胞培养液于塑料管中，加入 1 mL 1%  $\text{HNO}_3$ ，混匀待测。同法制备样品空白和加标溶液。

### 1.5 分析条件

LC-20Ai 和 ICPMS-2030 系列分析条件见表 1、表 2。

表 1 LC-20Ai 分析条件

参数	参数设定
流动相	1% $\text{HNO}_3$
流速	1.0 mL/min
进样量	50 $\mu\text{L}$

表 2 ICP-MS 分析条件

参数	参数设定	参数	参数设定
高频功率	1.20 kW	等离子体气流速	8.0 L/min
辅助气流速	1.10 L/min	载气流速	0.70 L/min
炬管类型	Mini 炬管	雾化器	同轴
雾化室	旋流	雾化室温度	5 °C
采样深度	5.0 mm	高频频率	27.12 MHz
碰撞气体	He	碰撞气流速	6 mL/min
池电压	-21 V	能量过滤器电压	7.0 V

## ■ 方法和结果

### 2.1 标准溶液配制

用 1% HNO<sub>3</sub> 配制 Co、Cr、Cu、Fe、Ni、Pb、Se 和 Zn 元素不同浓度标准溶液于 50 mL 容量瓶中，配制浓度如表 3 所示。

表 3 标准溶液浓度及分析质量数

元素	质量数 (amu)	标准溶液浓度 (µg/L)					
		STD1	STD2	STD3	STD4	STD5	STD6
Co	59	0	100	200	500	1000	2000
Cr	52	0	1.0	2.0	5.0	10	20
Cu	63	0	1.0	2.0	5.0	10	20
Fe	56	0	100	200	500	1000	2000
Ni	60	0	1.0	2.0	5.0	10	20
Pb	208	0	1.0	2.0	5.0	10	20
Se	78	0	1.0	2.0	5.0	10	20
Zn	66	0	100	200	500	1000	2000

### 2.2 部分元素标准曲线

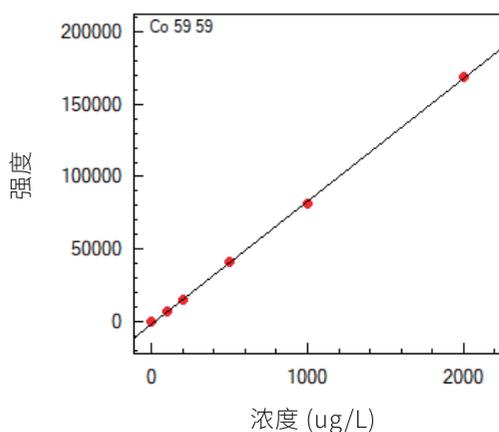


图 1 Co 元素的标准曲线  $r=0.99981$

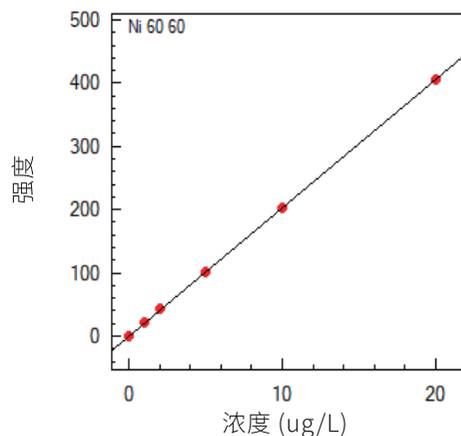


图 2 Ni 元素的标准曲线  $r=0.99998$

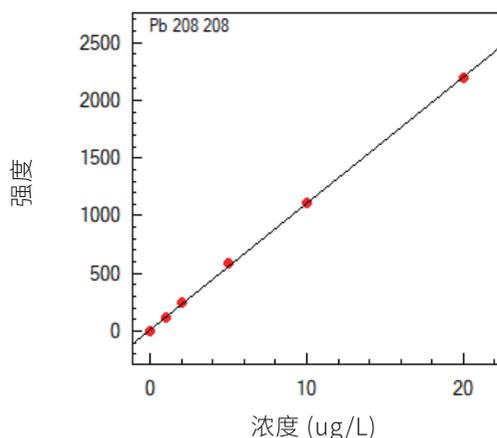


图3 Pb元素的标准曲线  $r=0.99982$

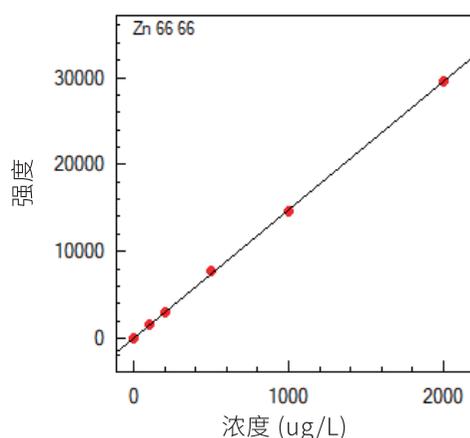


图4 Zn元素的标准曲线  $r=0.99993$

### 2.3 方法检出限

在进样体积为 50  $\mu\text{L}$  时,对浓度为 1  $\mu\text{g/L}$  标准溶液考察铬、铜、镍、铅和硒元素的信噪比,对浓度为 100  $\mu\text{g/L}$  标准溶液考察钴、镍和锌元素的信噪比,根据信噪比  $S/N=3$  求出检出限,结果见表 4。

表 4 检出限考察结果

元素	仪器检出限 ( $\mu\text{g/L}$ )	方法检出限 ( $\mu\text{g/L}$ )
Co	0.048	0.096
Cr	0.048	0.096
Cu	0.34	0.68
Fe	0.33	0.66
Ni	0.021	0.042
Pb	0.024	0.048
Se	0.45	0.90
Zn	0.34	0.68

### 2.4 测试结果及回收率

将细胞培养液样品按“1.4 样品前处理”处理后进行分析,并对样品进行加标回收试验,连续测试未知样品 6 次计算精密度,测定结果见表 5。

表 5 细胞培养液样品测试结果、加标回收率和精密度

元素	稀释倍数	测定值 ( $\mu\text{g/L}$ )	RSD/% (n=6)	样品结果 ( $\mu\text{g/L}$ )	加标量 ( $\mu\text{g/L}$ )	测定值 ( $\mu\text{g/L}$ )	回收率 (%)
Co	2	469	1.56	938	500	939	94.0
Cr	2	1.81	2.61	3.62	5.0	6.33	90.5
Cu	2	3.51	0.75	7.02	5.0	8.40	97.8
Fe	2	854	0.47	1708	500	1290	87.2
Ni	2	3.69	1.25	7.38	5.0	8.28	91.8
Pb	2	0.12	4.82	0.24	5.0	5.27	103.0
Se	2	1.29	3.39	2.58	5.0	6.56	105.4
Zn	2	566	0.49	1132	500	1020	90.8

## ■ 结论

使用 ICPMS-2030 系列电感耦合等离子体质谱仪和 LC-20Ai 联用系统的微量进样模式分析细胞培养液样品，该方法进样量少，可对稀有样品进行分析，同时可以降低锥口积盐。高灵敏度氦气碰撞模式测定可有效消除由于复杂基体引起的多原子离子干扰。结果表明该方法线性相关系数良好，灵敏度高，准确度高，可实现对细胞培养液中多元素含量的快速分析。

岛津应用云

