

Hintergrund

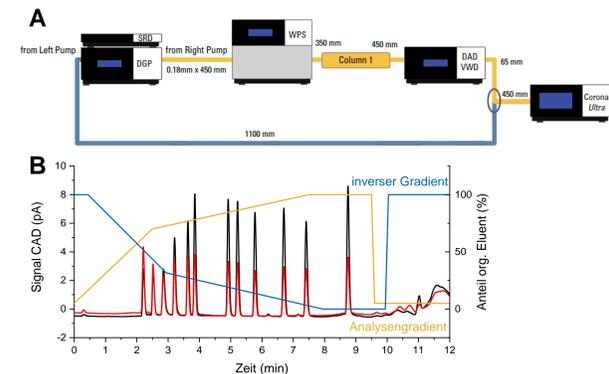
Der **Charged-Aerosol-Detektor (CAD)** stellt eine innovative Detektionsmöglichkeit von schwerflüchtigen Analyten in der Hochleistungsflüssigchromatographie (HPLC) dar. Es handelt sich um einen unspezifischen, massen-proportionalen Detektor, der in Analogie zum verwandten Evaporative-Light-Scattering-Detektor (ELSD) schwerflüchtige Substanzen, unabhängig von deren chemischen Strukturmerkmalen, detektieren kann, jedoch Vorteile in der Empfindlichkeit und in der Linearität der Detektion aufweisen soll. Auf dem Gebiet der Konformitätsprüfung von Lebensmittelkontaktmaterialien, besonders bei der Durchführung von substanzunabhängigen Analysen (Screenings), kann somit der CAD eine wertvolle Option darstellen.

Zusammenfassung

- Eine nahezu einheitliche Detektierbarkeit ist für ausreichend schwerflüchtige Analyten gegeben. Anhand einer Kalibrierung von geeigneten Referenzsubstanzen können unbekannte Substanzen mit einer Unsicherheit von ca. ±20% quantifiziert werden. Auch für die Bestimmung eines organischen Gesamtigrats ist der CAD einsetzbar.
- Die Temperatureinstellung im CAD-Evaporatorrohr stellt eine Möglichkeit dar, die Flüchtigkeit nicht identifizierter Analyten und somit die Eignung zur Quantifizierung nach einer substanzunabhängigen Kalibrierung experimentell zu ermitteln.
- Der Einsatz eines inversen Gradienten ermöglicht eine gleich empfindliche CA-Detektion während einer Gradientenelution.

1. Inverser Gradient

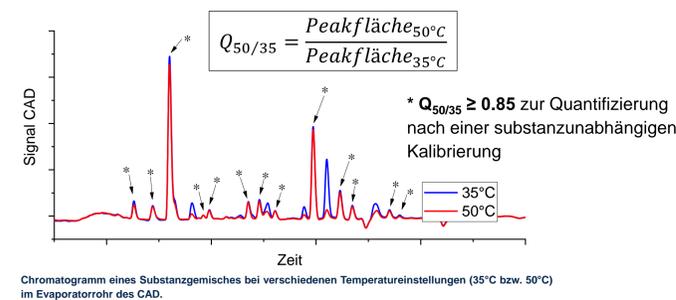
Die Empfindlichkeit der Detektion steigt aufgrund der höheren Verneblungseffizienz von organischen Eluenten im Verlauf einer Gradientenelution auf einer RP-Phase an. Der **inverse Gradient**, der dem Eluenten nach Durchlauf der Chromatographiesäule und vor dem CAD zugemischt werden kann, bewirkt die Angleichung der Fließmittelzusammensetzung im gesamten Chromatographielauf und somit eine konstante Detektorempfindlichkeit.



A) Aufbau eines HPLC-DAD/CAD-Systems mit einer inversen Gradientenoption. Bild: Thermo Fisher Scientific.
B) Chromatogramm eines 12-Substanz-Gemisches (Retentionsreihenfolge (Substanz # in Tab.): 36, 15, 4, 13, 12, 30, 39, 41, 21, 34, 33, 44; je 50 mg/L) mit (rot) und ohne (schwarz) die Anwendung des inversen Gradienten.

2. Flüchtigkeit nicht identifizierter Substanzen

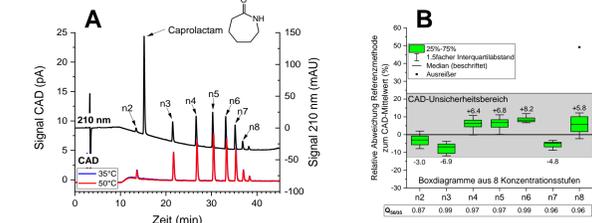
Die Evaporierung des Eluenten im CAD-Evaporatorrohr verursacht eine Diskriminierung von flüchtigen Analyten, die gemeinsam mit dem Eluenten teilweise oder vollständig entfernt werden. Durch Vergleich der Response bei verschiedenen Temperatureinstellungen (35°C bzw. 50°C) lässt sich die Eignung eines unbekannten Analyten zur Quantifizierung nach einer substanzunabhängigen Kalibrierung feststellen.



Anwendungen

➤ Bestimmung von Einzelsubstanzen

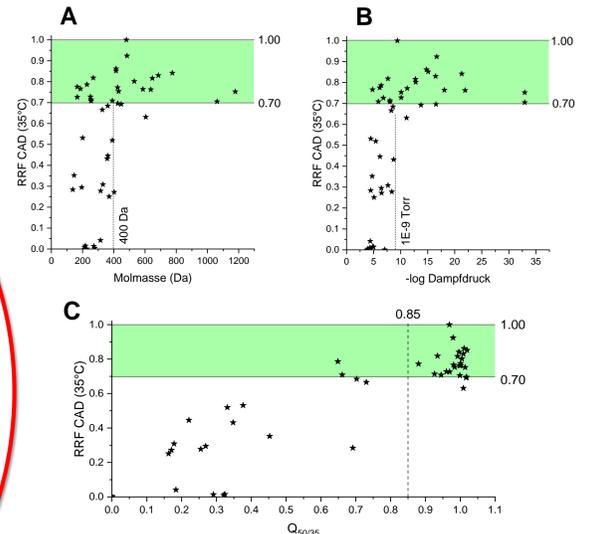
Der CAD kann zur Bestimmung von einzelnen schwerflüchtigen Verbindungen eingesetzt werden, wie am Beispiel der **zyklischen Oligomere aus Polyamid 6** und des Vergleichs mit einer Referenzmethode^[1] gezeigt.



A) Chromatogramme bei 210 nm (nach Heimrich et al.[1]) und im CAD (35°C bzw. 50°C überdeckend). Caprolactam wird vom CAD aufgrund der hohen Flüchtigkeit nicht detektiert.
B) Relative Abweichungen der Quantifizierungen nach der Referenzmethode, bezogen auf den CAD-Unsicherheitsbereich (Kalibrierung methodenspezifisch). Übereinstimmung beider Methoden.

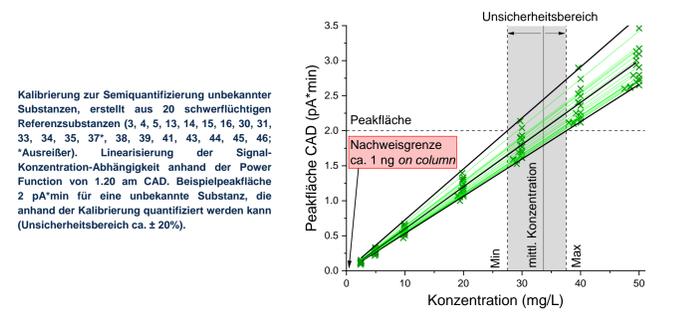
3. Massenabhängige, substanzunabhängige Kalibrierung

Die CAD-Empfindlichkeit kann mit relativen Responsefaktoren (RRF) von 0.70 bis 1.00 (bezogen auf die am empfindlichsten detektierbare Substanz) als **nahezu einheitlich** für ausreichend schwerflüchtige Analyten bezeichnet werden. Eine nahezu einheitliche Detektierbarkeit liegt i. d. Regel für Analyten mit einer Molmasse von mindestens 400 Da oder einem Dampfdruck von maximal 1E-9 Torr (25°C) bzw. einem experimentell bestimmten $Q_{50/35} \geq 0.85$ (siehe 2.) vor.



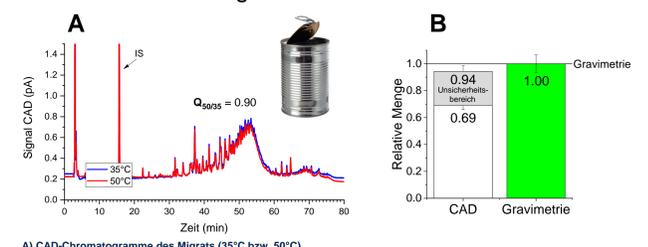
Relative Responsefaktoren (RRF) der Referenzsubstanzen in Tab., bezogen auf den maximalen Response (#36), Einpunktbestimmung, in Abhängigkeit der Molmasse (A), des Dampfdrucks (B) und des $Q_{50/35}$ (C).

Aus ausreichend schwerflüchtigen Referenzsubstanzen ($Q_{50/35} \geq 0.85$, siehe 2.) lässt sich eine Kalibrierung aufstellen, die eine Semiquantifizierung unbekannter Analyten ermöglicht. Aus den geringen Unterschieden der Kalibriergeradensteigungen ergibt sich ein Unsicherheitsbereich (ca. ± 20%) für die Quantifizierung.



➤ Bestimmung des Gesamtigrats

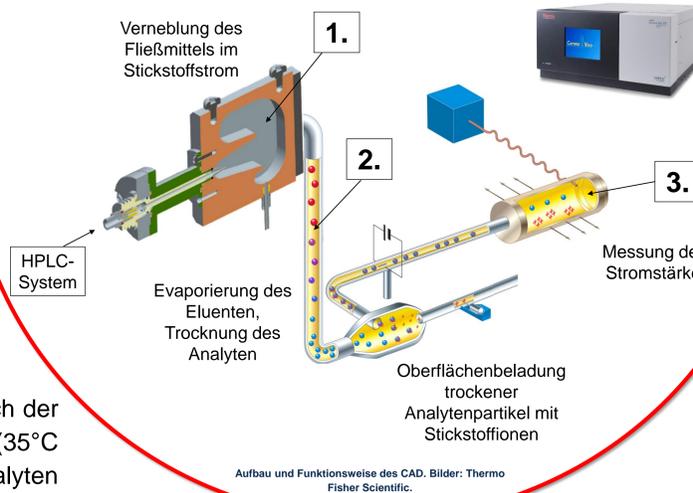
Am Beispiel der Migration einer **Konservendose mit Epoxy-Phenol-Beschichtung** und einer Gegenüberstellung der Quantifizierung aus der CAD-Analyse und aus der Gravimetrie^[2] wird eine leichte Unterschätzung durch den CAD deutlich, die jedoch im Rahmen einer Risikobewertung kaum von Bedeutung ist.



A) CAD-Chromatogramme des Migrats (35°C bzw. 50°C).

B) Erfasste Gesamtigratmenge anhand des CAD (aus der substanzspezifischen Kalibrierung mit einem Unsicherheitsbereich) und der Gravimetrie^[2]. Menge nach dem CAD: 69 - 94% der gravimetrisch erfassten Menge.

Wodurch wird eine Quantifizierung ohne Standards mittels HPLC-CAD ermöglicht?



Tab. Liste der untersuchten Referenzsubstanzen. * Einsatzgebiet der Substanzen: A = Antioxidans, B = UV-Blocker, C = Nukleierungsmittel, F = Flammenschutzmittel, M = Monomer, N = nicht absichtlich zugesetzte Substanz (NIAS), O = optischer Ausheller, P = Weichmacher, X = Sonstiges. ^a berechnet anhand von Advanced Chemistry Development (ACD/Labs) Software V11.02 (© 1994-2018 ACD/Labs).

#	Art*	(Trivial-)Name	CAS-Nr.	Molmasse (Da)	Dampfdruck (Torr) (25°C) ^b	RRF	$Q_{50/35}$
1	X	p-Aminobenzoesäure	150-13-0	137.1	3.45E-05	0.28	0.69
2	M	Adipinsäure	124-04-9	146.1	1.81E-05	0.35	0.45
3	M	Terephthalsäure	100-21-0	166.1	7.35E-07	0.78	1.00
4	M	Isophthalsäure	121-91-5	166.1	1.55E-07	0.73	0.97
5	M	4,4'-Dihydroxybiphenyl	92-88-6	186.2	1.56E-05	0.77	0.98
6	X	Coffein	58-08-2	194.2	3.72E-07	0.29	0.27
7	N	4-Hydroxy-4'-methoxybiphenyl	16881-71-3	200.2	3.28E-05	0.53	0.38
8	X	4-Cumylphenol	599-64-4	212.3	4.98E-05	0.01	0.32
9	X	Diphenoxylethan	104-66-5	214.3	1.58E-04	0.00	-
10	X	Diphenylsulfon	127-63-9	218.3	1.36E-05	0.02	0.32
11	B	Tinuvin® P	2440-72-4	225.3	8.79E-08	0.00	0.00
12	M	Bisphenol A	80-05-7	228.3	3.90E-07	0.79	0.65
13	M	Bisphenol S	80-09-1	250.3	7.80E-11	0.73	0.96
14	N	Bis(2-hydroxyethyl)terephthalat	959-26-2	254.2	9.35E-09	0.71	0.94
15	N	Bis(2-hydroxyethyl)isophthalat	3644-99-3	254.2	9.35E-09	0.71	0.93
16	X	Bisphenol Z	843-55-0	268.4	2.20E-08	0.82	0.93
17	X	Androstenon	18339-16-7	272.4	1.02E-05	0.01	0.29
18	P	Dibutylphthalat	84-74-2	278.3	1.08E-04	0.00	0.00
19	P	Dibutylsebacat	109-43-3	314.5	1.14E-05	0.04	0.18
20	B	Tinuvin® 326	3896-11-5	315.8	4.24E-09	0.28	0.26
21	B	Chimassorb® 81	1843-05-6	326.4	5.25E-09	0.67	0.73
22	X	2,4-Dicumylphenol	2772-45-4	330.5	2.15E-08	0.31	0.18
23	B	Tinuvin® 327	3864-99-1	357.9	2.00E-09	0.43	0.35
24	B	Uvinul® 3039	6197-30-4	361.5	2.56E-09	0.68	0.70
25	F	2-Ethylhexyldiphenylphosphat	1241-94-7	362.4	6.49E-07	0.45	0.22
26	P	Di(2-ethylhexyl)adipat	103-23-1	370.6	8.35E-06	0.25	0.16
27	P	Di(2-ethylhexyl)terephthalat	6422-86-2	390.6	1.31E-06	0.71	0.66
28	P	Di(2-ethylhexyl)phthalat	117-81-7	390.6	3.95E-06	0.52	0.33
29	P	Tributylacetyltriat	77-90-7	402.5	3.35E-07	0.27	0.17
30	C	EPHM	79072-96-1	414.5	1.66E-15	0.86	1.01
31	C	Millad® 3988I	135861-56-2	414.5	8.19E-16	0.85	1.02
32	A	Irganox® 1520	110553-27-0	424.8	6.06E-12	0.77	0.88
33	B	Tinuvin® 1577	147315-50-2	425.5	2.89E-17	0.70	1.02
34	O	Uvitex® OB	7128-64-5	430.6	7.83E-11	0.75	0.98
35	B	Tinuvin® 234	70321-86-7	447.6	1.75E-14	0.69	1.02
36	B	Tinuvin® 770	52829-07-9	480.7	4.03E-10	1.00	0.97
37	C	Millad® NX 8000	882073-43-0	484.6	2.16E-17	0.92	0.98
38	A	Irganox® 1076	6683-19-8	530.9	1.64E-13	0.80	1.00
39	A	Irganox® 245	36443-68-2	586.8	8.21E-19	0.76	1.00
40	A	Irganox® 126	26741-53-7	604.7	8.01E-12	0.63	1.01
41	A	Irganox® 1098	23128-74-7	637.0	1.19E-22	0.76	1.00
42	A	Irganox® 168	31570-04-4	646.9	1.84E-13	0.82	0.99
43	B	Tinuvin® 144	63843-89-0	685.0	3.41E-17	0.83	1.01
44	A	Irganox® 1330	1709-70-2	775.2	5.02E-22	0.84	1.00
45	B	Uvinul® 3030	178671-58-4	1061.1	1.16E-33	0.70	1.00
46	A	Irganox® 1010	2082-79-3	1177.6	1.16E-33	0.75	1.01

