



# Nuevas estrategias para la determinación de polisiloxanos en muestras ambientales

Eloy Yordad Companioni Damas

**ADVERTIMENT.** La consulta d'aquesta tesi queda condicionada a l'acceptació de les següents condicions d'ús: La difusió d'aquesta tesi per mitjà del servei TDX ([www.tdx.cat](http://www.tdx.cat)) i a través del Dipòsit Digital de la UB ([diposit.ub.edu](http://diposit.ub.edu)) ha estat autoritzada pels titulars dels drets de propietat intel·lectual únicament per a usos privats emmarcats en activitats d'investigació i docència. No s'autoritza la seva reproducció amb finalitats de lucre ni la seva difusió i posada a disposició des d'un lloc aliè al servei TDX ni al Dipòsit Digital de la UB. No s'autoritza la presentació del seu contingut en una finestra o marc aliè a TDX o al Dipòsit Digital de la UB (framing). Aquesta reserva de drets afecta tant al resum de presentació de la tesi com als seus continguts. En la utilització o cita de parts de la tesi és obligat indicar el nom de la persona autora.

**ADVERTENCIA.** La consulta de esta tesis queda condicionada a la aceptación de las siguientes condiciones de uso: La difusión de esta tesis por medio del servicio TDR ([www.tdx.cat](http://www.tdx.cat)) y a través del Repositorio Digital de la UB ([diposit.ub.edu](http://diposit.ub.edu)) ha sido autorizada por los titulares de los derechos de propiedad intelectual únicamente para usos privados enmarcados en actividades de investigación y docencia. No se autoriza su reproducción con finalidades de lucro ni su difusión y puesta a disposición desde un sitio ajeno al servicio TDR o al Repositorio Digital de la UB. No se autoriza la presentación de su contenido en una ventana o marco ajeno a TDR o al Repositorio Digital de la UB (framing). Esta reserva de derechos afecta tanto al resumen de presentación de la tesis como a sus contenidos. En la utilización o cita de partes de la tesis es obligado indicar el nombre de la persona autora.

**WARNING.** On having consulted this thesis you're accepting the following use conditions: Spreading this thesis by the TDX ([www.tdx.cat](http://www.tdx.cat)) service and by the UB Digital Repository ([diposit.ub.edu](http://diposit.ub.edu)) has been authorized by the titular of the intellectual property rights only for private uses placed in investigation and teaching activities. Reproduction with lucrative aims is not authorized nor its spreading and availability from a site foreign to the TDX service or to the UB Digital Repository. Introducing its content in a window or frame foreign to the TDX service or to the UB Digital Repository is not authorized (framing). Those rights affect to the presentation summary of the thesis as well as to its contents. In the using or citation of parts of the thesis it's obliged to indicate the name of the author.

Programa de Doctorado “Química Analítica del Medio Ambiente y la Polución”

# NUEVAS ESTRATEGIAS PARA LA DETERMINACIÓN DE POLISILOXANOS EN MUESTRAS AMBIENTALES

Tesis doctoral presentada para optar al título de  
Doctor por la Universidad de Barcelona por

**Eloy Yordad Companioni Damas**

## Directores de la tesis

***Dra. María Teresa Galceran i Huguet***  
*Catedrática*  
Departamento de Química Analítica  
Universidad de Barcelona

***Dr. Francisco Javier Santos Vicente***  
*Profesor Titular*  
Departamento de Química Analítica  
Universidad de Barcelona

Barcelona, Septiembre de 2014



## **AGRADECIMIENTOS**

Debo decir en primer lugar que esta tesis está dedicada a mi familia toda, pero en especial a mi esposa Lourdes y mi hijo Víctor, que han vivido más directamente la inmensa presión, las largas horas de trabajo, las pocas horas de sueño, el tiempo que me he tenido que alejar de ellos y los infinitos problemas y sacrificios que ha traído consigo realizar esta tesis. A mis padres, a los que les debo todo lo que soy, y a mis abuelos Cuca y Poli, todos en Cuba pero conmigo siempre, y que han sufrido la distancia que nos separa durante todo este tiempo.

Tengo que agradecer a mis directores de tesis, la Dra. Maria Teresa Galceran y al Dr. Francisco Javier Santos, por estos años en que he tenido la posibilidad de aprender de ellos y así continuar mi formación en Química Analítica. En especial debo agradecer a Javier Santos su inmensa paciencia, su ayuda constante durante todo el trabajo experimental, y en la última fase de redacción de la tesis, las noches-madrugadas dedicadas a la revisión final de la tesis y los artículos.

Quiero agradecer a todos los colegas que he conocido en el grupo CECM que también me han ayudado de diversas maneras, en especial a Jorge, Luis, Sobhi y Sara mis compañeros del grupo de cromatografía de gases, y también debo mencionar a Oscar, Héctor, Paolo, Xavi, Elida, Anna, Rosita, Lorena, Livia, Gabino y Helena.

También quiero agradecer a otros compañeros del departamento de Química Analítica, en especial a Rosa, Gina, Velia, Marc, Jelena y Lei, por todo lo que nos hemos ayudado mutuamente para llegar al final del doctorado.

A mis amigos Yaniel, Israel, Taymé y Gretel, también cubanos, compañeros constantes.

Puesto que esta aventura de hacer un doctorado viene desde Cuba donde realicé mi Máster en Química, quiero dar un muy especial agradecimiento a mis mejores maestros y grandes amigos, Irán Ramos, Silio López y Robert Tamayo, por toda la química aprendida y por tantas otras cosas aprendidas y defendidas en Cuba en el Centro de Investigaciones del Petróleo (CEINPET).

A Luis Gonzales, maestro y amigo, por todo lo aprendido en cromatografía de gases, mil gracias por tutorarme el trabajo de máster en tan difíciles circunstancias, eternamente agradecido.

También a mis compañeros de los Laboratorios de Química Ambiental y Geoquímica Orgánica del CEINPET, Ana Núñez, Miriam Cora, José Orlando, Miguel Díaz y Olga Pascual, por la ayuda prestada y conocimientos transmitidos, nunca los olvido.

A Maikel y a Rodni por los trabajos realizados en conjunto.

Por último, esta tesis ha sido posible gracias al soporte económico brindado por la beca de la Agencia Española de Cooperación Internacional para el Desarrollo (AECID).

A todos, muchas gracias!

# ÍNDICE

<b>RESUMEN</b>	III
<b>OBJETIVOS Y ESTRUCTURA</b>	VII
<b>ABREVIATURAS Y ACRÓNIMOS</b>	IX
<b>CAPÍTULO 1. Introducción general</b>	1
1.1. Introducción	3
1.2. Propiedades físico-químicas de los metilsiloxanos volátiles	5
1.3. Origen y presencia en el medio ambiente	7
1.4. Toxicidad y legislación	17
1.5. Métodos de análisis de los metilsiloxanos volátiles	21
1.5.1. Problemática en el análisis de los metilsiloxanos volátiles	21
1.5.2. Métodos de extracción y preconcentración	33
1.5.3. Separación cromatográfica y determinación por espectrometría de masas	42
<b>CAPÍTULO 2. Análisis de metilsiloxanos volátiles en muestras ambientales</b>	45
2.1. Introducción	47
2.2. Trabajo experimental	59
2.2.1 Técnica espacio de cabeza - microextracción en fase sólida (HS-SPME) combinada con GC-MS	61
2.2.1.1 <b>ARTÍCULO CIENTÍFICO I:</b> “ <i>Analysis of linear and cyclic methylsiloxanes in water by headspace – solid phase microextraction – gas chromatography – mass spectrometry</i> ”	61
2.2.1.2 <b>ARTÍCULO CIENTÍFICO II:</b> “ <i>Solvent extraction combined with headspace – solid phase microextraction and gas chromatography – mass spectrometry for the analysis of linear and cyclic methylsiloxanes in mussels</i> ”	71
2.2.2 Extracción en fase sólida (SPE) e inyección splitless de grandes volúmenes con recondensación concurrente de disolvente (CSR-LVI) combinada con GC-MS	97
2.2.2.1. <b>ARTÍCULO CIENTÍFICO III:</b> “ <i>Analysis of linear and cyclic methylsiloxanes in sewage sludges and urban soils by concurrent solvent recondensation – large volume injection – gas chromatography–mass spectrometry</i> ”	97

2.2.2.2. <b>ARTÍCULO CIENTÍFICO IV:</b> “ <i>Linear and cyclic methylsiloxanes in air by concurrent solvent recondensation – large volume injection – gas chromatography–mass spectrometry</i> ”.	109
2.2.2.3. <b>ARTÍCULO CIENTÍFICO V:</b> “ <i>Solid phase extraction combined with large volume injection – gas chromatography – mass spectrometry for the analysis of linear and cyclic methylsiloxanes in wastewater</i> ”.	123
<b>CAPÍTULO 3. Discusión de resultados</b>	151
3.1. Metodologías de análisis de metilsiloxanos volátiles	153
3.2. Presencia de metilsiloxanos volátiles en el medio ambiente	168
<b>CAPÍTULO 4. CONCLUSIONES</b>	177
<b>BIBLIOGRAFÍA</b>	183

## RESUMEN

Los metilsiloxanos volátiles (VMS) constituyen un nuevo grupo de contaminantes cuya presencia en el medio ambiente ha suscitado en los últimos años una especial atención debido a que presentan una elevada persistencia, capacidad de bioacumulación y provocan efectos tóxicos y potencialmente cancerígenos en los organismos vivos. Hasta el momento, los datos disponibles sobre su presencia y distribución en el medio ambiente son muy limitados y, por tanto, existe un gran interés por conocer el impacto real que provocan estos contaminantes. El análisis de estos compuestos en muestras ambientales conlleva serias dificultades debido a su elevada volatilidad y a la contribución como contaminación de fondo a las muestras. Además, los métodos analíticos desarrollados hasta el momento son escasos y abordan un limitado número de matrices ambientales. En base a esta problemática, el objetivo de esta tesis es el desarrollo de nuevos métodos de análisis para la determinación de VMS mediante la cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas (GC-MS), y estudiar su presencia y distribución en muestras ambientales de diferente naturaleza.

Debido a que los VMS son compuestos de elevada volatilidad, en esta tesis se han desarrollado métodos de análisis empleando la técnica extracción del espacio de cabeza mediante microextracción en fase sólida (HS-SPME) para el análisis de VMS en aguas fluviales y mejillones. En el caso de las muestras de agua, el uso de la HS-SPME ha permitido obtener límites de detección (LODs) especialmente bajos (VMS lineales: 0,003-0,25 ng L<sup>-1</sup> y cíclicos: 6 - 11 ng L<sup>-1</sup>) y una adecuada precisión (RSD%<17%), utilizando una fibra de DVB/PDMS (65µm). Para el análisis de mejillones mediante HS-SPME fue necesario incluir una etapa previa de extracción con acetonitrilo y determinar los VMS mediante el análisis de una alícuota del extracto diluida en agua (0.5%, v/v). En este caso, el método de HS-SPME proporcionó una excelente sensibilidad y LODs del orden de los ng g<sup>-1</sup> de peso húmedo (p.h.) (VMS lineales: 0,03 – 0,10 ng g<sup>-1</sup>p.h. y cíclicos: 2 - 4 ng g<sup>-1</sup>p.h.). En general, la ventaja de utilizar la técnica HS-SPME para el análisis de VMS radica en su simplicidad y rapidez, y el hecho de que permite minimizar la contaminación de la muestra y las pérdidas por volatilización de los analitos durante el análisis.



Aunque la HS-SPME ha demostrado ser una técnica excelente para el análisis de aguas fluviales, su aplicación a la determinación de VMS en aguas residuales no fue posible debido al efecto matriz que provoca pérdidas importantes en la sensibilidad y reproducibilidad del método. En este caso, se desarrolló un método basado en el uso de discos de extracción en fase sólida (SPE disk) de C<sub>18</sub> de pequeño formato (5,5 mg/1ml) para el análisis de la fase disuelta del agua residual, con el objetivo de disminuir el volumen de muestra (10 ml) y la cantidad de disolvente de elución (200 µl). El método proporcionó recuperaciones superiores al 91% para todos los compuestos estudiados. Para el análisis de la fase particulada del agua residual, se propone la extracción de los compuestos de interés con n-hexano y purificación del extracto con cartucho de SPE de sílice (100mg/1ml). Este mismo método de extracción también se aplicó al análisis de suelos y lodos de depuradoras con buenas recuperaciones (>80%). Es importante destacar que en todos estos métodos desarrollados no se utilizaron etapas de concentración de los extractos para evitar las pérdidas por volatilización de los VMS, aunque este hecho afecte negativamente a la sensibilidad del método. Para compensar esta menor sensibilidad se utilizó la técnica de inyección de grandes volúmenes, denominada recondensación concurrente de disolvente (CSR-LVI), que es especialmente adecuada para el análisis de compuestos volátiles. El uso de la CSR-LVI en el análisis de suelos y fangos de depuradora permitió el análisis de hasta 30 µl de extracto en el sistema de GC-MS, obteniendo LODs suficientemente bajos (0,01 – 1,5 ng g<sup>-1</sup>p.s.). La CSR-LVI también se aplicó al análisis de la fase disuelta del agua residual, permitiendo la inyección en el sistema cromatográfico de un volumen de 20 µl de extracto disuelto en una mezcla de tetrahidrofurano/n-hexano (60/40, v/v).

En esta tesis también se ha abordado el análisis de VMS en aire mediante el uso de cartuchos de isolute ENVI+ para la retención de los analitos, ya que entre los diferentes adsorbente estudiados fue el que permitió muestrear un mayor volumen de aire con una elevada recuperación (>96%). En este caso también se utilizó la técnica CSR-LVI para mejorar los límites de detección del método, alcanzándose valores entre 0,02 - 0,18 ng m<sup>-3</sup> y muestreando un volumen de aire de 2,7 m<sup>3</sup>.

Es importante destacar la importancia que la contaminación de fondo ejerce sobre la bondad y robustez de los métodos analíticos desarrollados. Esta contaminación es

debida a la presencia de los VMS en el aire del laboratorio, materiales y reactivos y a la propia instrumentación utilizada, lo que obliga a un cuidado especial en cada una de las etapas de análisis para poder minimizar y controlar su contribución a las muestras. Para ello, fue necesario evaluar de forma sistemática la presencia de estos compuestos mediante el frecuente análisis de blancos de campo y de método, así como realizar el tratamiento de muestra en un laboratorio limpio, evitando el uso de componentes o materiales que contengan siliconas.

Los métodos desarrollados fueron aplicados al análisis de diferentes tipos de muestras, como suelos urbanos, lodos de depuradoras, aguas residuales sin tratar y tratadas, aire de exterior e interior y mejillones. En todas las muestras, las concentraciones encontradas de VMS mostraron un elevado predominio de los VMS cíclicos respecto a los lineales, siendo el decametilciclopentasiloxano (D5) el compuesto mayoritario. En general, las matrices más contaminadas con VMS fueron las aguas residuales (VMS lineales totales: 478 – 1026 ng L<sup>-1</sup> y cíclicos totales: 12277 – 32073 ng L<sup>-1</sup>) y lodos de depuradoras (VMS lineales totales: 44 – 147 ng g<sup>-1</sup>p.s. y cíclicos totales: 8223 – 111632 ng g<sup>-1</sup>p.s.), mientras que los niveles más bajos se encontraron en agua fluvial (metilsiloxanos lineales totales: 0,8 – 4,7 ng L<sup>-1</sup> y cíclicos totales: 22 – 81 ng L<sup>-1</sup>) y suelos urbanos (metilsiloxanos cíclicos totales: 22 – 66 ng g<sup>-1</sup>p.s.). El estudio de VMS en mejillones como bioindicadores de contaminación ha permitido detectar la presencia de estos compuestos en aguas de la costa catalana y determinar las zonas que presentan un mayor grado de contaminación. En general, las áreas con mayor concentración de estos compuestos, en especial de los VMS cíclicos, se encuentran en las desembocaduras del río Llobregat y Besòs, así como en áreas cercanas a ciudades densamente pobladas y con un fuerte impacto industrial, como Barcelona y Tarragona (VMS cíclicos totales: 112-661 ng g<sup>-1</sup>p.h.). En cambio, zonas costeras con aportaciones de tipo urbano y turístico presentan concentraciones de VMS sensiblemente menores (VMS cíclicos totales: 9-49ng g<sup>-1</sup>p.h.).



## **OBJETIVOS Y ESTRUCTURA**

Recientemente, un nuevo grupo de contaminantes orgánicos persistentes, los metilsiloxanos ha atraído la atención de las agencias medioambientales de Europa y Norteamérica debido principalmente a que se ha puesto de manifiesto la presencia de los metilsiloxanos volátiles en distintos compartimientos ambientales. A pesar de que existen algunos estudios sobre la distribución de estos compuestos en el medio ambiente y su toxicidad, la información disponible es insuficiente y en ocasiones contradictoria. Por otra parte, el análisis de los metilsiloxanos presenta serias dificultades y los métodos publicados son escasos, y algunos de ellos presentan serias limitaciones. Dada esta problemática, en la presente tesis doctoral nos hemos planteado los siguientes objetivos generales:

- Desarrollar nuevas metodologías analíticas para determinar metilsiloxanos volátiles lineales y cíclicos en diferentes matrices ambientales.
- Estudiar la presencia y distribución de los metilsiloxanos volátiles en el medio ambiente.

En relación a estos objetivos generales nos hemos planteado los siguientes objetivos específicos:

- Estudiar las diferentes fuentes de la contaminación de fondo en el análisis de los metilsiloxanos volátiles en distintos tipos de muestras y desarrollar estrategias para minimizar su presencia.
- Evaluar la aplicabilidad de la inyección de grandes volúmenes con recondensación concurrente de disolvente (CSR-LVI), para la determinación de estos compuestos mediante cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas (GC-MS).
- Desarrollar métodos para la extracción y purificación de los metilsiloxanos volátiles en distintos tipos de matrices ambientales tanto acuosas, como sólidas o gaseosas, utilizando la CSR-LVI-GC-MS.

- Evaluar los niveles de concentración y estudiar los patrones de composición característicos, que presentan los metilsiloxanos volátiles lineales y cíclicos en diferentes matrices ambientales.

Esta tesis doctoral se ha estructurado en los siguientes apartados:

- Una introducción acerca de la presencia de los metilsiloxanos volátiles lineales y cíclicos en el medio ambiente, y sobre los métodos que se han publicado para su análisis.
- Un capítulo dedicado a los métodos de análisis que se han desarrollado en esta tesis. Este apartado incluye una breve introducción acerca de las técnicas que se utilizan para la determinación de los metilsiloxanos volátiles, y el trabajo experimental realizado que se presenta en forma de artículos.
- Un capítulo dedicado a la discusión de los resultados obtenidos, donde se comentan los métodos de análisis desarrollados y se comparan con los publicados por otros autores. Se comentan y discuten los niveles de concentración obtenidos en el análisis de metilsiloxanos volátiles en muestras ambientales de diverso origen (suelos, lodos, aguas, mejillones y aire).
- Finalmente un apartado con las conclusiones generales obtenidas y uno donde se incluye la bibliografía.

## ABREVIATURAS Y ACRÓNIMOS

ACN	Acetonitrilo
APCI-MS	Espectrómetro de masas con una fuente de ionización química a presión atmosférica
ASE	Extracción acelerada por disolventes
BCF	Factor de bioconcentración
CI	Ionización química
CSR-LVI	Inyección de grandes volúmenes con recondensación concurrente de disolvente
DCM	Diclorometano
DSI	Inyección directa de la muestra
ECHA	Agencia Europea de productos químicos
EI	Ionización electrónica
FID	Detector de ionización a la llama
FT-IR	Espectroscopía infrarroja con transformada de Fourier
GC	Cromatografía de gases
GC-MS	Cromatografía de gases acoplada a la espectrometría de masas
GC-MS/AES	Cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas / espectrometría de emisión atómica
GC-MS/MS	Cromatografía de gases con espectrometría de masas en tándem
GC-QqQ	Cromatógrafo de gases acoplado a un espectrómetro de masas de triple cuadrupolo
HPLC	Cromatografía de líquidos de alta eficiencia
HS	Extracción del espacio de cabeza
HS-SPME	Extracción del espacio de cabeza mediante microextracción en fase sólida
IC50	Concentración inhibitoria para el 50% de los individuos expuestos
ICP-HR-IDMS	Plasma de Acoplamiento Inductivo combinada a espectrometría de masas de dilución isotópica de alta resolución
LC50	Concentración letal para el 50% de los individuos expuestos
LDTD-APCI	Desorción térmica de diodo láser con ionización química a presión atmosférica
LLE	Extracción líquido-líquido

LODs	Límites de detección
LOQs	Límites de cuantificación
LVI	Inyección de grandes volúmenes
MAE	Extracción asistida por microondas
MASE	Extracción con disolventes asistida por membrana
MS	Espectrómetro de masas
MS/MS	Espectrometría de masas en tándem
NOEC	Concentraciones a las que no se observaron efectos adversos
OC-LVI	Inyección de grandes volúmenes en columna
OECD	Organización para la cooperación económica y desarrollo
P&T	Purga y trampa
PAHs	Hidrocarburos aromáticos policíclicos
PBDEs	Difeniléteres polibromados
PCBs	Bifenilos policlorados
PDMS	Polidimetilsiloxanos
PLE	Extracción con líquidos presurizados
PSI	Inyección sin derivación ( <i>splitless</i> ) pulsada
PTV-LVI	Inyección de grandes volúmenes con vaporizador a temperatura programada
QqQ	Espectrómetro de masas de triple cuadrupolo
REACH	Registro, evaluación, autorización y restricción de productos químicos
SAESC	Extracción en columnas pequeñas asistida por ultrasonidos
SFE	Extracción con fluidos supercríticos
SIM	Monitorización selectiva de iones
SPE	Extracción en fase sólida
SRM	Monitorización de reacciones seleccionadas
TD	Desorción térmica
TD-GC-MS	Desorción térmica acoplada a cromatógrafo de gases con espectrómetro de masas
THF	Tetrahidrofurano
TMF	Factor de bioaumentación trófico
UAE	Extracción asistida por ultrasonidos

UAE-DLLME      Extracción líquido-líquido dispersiva asistida por ultrasonidos  
US EPA      Agencia de protección del medio ambiente de Estados Unidos  
VMS      Metilsiloxanos volátiles





# INTRODUCCIÓN GENERAL

## CAPÍTULO 1



## 1.1 Introducción

Los siloxanos se obtuvieron por primera vez por el químico inglés F.S. Kipping en el año 1904. Durante la síntesis de silanoles a partir de la hidrólisis de clorosilanos, este investigador observó que los productos de esta reacción se polimerizaban espontáneamente formándose estructuras de elevado peso molecular (Kipping, 1904, 1907a,b, 1912). A estas nuevas sustancias las denominó siliconas, y su primera aplicación fue como lubricantes durante la Primera Guerra Mundial. Según la IUPAC estos compuestos se denominan siloxanos; sin embargo, con frecuencia se utiliza el término siliconas introducido por Kipping, sobre todo cuando se hace referencia a su utilización como productos industriales. En sus aplicaciones en la industria de los cosméticos también se les conoce como dimeticonas y ciclometiconas, términos que se derivan de metilsiliconas y ciclometilsiliconas (SCCP, 2005). La estructura de estos compuestos consiste básicamente en átomos de silicio y oxígeno enlazados entre sí de forma alternada ( $-\overset{|}{\underset{|}{\text{Si}}}-\text{O}-\overset{|}{\underset{|}{\text{Si}}}-\text{O}-$ ), donde cada átomo de silicio se encuentra a su vez unido a uno o diferentes grupos orgánicos. Los átomos de silicio y oxígeno pueden estar unidos siguiendo una conformación lineal o cíclica. Para los siloxanos lineales se utiliza la notación L<sub>x</sub> mientras que para los cíclicos se emplea la D<sub>x</sub>, siendo x el número de unidades  $-\overset{|}{\underset{|}{\text{Si}}}-\text{O}-$  de su estructura. Las propiedades de los siloxanos dependen principalmente de la longitud de la cadena y del tipo de grupos funcionales enlazados a los átomos de silicio. Los siloxanos que más se producen industrialmente son los polidimetilsiloxanos (PDMS) y en especial los de cadena corta, conocidos como metilsiloxanos volátiles (VMS) (Lassen y col., 2005). Entre estos podemos citar los metilsiloxanos lineales hexametildisiloxano (L2), octametiltrisiloxano (L3), decametiltetrasiloxano (L4) y dodecametilpentasiloxano (L5), los cuales se utilizan como constituyentes en cosméticos y productos de aseo personal, y como compuestos de partida en la síntesis de polisiloxanos de mayor peso molecular. Además se utilizan como aditivos en productos de limpieza y desengrasantes, y también en lubricantes, disolventes, pinturas, lacas y barnices (Butts y col., 2002; Kaj y col., 2005b, Horri y col., 2008). Entre los VMS cabe destacar a los metilsiloxanos cíclicos hexametilciclotrisiloxano (D3), octametilciclotetrasiloxano (D4), decametilciclohexasiloxano (D5) y dodecametilciclohexasiloxano (D6), y en especial a los tres últimos, los cuales son los polisiloxanos con un mayor volumen de

producción (Lassen y col., 2005). Estos compuestos se utilizan como constituyentes básicos en cosméticos y productos de aseo personal, incluyendo productos para el cuidado del cabello, desodorantes, jabones, cremas, esmaltes de uñas y perfumes. Además, se utilizan en productos de limpieza, en utensilios de cocina, como compuestos de partida para la síntesis de polisiloxanos de elevado peso molecular, y también en la industria como componentes de materiales adhesivos, agentes reprográficos, y como aditivos en pinturas, lacas, barnices y combustibles (Kaj y col., 2005b; Horri y col., 2008, Wang y col., 2013a, Dudzina y col., 2014). En cuanto a la producción a gran escala de los VMS, ésta se inició en los años 40, coincidiendo con su incorporación a los cosméticos y productos de aseo personal. Sin embargo, hasta la década de los 70 su producción para la industria de los cosméticos no creció considerablemente. Según datos de la literatura, hoy en día, más del 16% de los productos de higiene personal y cosméticos contienen metilsiloxanos cíclicos, como D4, D5 y D6 (Dudzina y col., 2014), y han sido clasificados por la Organización para la Cooperación Económica y Desarrollo (OECD, 2007) y por la Agencia Norteamericana de Protección Ambiental (USEPA, 2007) como compuestos de elevado volumen de producción. Uno de los países productores y consumidores más importantes de D4, D5 y D6 es China, que alcanzó en el año 2009 un volumen de producción de 270000 toneladas. Otro de los productores importantes es Estados Unidos, que según la Agencia de Protección Ambiental de ese país, ha incrementado considerablemente su producción anual que alcanzó en 2002 las 22500 toneladas (US EPA, 2002). En el caso de los países de la Unión Europea, los datos publicados por la Agencia de Protección del Medioambiente del Reino Unido correspondientes al año 2004 muestran volúmenes de producción estimados para el D4, D5 y D6 de 579, 19583 y 1989 toneladas, respectivamente (Brooke y col., 2009a,b,c). Con respecto a los VMS lineales, la información que se dispone sobre su volumen de producción o importación es muy limitada. De acuerdo con los datos publicados por la Agencia Medioambiental Canadiense, el L3 no se produce en ese país, sin embargo su volumen de importación alcanzó en el 2006 las 100 toneladas (Environment Canada and Health Canada, 2011). Con respecto al L2, la Agencia de Protección del Medio Ambiente de Estados Unidos reportó que en el año 2002 la producción e importación de este compuesto en EUA ascendió a las 4536 toneladas (US EPA, 2002).

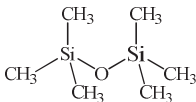
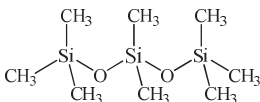
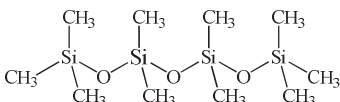
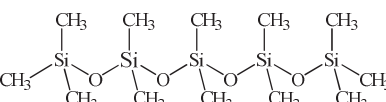
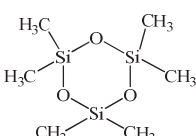
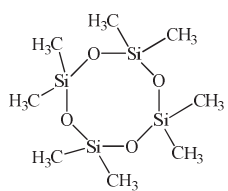
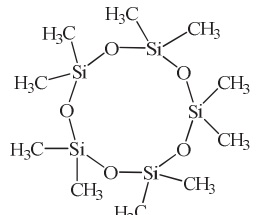
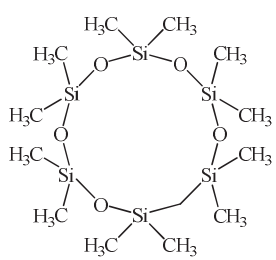
Como se puede comprobar a partir de estos datos, los volúmenes de producción y uso de los VMS, especialmente para la fabricación de cosméticos y productos de higiene personal, son realmente elevados y como consecuencia de ello se ha detectado su presencia en el medio ambiente. Debido a su alta volatilidad, la emisión de VMS se produce en una elevada proporción hacia la atmósfera aunque las aguas residuales pueden constituir también una vía importante de entrada al medio ambiente. En diversos estudios se ha podido constatar que los VMS provocan efectos tóxicos, afectan el sistema reproductivo y son además potenciales cancerígenos (McKim y col., 2001; He y col., 2003). Por todo ello, en los últimos años se han iniciado diversos estudios para conocer la presencia y distribución de estos contaminantes en el medio ambiente y con este propósito esta tesis se ha dedicado al desarrollo de métodos de análisis para su determinación. En la Tabla 1.1 se muestran la estructura molecular y el nombre abreviado de los VMS estudiados.

## **1.2 Propiedades físico-químicas de los metilsiloxanos volátiles**

Los polisiloxanos de cadena corta o metilsiloxanos volátiles (VMS) son por lo general líquidos claros y viscosos que se caracterizan principalmente por presentar una elevada presión de vapor y una baja solubilidad en agua, y como consecuencia valores elevados de los coeficientes de distribución aire / agua ( $\log K_{aw}$ : 1,82 – 4,12) (Varaprath y col. 1996; Mazzoni, 1997; Xu y Kropscott, 2012). Tanto la presión de vapor como la solubilidad en agua disminuyen con el peso molecular de los compuestos, tal y como se puede observar en la Tabla 1.2. Debido a su gran hidrofobicidad, los VMS presentan valores elevados de los coeficientes de distribución carbono orgánico / agua ( $\log K_{oc}$ : 3,35 - 6,10) y octanol / agua ( $\log K_{ow}$ : 3,85 - 8,87), valores que están relacionados, en el primer caso, con su tendencia a acumularse en suelos y sedimentos con un contenido elevado de materia orgánica y, en el segundo, con su capacidad para acumularse en el tejido lipídico de los organismos acuáticos (Mazzoni, 1997; Environment Canada and Health Canada, 2008a,b,c; Xu y Kropscott, 2012). Los VMS lineales y cíclicos presentan factores de bioconcentración de hasta 12.400 (Tabla 1.2), valores que son superiores al criterio establecido por la Unión Europea para compuestos bioacumulables ( $BCF > 2000$ ) (REACH, 2008). En cuanto a la biodegradabilidad de estos compuestos, el número de

estudios que se han publicado en la literatura sobre este tema es muy limitado y la mayor parte hace referencia a su degradación en lodos de depuradoras de aguas. Así,

**Tabla 1.1.** Nombre, abreviatura y estructura molecular de los VMS lineales y cíclicos estudiados residuales.

Nombre	Abreviatura	Estructura molecular
Hexametildisiloxano	L2	
Octametiltrisiloxano	L3	
Decametiltetrasiloxano	L4	
Dodecametilpentasiloxano	L5	
Hexametilciclotrisiloxano	D3	
Octametilciclotetrasiloxano	D4	
Decametilciclopentasiloxano	D5	
Dodecametilciclohexasiloxano	D6	

Grümping y col. (1999) estudiaron la biodegradabilidad del octametilsiliclotetrasiloxano (D4) en lodos en condiciones anaerobias y observaron que este compuesto prácticamente no se biodegrada, ya que tan solo un 3% se convirtió en dimetilsilanol después de 100 días. De manera similar, estudios sobre la biodegradación del D5 y el D6 en lodos de plantas de tratamiento de aguas residuales en condiciones anaeróbicas pusieron de manifiesto que estos compuestos no se biodegradan (Brooke y col., 2009b, c). Sin embargo, se ha demostrado que los VMS están sujetos a distintos tipos de procesos de degradación abiótica en diferentes compartimientos ambientales, y esto puede conducir a su transformación parcial o total. Así, se ha descrito la hidrólisis de los VMS en suelos, formándose polidimetilsiloxanodiolos (Xu, 1999), reacción que está catalizada por la presencia de cationes metálicos ( $\text{Na}^+$ ,  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Al}^{3+}$ ) (Xu y Chandra, 1999). En medio acuoso, los VMS se hidrolizan con una cinética de reacción que depende del pH y de la temperatura (Environment Canada and Health Canada, 2008a,b,c). En la atmósfera, los VMS que se encuentran en fase gas reaccionan con los radicales  $\text{OH}^\cdot$ ,  $\text{NO}_3^\cdot$  y con el  $\text{O}_3$ , mientras que los adsorbidos en la fase particulada sufren reacciones de polimerización (Navea y col., 2009a,b). Todos estos procesos y transformaciones condicionan la presencia, distribución y acumulación de los VMS en el medio ambiente.

### **1.3 Origen y presencia en el medio ambiente**

Se ha detectado la presencia de VMS en todos los compartimientos ambientales, aire, aguas, suelos, sedimentos y biota (Kaj y col., 2005a,b, Genualdi y col., 2011). La elevada volatilidad de estos compuestos (ver presión de vapor, Tabla 1.2), comporta que más del 90% de los VMS se emitan a la atmósfera, mientras que tan solo un 10% se descargue en las aguas residuales, tanto urbanas como industriales (Whelan y col., 2004). Las emisiones más importantes a la atmósfera se generan por el uso de productos de higiene personal, aunque las plantas de producción de polidimetilsiloxanos, las de biogás y las de tratamiento de aguas residuales son también fuentes de contaminación (Genualdi y col., 2011; Cheng y col., 2011; Wang et al., 2013a). Datos obtenidos por países de la Unión Europea, han permitido estimar que el uso de productos de higiene personal genera una emisión de D5 y D6 a la



atmósfera de 15570 toneladas año<sup>-1</sup> y de 1790 toneladas año<sup>-1</sup>, respectivamente, mientras que la cantidad que se introduce a través de las aguas residuales es nueve veces menor (1730 toneladas año<sup>-1</sup> y 199 toneladas año<sup>-1</sup>, respectivamente) (Brooke y col., 2009b,c).

**Tabla 1.2:** Propiedades físico-químicas de los VMS estudiados.

Abre- viatura	Peso molecular (g mol <sup>-1</sup> )	Solubilidad en agua a 25°C (µg L <sup>-1</sup> ) <sup>a</sup>	Tempera- tura de ebullición (°C)	Presión de vapor a 25°C <sup>b</sup> (Pa)	log K <sub>aw</sub> <sup>d</sup>	log K <sub>ow</sub> <sup>b</sup>	Log K <sub>oc</sub> <sup>g</sup>	BCF <sup>g</sup> (L kg <sup>-1</sup> p.h.) <sup>b</sup>
L2	162	930,7	107	5620	2,60	4,2	4,46 <sup>f</sup>	5000 <sup>i</sup>
L3	236	34,49	153	520	3,16	4,80	3,50	991
L4	310	6,74	194	50	2,97	5,40	4,41	2871
L5	384	0,070	230	6,0	4,12	6,0	5,32	8318
D3	222	1560	135	1147	1,82	3,85	3,35	549
D4	297	56,20	176	124,5 <sup>c</sup>	2,69 <sup>e</sup>	6,98 <sup>e</sup>	4,22 <sup>h</sup>	12400 <sup>i</sup>
D5	371	17,03	211	20,4 <sup>c</sup>	3,13 <sup>e</sup>	8,07 <sup>e</sup>	5,17 <sup>h</sup>	7060 <sup>h</sup>
D6	445	5,13	245	2,26 <sup>c</sup>	3,01 <sup>e</sup>	8,87 <sup>e</sup>	6,10 <sup>h</sup>	1160 <sup>h</sup>

<sup>a</sup> Varaprath y col. (1996)

<sup>b</sup> Mazzoni (1997)

<sup>c</sup> Lei y col. (2010)

<sup>d</sup> Calculada como:  $K_{aw} = \text{Constante de la Ley de Henry (Pa m}^3 \text{ mol}^{-1}) / R \times T$ ;  
Constante de la Ley de Henry = Presión de vapor (Pa) / Solubilidad (mol m<sup>-3</sup>)

<sup>e</sup> Xu y Kropscott (2012)

<sup>f</sup> David y col. (2000)

<sup>g</sup> Estimados utilizando el software EPISuite (*Estimation Program Interface*, US EPA, v 4.11, 2012)

<sup>h</sup> Environment Canada and Health Canada, (2008a,b,c).

<sup>i</sup> Fackler y col. (1995)

p.h.: peso húmedo

Por lo que hace referencia a la persistencia de estos compuestos en la atmósfera, cabe indicar que el mecanismo predominante de eliminación de los VMS se basa en la reacción con los radicales OH<sup>·</sup>. Como producto de esta reacción se forman silanoles, los cuales al ser más solubles en agua y presentar una menor presión de vapor que los VMS precursores, tienden a ser eliminados de la atmósfera mediante deposición

húmeda (Whelan y col., 2004). Por otra parte, los VMS que se encuentran adsorbidos en las partículas atmosféricas sufren reacciones de polimerización en presencia de  $O_3$ , catalizadas por los constituyentes de la propias partículas, tales como el óxido de hierro ( $Fe_2O_3$ ), la caolinita ( $Al_2Si_2O_5(OH)_4$ ) y las arcillas. Aunque estas reacciones son inhibidas en condiciones de elevada humedad relativa, constituyen también un mecanismo importante de eliminación de los VMS de la atmósfera (Navea y col., 2009a,b). Considerando estos procesos de degradación atmosférica, se han estimado tiempos de vida media de entre 30 días para el D3 y 10 días para el D5, los cuales son suficientemente elevados como para que estos contaminantes sean distribuidos o transportados a largas distancias (Atkinson, 1991; Whelan y col., 2004). Los VMS presentan elevados valores de las constantes de Henry ( $\log K_{aw} > 1,82$ ) (Tabla 1.2), lo que conlleva que los procesos de deposición de la atmósfera al medio acuático no sean importantes incluso a las bajas temperaturas del Ártico (Wang y col., 2013a). Por el contrario, la deposición atmosférica de los VMS en el medio terrestre puede explicar su presencia en suelos que se encuentran alejados de las fuentes de emisión (Sanchez-Brunete y col., 2010).

En las plantas de tratamiento de aguas residuales, la eliminación de los VMS se produce a partir de la combinación de diferentes procesos que incluyen: volatilización, adsorción en los sólidos en suspensión e hidrólisis (David y col., 2000). Los sólidos en suspensión son capaces de adsorber una parte considerable de los VMS debido a los elevados valores de las constantes de distribución normalizadas al contenido de carbón orgánico ( $\log K_{oc}$ ) que presentan estos contaminantes (Tabla 1.2). A pesar de su elevada volatilidad, la emisión de los VMS desde las aguas residuales a la atmósfera se ve disminuida de forma significativa por la elevada proporción de materia orgánica disuelta y coloidal que contienen. Por otra parte, la biodegradabilidad reducida que presentan estos compuestos conlleva que éste no sea un mecanismo de eliminación importante (Whelan y Breivik, 2013). En sistemas de tratamiento de aguas residuales convencionales, que incluyen etapas de sedimentación y tratamiento biológico con lodos activados, las eficiencias de eliminación para los metilsiloxanos cíclicos D4, D5 y D6 oscilan entre el 85 y el 99 % (Mueller y col., 1995; Parker y col., 1999; Wang y col., 2013c). Ahora bien, puesto que estos compuestos no se eliminan totalmente en las plantas de tratamiento, los efluentes

tratados pueden considerarse una fuente de emisión de VMS al medio acuático. De hecho, se ha detectado la presencia de VMS en aguas superficiales y en sedimentos de ríos ubicados en las cercanías de plantas de tratamiento de aguas residuales (Sparham y col., 2008, 2011; Zhang y col., 2011; Sanchís y col., 2012; Wang y col., 2013b). En el medio acuático, la volatilización es considerada como el mecanismo de eliminación predominante de los VMS. Sin embargo, diferentes procesos que se producen en la columna de agua, tales como hidrólisis, adsorción en la fracción orgánica coloidal o suspendida y acumulación en sedimentos, compiten con la volatilización de estos compuestos y determinan su distribución final (Whelan y col., 2009). Por ejemplo, la hidrólisis de los VMS en aguas de río bajo condiciones normales (pH 7, temperatura 5–25°C) se produce después de periodos de tiempo que varían entre 4 y 45 días para el D4 y desde 74 a 733 días para el D5 (Environment Canada and Health Canada, 2008a,b).

En la literatura se han publicado diversos trabajos sobre la bioacumulación de los VMS. Estos estudios ponen de manifiesto que los metilsiloxanos cíclicos (D4, D5 y D6), presentan una elevada capacidad de bioacumulación en organismos bénticos invertebrados como gusanos marinos (*ragworm*), en peces como el eperlano, la trucha, la perca y el arenque, y también en mamíferos como la foca gris (Warner y col., 2010; Kierkegaard y col., 2011, 2013b,c; Borga y col., 2012). En lo que hace referencia a los mamíferos, algunos autores consideran que estos compuestos pueden ser parcialmente metabolizados o bien eliminados durante el proceso de respiración (Warner y col., 2010). En cuanto a la capacidad de biomagnificación, los resultados publicados indican que el comportamiento de los VMS difiere según el tipo de especies y zonas geográficas. Por ejemplo, Woodburn y col. (2013) observaron que el D4 y el D5 no se biomagnifican en vertebrados acuáticos como la trucha, con factores de biomagnificación trófica (TMF) menores a 1. En cambio, Borga y col. (2013) observaron biomagnificación del D5 y D6 en la cadena alimentaria pelágica de dos lagos Noruegos, con TMFs entre 1,8 y 4,0.

Los suelos constituyen otro compartimiento ambiental en el cual se han detectado los VMS. Estos compuestos llegan a este medio principalmente al mezclar lodos obtenidos en las plantas de tratamiento de aguas residuales con suelos agrícolas (Sánchez-Brunete y col., 2010; Wang y col., 2013b). Estos lodos constituyen una

aportación de nutrientes importante que beneficia la producción agrícola, sin embargo en esta matriz se pueden acumular contaminantes. Por ejemplo, se han hallado concentraciones de VMS cíclicos en suelos agrícolas mezclados con lodos desde 7 a 711 ng g<sup>-1</sup> peso seco (p.s.) (Sánchez-Brunete y col., 2010; Wang y col., 2013b). Sin embargo, algunos estudios indican que en los suelos estos compuestos sufren hidrólisis y volatilización, disminuyendo en consecuencia su concentración. La volatilización se favorece en condiciones de elevada humedad relativa, mientras que la hidrólisis predomina en suelos con alto contenido en arcillas (Xu, 1998, 1999; Xu and Chandra, 1999). Como consecuencia de estos dos procesos competitivos, se ha estimado que el tiempo de vida medio de los metilsiloxanos cíclicos en suelos con una humedad relativa del 50 al 90%, es de 4 a 5 días para el D4, de 10 a 12 para el D5 y de 158 a 202 días para el D6 (Wang y col., 2013a).

Se ha descrito la presencia de VMS tanto en zonas cercanas a fuentes de emisión como en lugares muy alejados, como por ejemplo en el Ártico (Kaj y col., 2005a,b; Warner y col., 2010). En la Tabla 1.3 se resume la información bibliográfica que hace referencia a los VMS lineales y cíclicos identificados en diferentes matrices ambientales, sus concentraciones y las correspondientes referencias. Como se puede observar, en sedimentos de ríos y en lodos de plantas de tratamiento de aguas residuales se han detectado concentraciones relativamente elevadas de VMS cíclicos de hasta más de 89000 ng g<sup>-1</sup> p.s. Así, por ejemplo, Sparham y col. (2011) hallaron D4 y D5 en sedimentos del río Gran Ouse en Inglaterra, Wang y col. (2013b) encontraron D4, D5 y D6 en sedimentos de ríos de Ontario y Quebec (Canadá), mientras que Sanchís y col. (2013) detectaron D3, D4 y D5 en sedimentos del río Llobregat (España), además de los siloxanos lineales L4 y L5. Por otra parte, Zhang y col. (2011) encontraron D4, D5 y D6 en sedimentos del río Songhua en el Nordeste de China. Las concentraciones de estos compuestos en los sedimentos oscilan entre 1 y 5840 ng g<sup>-1</sup> peso seco (p.s) en función del compuesto y la zona estudiada (Tabla 1.3). En todos estos trabajos se ha observado el predominio del D5 respecto a los otros VMS. En los lodos de plantas de tratamiento de aguas residuales se acumulan elevadas concentraciones de contaminantes orgánicos poco polares y entre ellos se han encontrado tanto los VMS cíclicos como los lineales. Así, Kaj y col., (2005a,b) detectaron concentraciones de VMS lineales que alcanzan los 550 ng g<sup>-1</sup> p.s., mientras

que para los cíclicos las concentraciones determinadas por estos autores son muy superiores ( $89 \mu\text{g g}^{-1}$  p.s.), aunque en otros estudios se indican concentraciones más de un orden de magnitud inferiores (Zhang y col., 2011; Xu y col., 2013). En esta matriz, la distribución de concentraciones de los VMS se caracteriza también por el predominio del D5. La presencia de estos compuestos en los lodos de depuradora puede explicar su presencia en suelos agrícolas adicionados con estos lodos, en los que se han llegado a encontrar concentraciones de hasta más de  $700 \text{ ng g}^{-1}$  p.s. (Wang y col., 2013b). Hasta el momento, solamente se han publicado dos trabajos que estudian los niveles de concentración de VMS en suelos de distinta procedencia (agrícola, industrial y urbana) no adicionados con lodos. En el estudio publicado por Sánchez-Brunete y col. (2010), se detectó la presencia de D4, D5 y D6 a concentraciones desde  $5,8$  a  $56,9 \text{ ng g}^{-1}$  p.s. en suelos agrícolas de diferentes regiones de España, concentraciones que son similares a las encontradas por los mismos autores para suelos agrícolas mezclados con lodos de depuradora ( $22,5 - 37,5 \text{ ng g}^{-1}$  p.s.). En suelos de origen industrial los niveles de concentración son superiores, con valores de hasta  $482,6 \text{ ng g}^{-1}$  p.s., mientras que la presencia de estos compuestos en suelos urbanos parece ser muy inferior. Así en el único trabajo publicado sobre la presencia de estos contaminantes en suelos urbanos realizado en la provincia de Shandong en China se detectaron D5 y D6 en concentraciones de  $6,7$  y  $5 \text{ ng g}^{-1}$  p.s., respectivamente (Xu y col., 2013).

Algunos autores han estudiado la presencia de estos compuestos en organismos acuáticos procedentes de países del Norte de Europa. En la Tabla 1.3 se incluyen datos correspondientes a distintas especies, aunque las más estudiadas han sido los peces en los cuales se han encontrado siloxanos cíclicos a concentraciones entre  $0,8$  y  $2200 \text{ ng g}^{-1}$  peso húmedo (p.h.), superiores a las determinadas en zooplancton y mejillones y en algunos casos similares a las encontradas en mamíferos marinos (Tabla 1.3). Los siloxanos lineales normalmente no se han detectado y tan solo existen dos referencias (Schalabach y col, 2007, Evenset y col., 2009) de su presencia en hígado de bacalao. De manera similar a las otras matrices estudiadas, en las muestras de biota el D5 ha sido el VMS presente en mayor concentración. Por lo que hace referencia a los niveles de concentración publicados en la literatura para VMS en aguas, los valores más elevados corresponden a aguas residuales (Tabla 1.3). Esto se debe a que las aguas

**Tabla 1.3.** Concentraciones de los VMS lineales y cíclicos en muestras ambientales.

Muestra	VMS lineales		VMS cíclicos		Referencia
	Compuesto	Concentración	Compuesto	Concentración	
<b>Sedimentos, lodos y suelos</b>					
Sedimentos de río	-	-	D4, <u>D5</u>	12 - 1410	Sparham y col.,2011
(ng g <sup>-1</sup> p.s.)	-	-	D4, <u>D5</u> , D6	6 - 5840	Wang y col.,2013b
	-	-	D4, D5, <u>D6</u>	0,98 - 527	Zhang y col.,2011
	L3, L4, <u>L5</u>	4,4 - 75,3	D3, D4, <u>D5</u>	3,4 - 1270	Sanchís y col.,2012
Lodos de plantas de tratamiento de aguas residuales (ng g <sup>-1</sup> p.s.)	-	-	D4, D5, <u>D6</u>	42- 569	Zhang y col.,2011
	-	-	D3, D4, <u>D5</u> , D6	420 - 3700	Xu y col.,2013
	L3, L4, <u>L5</u>	1,4 - 160	D4, <u>D5</u> , D6	37 - 54000	Kaj y col.,2005a
	L3, L4, <u>L5</u>	1 - 550	D4, <u>D5</u> , D6	96 - 89000	Kaj y col.,2005b
Suelos mezclados con lodos de plantas de tratamiento de aguas residuales (ng g <sup>-1</sup> p.s.)	-	-	<u>D5</u> , D6	22,5 - 37,5	Sánchez-Brunete y col.,2010
	-	-	D4, D5, <u>D6</u>	7 - 711	Wang y col.,2013b
Suelos agrícolas (ng g <sup>-1</sup> p.s.)	-	-	<u>D5</u> , D6	5,8 - 56,9	Sánchez-Brunete y col.,2010
Suelos industriales (ng g <sup>-1</sup> p.s.)	-	-	D4, D5, <u>D6</u>	22,3 - 482,6	Sánchez-Brunete y col.,2010
Suelos urbanos (ng g <sup>-1</sup> p.s.)	-	-	<u>D5</u> , D6	6,7 y 5,0	Xu y col.,2013
<b>Biota marina</b>					
Peces (ng g <sup>-1</sup> p.h.)	-	-	D4, <u>D5</u> , D6	0,82 - 230	Borga y col.,2012
	-	-	D4, <u>D5</u> , D6	16 - 14160 ng g <sup>-1</sup> lípido	Borga y col.,2013
	-	-	D5	0,8 - 19,6	Kierkegaard y col.,2013b
	-	-	D4, <u>D5</u> , D6	2,5 - 762	Kierkegaard y col.,2011
	-	-	<u>D3</u> , D4, D5, D6	5,2 - 90	Kaj y col.,2005a
	L3, <u>L4</u> , L5	0,1 - 2,9	D3, D4, <u>D5</u> , D6	1,4 - 2200	Schlabach y col.,2007
	L3	0,33	D3, D4, <u>D5</u> , D6	2,2 - 19,1	Evenset y col.,2009
	-	-	D4, <u>D5</u> , D6	5,7 - 26	Mc.Goldrick y col.,2014

**Tabla 1.3.** Concentraciones de los VMS lineales y cíclicos en muestras ambientales (cont.).

Muestra	VMS lineales		VMS cíclicos		Referencia
	Compuesto	Concentración	Compuesto	Concentración	
Peces (ng g <sup>-1</sup> p.h.)	-	-	<u>D5</u> , D6	5,3 - 358 ng g <sup>-1</sup> lípido	Warner y col.,2010
			D4, <u>D5</u> , D6	6,3 -746 ng g <sup>-1</sup> lípido	Kierkegaard y col.,2013c
Focas (ng g <sup>-1</sup> p.h.)			<u>D3</u> , D4, <u>D5</u> , D6	7,9 - 68	Kaj y col.,2005a
	-	-	<u>D5</u> , D6	0,8 -1,1 ng g <sup>-1</sup> lípido	Warner y col.,2010
			<u>D5</u> , D6	4,4 - 24	Kierkegaard y col.,2013c
Zooplancton (ng g <sup>-1</sup> p.h.)	-	-	<u>D5</u> , D6	1,3 - 50	Borga y col.,2012
Mejillones (ng g <sup>-1</sup> p.h.)	-	-	D4, <u>D5</u> , D6	1,3 - 8,7	Schlabach y col.,2007
<b>Aguas</b>					
Aguas superficiales: ríos y lagos (ng L <sup>-1</sup> )	-	-	D5	13 - 151	Sparham y col.,2008
	-	-	D4, <u>D5</u> , D6	10 - 1480	Wang y col.,2013b
	L3	59,9	D3, <u>D4</u> , D5	27 - 987	Sanchís y col.,2012
Aguas residuales (ng L <sup>-1</sup> )	L3, <u>L4</u> , L5	0,7 - 148	D3, D4, <u>D5</u> , D6	95 - 6020	Bletsou y col.,2013
	L3, L4, <u>L5</u>	2,3 - 538	D3, D4, <u>D5</u>	9,89 - 24484	Sanchís y col.,2012
	-	-	D5	400	Sparham y col.,2008
	-	-	D4, <u>D5</u> , D6	10 - 48400	Van Egmond y col.,2013
	-	-	D4, <u>D5</u> , D6	16 - 691000	Wang y col.,2013b
	L4	70, 210	D3, D4, <u>D5</u> , D6	50 - 7600	Xu y col., 2013
	L2, L3, L4, <u>L5</u>	1,2 - 230	D4, <u>D5</u> , D6	45 - 26000	Kaj y col.,2005a
	L2	6,3	<u>D5</u> , D6	46 - 1100	Kaj y col.,2005b
	L3, L4, <u>L5</u>	1 - 35	D4, <u>D5</u> , D6	100 - 12000	Schlabach y col.,2007
L2	1700	D3, D4, <u>D5</u> , D6	600 - 22700	Cortada y col.,2014	
<b>Aire</b>					
Aire de zonas alejadas de fuentes de emisión (ng m <sup>-3</sup> )	L3, L4, <u>L5</u>	0,011 - 0,52	<u>D3</u> , D4, D5, D6	0.14 - 117	Genualdi y col.,2011
	-	-	D4, <u>D5</u> , D6	2,2 - 29	Yucuis y col.,2013

**Tabla 1.3.** Concentraciones de los VMS lineales y cíclicos en muestras ambientales (cont.).

Muestra	VMS lineales		VMS cíclicos		Referencia
	Compuesto	Concentración	Compuesto	Concentración	
Aire de zonas alejadas de fuentes de emisión (ng m <sup>-3</sup> )	-	-	D3, D4, <u>D5</u> , D6	0,1 – 3,9	Krogseth y col.,2013b
	-	-	D5	0,3 – 9	McLachlan y col.,2010
	<u>L3</u> , L4, L5	0,0074 – 0,531	D3, D4, <u>D5</u> , D6	0,43 - 28	Kierkegaard y McLachlan,2013a
Aire de zonas urbanas (ng m <sup>-3</sup> )	-	-	<u>D4</u> , D5, D6	21 - 84	Kaj y col.,2005a
	-	-	D4, D5, D6	70 - 2100	Kaj y col.,2005b
	<u>L3</u> , <u>L4</u> , L5	0,013 – 0,66	D3, D4, <u>D5</u> , D6	0,13 - 280	Genualdi y col.,2011
	-	-	D4, <u>D5</u> , D6	3,3 - 1100	Yucuis y col.,2013
	L2	37 – 79	D4, <u>D5</u> , D6	20 - 19000	Kaj y col.,2005b
Aire de zonas industriales (ng m <sup>-3</sup> )	-	-	D3, <u>D4</u>	700 - 20500	Wang y col.,2001
	<u>L3</u> , <u>L4</u> , L5	0,48 – 22,20	D3, D4, <u>D5</u> , D6	2,1 - 5540	Cheng y col.,2011
	-	-	D3, D4, <u>D5</u>	600 - 7400	Shields y Weschler,1992
Aire de ambientes interiores (ng m <sup>-3</sup> )	-	-	D4, <u>D5</u>	2500 - 39600	Shields,1996
	<u>L2</u> , L3, <u>L4</u>	1500 - 73200	D3, D4, D5, <u>D6</u>	500 - 164000	Kaj y col.,2005b
	<u>L2</u> , L3, L4, L5	420 - 93000	D3, D4, <u>D5</u> , D6	40 - 730000	Pieri y col.,2013
	-	-	D4, <u>D5</u> , D6	23 - 56000	Yucuis y col.,2013
	<u>L2</u> , L3, L4, L5	1300 - 1600	D4, <u>D5</u> , D6	790 - 16000	Lamaa y col.,2013
	-	-	D3, D4, <u>D5</u>	600 - 7400	Shields y Weschler,1992

**Nota:** Se muestran subrayados los VMS mayoritarios en las diferentes matrices ambientales.



residuales reciben importantes aportaciones tanto urbanas como industriales de estos contaminantes. Las concentraciones de VMS lineales y cíclicos que se han detectado se encuentran entre 0,7 y 1700 ng L<sup>-1</sup> y desde 0,01 a 691 µg L<sup>-1</sup>, respectivamente. El predominio significativo de los VMS cíclicos se debe a la gran utilización de productos de uso doméstico y aseo personal que se vierten a las aguas residuales, puesto que en dichos productos los VMS cíclicos están en concentraciones elevadas del orden de los 11000 – 151000 µg g<sup>-1</sup> (Horri y Kannan, 2008; Wang y col., 2009; Dudzina y col., 2014). Con respecto a la presencia de VMS en aguas superficiales, en general se han estudiado ríos en zonas cercanas a descargas de plantas de tratamiento de aguas residuales donde los compuestos que se han detectado con más frecuencia son los VMS cíclicos. Así se ha detectado D5 (Sparham y col., 2008) en los ríos Nene y Gran Ouse (Inglaterra), D3, D4 y D5 (Sanchís y col., 2013) en aguas del río Llobregat (España) y D4, D5 y D6 (Wang y col., 2013b) en ríos de Ontario y Québec (Canadá), a unos niveles de concentración entre los 13 y los 1480 ng L<sup>-1</sup>, siendo los valores más elevados los de Canadá. Tan solo en un caso se ha detectado un siloxano lineal, el L3, a una concentración de 59,9 ng L<sup>-1</sup> (Sanchís y col., 2013).

Dado que los VMS son volátiles, el aire es el compartimiento ambiental donde más fácilmente pueden encontrarse. Como se puede observar en la Tabla 1.3 las concentraciones que se han detectado en aire varían significativamente en función del tipo de ambiente estudiado, exterior, interior o de zonas industriales. Los menores niveles de concentración se han detectado en aire de ambientes exteriores de zonas alejadas de las fuentes de emisión (VMS lineales: 0,0074 - 0,531 ng m<sup>-3</sup> y cíclicos: 0,1 - 117 ng m<sup>-3</sup>). En este tipo de muestras, las concentraciones más bajas de los VMS cíclicos corresponden a zonas rurales de Suiza (0,3 – 9 ng m<sup>-3</sup>) (McLachlan y col., 2010) y a diversas zonas ubicadas en el Ártico (0,1 – 3,9 ng m<sup>-3</sup>) (Krogseth y col., 2013b). En comparación con estos bajos niveles de concentración, en el aire de ambientes exteriores de zonas urbanas se han detectado niveles de VMS cíclicos hasta cuatro órdenes de magnitud superiores, siendo las concentraciones más elevadas las encontradas para el D4 en Reykjavic, Islandia (2,1 µg m<sup>-3</sup>) (Kaj y col., 2005b) y para el D5 en Chicago, EUA (1,1 µg m<sup>-3</sup>) (Yucuis y col., 2013). Por el contrario, las concentraciones de los VMS lineales (0,013 – 0,66 ng m<sup>-3</sup>) en aire de zonas urbanas son similares a las encontradas en zonas alejadas de las fuentes de emisión. Por lo

general, el VMS que se encuentra a mayor concentración es el D5. Sin embargo, Genualdi y col. (2011) detectaron el D3 y D4 como compuestos mayoritarios en aire de ambientes exteriores de la costa oeste de Norteamérica. Este hecho se atribuyó al transporte de emisiones de estos compuestos generadas en ciudades industriales de China. En cuanto a los niveles que se han detectado en zonas industriales, las concentraciones resultan superiores a los encontradas en el aire de zonas urbanas y oscilan entre los 0,48 y 79 ng m<sup>-3</sup> para los VMS lineales y entre los 0,02 y 20,5 µg m<sup>-3</sup> para los cíclicos. Los valores de concentración más elevados se han encontrado para el D4 (20,5 µg m<sup>-3</sup>) en Guangzhou (China) (Wang y col., 2001) y para el D5 (19 µg m<sup>-3</sup>) en Stockvik (Suecia) (Kaj y col., 2005a), siendo estos dos los VMS mayoritarios en este tipo de muestras. Por otra parte, en aire de ambientes interiores también se han encontrado concentraciones elevadas de VMS (lineales: hasta 93 µg m<sup>-3</sup>, cíclicos: hasta 730 µg m<sup>-3</sup>) (Tabla 1.3). En este caso, los niveles de concentración de estos compuestos dependen de la densidad ocupacional y la existencia de ventilación al exterior (Shields y Weschler, 1992). Por ejemplo, Shields (1996) detectó una concentración promedio de D4 y D5 de 2,5 y 7,0 µg m<sup>-3</sup>, respectivamente, en oficinas con una densidad ocupacional menor a 0,4 ocupantes/90 m<sup>2</sup>, mientras que las concentraciones aumentaron hasta 10,2 y 39,6 µg m<sup>-3</sup> en oficinas con una densidad ocupacional de 3 a 5 personas/90 m<sup>2</sup>. En aire de ambientes interiores, los niveles de concentración más altos son los encontrados para el D6 en dormitorios infantiles en Suiza (164 µg m<sup>-3</sup>) (Kaj y col., 2005a) y para el D5 en dormitorios de adultos en Italia (730 µg m<sup>-3</sup>) (Pieri y col. 2003).

#### **1.4 Toxicidad y legislación**

Los estudios de toxicidad que se han publicado en la literatura sobre los VMS se han centrado fundamentalmente en los compuestos cíclicos, ya que son los que presentan un mayor volumen de producción y tienen muchas más aplicaciones que los lineales y, en consecuencia, se encuentran con más frecuencia y mayor concentración en el medio ambiente. Por otra parte, dada la tendencia que tienen estos contaminantes a asociarse a los sólidos en suspensión en los sistemas acuáticos y a acumularse en los sedimentos, se ha considerado de interés evaluar los efectos tóxicos en organismos bénticos. Ya en 1994, Kent y col. (1994) estudiaron la toxicidad del D4 utilizando

como organismo indicador al invertebrado bentónico *Chironomus tentans* y no observaron efectos adversos (NOEC) en sedimentos con un contenido de carbono orgánico del 0,27 al 4,1% y para concentraciones entre 54 a 120 mg kg<sup>-1</sup> p.s. Estudios similares llevados a cabo por Norwood y col. (2013) para el D5 utilizando el anfípodo bentónico *Hyaella azteca* y sedimentos con un contenido de carbono orgánico de 0,5 y 11 % pusieron de manifiesto que la concentración letal para el 50% de los individuos expuestos (LC50) era de 191 y 857 mg kg<sup>-1</sup> p.s., respectivamente. La mayor toxicidad en sedimentos con bajo contenido de carbono orgánico se explica porque en ellos la biodisponibilidad es mayor. La Agencia de Medio Ambiente de Canadá publicó un estudio (Environment Canada and Health Canada, 2008a,b) en el que se evalúa la toxicidad del D5 en sedimentos utilizando como organismo indicador el *Chironomus riparius*. Para este organismo el valor de LC50 fue de 450 mg kg<sup>-1</sup>. Como se puede observar, los valores de NOEC y LC50 que se han determinado para el D4 y D5 en sedimentos resultan considerablemente superiores a los niveles de concentración que se han encontrado para estos compuestos en esta matriz (0,001 – 5,84 mg kg<sup>-1</sup>) (Sparham y col., 2011; Zhang y col., 2011; Sanchís y col., 2012; Wang y col., 2013b), lo que sugiere que el riesgo de que estos compuestos sean tóxicos para los organismos bentónicos es mínimo.

La toxicidad de los VMS cíclicos también se ha estudiado en organismos acuáticos que no viven en la zona bentónica sino más bien en la columna de agua. Así, Souza y col. (1995) observaron efectos tóxicos del D4 en la trucha arcoíris (*Oncorhynchus mykiss*) y determinaron para este compuesto valores de NOEC y LC50 de 4,4 y 10 µg L<sup>-1</sup>, respectivamente. También detectaron efectos tóxicos del D4 en la pulga de agua (*Daphia magna*) y se estimaron valores de NOEC y LC50 de 8 y 15 µg L<sup>-1</sup>, respectivamente. Otros autores han estudiado los efectos tóxicos producidos por el D6 utilizando también la pulga de agua como organismo indicador, y en este caso el valor de NOEC es de 4,6 µg L<sup>-1</sup> (Environment Canada and Health Canada, 2008c). Considerando estos valores de NOEC y LC50 como representativos para la biota que vive en la columna de agua, las concentraciones que se han publicado en la literatura para el D4 y el D6 en agua de río (0,010 - 1,48 µg l<sup>-1</sup>) (Sparham y col., 2008; Sanchís y col., 2012; Wang y col., 2013b), no deberían generar efectos tóxicos importantes hacia este tipo de especies.

Respecto a la toxicidad de los VMS frente a la flora y los organismos vivos que habitan los suelos se tiene muy poca información. Solamente se ha publicado un trabajo (Velicogna y col., 2012) en el cual se evalúan los efectos adversos producidos por el D5 en diferentes organismos terrestres utilizando suelos agrícolas mezclados con lodos de depuradoras de aguas residuales. Los resultados muestran que el D5 produce efectos adversos en el Trébol rojo (*Trifolium pratense*) y en la lombriz de tierra (*Eisenia andrei*) pero a concentraciones muy elevadas, puesto que se determinó un valor de LC50 para ambas especies superior a 4054 mg kg<sup>-1</sup>. En cambio este compuesto genera efectos nocivos más importantes en otros organismos. Por ejemplo, retarda el crecimiento de la cebada (*Hordeum vulgare*) y disminuye la supervivencia y reproducción del colémbolo (*Folsomia candida*). Para el colémbolo se determinaron valores de LC50 de 813 mg kg<sup>-1</sup> y para la cebada se determinaron valores de concentración inhibitoria para el 50% de los individuos expuestos (IC50) entre 209 y 2051 mg kg<sup>-1</sup>. Ahora bien, los valores de LC50 determinados para diferentes especies terrestres, son significativamente superiores a los niveles de concentración a los que se ha encontrado el D5 en suelos de diferentes orígenes (5,8 – 711 ng g<sup>-1</sup>p.s) (Sánchez-Brunete y col., 2010; Wang y col., 2013b), por lo que parece que los efectos tóxicos generados por este contaminante frente organismos terrestres es poco significativo.

Por lo que hace referencia a la toxicidad de los VMS en mamíferos, ésta se ha estudiado por diferentes autores mediante experimentos realizados con ratones de laboratorio. Los resultados que se han publicado hasta el momento demuestran que el D4 afecta el proceso reproductivo mimificando o inhibiendo la actividad endógena del estrógeno, a través de un mecanismo dependiente del receptor ER $\alpha$  (McKim y col., 2001), aunque este efecto no se manifiesta para los compuestos cíclicos D3 y D5 (He y col., 2003). Por otra parte, se ha puesto de manifiesto que la exposición de ratones de forma prolongada al D4 genera afectaciones en el hígado y la inducción del citocromo P450 (Utell y col., 1998), además de producir efectos de inmunosupresión (He y col., 2003). La exposición de forma prolongada al D5 también genera efectos adversos notables, tales como cambios significativos en la patología de los pulmones (Siddiqui y col., 2007), mientras que la inhalación de vapores del D3 genera afecciones en el hígado y el riñón, hipertrofia hepatocelular y afecta además al sistema reproductivo (OSHA, 2007). Por lo que hace referencia a los siloxanos lineales,

McKim y col. (2001) observaron que el L2 no es potencialmente estrogénico, sin embargo la inhalación de sus vapores produce en ratones lesiones histológicas en los riñones y aumenta la concentración de creatinina y urea en el plasma (Cassidy y col., 2001). En general, los efectos observados en ratones pueden producirse también en humanos, sin embargo no existe ningún trabajo en la literatura que lo confirme. Por el contrario, existe un estudio publicado que demuestra que la exposición a los VMS cíclicos durante el uso de productos de aseo personal no provoca un aumento de concentraciones que puedan considerarse un peligro para la salud humana (Hanssen y col., 2013).

Además de los artículos que estudian la toxicidad de los VMS, también se han publicado extensos trabajos de revisión realizados por diversas agencias ambientales europeas y norteamericanas, con el propósito de evaluar si estos contaminantes deben ser o no regulados. Así, la Agencia Medioambiental Canadiense, clasifica los VMS cíclicos D4, D5 y D6 como productos químicos de elevada producción y uso, y de elevada persistencia y bioacumulación. Estudios realizados el año 2008, indican que el D4 y el D5 entran en el medio ambiente en cantidades o concentraciones que podrían llegar a causar un daño ecológico (Environment Canada and Health Canada, 2008a,b). Por el contrario, la revisión publicada por la Agencia Ambiental Inglesa en el año 2009, consideró que el D5 no representa un riesgo para los organismos que se viven en el aire, agua y suelos, y solamente presenta un cierto peligro para los que se encuentran en los sedimentos (Booke y col., 2009b). En esta última publicación, se clasifica al D5 como un compuesto muy bioacumulable y muy persistente, sin embargo ni el D4 ni el D6 se incluyen en esta categoría (Booke y col., 2009a,c). En las regulaciones de la Comunidad Europea sobre los compuestos químicos y su uso con garantías de seguridad (REACH, 2006), el D4 y el D5 están clasificados como compuestos muy bioacumulables en peces, sin embargo al D6 no se le da esta categoría. De manera similar, la Agencia Europea de Productos Químicos (ECHA) ha clasificado al D5 como compuesto muy bioacumulable, debido a su elevada persistencia en sedimentos y a su elevado factor de bioconcentración en peces (ECHA, 2013). Recientemente, la Agencia de Protección del Medio Ambiente de Estados Unidos (EPA) incluyó al D4 en una lista de 18 sustancias químicas que se están evaluando en el período 2013 – 2014, con el propósito de decidir si serán

sometidas a regulación (U.S. Environmental Protection Agency, 2013). Como puede observarse, las agencias de medio ambiente europeas y norteamericanas coinciden en cuanto a la clasificación de algunos de estos contaminantes, principalmente el D4 y D5, como compuestos muy persistentes y bioacumulables. Sin embargo, actualmente en ningún país existe regulación sobre la producción y uso de estos compuestos. Esto pudiera estar relacionado con el hecho de que las concentraciones de VMS que se han detectado en el medio ambiente, son en muchos casos inferiores a las que pueden generar efectos tóxicos.

## **1.5 Métodos de análisis de los metilsiloxanos volátiles**

Normalmente se consideran compuestos orgánicos volátiles aquellos cuya presión de vapor es mayor o igual a 0,1 mmHg a 20°C (13 Pa) (Slack y col., 2003). Como puede observarse en la Tabla 1.2, con excepción del L5 y el D6, los VMS estudiados en este trabajo coinciden con esta definición. Por esta razón, los métodos utilizados para el análisis de VMS requieren la aplicación de cuidados especiales para evitar que se produzcan pérdidas por evaporación. Por otra parte, el análisis de los VMS conlleva una serie de dificultades adicionales relacionadas fundamentalmente con problemas de contaminación. A continuación se describe la problemática que presenta el análisis de estos compuestos y se comentan los métodos y estrategias que se han aplicado para su determinación en muestras ambientales.

### **1.5.1 Problemática del análisis de los metilsiloxanos volátiles**

Debido a la gran cantidad de materiales y productos que contienen siliconas, la mayor dificultad que presenta el análisis de los VMS es debida a la contaminación de las muestras lo que conlleva la aparición de los VMS en los blancos de método dando lugar a falsos positivos y a errores en la cuantificación. Entre las principales fuentes de contaminación hay que citar los septum de silicona comúnmente utilizados en los inyectores de los cromatógrafos de gases, los cuales generan una contribución importante de VMS cíclicos. En relación con este problema, Horri y Kannan (2008) estudiaron la contaminación de fondo producida en el blanco instrumental por 5 tipos diferentes de septum y estimaron que ésta se encontraba entre 1,6 y 6,0 pg para el D4,

D5 y D6. Estos autores observaron además que dicho aporte era menor para los siloxanos de mayor peso molecular ( $D4 > D5 > D6$ ) y que se podía controlar modificando la temperatura del inyector. Así, consiguieron disminuir 10 veces la contaminación de fondo producida por el D4, reduciendo la temperatura en el inyector de 250 a 100°C. Para evitar este tipo de contaminación, diversos autores proponen utilizar un septum Merlin en lugar del de silicona en el inyector del cromatógrafo (Kierkegaard y col, 2010; MacLachlan y col., 2010; Krogseth y col., 2013a). Los septum Merlin están constituidos con un material elastómero a base de fluorocarbono resistente a elevadas temperaturas por lo que su utilización no aporta VMS al análisis.

La fase estacionaria de las columnas cromatográficas, normalmente de polidimetilsiloxano, es otra fuente de contaminación de VMS. Como consecuencia de la degradación térmica y/o oxidativa, las fases de polidimetilsiloxano pueden aportar D3 y D4 a los blancos instrumentales y se ha puesto de manifiesto que estos compuestos, en concreto el D4, se generan en mayor cantidad si se inyectan muestras húmedas (Varaprath y col., 2006). Ahora bien, cabe indicar que la contaminación de fondo por VMS producida por el sangrado de las columnas es significativamente menor que el aporte de los septum de silicona (Horri y Kannan, 2008). De todos modos se intenta disminuir al máximo esta contaminación y para ello, en la mayor parte de los trabajos publicados en la literatura se utilizan columnas con fases estacionarias de polidimetilsiloxano de bajo sangrado (VF-5 MS, DB-XLB, DB-1 MS y DB-5 MS) (Tabla 1.4) que producen un aporte de VMS muy reducido. Algunos autores para disminuir esta contaminación de fondo recomiendan emplear columnas con fases estacionarias de polietilenglicol como la DB-FFAP y la DB-Wax (Sparham y col., 2008; Warner y col., 2010), aunque su utilización ha sido mucho menor.

En el análisis de VMS, además de la contaminación de fondo generada por los septum y las fases estacionarias, existen otras fuentes de contaminación importantes que están asociadas principalmente a las etapas de toma de muestra, pre-tratamiento y extracción de las muestras. En relación con este problema, Yucuis y col. (2013) han puesto de manifiesto recientemente la importancia de controlar las condiciones ambientales de los laboratorios ya que encontraron D4, D5 y D6 en el aire de un laboratorio de la Universidad de Iowa (EUA) a concentraciones de hasta 75 ng m<sup>-3</sup>, 39000 ng m<sup>-3</sup> y 220 ng m<sup>-3</sup>, respectivamente. La presencia de VMS en el aire del

laboratorio puede provocar una contaminación notable de las muestras, de los disolventes y de los reactivos utilizados en el análisis. Entre las fuentes de emisión responsables de la presencia de estos compuestos en el aire de los laboratorios cabe citar el equipamiento, las juntas de goma de silicona, el aceite de las bombas de vacío, además de las emisiones producidas por el personal técnico que realiza el análisis debido al uso generalizado de productos de aseo personal (Varaprath y col., 2006). Para evitar este tipo de contaminación, en los trabajos publicados en la literatura se sugieren diferentes estrategias. Una de ellas consiste en realizar la preparación tanto de las muestras como de los patrones de calibración en el mismo punto de muestreo evitando así la contaminación generada por el aire del laboratorio, estrategia propuesta por Sparham y col. (2008) para el análisis de D5 en aguas fluviales. De manera similar, Borga y col. (2012) realizaron el pre-tratamiento inicial las muestras de pescado colectadas en el propio sitio de muestreo. Otros autores recomiendan realizar las etapas de pre-tratamiento y extracción, así como la preparación de los patrones, en una cámara limpia con una cabina de flujo laminar. Este procedimiento ha resultado efectivo para minimizar la contaminación de fondo de VMS en el análisis de diferentes tipos de matrices incluyendo muestras de aire, biota sedimentos (Kierkegaard y McLachlan, 2010; Kierkegaard y col., 2010; Warner y col., 2010; Sparham y col., 2011).

Como ya se ha indicado anteriormente la contaminación en el análisis de los VMS puede ser debida al propio técnico que realiza el análisis ya que los productos de aseo personal utilizados habitualmente contienen elevadas concentraciones de VMS, especialmente de D4, D5 y D6 (Horri y Kannan, 2008; Wang y col., 2009; Dudzina y col., 2014). Por esta razón, en los protocolos de análisis de VMS se indica que el personal debe evitar la utilización de productos de aseo personal durante el muestreo y análisis para minimizar el riesgo de contaminación (Kaj y col., 2005b; Warner y col., 2010; Borga y col., 2012). Por otra parte, los VMS también se encuentran como contaminantes en diferentes tipos de materiales de laboratorio utilizados en el análisis. Por ejemplo se ha detectado la presencia de D5 en los cartuchos de extracción en fase y sólida (SPE) Isolute ENVI+ empleados para el muestreo de este compuesto en aire (Kierkegaard y Mc.Lachlan, 2010). Otro caso de contaminación es el descrito por Sparham y col. (2008) que observaron una contaminación importante por D5 del agua



**Tabla 1.4.** Métodos de análisis de los VMS lineales y cíclicos en muestras ambientales mediante GC-MS.

Extracción / preconcentr.	Método de análisis	Analitos	Matriz	Recuperación (%)	LODs	Referencias
<b>Sedimentos, lodos y suelos</b>						
Extracción con agitación (n-Hex)	GC-HRMS EI+, DB-Wax ETR (30mx0,25mmx0,25µm)	D4-D6	sedimentos	-	0,6-0,9 ng g <sup>-1</sup> p.h.	Warner y col., 2010
Extracción con agitación (n-Hex)	GC-FID, VF-1MS (30mx0,25mmx0,25µm)	D4, D5	lodos activados	74-101	-	Dewil y col., 2007
Extracción con agitación (n-Hex, DCM/ n-Hex 1:1, acetato de etilo/n-Hex, 1:1,v/v)	GC-MS EI+, HP-5 MS (30mx0,25mmx0,25µm)	L3-L5, D4-D6	lodos activados	49-71*	0,003-3,3 ngg <sup>-1</sup> p.s.	Bletsou y col., 2013
Extracción con agitación (acetato de etilo/n-Hex. 1:1, v/v), purificación : sílice	GC-MS EI+, Rxi-5 MS (30mx0,25mmx0,25µm)	L4, L5, D4-D6	sedimentos, lodos activados	Valor promedio: 79*	LOQs: 0,28-2,0 ng g <sup>-1</sup> p.s.	Zhang y col., 2011
Extracción con agitación (ACN/n-Pentano, 1:1, v/v)	GC-MS EI+, HP-5 MS (30mx0,25mmx0,25µm) PTV-LVI (15 µl)	D4-D6	suelos, sedimentos, lodos activados	69-114	3-11 ng g <sup>-1</sup> p.s.	Wang y col., 2013c
UAE (acetato de etilo/ n-Hex, 1:1, v/v)	GC-MS/MS EI+, DB-5 MS (30mx0,25mmx0,25µm)	L3-L5, D3-D5	sedimentos	82-108	0,3-0,9 ng g <sup>-1</sup> p.s.	Sanchís y col., 2012
UAE (acetona) + HS-SPME (PDMS/DVB, 25°C, 40min)	GC-MS EI+, HP-5 MS (30mx0,25mmx0,25µm)	L4, L5, D3-D6	lodos activados	75-93*	<1 ng g <sup>-1</sup> ps	Xu y col., 2013
Extracción en columna (UAE) (n-Hex)	GC-MS EI+, ZB-5 MS (30mx0,25mmx0,10µm)	L4-L5, D4-D6	suelos	88-111*	0,4-1,1 ng g <sup>-1</sup> p.s	Sánchez-Brunette y col., 2010
PLE (acetato de etilo, 100°C y 1500 psi)	GC-MS EI+, ZB-5HT (30mx0,25mmx0,25µm)	D4, D5	sedimentos	73-78	7-37 ng g <sup>-1</sup> p.s.	Sparham y col., 2011
Extracción con agitación (ACN + n-Hex)	On-column (5µl)	D5		85, 113	1 ng g <sup>-1</sup> p.s.	
Purga y trampa (Tenax, 70°C, 20min)	TD-GC- HRMS EI+, CP-SIL8CB (30mx0,25mmx0,5µm)	L2-L5, D3-D6.	sedimentos, lodos activados	-		Kaj y col., 2005a,b

**Tabla 1.4.** Métodos de análisis de los VMS lineales y cíclicos en muestras ambientales mediante GC-MS (cont.)

Extracción / preconcentr.	Método de análisis	Analitos	Matriz	Recuperación (%)	LODs	Referencias
<b>Biota marina</b>						
Extracción con agitación (n-Hex)	GC- HRMS EI+, HP-Ultra2 (25mx0,2mmx0,11mm)	L2-L5, D3-D6.	peces y focas	-	0,4-5 ng g <sup>-1</sup> p.h.	Kaj y col., 2005a,b
Extracción con agitación (n-Hex)	GC- HRMS EI+, HP-Ultra2 (25mx0,2mmx0,11mm)	L3-L5, D3-D6.	peces y mejillones	-	0,04-50 ng g <sup>-1</sup> p.h.	Schlabach y col., 2007
Extracción con agitación (n-Hex)	GC- HRMS EI+, HP-Ultra2 (25mx0,2mmx0,11mm)	L3-L5, D3-D6.	peces	-	0,09-11 ng g <sup>-1</sup> p.h.	Evenset y col., 2009
Extracción con agitación (n-Hex)	GC-HRMS EI+, DB-Wax ETR (30mx0,25mmx0,25µm)	D4-D6	peces, focas y zooplancton	83-91	0,5-10,1 ng g <sup>-1</sup> p.h.	Warner y col., 2010
Extracción con agitación (THF)	GC-MS EI+, HP-5 MS (30mx0,25mmx0,25µm)	D4, D5	peces	82-93	30-100 ng g <sup>-1</sup> p.h.	Woodburn y col., 2013
Extracción con agitación (n-Pentano)	GC-MS EI+, HP-5 MS (30mx0,25mmx0,25µm) PTV-LVI (15 µl)	D4-D6	peces	70-91	25-39 ng g <sup>-1</sup> p.h.	Wang y col., 2013c
Purga y trampa (ENV+, 73°C, 75-200 ml min <sup>-1</sup> , 24-72h)	GC-MS EI+, DB-5 MS (30mx0,25mmx0,25µm)	D4-D6	peces y focas	56-82	0,21-0,56 ng g <sup>-1</sup> p.h.	Kierkegaard y col., 2010a, 2011, 2013b,c
Purga y trampa (ENV+, 73°C, 75-200 ml min <sup>-1</sup> , 36h)	GC-MS EI+, DB-5 MS (30mx0,25mmx0,25µm)	D4-D6	peces y zooplancton	-	LOQs: 0,42-3,7 ng g <sup>-1</sup> p.h.	Borga y col. 2012, 2013
Purga y trampa (Carbotrap B, 75°C, 100 ml min <sup>-1</sup> , 15 min)	TD-GC-MS EI+, DB-5 MS (30mx0,25mmx0,25µm)	D4-D6	peces	19-117	2-7 ng g <sup>-1</sup> p.h.	McGoldrick y col., 2014

**Tabla 1.4.** Métodos de análisis de los VMS lineales y cíclicos en muestras ambientales mediante GC-MS (cont.)

Extracción / preconcentr.	Método de análisis	Analitos	Matriz	Recuperación (%)	LODs	Referencias
<b>Aguas</b>						
líquido-líquido (n-Hex, DCM/ n- Hex/, 1:1, acetato de etilo/n-Hex, 1:1,v/v)	GC-MS EI+, HP-5 MS (30mx0,25mmx0,25µm)	L3-L5, D4-D6	aguas residuales	49-108*	0,03-8,1 ng L <sup>-1</sup>	Bletsou y col., 2013
líquido-líquido (n-Hex)	GC-MS/MS EI+, DB-5 MS (30mx0,25mmx0,25µm)	L3- L5, D3-D5	agua de río, aguas residuales	40-115*	0,1-13 ng L <sup>-1</sup>	Sanchís y col., 2012
MASE (n-Pentano, 29°C, 60 min)	GC-MS EI+, HP-5 MS (30mx0,25mmx0,25µm) PTV-LVI (15 µl)	D4-D6	agua de río, aguas residuales	100-107	9-27 ng L <sup>-1</sup>	Wang y col., 2013c
UAE-DLLME (clorobenceno, 13 µl /13 ml, 2300 rpm)	GC-MS EI+, DB-624 (60mx0,25mmx1,4µm)	L2, L4, L5, D3-D6	aguas residuales	71-99	2-400 ng L <sup>-1</sup>	Cortada y col., 2014
HS (80°C, 10min)	GC-MS EI+, DB-FFAP (30mx0,25mmx0,25µm)	D5	agua de río, aguas residuales	81-99	LOQs: 10 ng L <sup>-1</sup>	Sparham y col., 2008
HS (80°C, 10min)	GC-MS EI+, DB-Wax (30mx0,25mmx0,25µm)	D4-D6	aguas residuales	14-98	10-200 ng L <sup>-1</sup>	Van Egmond y col., 2013
HS-SPME (PDMS/DVB, 25°C, 40min)	GC-MS EI+, HP-5 MS (30mx0,25mmx0,25µm)	L4, L5, D3-D6	aguas residuales	78-96	3,2-7,8 ng L <sup>-1</sup>	Xu y col., 2013
Purga y trampa (Tenax, 70°C, 20min)	TD-GC- HRMS EI+, CP-SIL8CB (30mx0,25mmx0,5µm)	L2-L5, D3-D6.	agua de mar y lagos, aguas residuales	-	<6-100 ng L <sup>-1</sup>	Kaj y col., 2005a,b
Purga y trampa (Tenax, 70°C, 20min)	TD-GC- HRMS EI+, CP-SIL8CB (30mx0,25mmx0,5µm)	L3-L5, D4-D6.	aguas residuales	-		Schlabach y col., 2007

**Tabla 1.4.** Métodos de análisis de los VMS lineales y cíclicos en muestras ambientales mediante GC-MS (cont.)

Extracción / preconcentr.	Método de análisis	Analitos	Matriz	Recupera-ción (%)	LODs	Referencias
<b>Aire</b>						
<b>Muestreo pasivo:</b> discos de PUF/XAD-4 (6500 L d <sup>-1</sup> , 90 d), eluc.: n-Hex	GC-MS EI+, DB-5 (60mx0,25mmx0,25µm)	L3-L5, D3-D6	aire de zona urbana, industrial y de zonas alejadas de fuente de emisión	L3 y D3: 20-80 L4, L5, D4-D6: 70-100	D3-D6: 1,1-7,1 ng m <sup>-3</sup> L3: 0,011 ng m <sup>-3</sup>	Genualdi y col., 2011
<b>Muestreo pasivo:</b> discos de PUF/XAD-4 (3330 L d <sup>-1</sup> , 90 d), eluc.: éter de petróleo/acetona (1:1,v/v)	GC-MS EI+, DB-5 (60mx0,25mmx0,25µm)	L3-L5, D3-D6	aire de zona industrial	L3 y D3: 25-49* L4, L5, D4 - D6: 74-90*	D3-D6: 7-18 ng m <sup>-3</sup>	Cheng y col., 2011
<b>Muestreo pasivo:</b> Columna rellena de carbón activado, 30 d, eluc. CS <sub>2</sub>	GC-MS EI+, DB-1 (12mx0,20mm)	D4, D5	aire de ambiente interior			Shields, 1996; Shields y Weschler, 1992
<b>Muestreo pasivo:</b> Columna rellena de XAD-2 (10 g, 500 L d <sup>-1</sup> , 90 d), eluc.: n-Hex <b>Muestreo activo:</b> SPE, isolate ENV+ (120mg, 4,7 - 5,0 L min <sup>-1</sup> , 16500 L), eluc.: n-Hex	GC-MS EI+, HP-5 MS (30mx0,25mmx0,25µm)	L3-L5, D3-D6	aire de zonas alejadas de fuente de emisión y aire de zona urbana	D3-D6: 77-110  D3-D6: 85-123	D3-D6: 11-25ng m <sup>-3</sup>  D3-D6: 0,94 -2,3ngm <sup>-3</sup>	Krogseth y col., 2013a,b
<b>Muestreo activo:</b> gel de sílice/ <i>carbosieve</i> / carbón activado (0,5 L min <sup>-1</sup> , 10 L)	TD-GC-MS EI+, HP-5 MS (30mx0,25mmx0,25µm)	D3, D4, D5	aire de zona industrial	-	-	Wang y col., 2001
<b>Muestreo activo:</b> Tenax TA (0,1 L min <sup>-1</sup> , 20 L)	TD-GC-MS EI+, DB-1701 (30mx0,22mmx1,0µm)	L2-L5, D3-D6.	aire de zona urbana, industrial y aire ambiente interior	-	4-30 ng m <sup>-3</sup>	Kaj y col., 2005a,b

**Tabla 1.4.** Métodos de análisis de los VMS lineales y cíclicos en muestras ambientales mediante GC-MS (cont.)

Extracción / preconcentr.	Método de análisis	Analitos	Matriz	Recuperación (%)	LODs	Referencias
<b>Muestreo activo:</b> Tenax-GR/carbón grafitizado (0,12 L min <sup>-1</sup> , 5 L)	TD-GC-MS EI+, DB-624 (60mx0,25mmx1,4µm)	L2-L5, D3- D6	aire de ambiente interior	82-92	7-40 ng m <sup>-3</sup>	Pieri y col., 2013
<b>Muestreo activo:</b> Cromosorb 106, Carbotrap C/ Carbotrap/ Carboxen 1000 (0,03 L min <sup>-1</sup> , 1.8 L)	TD-GC-MS EI+, Varian Select Silanes (60mx0,32mmx1,8µm)	L2-L5, D4- D6	aire de ambiente interior	-	-	Lamaa y col., 2013
<b>Muestreo activo:</b> SPE, isolate ENV+ (10 mg, 0,9 - 3 L min <sup>-1</sup> , 4700 L – 13000 L, eluc.: n-Hex)	GC-MS EI+, DB-5 MS (30mx0,25mmx0,25µm)	D5	aire de zonas alejadas de fuente de emisión	94	0,12 ng m <sup>-3</sup>	Kierkegaard y McLachlan., 2010
<b>Muestreo activo:</b> SPE, isolate ENV+ (10 mg, 0,9 - 4,5 L min <sup>-1</sup> , 2000 L– 12000 L, eluc.: n-Hex)	GC-MS EI+, DB-5 MS (30mx0,25mmx0,25µm)	D5	aire de zonas alejadas de fuente de emisión	-		McLachlan.y col., 2010
<b>Muestreo activo:</b> SPE, isolate ENV+ (100 mg, 12 L min <sup>-1</sup> , 12000 L, eluc.: n-Hex)	GC-MS EI+, DB-5 MS (30mx0,25mmx0,25µm)	L3-L5 D3-D6	aire de zonas alejadas de fuente de emisión	L3-L5, D4-D6: 70-80% D3: 44%	L3-L5: 3,8-16 pg m <sup>-3</sup> D3-D6: 0,13-0,27 ng m <sup>-3</sup>	Kierkegaard y McLachlan., 2013
<b>Muestreo activo:</b> SPE, isolate ENV+ (250 mg, 0,5 L min <sup>-1</sup> , 720 L), eluc.: n-Hex	GC-MS EI+, HP-5 MS (30mx0,25mmx0,25µm)	L3-L5, D4- D6	aire de zona industrial y aire ambiente interior	90-95*	LOQs: 0,14-0,36 ng m <sup>-3</sup>	Xu y col., 2012
<b>Muestreo activo:</b> SPE, isolate ENV+ (10 mg, 3 – 6 L min <sup>-1</sup> , 2160 – 12960 L), eluc.: n-Hex	GC-MS EI+, Restex RTX-5 MS (30mx0,25mmx0,25µm)	D4, D5, D6	aire de zonas alejadas de fuente de emisión y aire ambiente interior	99-114	0,43-0,83 ng m <sup>-3</sup>	Yucuis y col., 2013

**Tabla 1.4.** Métodos de análisis de los VMS lineales y cíclicos en muestras ambientales mediante GC-MS (cont.)

Extracción / preconcentr.	Método de análisis	Analitos	Matriz	Recuperación (%)	LODs	Referencias
<b>Muestreo activo:</b> SPE, isolute ENV+ (80 mg, 11 – 12,5 L min <sup>-1</sup> , 2000 – 8800 L), eluc.: n-Hex	GC-MS EI+, DB-5 MS (30mx0,25mmx0,25µm)	D5, D6	aire de zona urbana	-	LOQs: 0,81-5,07 ng m <sup>-3</sup>	Buser y col., 2013
<b>Muestreo activo:</b> bolsas de Teflon de 56 L	APCI-MS, APCI-MS/MS	D4, D5	aire de zona industrial	-	6 y 4 µg m <sup>-3</sup>	Badjagbo y col., 2009, 2010

\*: Métodos que aplican etapas de concentración con rotavapor o con corriente de nitrógeno. **ACN**: acetonitrilo; **DCM**: diclorometano; **n-Hex**: n-hexano; **P&T**: Purga y trampa; **THF**: tetrahidrofurano; **LODs**: Límites de detección del método; **LOQs**: Límites de cuantificación del método; **PUF**: Espuma de Poliuretano; **UAE**: Extracción asistida por ultrasonidos; **PLE**: Extracción con líquidos presurizados; **MASE**: Extracción con disolventes asistida por membranas; **SPE**: Extracción en fase sólida; **HS**: Extracción en espacio de cabeza; **HS-SPME**: Microextracción en fase sólida del espacio de cabeza; **TD-GC-MS**: Desorción térmica combinada con cromatografía de gases y espectrometría de masas, **p.s.**: peso seco, **p.h.**: peso húmedo, **MS/MS**: espectrometría de masas en tándem

MilliQ utilizada como blanco para la preparación de los patrones de calibración. Por tanto, para evitar que se produzca contaminación durante el análisis es imprescindible realizar un riguroso control del material de laboratorio a emplear en el mismo.

Es importante destacar que en los procedimientos de análisis de VMS se debe prestar una atención especial a la toma de muestra, y esto se debe a que en esta etapa puede también producirse contaminación. Esta contaminación se debe fundamentalmente a la deposición atmosférica de VMS en el punto de muestreo, y para controlarla la práctica común utilizada es el empleo de blancos de muestreo. Sin embargo, la obtención y preparación de muestras blancas para el análisis de VMS también presenta dificultades, pues dada la presencia ubicua de estos compuestos, se hace difícil en algunos casos disponer de una muestra que no los contenga, y no siempre es posible preparar una muestra blanca artificial que simule bien la matriz analizada. Por ello los autores utilizan muestras muy variadas. Por ejemplo, Sanchís y col., (2012) proponen para el análisis de aguas residuales, el uso de muestras blancas artificiales preparadas en el laboratorio conteniendo  $\text{NH}_4\text{Cl}$ , acetato de sodio, peptona,  $\text{MgHPO}_4$ ,  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  y  $\text{FeSO}_4$  mientras que otros autores, dada la complejidad de preparar muestras artificiales exentas de VMS, han optado por utilizar sencillamente agua MilliQ como blanco para el análisis de aguas residuales aunque evidentemente la matriz es muy distinta (Bletsou y col., 2013; Wang y col., 2013c). La misma problemática se presenta en el análisis de matrices sólidas y, en general, se emplean muestras que no siempre reproducen con exactitud la muestra analizar. Por ejemplo, Bletsou y col. (2013) emplearon muestras de suelos que no contenían niveles detectables de VMS, como matriz blanca para controlar la toma de muestra en el análisis de lodos de depuradora, aunque evidentemente la composición de la muestra no es la misma, como tampoco lo es la sílice utilizada por Kaj y col. (2005a,b) como matriz blanca para el análisis de suelos, lodos y sedimentos. Otros ejemplos del mismo tipo son la utilización de grasa de cerdo homogeneizada como blanco de muestreo para la determinación de D4, D5 y D6 en hígado de peces y grasa de focas (Warner y col., 2010, 2013) o bien el empleo del adsorbente Isolute ENVI+ (~60mg) como blanco de muestreo en el análisis de D4, D5 y D6 en zooplancton y peces (Kierkegaard y col., 2011; Borga y col., 2012). Todas estas alternativas pueden ser aceptables para la preparación de muestras blancas, siempre y cuando las mismas

permitan simular de manera suficientemente adecuada el comportamiento de las muestras reales durante el muestreo y el análisis.

Como se mencionó anteriormente, otro problema importante que se presenta en el análisis de los VMS, es que debido a su elevada presión de vapor (Tabla 1.2) estos compuestos tienen una gran tendencia a volatilizarse, especialmente desde matrices acuosas debido a su poca solubilidad, lo que provoca que su determinación cuantitativa conlleve ciertas dificultades. Estas pérdidas por evaporación pueden producirse en las diferentes etapas del procedimiento analítico, como el muestreo, el almacenamiento, el pre-tratamiento, la extracción y la pre-concentración. Para minimizar el riesgo de que se produzcan estas pérdidas, se recomienda la aplicación de cuidados especiales. Por ejemplo, en los procedimientos de muestreo se propone que tanto las matrices acuosas (agua de río y agua residual) como las sólidas (suelos, lodos, sedimentos y biota), se sometan a la mínima manipulación posible durante la toma de muestra, se transporten al laboratorio refrigeradas y en recipientes herméticos y se conserven en estas condiciones hasta su análisis (Kaj y col., 2005a,b; Warner y col., 2010; Borga y col., 2012). De manera similar, los tubos de adsorción, cartuchos de SPE, o muestreadores pasivos empleados en la toma de muestras de aire, también deben ser refrigerados durante su transporte al laboratorio (Kierkegaard y McLachlan, 2013; Krogseth y col., 2013a). Por otra parte, la etapa de almacenamiento y conservación de las muestras también resulta crítica, y en diferentes trabajos se estudian los efectos adversos que pueden producirse. Por ejemplo, Wang y col. (2013c) observaron para el caso de muestras de agua, que las concentraciones de D4 y D5 se mantienen estables durante 29 días en esta matriz si las muestras se mantienen a 4°C, sin embargo se detectaron pérdidas importantes para el D6 (60-70%) en muestras almacenadas durante un período de tiempo superior a 3 días. Este efecto se explica por la adsorción de este compuesto en las paredes y tapas de los viales de muestreo. En muestras de sedimentos, los mismos autores demostraron que su almacenamiento a -20°C durante 105 días no producía pérdidas significativas del D4, D5 y D6. En cuanto a las muestras de aire, Kierkegaard y McLachlan. (2013) observaron que el almacenamiento a -17°C durante 7 días de los cartuchos de SPE Isolute ENVI+ utilizados para la captación de los VMS, producía la transformación parcial del D5 en D4 y D3. La estabilidad de los compuestos en los adsorbentes parece depender de la



naturaleza del mismo ya que Krogseth y col. (2013a) observaron que el almacenamiento a  $-18^{\circ}\text{C}$  de muestreadores pasivos de XAD-2 durante 28 días no producía pérdidas significativas de los VMS lineales y cíclicos. Como se puede constatar, tanto los cuidados que se tomen en la toma de muestra como las condiciones de almacenamiento, tienen vital importancia para evitar las pérdidas por volatilización y degradación de los VMS, y por tanto deben ser controladas cuidadosamente.

Además de las pérdidas de los VMS por volatilización que pueden producirse durante el muestreo y el almacenamiento, éstas también pueden ocurrir en las etapas de pre-tratamiento y extracción. Por esta razón, algunos autores recomiendan utilizar técnicas de extracción de Espacio de Cabeza (HS) y Purga y Trampa (P&T) para el análisis de los VMS. Estas técnicas permiten realizar la extracción de la muestra en un solo paso, en viales herméticos, reduciendo la manipulación de la misma al mínimo y en consecuencia reduciendo también las pérdidas por evaporación. Por ejemplo, Sparham y col. (2008) emplearon la técnica HS para el análisis de D5 en agua de río y aguas residuales y Kaj y col. (2005a,b) propusieron el método de purga y trampa para determinar VMS lineales y cíclicos en aguas, lodos y sedimentos, aunque en estos dos últimos casos se debe añadir agua para obtener una suspensión del sólido que permita la extracción de los analitos. Sin embargo, en estos métodos de extracción la transferencia de los analitos a la fase gas puede verse afectada significativamente por la matriz y por ello, con frecuencia se opta por emplear métodos de extracción con disolventes. Así, la mayoría de los métodos descritos en la literatura para el análisis de VMS en muestras ambientales utilizan, precisamente, la extracción con disolventes (Tabla 1.4), aunque se debe trabajar de modo que se eviten al máximo las pérdidas por volatilización. En este sentido, se recomienda utilizar procedimientos de extracción sencillos y rápidos, que no incluyan etapas de concentración de los extractos con un rotavapor o con flujo de nitrógeno, y además evitar si es posible el uso de etapas de purificación. Se puede citar como ejemplo el método propuesto por Warner y col. (2010), que realiza el análisis de D4, D5 y D6 en muestras de pescado, empleando la extracción con n-hexano mediante agitación seguida de la inyección directa del extracto en el cromatógrafo de gases. En este método, la simplificación del procedimiento de análisis permitió a los autores evitar las pérdidas por volatilización.

Sin embargo, la inyección directa del extracto sin previa purificación, provoca que se introduzcan en el sistema cromatográfico compuestos co-extraídos que pueden interferir en el análisis y ensuciar el inyector del cromatógrafo de gases y la columna de separación.

### **1.5.2 Métodos de extracción y pre-concentración**

En la Tabla 1.4 se resumen las técnicas de extracción y pre-concentración que se han empleado para el análisis de VMS en muestras ambientales. Como puede observarse, en el análisis de matrices sólidas tales como suelos, sedimentos, lodos activados y biota, la técnica de extracción que se ha utilizado con más frecuencia es la extracción con disolventes mediante agitación seguida de la inyección directa del extracto en el cromatógrafo de gases. El disolvente de extracción más empleado es el n-hexano, aunque también se han utilizado n-pentano, tetrahidrofurano y mezclas con otros disolventes como el acetato de etilo, diclorometano y acetonitrilo. Las recuperaciones son en general elevadas con valores del 70 al 114% en la extracción de sedimentos, lodos y suelos utilizando disolventes como el n-hexano o mezclas acetato de etilo/n-hexano (1:1, v/v) o acetonitrilo/n-pentano (1:1, v/v), y superiores al 70% para biota con n-pentano, n-hexano y tetrahidrofurano (Tabla 1.4). Tan solo Bletsou y col. (2013) encontraron recuperaciones inferiores, del 49-70%, al utilizar extracciones sucesivas con n-hexano, diclorometano/n-hexano (1:1, v/v) y acetato de etilo/n-hexano (1:1, v/v) en el análisis de lodos de depuradora, aunque estos resultados se pueden atribuir a pérdidas por volatilización ya que estos autores evaporan los extractos en un rotavapor y con corriente de nitrógeno.

Para el análisis de VMS en matrices sólidas se han utilizado también la extracción asistida por ultrasonidos (UAE) y la extracción con líquidos presurizados (PLE). La UAE se utiliza con mucha frecuencia en el análisis de contaminantes orgánicos en muestras ambientales, ya que el efecto de cavitación producido por la energía de los ultrasonidos favorece la penetración del disolvente en el sólido, acelerando la transferencia de masa y mejorando la eficiencia de la extracción. Los primeros autores que utilizaron UAE para la extracción de VMS fueron Sánchez-Brunete y col. (2010), que la emplearon para la extracción de muestras de suelos. Estos autores obtuvieron

elevadas eficiencias de extracción (88-111%) mediante la extracción de los compuestos de interés introduciendo la muestra en el interior de una columna de vidrio que se sumerge en un baño de ultrasonidos, utilizando n-hexano como disolvente a temperatura ambiente (Sánchez-Brunete y col., 1998, 2003). Otros autores también han utilizado la UAE para el análisis de lodos de depuradora (Xu y col., 2013) y sedimentos (Sanchís y col., 2012), empleando como disolventes acetona el primero, y una mezcla acetato de etilo/n-hexano (1:1, v/v) el segundo. En ambos casos se obtuvieron recuperaciones para los VMS superiores al 75%. En comparación con la extracción con agitación, la utilización de la UAE no conlleva una reducción importante en el tiempo de extracción ni una mejora en la eficiencia de extracción. Además, cabe señalar que algunos de los métodos que utilizan la UAE realizan la concentración del extracto con corriente de nitrógeno (Sánchez-Brunete y col. (2010) y Xu y col. (2013)), lo que puede generar pérdidas por volatilización en el caso de analizar los siloxanos más volátiles, como L2 y D3.

Como se ha indicado previamente, para el análisis de VMS también se ha empleado la extracción con líquidos presurizados (PLE). Esta técnica combina la extracción con disolventes a temperaturas (50-200 °C) y presiones elevadas (10-20 MPa), lo que conduce a procesos de extracción más rápidos que los métodos clásicos, utilizando volúmenes inferiores de disolventes (Hübschmann, 2008). Así, Sparham y col. (2011) utilizaron la PLE para el análisis de D4 y D5 en sedimentos, empleando acetato de etilo a 100°C y 1500 psi y obtuvieron recuperaciones entre el 73 y 78 %, por lo que no parece que esta técnica aporte ninguna ventaja realmente importante respecto a los métodos de extracción con agitación o UAE. Más bien ocurre lo contrario ya que estos autores obtuvieron una mayor recuperación del D5 (85 y 113%) utilizando extracción con agitación con acetonitrilo y n-hexano como disolventes que con PLE (Tabla 1.4).

En general, se intenta que los métodos de extracción con disolventes que se utilizan para el análisis de VMS en matrices sólidas sean lo más simples y rápidos como sea posible para evitar que se produzcan pérdidas por volatilización. Por ello, como ya se ha comentado, con frecuencia los extractos obtenidos se analizan directamente, aunque ésto pueda causar la introducción de lípidos y compuestos de elevado peso molecular en el sistema cromatográfico. Algunos autores introducen una etapa de purificación para solucionar este problema y esto es lo que proponen Zhang y col.

(2011) que para el análisis de VMS en sedimentos y lodos, añaden una etapa de purificación del extracto con una columna de sílice antes de la determinación por GC-MS. El método propuesto permitió a estos autores alcanzar una eficiencia de extracción promedio del 79%, lo que pone de manifiesto que la aplicación de una etapa de purificación no siempre produce pérdidas adicionales importantes por volatilización y que a veces resulta adecuado su empleo para evitar la contaminación del sistema cromatográfico.

Otra alternativa que han utilizado algunos autores para evitar la presencia de compuestos de elevado peso molecular, que son potenciales interferentes en el extracto, es el empleo de procedimientos que permitan extraer tan solo los compuestos volátiles. Con esta filosofía se han utilizado la microextracción en fase sólida de espacio de cabeza (HS-SPME) y la técnica purga y trampa, las cuales se basan en la transferencia de los analitos de la matriz a la fase gas que es la que se analiza. Entre las ventajas que brindan estas técnicas hay que señalar que son sencillas, no utilizan disolventes, y requieren volúmenes pequeños de muestra que se analizan, por lo general, directamente en un vial de extracción hermético sin etapas previas de tratamiento. Sin embargo, la desventaja principal que presentan en el análisis de muestras complejas es que la matriz afecta a la transferencia de los analitos a la fase gas. Esto requiere normalmente aplicar el método de adición de estándar para la cuantificación (Pawliszyn, 1997), o bien utilizar dilución isotópica si se trabaja en GC-MS. La HS-SPME se ha utilizado como una etapa de concentración/purificación en el análisis de VMS en lodos de depuradora después de su extracción con acetona utilizando UAE (Xu y col., 2013). Los autores proponen concentrar el extracto obtenido con corriente de nitrógeno hasta un volumen de 200 $\mu$ l y diluirlo posteriormente con 40ml de agua para ser finalmente extraído mediante HS-SPME. Se utiliza una fibra de polidimetilsiloxano/divinilbenceno (PDMS/DVB) (65  $\mu$ m) y una temperatura y tiempo de extracción de 25°C y 40 min., respectivamente. Esta segunda extracción hace la función de etapa de purificación puesto la HS-SPME extrae los compuestos volátiles del extracto en solución acuosa mientras que los de elevado peso molecular, como lípidos y otras biomoléculas que son potencialmente interferentes, quedan en la solución. La eficiencia de la extracción alcanzada con este método (75-93%) resulta similar a la que presentan las otras técnicas de extracción que se han

descrito previamente y representa una alternativa al método propuesto por Zhang y col. (2011) que utiliza una etapa de purificación mediante cromatografía de adsorción en columna empleando sílice (0,5g). Dado que el tiempo de análisis y las recuperaciones de los dos procedimientos son similares, ambos métodos representan estrategias efectivas para realizar la purificación de los extractos en el análisis de VMS.

La técnica purga y trampa ha sido propuesta, como ya se ha comentado anteriormente, para el análisis de VMS en sedimentos y lodos (Kaj y col., 2005a,b), y también se ha aplicado para el análisis de D4, D5 y D6 en muestras de pescado (Kierkegaard y col., 2010, 2011, 2013a,b; Borga y col. 2012, 2013; McGoldrick y col., 2014). En todos los casos hay que añadir agua para obtener una suspensión del sólido que permita la extracción. En el método propuesto Kaj para la extracción de los VMS de sedimentos se utilizó Tenax en la trampa de adsorción, mientras que para la extracción de las muestras de pescado se utilizaron Carbotrap B (McGoldrick y col., 2014) y cartuchos Isolute ENV+ (Kierkegaard y col., 2010). La extracción de la suspensión de la muestra sólida se realizó a 70-75°C durante 15-20 minutos, aunque en el método propuesto por Kierkegaard requirió un mayor tiempo de extracción (24-72h), lo cual lo convierte en un método muy lento. Para la desorción de los compuestos algunos autores utilizan la desorción térmica (Kaj y col., 2005a,b y McGoldrick y col., 2014), mientras que otros utilizan n-hexano (Kierkegaard y col., 2010, 2011, 2013a,b; Borga y col., 2012, 2013). Cabe comentar sin embargo que los sistemas utilizados para la extracción, que son totalmente cerrados para evitar pérdidas y contaminación, requieren en el método propuesto por Kierkegaard de un montaje especial no disponible comercialmente, por lo que no siempre resulta ventajosa su utilización.

De manera similar que para las muestras sólidas, el análisis de VMS en agua se lleva a cabo mediante el empleo de métodos de extracción con disolventes, así como de purga y trampa y las técnicas de espacio de cabeza, HS y HS-SPME. En relación a la extracción con disolventes, Sanchís y col. (2012) utilizaron la extracción líquido-líquido (LLE) para determinar VMS lineales y cíclicos en aguas residuales y aguas de río, empleando como disolvente n-hexano y realizando la extracción LLE de manera convencional. La desventaja que presenta este tipo de extracción es que puede provocar pérdidas de los analitos más volátiles, tales como D3 y L3, para los que se

encontraron recuperaciones del 40 y 50%, respectivamente. Estas bajas recuperaciones son probablemente debidas a la concentración del extracto en un rotavapor y con corriente de nitrógeno. Bletsou y col. (2013) encontraron recuperaciones de este mismos orden (40- 55%) para los compuestos más volátiles L3 y D4 al analizar VMS lineales (L3-L5) y cíclicos (D4-D6) en aguas residuales. Estos autores proponen analizar la fase disuelta y la fase particulada de la muestra que se separan mediante centrifugación y filtración. Ambas fases se someten a extracciones sucesivas con n-hexano y mezclas diclorometano: n-hexano (1:1, v/v) y acetato de etilo: n-hexano (1:1, v/v). Recientemente se han empezado a utilizar técnicas más novedosas de extracción líquido-líquido. Así, Cortada y col. (2014) han propuesto emplear la microextracción líquido-líquido dispersiva asistida por ultrasonidos (UAE-DLLME) para el análisis de VMS lineales y cíclicos en aguas residuales. Esta técnica ofrece importantes ventajas respecto a la LLE convencional, ya que permite realizar la extracción de la muestra de una manera rápida y simple, sin necesidad de utilizar grandes cantidades de disolventes orgánicos, lo que permite reducir las pérdidas por volatilización. La técnica UAE-DLLME consiste en la dispersión de una pequeña cantidad de disolvente extractante en la muestra líquida utilizando la energía ultrasónica, seguida de la separación de la fase orgánica mediante centrifugación en un tubo cónico. En este caso se utilizó clorobenceno como disolvente de extracción, una relación volumen de disolvente/volumen de muestra de 13 $\mu$ l/13ml y una velocidad de centrifugación de 2300 rpm. El método permitió obtener recuperaciones entre 71 y 86%, superiores a los métodos clásicos de LLE. Por otro lado, para el análisis de D4, D5 y D6 en aguas residuales, Wang y col. (2013c) utilizaron la extracción con disolventes asistida por membrana (MASE). En esta técnica, los analitos orgánicos presentes en la muestra acuosa se difunden a través de una membrana de polietileno de baja densidad y se concentran en un pequeño volumen de disolvente orgánico. Este método es especialmente útil para muestras complejas con alto contenido en materia orgánica, puesto que el empleo de una membrana previene la formación de emulsiones, al mismo tiempo que excluye los compuestos macromoleculares y las partículas presentes en la muestra. El disolvente utilizado en este caso fue n-pentano y la temperatura y tiempo de extracción fueron de 29°C y 60 min, respectivamente, obteniendo recuperaciones cercanas al 100 %.

Como se mencionó anteriormente, para el análisis de VMS en muestras de agua también se han aplicado las técnicas HS, HS-SPME y purga y trampa. Así, Sparham y col. (2008) utilizaron el método de HS para determinar D5 en aguas de río y aguas residuales, mientras que Van Egmond y col. (2013) aplicaron esta técnica al análisis de D4, D5 y D6 en aguas residuales. En ambos casos la extracción se realizó a 80°C durante 10 min, inyectando 3 ml del espacio de cabeza en el GC-MS. Mientras Sparham y col. (2008) obtuvieron recuperaciones entre 81 y 99%, las recuperaciones obtenidas por Van Egmond y col. (2013) fueron entre el 14 y 98%. Las bajas recuperaciones obtenidas para el D6 con este último método (14-28%) se deben al efecto matriz producido por el agua residual, que afecta significativamente la transferencia de los analitos a la fase gas. En cuanto a la técnica HS-SPME, ésta ha sido aplicada por Xu y col. (2013) para determinar VMS lineales y cíclicos en aguas residuales, utilizando una fibra de polidimetilsiloxano/divinilbenceno (PDMS/DVB) y condiciones de extracción similares a las mencionadas anteriormente para el análisis de los lodos activados. Estos autores también observaron la existencia de un efecto matriz notable, alcanzando recuperaciones para los VMS lineales y cíclicos entre 78 y 96%. En comparación con el método de HS utilizado por Van Egmond y col. (2013), la técnica HS-SPME permite alcanzar LODs hasta dos órdenes de magnitud más bajos en el análisis de aguas residuales (Tabla 1.4). La otra técnica utilizada en el análisis de aguas es la purga y trampa. Ésta fue utilizada por Kaj y col. (2005a,b) para el análisis de VMS lineales y cíclicos en muestras de agua de mar, agua de lagos y aguas residuales. El método propuesto es el mismo que para el análisis de lodos de depuradora y utiliza Tenax (0,25g) como adsorbente. En general, la ventaja que brinda utilizar las técnicas HS, HS-SPME y purga y trampa para el análisis de VMS en aguas en comparación con los métodos basados en la extracción líquido-líquido, consiste en que simplifican la metodología de análisis, no requieren el uso de disolventes para la extracción y evitan las pérdidas por volatilización de los VMS.

Para el análisis de VMS en aire, la toma de muestra se realiza, en general, haciendo pasar un volumen de aire por un adsorbente sólido donde quedan retenidos los VMS y, posteriormente, se procede a la desorción y análisis. Existen dos procedimientos de toma de muestras de aire: el muestreo pasivo y el activo, y ambos se han utilizado para el análisis de VMS. El muestreo pasivo es una técnica simple y de bajo coste en

la cual el transporte de los analitos desde la atmósfera al adsorbente se produce por difusión. Su ventaja fundamental es que no requiere del empleo de bombas para coleccionar las muestras de aire, lo que presenta ventajas innegables cuando se trata de recoger muestras en zonas remotas. Sin embargo, presenta una importante desventaja que consiste en que variaciones en las condiciones meteorológicas durante el período de muestreo, tales como la velocidad del viento y la temperatura, influyen significativamente en los resultados cuantitativos, además de que requiere tiempos de muestreo relativamente largos lo que limita en algunos casos su aplicación (Dettmer y Engewald, 2003; Ras y col., 2009). El primer trabajo publicado sobre el uso de muestreo pasivo para determinar VMS en aire es el de Shield y Weschler (1992), que utilizaron una columna rellena de carbón activado para la captación de D4 y D5 en el aire ambiente interior de oficinas. Estos autores aplicaron un tiempo de muestreo de 30 días, y emplearon disulfuro de carbono para la elución. Para la captación de VMS con muestreadores pasivos se han empleado también discos de espuma de poliuretano impregnados con resina de poliestireno divinilbenceno, XAD-4. Por ejemplo, Genualdi y col. (2011) utilizaron este tipo de adsorbentes para la toma de muestras de aire en zonas alejadas y de difícil acceso del Ártico, así como en extensas zonas geográficas, que incluyen localidades urbanas e industriales de Norteamérica y Europa. Cheng y col. (2011) adaptaron este método para el muestreo de VMS lineales y cíclicos en el aire de plantas de tratamiento de aguas residuales y en zonas de vertidos de residuales. El tiempo de muestreo utilizado en ambos casos fue de 90 días y la desorción de los analitos se realizó con n-hexano en el primer caso y con una mezcla éter de petróleo/acetona (1:1, v/v) en el segundo. Las recuperaciones obtenidas con estos sistemas de muestreo pasivo fueron superiores al 70 %, sin embargo para los analitos más volátiles L3 y D3 las recuperaciones fueron menores del 50 % (Cheng y col., 2011). Estas pérdidas deben tenerse en cuenta durante la calibración de los sistemas de muestreo pasivo y por tanto no deberían afectar los resultados cuantitativos, aunque pueden repercutir sensiblemente en los límites de detección. Krogseth y col. (2013a) evaluaron la utilización tubos rellenos con resina de poliestireno divinilbenceno XAD-2 para el muestreo pasivo de D3, D4, D5 y D6 en aire de exteriores rurales y urbanos, así como en el aire interior de plantas de tratamiento de aguas residuales. Los resultados del trabajo de estos autores pusieron de manifiesto que estos sistemas permiten el análisis de muestras de ambientes en los



cuales las concentraciones son suficientemente elevadas (urbanos y plantas de tratamiento de aguas residuales); sin embargo, los límites de detección obtenidos fueron demasiado elevados (11-25 ng m<sup>3</sup>) para permitir su determinación en ambientes rurales y de zonas remotas. Los autores indican que era necesario utilizar etapas exhaustivas de limpieza de las resinas, la utilización de disolventes de elevada pureza y la eliminación de todas las posibles causas de contaminación para poder utilizar este método para este tipo de muestras.

Como se puede observar en la Tabla 1.4, la mayoría de los métodos que se han publicado en la literatura para el análisis de VMS en aire utilizan muestreo activo. Esta técnica de muestreo requiere el uso de sistemas de bombeo que hacen circular el aire a través de un tubo relleno con uno o más adsorbentes a un flujo determinado, la desorción de los compuestos retenidos se lleva a cabo mediante desorción térmica o química. La desorción térmica presenta la ventaja de que la muestra se transfiere completamente al cromatógrafo de gases, sin la dilución de los analitos que se produce al utilizar la desorción con disolventes y, en consecuencia, se pueden alcanzarse límites de detección más bajos. Se han utilizado diversos adsorbentes para el muestreo activo. Por ejemplo, Wang y col. (2001) aplicaron el muestreo activo para determinar D3, D4 y D5 en aire urbano e industrial empleando como adsorbente gel de sílice/*Carbosieve*/carbón activado y utilizando desorción térmica (TD) y GC-MS. Otros trabajos utilizan para el muestreo activo de VMS lineales y cíclicos en aire adsorbentes como el Tenax TA (Kaj y col., 2005a,b) o mezclas de Tenax-GR con carbón grafitizado (Pieri y col., 2013). En un estudio reciente se ha demostrado también la eficiencia del Chromosorb 106 y de la combinación de *Carbotrap C / Carbotrap / Carboxen 1000* (Lamma y col., 2013). Estos trabajos también utilizan desorción térmica y GC-MS para la determinación de los analitos, alcanzando LODs entre 4 y 40 ng m<sup>-3</sup>.

Otra alternativa que se ha aplicado para el muestreo activo de VMS en aire es el empleo de cartuchos de SPE. Así, Kierkegaard y McLachlan (2010) utilizaron cartuchos de SPE de Isolute ENVI+ para el muestreo de D5 en aire ambiente rural, realizando la desorción con n-hexano seguida de su análisis mediante GC-MS. La reducida masa de adsorbente del cartucho de muestreo (10 mg) combinada con un elevado flujo de toma de muestra (1,5 – 3 L min<sup>-1</sup>) y un pequeño volumen de

disolvente para la desorción (0,1 – 0.6 mL), les permitió alcanzar un límite de detección para el D5 de 0,12 ng m<sup>-3</sup>. Estos mismos autores ampliaron posteriormente el rango de compuestos a analizar con este tipo de cartuchos, estudiando los VMS desde el L3 al L5 y del D3 al D6, y empleando en este caso una mayor masa de adsorbente (85-100mg) (Kierkegaard y McLachlan, 2013). Los LOQs reportados para estos compuestos se encontraron desde 3,8 a 16 pg m<sup>-3</sup> para L3-L5 y de 0,13 a 0,27 ng m<sup>-3</sup> para D3-D6. Este método ha sido utilizado por otros autores, variando solamente la masa de adsorbente, para el análisis de VMS lineales y cíclicos en aire de ambientes interiores y exteriores, obteniéndose límites de detección entre 0,14 y 5,07 ng m<sup>-3</sup> (Xu y col., 2012; Yucuis y col., 2013; Buser y col., 2013, Krogseth y col., 2013a). La utilización de cartuchos de SPE de isolute ENVI+ en el muestreo activo de VMS en aire ha permitido alcanzar unos límites de detección más bajos que los obtenidos con el uso de Tenax TA (Kaj y col., 2005a,b) o Tenax-GR/carbón grafitizado (Pieri y col., 2013). Esta ventaja puede ser especialmente útil para el análisis de aire de zonas rurales y de sitios alejados de las fuentes de emisión, donde los VMS se han encontrado por lo general a niveles entre 0,01 y 29 ng m<sup>-3</sup> (Tabla 1.3). Para muestras con concentraciones elevadas de VMS, como por ejemplo las procedentes en zonas donde se produce biogás, Badjagbo y col., (2009, 2010) proponen recoger las muestras de aire en bolsas de Teflón e introducir la muestra directamente en el espectrómetro de masas con una fuente de ionización química a presión atmosférica (APCI-MS) a un caudal de 2,5 L/min utilizando un sistema de bombeo. Estos autores indican que una de las ventajas de este procedimiento es que no se requiere la extracción del adsorbente ni la separación cromatográfica, lo que evita la contaminación proveniente del cromatógrafo y las pérdidas por volatilización durante la extracción y preconcentración. Sin embargo, los límites de detección obtenidos con este método (D4: 4 µg m<sup>3</sup>, D5: 6 µg m<sup>3</sup>) resultan insuficientes para el análisis de aire de ambientes exteriores donde los niveles de concentración de estos compuestos son mucho menores (Tabla 1.3).

### 1.5.3 Separación cromatográfica y determinación por espectrometría de masas

La cromatografía de gases acoplada a la espectrometría de masas (GC-MS) es la técnica más usada actualmente para la determinación de compuestos orgánicos volátiles en muestras ambientales. Esta técnica combina el elevado poder de resolución que ofrece la cromatografía de gases (GC) para la separación de muestras complejas, con la sensibilidad y selectividad que brinda la espectrometría de masas (MS). Para el análisis de VMS en muestras ambientales la GC-MS es la técnica que comúnmente se utiliza (Tabla 1.4). La separación cromatográfica de los VMS se realiza usualmente utilizando columnas capilares con fases estacionarias apolares de bajo sangrado del tipo 5% fenil 95% dimetilpolisiloxano (HP-5MS o DB5-MS) o la 100% dimetilpolisiloxano (VF-1MS) (Tabla 1.4). Estas fases estacionarias minimizan la presencia de VMS como contaminantes de fondo en los blancos instrumentales debido a su bajo sangrado. Con este mismo propósito, algunos autores han empleado columnas con fases estacionarias de polietilenglicol (DB-Wax ETR, DB-FFAP) puesto que éstas no aportan VMS al análisis (Sparham y col., 2008; Warner y col., 2010). Otro tipo de columnas que también se han utilizado en la determinación VMS por purga y trampa y desorción térmica son la DB-1701 (14% cianopropil-fenil 86% dimetilpolisiloxano), la Varian Select Silanes (trifluoropropil-metilpolisiloxano) y la DB-624 (6% cianopropil-fenil 94% dimetilpolisiloxano), (Kaj y col., 2005a,b; Pieri y col., 2013; Lamaa y col., 2013). Por lo que hace referencia a los sistemas de inyección la mayor parte de los autores utilizan la inyección *split/splitless* convencional y volúmenes de muestra de 1-2 $\mu$ L, aunque Sparham y col. (2011) proponen la inyección en-columna (*on-column*) de 5 $\mu$ l de muestra para el análisis de D4 y D5 en sedimentos de río utilizando un *retention gap* (10m x 0,53mm) delante de la la columna cromatográfica. Recientemente se ha propuesto la de inyección de grandes volúmenes con vaporización a temperatura programada (PTV-LVI) en el modo de derivación del disolvente (*solvent split*) (Wang y col., 2013c) lo que permite inyectar un mayor volumen de muestra (15  $\mu$ L), y en consecuencia disminuir los límites de detección. La desventaja de este procedimiento radica en que la inyección PTV-LVI en el modo *split*, requiere una cuidadosa optimización de las condiciones

experimentales de inyección para conseguir que los analitos volátiles no se pierdan durante la etapa de eliminación del disolvente.

Como se ha mencionado anteriormente, los métodos que se emplean actualmente para el análisis de VMS utilizan la cromatografía de gases acoplada a la espectrometría de masas. Sin embargo, se pueden encontrar algunos trabajos publicados en la literatura de hace ya algunos años en los que se ha utilizado el acoplamiento de la cromatografía de gases a otras técnicas instrumentales, con el objetivo principal de confirmar la identificación estructural de los VMS y sus productos de degradación en muestras complejas. Por ejemplo, Sommerlade y col. (1993) utilizaron la cromatografía de gases acoplada a la MS y a la espectroscopía infrarroja con transformada de Fourier (FT-IR), para identificar los productos de la reacción en fase gas del L2 y D4 con radicales OH, y Wachholz y col. (1995) utilizaron esta misma combinación para la identificación estructural de VMS cíclicos obtenidos en reacciones de síntesis. Por otra parte, Scheihkofler y Niessner (1999) acoplaron la GC a la MS y a la espectrometría de emisión atómica (GC-MS/AES) para identificar y cuantificar VMS lineales y cíclicos en muestras de biogás. En este método se empleó una trampa criogénica para concentrar los analitos provenientes de la muestra gaseosa y una unidad de desorción térmica para transferirlos al cromatógrafo.

En la Tabla 1.4 se incluyen los trabajos publicados en la literatura que utilizan cromatografía de gases para la determinación de VMS en muestras ambientales. Como se puede observar en esta tabla, tan solo se ha publicado un trabajo (Dewil y col., 2007) que no emplea la espectrometría de masas para determinar VMS. Estos autores utilizaron un detector de ionización a la llama (FID), para determinar D4 y D5 en lodos de plantas de tratamiento de aguas residuales. Este método les permitió la cuantificación de estos compuestos en los lodos, sin embargo debe indicarse que el detector FID no es lo suficientemente sensible y selectivo para analizar VMS en otras muestras ambientales tales como aguas de río, suelos, aire y biota, donde los VMS están presentes a muy bajos niveles de concentración (Tabla 1.3). De hecho, el acoplamiento de la cromatografía de gases a la espectrometría de masas es la técnica que normalmente se emplea para el análisis de VMS. El modo de ionización que se utiliza con más frecuencia es la ionización electrónica (EI) y se trabaja en monitorización selectiva de iones (SIM) utilizando habitualmente analizadores

cuadrupolares. Con este modo de ionización, el patrón de fragmentación que presentan los VMS se caracteriza principalmente por la pérdida de grupos metilo, generándose iones  $[M-15]^+$  (Varaprath y col., 2006) que normalmente son los que seleccionan en modo SIM. Entre las masas ( $m/z$ ) que se utilizan para la determinación de los VMS se pueden citar:  $m/z$  147 (L2), 221 (L3), 207 (D3), 281 (D4) y 355 (D5). En algunos casos, los iones generados correspondientes a la pérdida del grupo  $\text{CH}_3\text{-Si}(\text{CH}_3)_4$ , los cuales presentan masas ( $m/z$ ) 341 (D6), 207 (L4) y 281 (L5), son también seleccionados. Algunos autores proponen utilizar la espectrometría de masas en tándem (MS/MS) para la determinación de VMS a fin de minimizar el efecto de la presencia de interferencias provenientes de la matriz. Por ejemplo, Sanchís y col. (2012) emplearon esta técnica para determinar VMS lineales y cíclicos en aguas residuales y agua y sedimentos de río. Para ello emplearon un espectrómetro de masas de triple cuadrupolo (QqQ) y trabajaron en EI y monitorización de reacciones selectivas (*selected reaction monitoring*, SRM). Por otra parte, Badjagbo y col. (2009, 2010) utilizaron la ionización química a presión atmosférica (APCI) en modo positivo para la determinación de D4 y D5 en muestras de biogas. En los espectros de masas obtenidos en APCI, se observa como pico base y prácticamente único correspondiente al ion molecular protonado  $[M+H]^+$ , con masas  $m/z$  de 297 para el D4 y 371 para el D5, que son los únicos VMS estudiados por estos autores. Una de las ventajas de utilizar APCI en lugar de EI para el análisis de estos compuestos es, según los autores, que esta técnica de ionización permite diferenciar los VMS de los dimetilsiloxanodiolos, los cuales presentan un espectro de masas idéntico en EI. Estos autores estudiaron también los espectros MS/MS del D4 y del D5 obtenidos en un triple cuadrupolo y utilizaron esta técnica para su análisis en muestras de aire comprimido y biogás. En resumen, como se puede observar en la Tabla 1.4 la mayor parte de los trabajos publicados utilizan EI y MS en modo SIM, aunque algunos autores proponen el uso de la espectrometría de masas en tándem (MS/MS) (Sanchís y col., 2012) o alta resolución (HRMS) (Kaj y col., 2005a,b; Schlabach y col., 2007; Evenset y col., 2009; Warner y col., 2010) a fin de aumentar la selectividad en el análisis de los VMS y reducir las posibles interferencias.

# **ANÁLISIS DE METILSILOXANOS VOLÁTILES EN MUESTRAS AMBIENTALES**

## **CAPÍTULO 2**



## **2.1 Introducción**

Como se ha comentado en la introducción de esta memoria, la estrategia más eficaz para el análisis de VMS en muestras ambientales consiste en simplificar las etapas de tratamiento de la muestra para evitar así las pérdidas por volatilización. En este sentido, una opción recomendada en la literatura consiste en utilizar técnicas de extracción que permitan la transferencia directa de los compuestos volátiles de la muestra a la fase gas, como son la purga y trampa y las técnicas de espacio de cabeza (HS) y HS-SPME. Esto facilita la determinación de solamente los analitos volátiles, mientras que los compuestos de mayor peso molecular no volátiles que están presentes en las muestras, como por ejemplo los lípidos, no son extraídos. Entre estas técnicas, la HS-SPME ha sido la que se ha utilizado en esta tesis. La HS-SPME es una técnica de extracción y pre-concentración sencilla en la cual se introduce una fibra, constituida por un núcleo de sílice fundida revestido de un polímero que actúa de fase estacionaria, en el espacio de cabeza de la muestra durante un determinado período de tiempo de modo que los analitos se adsorben en la misma hasta que se alcanza el equilibrio. Posteriormente, los analitos se desorben térmica o químicamente para su determinación cromatográfica. Esta técnica puede llegar a ser relativamente selectiva eligiendo el tipo de fibra a utilizar según la naturaleza del analito y modificando las condiciones de extracción. En la Tabla 2.1 se incluyen los distintos tipos de fibras de SPME disponibles comercialmente que se utilizan en el análisis por cromatografía de gases. Las fases estacionarias están inmovilizadas sobre la fibra y pueden estar parcialmente o muy entrelazadas. Las fibras de polidimetilsiloxano (PDMS) se han utilizado tradicionalmente para el análisis de compuestos volátiles y semivolátiles, frecuentemente apolares o poco polares tanto en aplicaciones con GC como con HPLC, y entre estos podemos citar a los hidrocarburos aromáticos policíclicos (PAHs), los bifenilos policlorados (PCBs) y los pesticidas. En la fase estacionaria de PDMS la extracción de los analitos se produce principalmente mediante absorción, y la capacidad de la fase para retener los analitos depende fundamentalmente de su espesor (7, 30 y 100  $\mu\text{m}$ ) y de la volatilidad del analito. Por lo general, se emplean fibras de mayor espesor para el análisis de compuestos muy volátiles. Así, analitos como el benceno, xileno y acenafteno se extraen mejor con una fibra de PDMS de espesor 100  $\mu\text{m}$  que con la de 7  $\mu\text{m}$  (Shirey, 2000). También existen fases



**Tabla 2.1.** Distintos tipos de fibras de SPME disponibles comercialmente.

Fase estacionaria	Espesor (µm)	Polaridad	Descripción de la fase	Temp. Máx (°C)	Técnica recomendada	Tipo de compuestos a analizar
Polidimetilsiloxano (PDMS)	100	No polar	No enlazada	280	GC/HPLC	Volátiles
Polidimetilsiloxano (PDMS)	30	No polar	No enlazada	280	GC/HPLC	No polares-semivolátiles
Polidimetilsiloxano (PDMS)	7	No polar	Enlazada	340	GC/HPLC	Poco polares-semivolátiles
Polidimetilsiloxano/divinilbenceno (PDMS/DVB)	65	Bipolar <sup>3</sup>	Parcialmente entrelazada	270	GC	Polares-volátiles
Polidimetilsiloxano/divinilbenceno (PDMS/DVB)	60	Bipolar <sup>3</sup>	Parcialmente entrelazada	270	HPLC	General
Polidimetilsiloxano/divinilbenceno (PDMS/DVB) ( <i>Stableflex</i> <sup>1</sup> )	65	Bipolar <sup>3</sup>	Muy entrelazada	270	GC	Polares-volátiles
Poliacrilato (PA)	85	Polar	Parcialmente entrelazada	320	GC/HPLC	Polares-semivolátiles
Carboxen/Polidimetilsiloxano (CAR/PDMS)	75	Bipolar <sup>3</sup>	Parcialmente entrelazada	320	GC	Gases y volátiles
Carboxen/Polidimetilsiloxano (CAR/PDMS) ( <i>Stableflex</i> <sup>1</sup> )	85	Bipolar <sup>3</sup>	Muy entrelazada	320	GC	Gases y volátiles
Carbowax/Divinilbenceno (CW/DVB)	65	Polar	Parcialmente entrelazada	265	GC	Polares
Carbowax/Divinilbenceno (CW/DVB) ( <i>Stableflex</i> <sup>1</sup> )	70	Polar	Muy entrelazada	265	GC	Polares
Divinilbenceno/Polidimetilsiloxano/Carboxen (DVB/PDMS/CAR) ( <i>Stableflex</i> <sup>1</sup> )	50/30	Bipolar <sup>3</sup>	Muy entrelazada	270	GC	Volátiles
Divinilbenceno/Polidimetilsiloxano/Carboxen (DVB/PDMS/CAR) ( <i>Stableflex</i> <sup>1</sup> ) <sup>2</sup>	50/30	Bipolar <sup>3</sup>	Muy entrelazada	270	GC	Volátiles

<sup>1</sup>Fibras *Stableflex*: El recubrimiento está depositado sobre una fibra de sílice fundida flexible.<sup>2</sup>Se encuentra sobre una fibra de 2 cm de longitud.<sup>3</sup>Fases estacionarias que permiten la retención tanto de compuestos polares como no polares.

mixtas con dos o tres constituyentes, donde se añade al polisiloxano materiales porosos como por ejemplo el divinilbenceno (DVB) o Carboxen (CAR) que permiten aumentar la retención de los compuestos volátiles o de elevada polaridad. Entre estas fases mixtas podemos citar al polidimetilsiloxano/divinilbenceno (PDMS/DVB), carboxen/polidimetil-siloxano (CAR/PDMS) y divinilbenceno / polidimetilsiloxano/carboxen (DVB/PDMS/CAR), que son especialmente efectivas en la extracción de analitos polares como pesticidas, herbicidas y fenoles, así como compuestos volátiles de bajo peso molecular como los BTEX (benceno, tolueno, xileno y etilbenceno) (Ouyang y Pawliszyn, 2006). En este tipo de fases estacionarias, la interacción entre la fibra y los analitos se produce principalmente por adsorción en estos polímeros sólidos, los cuales presentan una elevada área superficial. Por otra parte, las fases estacionarias de tipo polar como el poliacrilato (PA) son efectivas para la extracción de analitos polares como por ejemplo fenoles y alcoholes. En este tipo de fibra, aunque el recubrimiento es un polímero sólido, su baja densidad hace que los analitos sean absorbidos de forma similar como ocurre con las fibras de PDMS. Sin embargo, los coeficientes de difusión de los analitos en las fibras de PA son menores. Como fases estacionarias de carácter polar también se encuentra la fibra de tipo mixto carbowax/ divinilbenceno (CW/DVB), que se ha aplicado en el análisis de compuestos polares como la anilina, ftalatos y fenoles (Shirey, 2000).

En cuanto al proceso de HS-SPME, cabe comentar que las condiciones experimentales pueden permitir incrementar la eficacia de la extracción. Los parámetros que afectan el proceso de extracción son el tiempo y la temperatura de extracción, la agitación de la muestra, el volumen de muestra así como las condiciones de la muestra (pH, adición de sales o disolventes orgánicos). El tiempo de extracción es el tiempo necesario para llegar al estado de equilibrio y es característico de cada analito-fibra. Dado que para algunos compuestos el tiempo requerido para alcanzar esta situación es muy elevado generalmente se opta por trabajar en condiciones de no equilibrio para no alargar el tiempo de análisis. Una variable relacionada con el tiempo de extracción es la agitación de la muestra ya que ésta incrementa la difusión de los analitos al espacio de cabeza disminuyendo el tiempo requerido para llegar al equilibrio. La temperatura de extracción contribuye de dos formas completamente opuestas a la eficiencia de extracción. Por un lado, los coeficientes de difusión de los analitos en la

muestra aumentan al incrementar la temperatura, por lo que aumenta la cantidad de analito extraída y por otro, dado que el proceso de adsorción de los analitos sobre la fibra es exotérmico, los coeficientes de distribución de los analitos entre la muestra y la fibra disminuyen, por lo que la eficacia de la extracción se ve afectada negativamente. La concentración de sal en la muestra y la modificación del pH también pueden afectar al proceso de HS-SPME. La presencia de sales en la muestra hace aumentar la fuerza iónica disminuyendo la solubilidad de los analitos, lo que permite que se liberen más analitos al espacio de cabeza. Cuanto mayor es la solubilidad de los analitos en la fase acuosa mayor es la influencia que tiene la adición de sal sobre la eficacia de la extracción. Sin embargo, si los analitos se encuentran en forma ionizada la eficacia de la extracción disminuye por lo que el pH de la muestra es otro factor a tener en cuenta en la optimización del proceso de HS-SPME cuando se analizan compuestos con características ácidas o básicas. Por último, se debe indicar que la presencia de disolventes orgánicos en las muestras acuosas hace disminuir la cantidad de analito extraída, ya que aumenta la solubilidad de los analitos en la muestra. Por otro lado, también hace disminuir la cantidad extraída puesto que se produce un fenómeno de competencia entre los analitos y el disolvente por la fibra. Para el caso de muestras sólidas, la presencia de agua puede facilitar la difusión de los analitos desde la matriz hasta la fibra, y por tanto con frecuencia se prepara una suspensión acuosa de la muestra, y se extraen los analitos volátiles transferidos al espacio de cabeza. En este caso, la eficiencia de extracción está condicionada no solo por la difusión de los analitos a la fase gas, sino también por el equilibrio sólido-líquido (Pawliszyin, 1997).

Aunque la técnica HS-SPME se utiliza normalmente para la extracción/preconcentración de matrices acuosas, también se ha empleado en el análisis de muestras sólidas después de una extracción inicial de la muestra con un disolvente. De hecho, se han publicado en la literatura métodos de análisis que combinan la HS-SPME con distintos procedimientos de extracción de matrices sólidas, tales como la extracción asistida por microondas (MAE), la extracción asistida por ultrasonidos (UAE) o bien la extracción con fluidos supercríticos (SFE), que se han utilizado, por ejemplo, para el análisis de PCBs, pesticidas clorados, difeniléteres polibromados (PBDEs) y PAHs en muestras de biota (Rodil y col., 2005; Lambropoulou y col., 2006a,b; Herbert y

col., 2006; Fidalgo-Used y col., 2008). En concreto para los VMS, esta estrategia ha sido la utilizada por Xu y col. (2013) para su determinación en lodos de depuradora. Este autor propone preparar una disolución acuosa al 0.5% (v/v) a partir de un pequeño volumen del extracto orgánico obtenido de la muestra (en acetona), y extraer los analitos de esta solución mediante HS-SPME utilizando una fibra de PDMS/DVB (65µm). Considerando el elevado contenido de materia orgánica que presenta una matriz como los lodos, la aplicación de la HS-SPME resulta muy ventajosa puesto que permite la extracción y preconcentración selectiva de los compuestos de interés, evitando la introducción en el sistema cromatográfico de compuestos de elevado peso molecular no volátiles presentes en el extracto que pueden provocar su contaminación.

Otra opción recomendada en la literatura para el análisis de compuestos volátiles y que también se ha aplicado para el análisis de VMS, es la extracción de la muestra con disolventes y la inyección directa del extracto en el cromatógrafo de gases. En este caso, el mayor problema deriva de las pérdidas por volatilización en el propio proceso de extracción si se utilizan elevadas temperaturas, como ocurre por ejemplo con el PLE y la MAE, y por esta razón en la gran mayoría de los métodos publicados en la literatura para el análisis de VMS se realiza la extracción de la muestra a temperatura ambiente y no se concentran los extractos, aunque esto último puede conducir a una pérdida de sensibilidad notable del método. Este hecho es especialmente crítico en el análisis de muestras donde los VMS se encuentran a bajos niveles de concentración. Una opción para compensar esta pérdida de sensibilidad es la inyección de volúmenes de muestra superiores a los comúnmente utilizados en cromatografía de gases con columnas capilares, que en los sistemas de inyección clásicos *split/splitless* son de 1-2µl. Esta opción ha dado lugar a diversas técnicas que se conocen con el nombre general de técnicas de inyección de grandes volúmenes (LVI). La característica principal que marca la diferencia entre éstas es el mecanismo de transferencia de la muestra a la columna de separación, aunque también existen otras diferencias en cuanto al volumen máximo de inyección, y a su capacidad para el análisis de compuestos termolábiles y extractos con una elevada presencia de componentes de la matriz. Entre las técnicas de LVI más conocidas y con un mayor volumen de aplicaciones cabe citar la inyección de grandes volúmenes con vaporización a temperatura programada (PTV-LVI) y la inyección en columna (*on-column*) (OC-

LVI). Otras técnicas conocidas, aunque se han utilizado con mucha menor frecuencia, son: la inyección en un bucle (*loop*) de inyección, la inyección directa de la muestra (DSI), la inyección sin derivación (*splitless*) pulsada (PSI) y la inyección *splitless* con recondensación concurrente de disolvente (CSR-LVI). Dado que el uso de la extracción con disolvente combinada con la LVI es una de las estrategias propuestas en esta memoria para el análisis de VMS, a continuación se comentan las distintas técnicas de LVI que se conocen actualmente, focalizando la atención en la técnica seleccionada para la determinación de los VMS.

El primer trabajo sobre el uso de la LVI fue publicado por Vogt en 1979 (Vogt y col., 1979), donde se utilizó un inyector con vaporización a temperatura programada (PTV) en el modo de derivación del disolvente (*solvent split*), para la inyección de volúmenes de muestra de hasta 250 µl. Como es sabido, este tipo de inyector está equipado con un sistema avanzado de control de temperatura que permite calentar o enfriar el inyector de manera muy rápida. La inyección se realiza de modo similar a la *split/splitless*, aunque en este caso, el calentamiento controlado de la cámara de vaporización permite que los componentes de la muestra puedan ser evaporados gradualmente de acuerdo a sus temperaturas de ebullición. Con esto se consigue eliminar los efectos de discriminación causados por la evaporación rápida de la muestra, tal y como ocurre en la inyección *splitless* convencional y en consecuencia que se puedan analizar mezclas complejas de compuestos con un amplio intervalo de temperaturas de ebullición, incluyendo analitos con más de 60 átomos de carbono (Hübschmann, 2008). En la técnica PTV-LVI se utilizan tres modos básicos de inyección: inyección sin derivación (*splitless*), inyección con inundación de vapor e inyección con derivación (*split*). De estos tres modos el más ampliamente utilizado es la PTV-LVI con eliminación de disolvente (*solvent split*), el cual permite la inyección de volúmenes de muestra de hasta 1 ml (Engewald y col., 1999). En esta técnica, la inyección se realiza utilizando una temperatura en el inyector inferior al punto de ebullición del disolvente manteniendo a su vez la válvula del *split* abierta. De esta manera se logra que los analitos de interés se retengan en el *liner*, especialmente si este está relleno con algún material adsorbente como Tenax o Cromosorb, mientras que el disolvente es eliminado a través de la válvula del *split*. Seguidamente, el inyector PTV se calienta rápidamente para transferir los analitos a la columna

cromatográfica en modo sin derivación (*splitless*) y manteniendo la temperatura del horno del cromatógrafo suficientemente baja para reenfoque los analitos en cabeza de columna. Con este procedimiento los compuestos no volátiles permanecen en el *liner* después de la transferencia de la muestra hacia la columna de separación, y esto hace que la técnica PTV-LVI con eliminación de disolvente sea muy adecuada para el análisis de muestras contaminadas. Sin embargo, no es la mejor opción para el análisis de compuestos volátiles puesto que pueden perderse durante la evacuación del disolvente a través de la válvula de *split* (Hoh y Mastovska, 2008). Para este tipo de analitos es recomendable utilizar la técnica PTV-LVI en el modo sin eliminación del disolvente o *splitless* durante la inyección, aunque evidentemente y dado que todo el disolvente se introduce en la columna cromatográfica, el volumen de muestra que se puede inyectar es menor. La técnica PTV-LVI en modo *splitless* se ha utilizado para analizar compuestos semivolátiles tales como *n*-alcanos (Dellavedova y col., 2006), PAHs (Fernández-González y col., 2008) y cloroanilinas (Kristenson y col., 2004), y permite alcanzar un volumen máximo de inyección de 20  $\mu$ l (Grob y Li, 1988). En general, la desventaja principal que presenta la técnica PTV-LVI es que los compuestos inyectados pueden descomponerse térmicamente en el *liner* durante la fase de calentamiento y, por esta razón, su campo de aplicación se restringe a compuestos que no sean termolábiles.

La técnica de inyección de grandes volúmenes en columna (OC-LVI) fue introducida por Grob en 1985 (Grob y col., 1985) para la inyección de volúmenes de muestra superiores a 100  $\mu$ l. A diferencia de la inyección *on-column* convencional donde la muestra líquida se introduce directamente en la columna cromatográfica (Grob, 1988), en la técnica OC-LVI la muestra se introduce en una pre-columna inerte (*retention gap*) colocada delante de la columna de separación. La inyección se realiza manteniendo el horno a una temperatura por debajo del punto de ebullición del disolvente. Con esto se consigue retener la muestra en forma líquida en el *retention gap*, creándose una trampa de disolvente donde los analitos volátiles son retenidos, mientras que el disolvente se evapora y se transfiere gradualmente a la columna de separación (Teske y Engewald, 2002). En la inyección OC-LVI con *split*, se coloca una válvula a la salida del *retention gap* que permite evacuar los vapores del disolvente antes de que entren a la columna cromatográfica, y se eleva la temperatura

del horno cuando todo el disolvente se ha eliminado, lo que permite transferir los analitos de interés a la columna de separación. El volumen máximo que se puede inyectar con esta técnica viene condicionado por las dimensiones del *retention gap* y, en algunos casos, se ha podido llegar a inyectar volúmenes superiores a 800  $\mu\text{l}$  (Hoh y Mastovska, 2008). De manera similar a la técnica PTV-LVI, la inyección OC-LVI también se puede realizar en el modo *splitless*, pero en este caso se puede alcanzar tan solo un volumen máximo de inyección de 20-30  $\mu\text{l}$  (Hübschmann, 2008). Este último procedimiento se ha utilizado para inyectar compuestos volátiles y semivolátiles, como por ejemplo en el análisis de *n*-alcanos (Korytár y col., 2000) y terpenos (Kjeldsen y col., 2001), que pueden perderse durante la etapa de eliminación del disolvente. Una ventaja importante en comparación con la inyección PTV-LVI, consiste en que la OC-LVI se puede utilizar para analizar compuestos termolábiles, puesto que la muestra se introduce directamente en la precolumna inerte sin una etapa previa de vaporización. El aspecto más crítico de esta técnica es que tiene poca tolerancia para extractos contaminadas, ya que los componentes no volátiles de la muestra quedan retenidos en la precolumna después de la inyección, y esto puede generar efectos de adsorción y ensanchamiento de picos (Hübschmann, 2008).

Las técnicas de inyección directa de grandes volúmenes (DSI) y la inyección en un bucle (*loop*), tal y como hemos mencionado, se han utilizado con mucha menor frecuencia que las técnicas PTV-LVI y OC-LVI descritas anteriormente y tienen un campo de aplicación mucho más específico. La DSI, introducida por Amirav y colaboradores en 1997 (Jing y Amirav, 1997; Amirav y Dagan, 1997), está diseñada para el análisis directo de extractos sin purificar o de la misma muestra en sí, con la idea de reducir el tiempo de análisis al máximo. Esta técnica utiliza un inyector PTV modificado, que introduce en el *liner* la muestra contenida dentro de un micro-vial utilizando un dispositivo automatizado. Dado que utiliza un inyector PTV modificado, su principio de funcionamiento es similar a la técnica PTV-LVI con eliminación de disolvente (*solvent Split*), aunque en este caso el volumen máximo de inyección está condicionado por el tamaño del micro-vial (20-30 $\mu\text{l}$ ). Después de cada análisis se sustituye el micro-vial donde permanecen los compuestos no volátiles de la muestra, con otro conteniendo la nueva muestra a analizar, con la ayuda de un sistema automatizado. Esto impide la contaminación del *liner* y de la columna cromatográfica

por retención de compuestos no volátiles a diferencia de lo que ocurre normalmente cuando se utiliza un inyector convencional para el análisis de extractos sin purificar (Li y col., 2009). De manera similar a la inyección PTV-LVI, su desventaja principal es que se puede producir degradación de los compuestos termolábiles y, además, pérdidas de los analitos volátiles si se utiliza una válvula *split* para evacuar el disolvente.

La inyección de grandes volúmenes en un bucle (*loop*) de inyección, se utiliza fundamentalmente en el acoplamiento de la cromatografía de líquidos a la de gases (Grob y Stoll, 1986; Grob y col., 1989). En esta configuración, la inyección en el cromatógrafo de gases se realiza introduciendo la muestra líquida en un bucle instalado en una válvula de varias vías conectada a un *retention gap* que está unido a su vez a la columna de separación cromatográfica. Normalmente se coloca una válvula de *split* antes de la columna cromatográfica para eliminar los vapores del disolvente. En esta técnica, el volumen máximo de inyección viene determinado por el tamaño del bucle y la transferencia de la muestra desde el bucle a la precolumna se realiza con el propio gas portador. A semejanza con la técnica OC-LVI, en la precolumna se crea una trampa de disolvente que retiene los analitos mientras que el disolvente se transfiere gradualmente a la columna de separación (Biedermann y Grob, 2012). Esta técnica presenta la ventaja de poder ser utilizada para analizar compuestos termolábiles, puesto que durante la introducción de la muestra en el bucle de inyección y durante su transferencia a la precolumna no se utiliza una etapa de vaporización. De manera similar a otras técnicas de inyección que hemos mencionado, su desventaja principal radica en que se pueden producir pérdidas de los compuestos volátiles durante la apertura de la válvula de *split*.

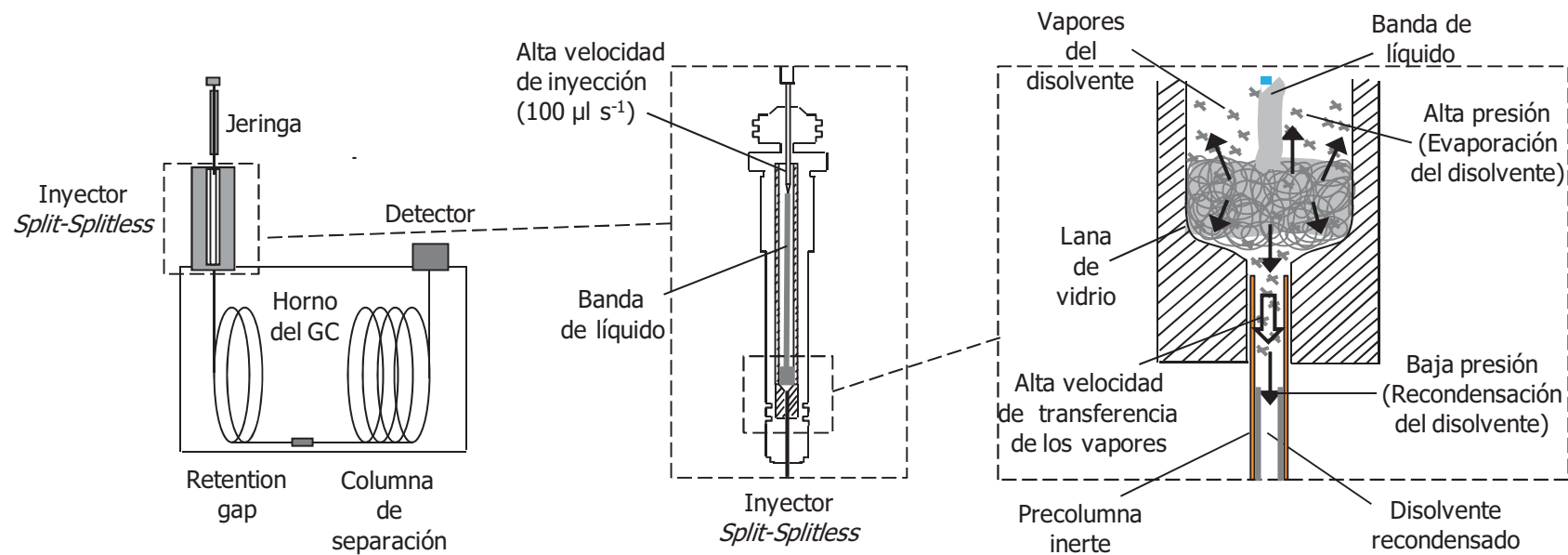
También se pueden inyectar elevados volúmenes de muestra utilizando un inyector *split/splitless* convencional, y para ello se usan dos técnicas de inyección: la inyección sin derivación (*splitless*) pulsada (PSI) y la inyección *splitless* de grandes volúmenes con recondensación concurrente de disolvente (*concurrent solvent recondensation*, CSR-LVI). En la técnica PSI, se utiliza un *retention gap* colocado justo delante de la columna de separación cromatográfica donde se retiene la muestra en forma líquida, dado que se aplica durante la fase inicial de la inyección una temperatura en el horno inferior al punto de ebullición del disolvente. Para conseguir la introducción de un



volumen elevado de muestra con un inyector convencional de este tipo, se aplica una presión elevada (hasta 250 kPa) en el inyector inmediatamente después de introducir la muestra (1-2 min), lo que produce un aumento significativo del flujo de gas portador (8-9 ml min<sup>-1</sup>) y, en consecuencia, se acelera la transferencia de los vapores de la muestra a la columna. De este modo se consigue inyectar volúmenes de muestra superiores a los que permite la inyección *splitless* convencional (1-3 µl). El volumen máximo de inyección depende de varios factores, como el tamaño del *liner*, el disolvente de inyección y la temperatura y presión generada en el inyector, y se encuentra, en general, entre 5 y 10 µl (Hoh y Mastovska, 2008; Li y col., 2009). Esta técnica se ha aplicado al análisis de compuestos semivolátiles entre los que podemos citar PCBs y PBDEs (De Boer y col., 2001; Zhao y col., 2007), y su ventaja principal es que la reducción del tiempo de residencia de los analitos en el inyector, minimiza la posibilidad de que ocurra degradación térmica de los compuestos termolábiles, y además evita que se produzcan efectos de discriminación durante la inyección debidos a la adsorción de analitos en el *liner* (Godula y col., 1999).

La técnica de inyección CSR-LVI fue descrita por primera vez por Magni y Porzano (2003), y permite la inyección de un volumen de muestra líquida de hasta 50 µl. En la misma, se utiliza un *liner* que contiene lana de vidrio en su interior (Figura 2.1), donde se produce la vaporización de la muestra, y una precolumna inerte delante de la columna de separación, donde tiene lugar la recondensación de los vapores del disolvente (Biedermann y col., 2004). La CSR-LVI requiere que la inyección de la muestra se realice mediante la formación de una banda de líquido en lugar de por pulverización, de modo que se evita la evaporación explosiva de la muestra, lo que limitaría el volumen de inyección. Para impedir la formación de un *espray*, la aguja de la jeringa se introduce tan solo 2-3 cm en el inyector y se aplica una velocidad de inyección rápida (100 µl/s) con un inyector automático. Esto permite que la muestra atraviese la cámara de vaporización como una banda de líquido hasta quedar retenida en el relleno de lana de vidrio colocado en el fondo del *liner*. Al iniciarse la vaporización de la muestra toda esta zona del inyector se enfría a la temperatura de ebullición del disolvente, y en consecuencia el proceso de vaporización prosigue a una velocidad relativamente lenta (Grob y Biedermann, 2002). Durante este proceso (aprox. 60 s), las válvulas de *split* y purga de septum se mantienen cerradas

generándose un gran aumento de presión en el inyector, de modo que se consigue que la transferencia de los vapores de la muestra a la precolumna se produzca de forma rápida. Simultáneamente, se mantiene el horno del cromatógrafo a una temperatura inferior a la temperatura de evaporación del disolvente, con lo cual la muestra vaporizada en el inyector recondensa en la precolumna y esto genera un fuerte efecto de succión. Al producirse la evaporación lenta de la muestra y la transferencia acelerada de los vapores a la precolumna se logra el efecto deseado: los procesos de evaporación en el inyector y recondensación en la precolumna ocurren simultáneamente y además de manera “auto-regulada”. Esto último significa que el incremento de presión que se genera en el inyector regula la velocidad de transferencia de los vapores a la precolumna, de tal forma que los vapores generados durante la inyección nunca llegan a sobrepasar la capacidad del *liner*, y por tanto pueden ser inyectados volúmenes de muestra líquida superiores a los utilizados en la inyección splitless convencional (Magni y Porzano, 2003). Una ventaja muy importante de esta técnica de inyección es que la muestra se transfiere completamente a la columna cromatográfica, sin la eliminación del disolvente mediante una válvula *split*, con lo que esta técnica resulta ideal para el análisis de compuestos volátiles. Por otra parte, el hecho de que la vaporización de la muestra se produce en un *liner* con lana de vidrio permite que los compuestos no volátiles permanezcan en el *liner*, evitando su entrada en la columna, y por tanto, aumenta su robustez, haciendo que esta técnica sea especialmente adecuada para el análisis de muestras muy contaminadas. Además, la transferencia acelerada de la muestra a la columna de separación, reduce los efectos de degradación térmica que suelen producirse en el inyector, y en consecuencia ésta es una técnica apropiada para analizar compuestos termolábiles. A pesar de las ventajas que brinda la técnica de CSR-LVI, actualmente existen muy pocos artículos relativos a su aplicación. Solamente se han publicado tres trabajos en los cuales se ha utilizado ésta técnica para el análisis de PAHs (Cavagnino y col., 2003) y pesticidas (Walorczyk, 2012; Walorczyk y Drożdżyński, 2012). La mayor parte de la información sobre la utilización de la CSR-LVI se encuentra en las notas técnicas de aplicación de los fabricantes de instrumentación, tales como Thermo Fisher Scientific y Restek, que describen su uso para el análisis de retardantes de llama bromados, hidrocarburos, PCBs, dioxanos y pesticidas (Misselwitz y Cochran, 2010; Robarge y col., 2004, 2007, 2010; Rattray y col., 2012). En comparación con



**Figura 2.1.** Diagrama que ilustra el funcionamiento de la inyección de grandes volúmenes con recondensación concurrente de disolvente (CSR-LVI).

las otras técnicas de LVI, que también se pueden utilizar para el análisis de compuestos volátiles, la CSR-LVI es más robusta que la OC-LVI para el análisis de muestras contaminadas. Por otra parte, permite alcanzar un mayor volumen de inyección (hasta 50 $\mu$ l) que las técnicas PSI y PTV-LVI en modo *splitless*, y por tanto es superior a estas en cuanto a su sensibilidad. Dada estas ventajas, y en especial su efectividad para el análisis de compuestos volátiles, en esta tesis se ha seleccionado la CSR-LVI para el análisis de VMS.

## **2.2 Trabajo experimental**

En este apartado se incluye el trabajo experimental realizado en esta tesis, el cual está orientado principalmente al desarrollo de métodos de análisis para determinar VMS en muestras ambientales mediante GC-MS. El apartado está dividido en dos bloques. En el primero se incluyen dos métodos analíticos que se han desarrollado aplicando la técnica de extracción/preconcentración HS-SPME (*apartado 2.2.1*), mientras que en el segundo se describen tres métodos que utilizan la técnica de inyección de grandes volúmenes CSR-LVI (*apartado 2.2.2*).

En el primer trabajo se desarrolla un método de HS-SPME para la determinación de VMS en agua de río (*apartado 2.2.1.1*). Este trabajo se ha publicado con el título *Analysis of linear and cyclic methylsiloxanes in water by headspace-solid phase microextraction and gas chromatography–mass spectrometry* en la revista *Talanta* 89 (2012) 63 – 69. En este estudio se evalúan diferentes tipos de fibras de SPME para la extracción de VMS, y se optimizan los parámetros experimentales de esta técnica. Además, una vez establecido el método se ha aplicado al análisis de VMS lineales y cíclicos en muestras de agua de los ríos Llobregat y Besós (Barcelona, España). Seguidamente se incluye un trabajo, *Solvent extraction combined with headspace solid-phase microextraction and gas chromatography-mass spectrometry for the analysis of lineal and cyclic methylsiloxanes in mussels*, pendiente de publicación en el que se ha establecido un método para determinar VMS en mejillones, que combina la extracción sólido-líquido y la técnica HS-SPME, (*apartado 2.2.1.2*). En este caso, la HS-SPME se ha utilizado para la extracción y preconcentración selectiva de los

analitos, utilizando las condiciones experimentales optimizadas previamente para el análisis de aguas.

Los trabajos pertenecientes al segundo bloque (*apartado 2.2.2*), se inician con el estudio y optimización de los diferentes parámetros experimentales de la técnica de inyección CSR-LVI combinada con GC-MS, empleada en un método desarrollado para determinar VMS en suelos y lodos de depuradora publicado en la revista *Journal of Chromatography A*, 1268 (2012) 150–156, con el título *Analysis of linear and cyclic methylsiloxanes in sewage sludges and urban soils by concurrent solvent recondensation – large volume injection – gas chromatography–mass spectrometry* (*apartado 2.2.2.1*). En dicho trabajo, la aplicabilidad de esta técnica de inyección se demuestra determinando VMS lineales y cíclicos en suelos urbanos y en lodos de plantas de tratamiento de aguas residuales. A continuación se incluye un trabajo publicado en *Talanta* 118 (2014) 245–252 con el título *Linear and cyclic methylsiloxanes in air by concurrent solvent recondensation–large volumen injection–gas chromatography–mass spectrometry*, en el que se ha desarrollado un método para determinar VMS en aire, en el que también se utiliza la CSR-LVI para aumentar la sensibilidad (*apartado 2.2.2.2*). En este estudio se evalúan diferentes tipos de materiales adsorbentes para la captación de VMS en aire y se ha estudiado su presencia en aire ambiente urbano y aire de interior de oficinas, laboratorios y domicilios particulares. Por último, se incluye un trabajo titulado *Solid phase extraction combined with –large volumen injection – gas chromatography – mass spectrometry for the analysis of linear and cyclic methylsiloxanes in wastewater*, que está pendiente de publicación, donde se desarrolla un método para la determinación de VMS en aguas residuales que sigue una estrategia de análisis totalmente diferente al método establecido para aguas de río. En este caso se combina la extracción mediante discos de SPE de C<sub>18</sub> de formato reducido (5,5mg/1ml) con la CSR-LVI (*apartado 2.2.2.3*). Este método incluye el análisis por separado de la fase disuelta y la fase particulada del agua residual.

**2.2.1 Técnica espacio de cabeza - microextracción en fase sólida (HS-SPME) combinada con GC-MS**

---

**2.2.1.1 ARTÍCULO CIENTÍFICO I:**

**Analysis of linear and cyclic methylsiloxanes in water by headspace – solid phase microextraction – gas chromatography – mass spectrometry.**

E. Y. Companioni-Damas, F. J. Santos, M. T. Galceran

Talanta 89 (2012) 63– 69.





Contents lists available at SciVerse ScienceDirect

Talanta

journal homepage: [www.elsevier.com/locate/talanta](http://www.elsevier.com/locate/talanta)

## Analysis of linear and cyclic methylsiloxanes in water by headspace-solid phase microextraction and gas chromatography–mass spectrometry

E.Y. Companioni-Damas, F.J. Santos, M.T. Galceran\*

Analytical Chemistry Department, University of Barcelona, Avda. Diagonal 647, 08028 Barcelona, Spain

### ARTICLE INFO

#### Article history:

Received 2 August 2011

Received in revised form 4 November 2011

Accepted 13 November 2011

Available online 26 November 2011

#### Keywords:

Linear and cyclic siloxanes

Headspace-solid phase microextraction

Gas chromatography–mass spectrometry

Water analysis

River water

### ABSTRACT

This paper proposes a new method for the analysis of linear and cyclic methylsiloxanes in water samples based on headspace-solid phase microextraction (HS-SPME) coupled to gas chromatography–mass spectrometry (GC–MS). The extraction efficiency of four commercially available SPME-fibres was evaluated and it was found that a 65  $\mu\text{m}$  polydimethylsiloxane/divinylbenzene (PDMS/DVB) coating was the most suitable for the extraction of siloxanes. The method provided good linearity ( $r > 0.999$ ) and precision (RSD %  $< 17\%$ ), and low limits of quantification ranging from 0.01 to 0.74  $\text{ng L}^{-1}$  for linear siloxanes and between 18 and 34  $\text{ng L}^{-1}$  for cyclic siloxanes. The HS-SPME-GC–MS method was applied to the analysis of linear and cyclic siloxanes in river waters from Catalonia (NE, Spain) and the results showed concentrations of linear and cyclic siloxanes ranging from 0.09 to 3.94  $\text{ng L}^{-1}$  and 22.2 to 58.5  $\text{ng L}^{-1}$ , respectively.

© 2011 Elsevier B.V. All rights reserved.

### 1. Introduction

Cyclic and linear methylsiloxanes represent a new group of compounds proposed as priority chemicals following environmental risk assessments. This is due to their widespread use, their physicochemical properties – which have the potential to persist in the natural environment – and their bioaccumulation capacity [1]. Over the last three decades, these compounds have been used widely in the industrial production of silicon polymers and in consumer goods such as electronics, health and personal care products, cleaning agents, cookware and medical devices [2,3]. Due to their high volatility, these compounds have been detected in both outdoor and indoor environments [4–10] as they are released into the atmosphere during manufacturing processes and by the use of consumer products. In addition, due to their high affinity to the organic matter [11], these compounds have also been found in effluents and sludges from wastewater treatment plants (WWTPs) [11–13]. Several reports indicate that these compounds cause toxic effects on wildlife, such as estrogen mimicry, connective tissue disorders, adverse immunologic responses, and liver and lung damage [14–17]. Although information about their toxicity is still limited it is important to have an understanding of the occurrence and distribution of these compounds in the environment.

The analysis of linear and cyclic siloxanes in the environment is not easy due to their high volatility and the potential sources of background contamination that affect their final determination [2]. Linear and cyclic methylsiloxanes have been found in environmental samples, such as air [4–9], biota [1,5,6,18,19], sediment [5,6,13,20], sludge [5,6,12,13], soil [5,6,21], water [5,6,11] and dust [22], and also in landfill biogas samples [23,24]. Headspace (HS) [11] and purge and trap [5,6,18,25] techniques combined with gas chromatography–mass spectrometry (GC–MS) are the methods commonly used for the analysis of these compounds in solid and water samples. Among the siloxanes, decamethylcyclopentasiloxane (D5) has been the most abundant compound in all matrices [6]. Nevertheless, limited information about the occurrence of siloxanes in natural water has been reported because they are present at very low concentration levels ( $< 100 \text{ ng L}^{-1}$ ). In a recent study, Sparham et al. [11] proposed the use of HS–GC–MS which would constitute a method with enough sensitivity to analyse these compounds at these concentration levels. This method was applied to the analysis of D5 in river water and treated wastewater. Another simple and solvent free method that could improve the detection limits is headspace-solid phase microextraction (HS-SPME), which is frequently used to analyse environmental samples [26]. To date, HS-SPME has not been applied to the analysis of methylsiloxanes, although it has been used to study the volatile composition of polysiloxane rubber [27].

The aim of the present paper was to develop an HS-SPME method combined with GC–MS for routine analysis of linear and cyclic methylsiloxanes in water samples. To achieve maximum sensitivity and selectivity, the HS-SPME parameters that affect the

\* Corresponding author. Tel.: +34 934021275; fax: +34 934021233.  
E-mail address: [mtgalceran@ub.edu](mailto:mtgalceran@ub.edu) (M.T. Galceran).



**Table 1**  
Quantification and confirmation ions selected for the analysis of linear and cyclic siloxanes by HS-SPME–GC–MS.

Compound	Abbreviation	Retention time ( $t_R$ ) (min)	Time window (min)	Molecular ion ( $m/z$ )	Quantification ion ( $m/z$ )	Confirmation ion ( $m/z$ )
Hexamethyldisiloxane	L2	5.40	5:00–7:00	162	147 [M–CH <sub>3</sub> ] <sup>+</sup>	131, 117
Hexamethylcyclotrisiloxane	D3	7.78	7:00–8:50	222	207 [M–CH <sub>3</sub> ] <sup>+</sup>	191, 177
Octamethyltrisiloxane	L3	8.83	8:50–10:00	236	221 [M–CH <sub>3</sub> ] <sup>+</sup>	205, 189
Octamethylcyclotetrasiloxane	D4	10.76	10:00–11:40	296	281 [M–CH <sub>3</sub> ] <sup>+</sup>	265, 249
Methyltris(trimethylsiloxy)silane	IS-1	11.71	11:40–12:50	310	295 [M–CH <sub>3</sub> ] <sup>+</sup>	207, 281
Decamethyltetrasiloxane	L4	11.98	11:40–12:50	310	207 [M–CH <sub>3</sub> –Si(CH <sub>3</sub> ) <sub>4</sub> ] <sup>+</sup>	295, 191
Decamethylcyclopentasiloxane	D5	13.32	12:50–13:60	370	355 [M–CH <sub>3</sub> ] <sup>+</sup>	267, 339
Tetrakis(trimethylsiloxy)silane	IS-2	13.83	13:60–15:20	384	281 [M–CH <sub>3</sub> –Si(CH <sub>3</sub> ) <sub>4</sub> ] <sup>+</sup>	369, 265
Dodecamethylpentasiloxane	L5	14.65	13:60–15:20	384	281 [M–CH <sub>3</sub> –Si(CH <sub>3</sub> ) <sub>4</sub> ] <sup>+</sup>	369, 265
Dodecamethylcyclohexasiloxane	D6	15.84	15:20–16:50	444	341 [M–CH <sub>3</sub> –Si(CH <sub>3</sub> ) <sub>4</sub> ] <sup>+</sup>	429, 325

extraction and desorption processes were optimised. The method was applied to the determination of cyclic and linear volatile methylsiloxanes in river water samples.

## 2. Experimental

### 2.1. Chemical and materials

Hexamethyldisiloxane (L2), octamethyltrisiloxane (L3), decamethyltetrasiloxane (L4), dodecamethylpentasiloxane (L5), hexamethylcyclotrisiloxane (D3), octamethylcyclotetrasiloxane (D4), decamethylcyclopentasiloxane (D5), dodecamethylcyclohexasiloxane (D6) were obtained at a purity of over 97% from ABCR (Darmstadt, Germany). Methyltris(trimethylsiloxy)silane (IS-1) and tetrakis(trimethylsiloxy)silane (IS-2) were used as internal standards for linear and cyclic methylsiloxanes, respectively. They were also purchased from ABCR at a purity of over 98%.

Individual stock standard solutions of each compound and internal standards of 2000 mg L<sup>-1</sup> were prepared in acetone for residue analysis (Merck) from their respective pure standards. Secondary individual standard solutions were prepared by successive dilution of the stock standard solutions in acetone to give concentrations of 10 mg L<sup>-1</sup> for cyclic siloxanes and 1 mg L<sup>-1</sup> for linear siloxanes. A standard mixture of all the compounds at concentrations ranging from 0.01 to 20 µg L<sup>-1</sup> for linear siloxanes and between 10 and 150 µg L<sup>-1</sup> for cyclic siloxanes was prepared in acetone by dilution from the secondary individual standard solutions. This solution was stored at 0 °C and was prepared monthly. For siloxane determination, six calibration water standard solutions were prepared by adding of 20 µL of the standard mixtures into a 40 ml screw-cap glass vial fitted with black Viton septa (Supelco, Bellefonte, PA, USA) containing 20 ml of bottled natural mineral water at concentrations between 0.01 and 20 ng L<sup>-1</sup> for linear methylsiloxanes and between 10 and 150 ng L<sup>-1</sup> for cyclic methylsiloxanes. In addition, appropriate amounts of the internal standard solutions were added to each calibration solution to give a concentration of 1 ng L<sup>-1</sup> for IS-1 and 70 ng L<sup>-1</sup> for IS-2. By using this procedure for the preparation of water calibration solutions, the amount of acetone in all vials was kept constant, which prevents changes in the selectivity of the SPME fibre. To evaluate the internal standard method, standard addition was used for quantification of a river water sample. For this purpose, replicate analyses ( $n=3$ ) of this sample were carried out spiking the sample with an adequate amount of standard solution of linear and cyclic siloxanes at 0%, 50%, 100%, 150% and 200% of the estimated concentrations and using IS-1 and IS-2 as internal standards at a concentration of 1 ng L<sup>-1</sup> and 70 ng L<sup>-1</sup>, respectively. All standards and samples were prepared in a laminar flow cabinet of a clean room (Class 100). Acetone and sodium chloride for residue analysis were purchased from Merck. All glassware was treated with chromosulphuric acid, solvent rinsed and heated to 400 °C before use. Nylon syringe filters (0.2 µm) were supplied by

Filter-Lab (Barcelona, Spain). Natural mineral water was obtained from Font Vella (San Hilari Sacalm, Spain).

HS-SPME experiments were performed with a manual fibre holder supplied from Supelco. Four commercially available SPME fibres were tested: 100 µm polydimethylsiloxane (100 µm-PDMS), 65 µm polydimethylsiloxane/divinylbenzene (65 µm-PDMS/DVB), 50/30 µm divinylbenzene/carboxen/polydimethylsiloxane (50/30 µm-DVB/CAR/PDMS) and 85 µm carboxen/polydimethylsiloxane (85 µm-CAR/PDMS) purchased from Supelco. Before use, each fibre was conditioned in the GC injection port under helium flow according to the manufacturer's recommendation. After conditioning, fibre blanks were run periodically to ensure there were no contaminants or carryover present.

### 2.2. Water samples

Twelve water samples were collected in the Llobregat and Besòs Rivers (Barcelona, NE Spain) in May of 2011. These rivers are located in the northeast of Spain and flow into the Mediterranean Sea near the city of Barcelona. The lower sections of these rivers run through very densely populated and industrialized areas, receiving extensive urban and industrial waste water discharges from more than 3 million inhabitants. Sampling sites in the Llobregat River were located downstream of the towns of Martorell, Molins de Rei, Sant Boi de Llobregat and el Prat de Llobregat (one sample each). In addition, three surface water samples were collected before the intake of the San Joan Despí drinking water treatment plant (DWTP), the biggest DWTP supplying water to the city of Barcelona. Five water samples from the Besòs River were collected at the towns of Montcada i Reixach, Santa Coloma de Gramanet and Sant Adrià de Besòs. Glass bottles (100 ml) fitted with black Viton septa were filled with water without headspace and stored in the dark at 4 °C before being analysed. Field blanks consisting of 100 ml of natural mineral water were prepared at the same sampling points and they were analysed along with the real water samples. Before analysis, the river water samples were filtered using nylon syringe filters (0.2 µm) to avoid the presence of particulate matter.

### 2.3. HS-SPME method

The HS-SPME procedure was carried out as follows: 20 ml water sample was placed in a 40 ml screw cap glass vial fitted with black Viton septa containing a 10 mm × 5 mm PTFE-coated stir bar and an appropriate amount of the internal standards was then added by weight through the septum of the sample vial. The final internal standard concentrations were 70 ng L<sup>-1</sup> for cyclic siloxanes and 1 ng L<sup>-1</sup> for linear siloxanes. To prevent any losses of the analytes through the septum hole, a stainless steel rod (0.55 mm O.D. × 15 mm of length) was used for closing the septum hole just after addition of internal standard. Moreover, to avoid the possible adsorption of analytes the steel rod was not exposed to

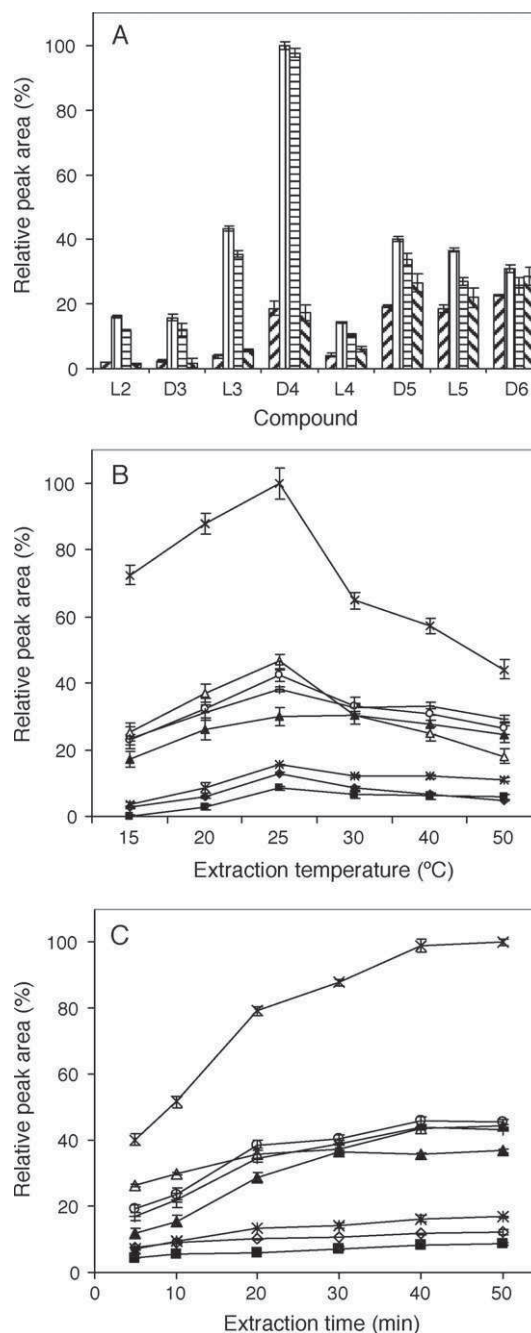
the headspace vapours. Before the HS-SPME analysis, the sample vial was vortex mixed for 3 min and conditioned for 10 min in a thermostatic water bath at the extraction temperature. Then the sample and the calibration solutions were extracted with a 65  $\mu\text{m}$ -PDMS/DVB fibre at 25 °C for 40 min using a constant magnetic agitation rate of 750 rpm. Finally, thermal desorption of the analytes was carried out by exposing the fibre in the GC injector port at 240 °C for 5 min. The fibre was kept in the injector port for an additional time of 5 min, with the injector port in split mode (purge on) to prevent possible carryover. Further details about the optimisation of the HS-SPME procedure are given in Section 3.1.

#### 2.4. GC–MS determination

The determination of the linear and cyclic siloxanes by GC–MS was carried out on a trace GC 2000 Series gas chromatograph (ThermoFisher, Milan, Italy) coupled to a DSQ II mass spectrometer (ThermoFisher, Milan, Italy). The chromatographic separation of the target compounds was performed on a DB-5 MS (5% phenyl, 95% methyl polysiloxane) fused silica capillary column (J & W Scientific, Folsom, USA), 60 m  $\times$  0.25 mm I.D., 0.25  $\mu\text{m}$  film thickness. The oven temperature was programmed from 40 °C (held for 2 min) to 250 °C at 10 °C min<sup>-1</sup> (held for 5 min). Helium was used as a carrier gas at a constant flow-rate of 1 ml min<sup>-1</sup> held by electronic flow control. The injector temperature was maintained at 240 °C and the splitless injection mode (2 min) was used for the HS-SPME experiments. An SPME glass inlet liner (I.D., 0.75 mm, SGE Europe) and a 23-gauge Merlin Micro-seal septum (Supelco, Bellefonte, PA, USA) were used for the SPME analysis. The MS was operated in electron ionisation (EI) mode with 70 eV and 100  $\mu\text{A}$ . Transfer line and ion source temperatures were set at 280 °C and 250 °C, respectively. For data acquisition, the selected ion monitoring (SIM) mode was used at a dwell time of 100 ms and a delay time of 20 ms. Table 1 shows the ions selected for quantification and confirmation of the linear and cyclic methyl siloxanes using the GC–MS method. Quantification of siloxanes was carried out by internal standard method, using methyltris(trimethylsiloxy)silane (IS-1) and tetrakis(trimethylsiloxy)silane (IS-2) as standards for cyclic and linear siloxanes, respectively. Xcalibur version 2.0 software was used for data acquisition and results processing.

#### 2.5. Quality control

Criteria for ensuring the quality of the data included specific tests for checking the GC separation, the sensitivity of the GC–MS system using standards and a quality control water sample (a river water sample spiked at 1 and 40 ng L<sup>-1</sup> for linear and cyclic methyl-siloxanes, respectively), the validity of the calibration, and the possible carryover between samples. Procedural blanks covering both the instrumental and the HS-SPME procedure were routinely performed every three samples to evaluate the contribution of background levels on the siloxane response. In addition, each water sample was accompanied by a field blank to ensure the accurate tracing of any contamination. The mean value of the area of each analyte in the field blanks was used for subtraction. The personnel involved in this work refrained the use of personal care products to minimize the contamination before or during the sampling and analysis. The preparation of standards, procedural blanks, and samples were carried out in a clean air cabinet under a laminar flow. Limits of detection (LODs) and quantification (LOQs) were set as the amount of analyte that provides a response in the field blank equal to the mean plus three and ten times the standard deviation, respectively. To confirm the identification of siloxanes, the following restrictive criteria were applied: (a) the isotope ratios between



**Fig. 1.** Behaviour of the commercially SPME fibres (A): (▨) 100- $\mu\text{m}$  PDMS, (▤) 65- $\mu\text{m}$  PDMS/DVB, (▥) 30/50- $\mu\text{m}$  CAR/DVB/PDMS, and (▧) 65- $\mu\text{m}$  CAR/PDMS, on the extraction of linear and cyclic siloxanes. Effect of extraction temperature (B), and time (C) on the extraction efficiency of linear and cyclic siloxanes by HS-SPME. Compounds: (◇) L2, (△) L3, (×) L4, (|) L5, (■) D3, (×) D4, (○) D5, (▲) D6 (conditions: 65- $\mu\text{m}$  DVB-PDMS fibre, extraction time 50 min and desorption time 5 min).

the selected ions monitored should be within  $\pm 15\%$  of the theoretical value, and (b) the retention times should be within  $\pm 2$  s of those observed for the standards.

### 3. Results and discussion

#### 3.1. Headspace-SPME optimisation

The presence of siloxanes in procedural blanks as background contamination produced by the instrument, laboratory products

and reagents, and also ambient air, are the major difficulty in the analysis of siloxanes in environmental samples [2,11,28]. This contamination affects quantification and requires a thorough control of the blanks to ensure the reliability of the results. In the present work, some actions were taken into account to reduce the contribution of background contamination to the procedural blanks. For instance, the use of a Merlin micro-seal septum instead of a silicone septum in the GC injector port and black Viton septa in the SPME vials allowed a reduction of 90% of the background levels of cyclic siloxanes in the instrumental blanks. However, the main sources of contamination of procedural blanks came from the ambient air and the ultrapure water used for preparing blanks and standards. Experiments carried out using bottled natural mineral water and the use of a laminar flow cabinet for sample handling and standard preparation allowed a substantial reduction in the background levels of linear siloxanes (96–99%), although for cyclic siloxanes this reduction was slightly lower (62–92%). Therefore, to minimize the contribution of siloxanes to the procedural blanks, we recommend the use of a laminar flow cabinet and bottled natural mineral water for preparing of both procedural blanks and standards.

The first step in the optimisation of the HS-SPME procedure was the selection of the appropriate fibre for the analysis of siloxanes. The following four SPME fibres were tested to obtain the best sensitivity and selectivity for siloxane determination: 100  $\mu\text{m}$  PDMS, 65  $\mu\text{m}$  PDMS/DVB, 50/30  $\mu\text{m}$  DVB/CAR/PDMS and 85  $\mu\text{m}$  CAR/PDMS. For this purpose, a long extraction time (50 min) and a pre-equilibration time of 15 min were applied to ensure that maximum amounts of cyclic and linear siloxanes were extracted. In addition, the extraction temperature and desorption time were fixed to 30 °C and 2 min, respectively. The desorption temperature was 250 °C for all fibres, which is within the recommended operating temperature range. For this study, 10 ml of a bottled mineral water sample spiked with 200  $\text{ng L}^{-1}$  of each compound was analysed using the five fibres. No carryover on second desorption was found for any of the fibres, indicating that the complete removal of analytes at these conditions was achieved. Fig. 1(A) shows the relative peak area obtained for cyclic and linear siloxanes using the studied fibres. The 65  $\mu\text{m}$  PDMS/DVB fibre and CAR/DVB/PDMS fibre provided the highest extraction yields for all the compounds. The PDMS/DVB coating was selected for all subsequent experiments due to the slightly higher extraction efficiencies obtained.

After the fibre was selected, several HS-SPME parameters related to the extraction and desorption steps were optimised. Initially, the effect of temperature on the siloxane extraction yield was examined using a sampling time of 50 min and a desorption temperature and time of 250 °C and 5 min, respectively. As Fig. 1(B) shows, maximum relative responses were obtained for all the compounds at an extraction temperature of 25 °C. At temperatures above 25 °C lower responses were obtained because of the decrease in the distribution constants of the analytes between the headspace and the fibre coating. Sodium chloride (NaCl, 0–30%, w/w) was used to study the effect of the ionic strength. In our case, the addition of NaCl did not significantly improve the amount of siloxane extracted. This could be attributed to both the high volatility of these compounds that allowed a rapid migration from the aqueous solution to the headspace, and to their low solubility in water. We also studied the influence of the headspace and aqueous solution volume ratio ( $V_h/V_w$ ) on the siloxane extraction yield using a 40 ml vial. An aqueous volume of 20 ml ( $V_h/V_w = 1$ ) was chosen since it provided the best results. Larger aqueous volumes were not tested because when reducing the headspace volume the complete spreading of the fibre was not possible. The extraction time required to reach the equilibrium between the fibre coating and the headspace was evaluated. This parameter was studied from 5

**Table 2**  
Quality parameters of the HS-SPME–GC–MS method and analysis of a spiked river water sample by internal standard and standard addition methods.

Compound	Linear range ( $\text{ng L}^{-1}$ )	Correlation coefficient ( <i>r</i> )	Intra-day precision (RSD, %) <sup>a</sup>	Method LOD ( $\text{ng L}^{-1}$ )	Method LOQ ( $\text{ng L}^{-1}$ )	Concentration ( $\text{ng L}^{-1}$ )	Standard addition <sup>c</sup>		
							Spiked concentration ( $\text{ng L}^{-1}$ )	Internal standard (mean $\pm$ S.D.) <sup>b</sup>	Standard addition (mean $\pm$ S.D.) <sup>b</sup>
L2	0.2–20	0.9998	17	0.05	0.17	0.99	0.94 $\pm$ 0.16	0.93 $\pm$ 0.14	0.949
L3	0.01–20	0.9990	16	0.003	0.01	1.03	1.16 $\pm$ 0.14	1.02 $\pm$ 0.15	0.205
L4	0.03–20	0.9998	13	0.01	0.03	1.04	0.97 $\pm$ 0.18	1.20 $\pm$ 0.17	0.225
L5	0.8–20	0.9995	14	0.25	0.74	1.02	1.05 $\pm$ 0.20	1.18 $\pm$ 0.17	0.734
D3	35–150	0.9997	5	11	34	42.2	41.8 $\pm$ 2.4	41.2 $\pm$ 3.0	0.600
D4	20–150	0.9944	4	6	19	40.2	41.5 $\pm$ 2.5	41.4 $\pm$ 2.4	0.426
D5	20–150	0.9998	4	6	19	40.4	41.6 $\pm$ 3.5	40.9 $\pm$ 1.9	0.189
D6	20–150	0.9995	6	6	18	40.8	42.3 $\pm$ 2.8	41.1 $\pm$ 2.6	0.260

<sup>a</sup> *n* = 6 (spiked level: 1  $\text{ng L}^{-1}$  for linear and 40  $\text{ng L}^{-1}$  for cyclic siloxanes).

<sup>b</sup> *n* = 3.

<sup>c</sup> Significant differences between methods for *p*-value < 0.05 (at 95% confidence level).

**Table 3**Concentrations of linear and cyclic siloxanes (ng L<sup>-1</sup>) in Llobregat and Besos river water samples by HS-SPME–GC–MS.

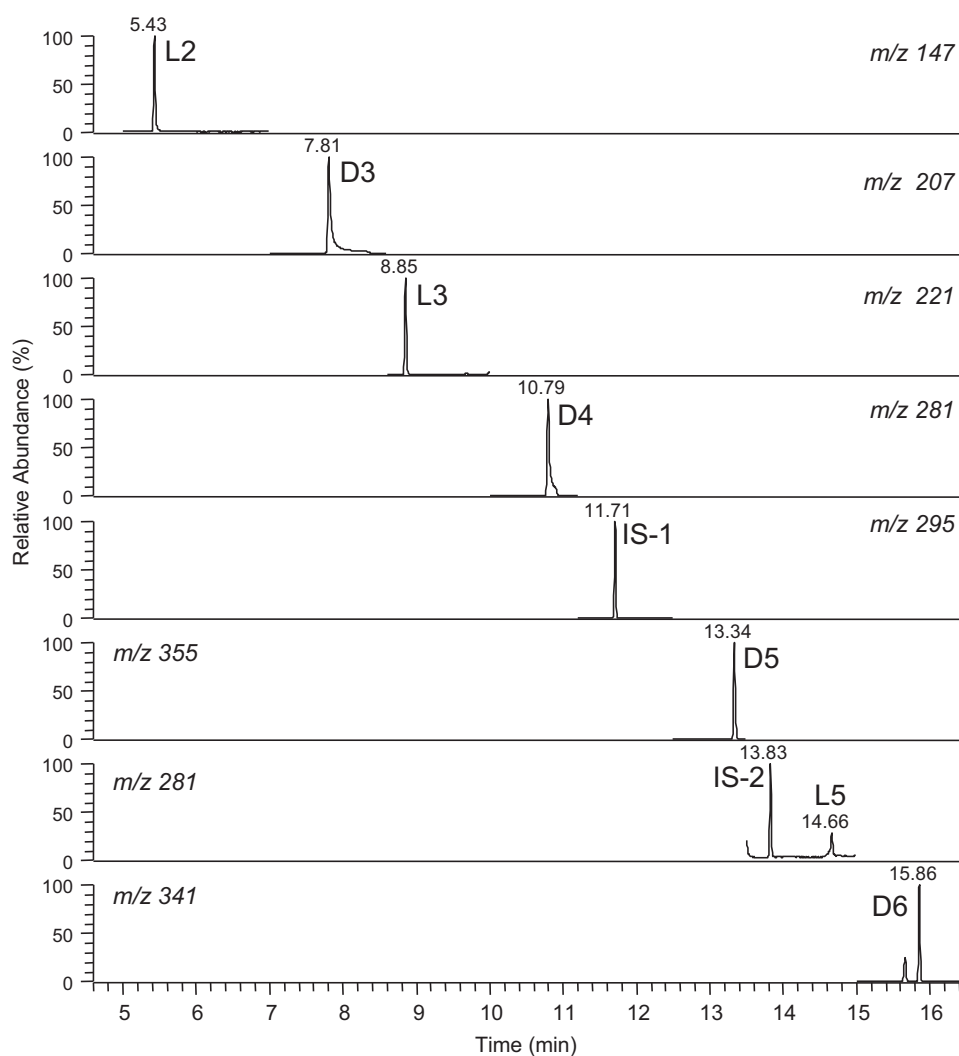
Compound	Concentration (ng L <sup>-1</sup> )									
	Llobregat river (n = 7)					Besos river (n = 5)				
	Detection frequency	Mean <sup>a</sup>	Min	Max	Median	Detection frequency	Mean <sup>b</sup>	Min.	Max.	Median
L2	7/7	0.77	0.33	1.53	0.43	3/5	1.32	0.93	1.65	1.37
L3	7/7	1.02	0.58	2.14	0.72	5/5	0.56	0.17	0.85	0.78
L4	6/7	0.27	0.09	0.55	0.18	3/5	0.57	0.16	0.80	0.75
L5	5/7	2.19	0.95	3.94	1.98	3/5	1.28	0.99	1.44	1.41
D3	0/7	nd	–	–	nd	0/5	nd	–	–	nd
D4	0/7	nd	–	–	nd	0/5	nd	–	–	nd
D5	2/7	22.9	22.2	23.5	22.9	1/5	58.5	–	–	nd
D6	0/7	nd	–	–	nd	1/5	21.2	–	–	nd

<sup>a</sup> Mean of seven river water samples (3 replicate analyses of each sample).<sup>b</sup> Mean of five river water samples (3 replicates analyses of each sample).

nd: not detected, &lt;LOD.

to 50 min using the optimal conditions previously established. As shown in Fig. 1(C), where the extraction time profiles obtained for the linear and cyclic siloxanes are given, a period of 40 min was enough to reach the equilibrium and so it was chosen as the optimal extraction time. For the desorption process, several temperatures (220, 230, 240 and 250 °C) of the GC injector port were studied, maintaining the desorption time constant at 5 min. Up to 240 °C

an increase in the response was observed, so this temperature was selected. Finally, the quantitative desorption of the analytes from the fibre coating to the injector port was achieved in 2 min and no sample carryover was observed at these conditions. In summary, the HS-SPME optimal conditions for the analysis of linear and cyclic siloxanes in water using a 65 μm PDMS/DVB fibre were: an extraction temperature of 25 °C, an extraction time of 40 min, a

**Fig. 2.** GC–MS (SIM) chromatogram of a water sample from the Besós River analysed by HS-SPME–GC–MS.

headspace/aqueous volume ratio of 1 (20 ml/20 ml) in a 40 ml glass vial, a desorption temperature of 240 °C, a desorption time of 2 min and no salt addition.

### 3.2. Analysis of linear and cyclic siloxanes in river water samples

To examine the performance of the proposed HS-SPME-GC-MS method, quality parameters such as linearity, limits of detection (LOD), limits of quantification (LOQ) and repeatability were established (Table 2). Bottled mineral water spiked from 0.01 to 20 ng L<sup>-1</sup> for linear siloxanes and between 20 and 150 ng L<sup>-1</sup> for cyclic siloxanes were used to study linearity. Regression coefficients (*r*) higher than 0.999 were obtained for all the compounds (Table 2) at concentrations ranging from the limit of quantification to 20 ng L<sup>-1</sup> for linear and 150 ng L<sup>-1</sup> for cyclic siloxanes, respectively. Since no blank river water samples were found, the field blanks (*n* = 12) obtained from each sampling point were used to estimate the LOD and LOQ values of the method. Each field blank was analysed in triplicate using the developed method and the method LOD and LOQ were determined as the concentration of analyte that provides a response equal to the mean (12 field blanks × 3 replicates) plus three and ten times the standard deviation, respectively. Method LODs ranged from 0.003 to 0.25 ng L<sup>-1</sup> for linear siloxanes and from 6 to 11 ng L<sup>-1</sup> for cyclic siloxanes (Table 2), while the LOQs were between 0.01 and 0.74 ng L<sup>-1</sup> for linear and from 18 to 34 ng L<sup>-1</sup> for cyclic siloxanes. These values are lower than those reported using purge and trap method [6], but similar to that found by Sparham et al. [11] for D5 using headspace-GC-MS. The intra-day precision of the whole HS-SPME-GC-MS method was also studied by analysing a river water sample with very low concentration levels of siloxanes (<0.1 ng L<sup>-1</sup> for linear and <10 ng L<sup>-1</sup> for cyclic siloxanes) spiked at a concentration of 1 ng L<sup>-1</sup> for linear siloxanes and 40 ng L<sup>-1</sup> for cyclic siloxanes. Six independent analyses of the spiked river water sample were performed using the proposed HS-SPME-GC-MS method and relative standard deviations (RSD%) lower than 17% were obtained for all the compounds (Table 2). In addition, to assure that the matrix did not affect the reliability of the results obtained by internal standard method using as calibration solutions spiked bottled natural mineral water, quantification by the standard addition method was also applied (Section 2.1) for the analysis of water samples using HS-SPME-GC-MS. For this purpose, replicate analyses (*n* = 3) of a river water sample spiked at 1 ng L<sup>-1</sup> for linear and 40 ng L<sup>-1</sup> for cyclic siloxanes were carried out using both quantification methods and the results obtained are summarized in Table 2. As can be seen, good agreement between the two quantification methods was obtained and no significant differences were observed (*p*-value > 0.05), demonstrating the validity of the internal standard method and the absence of matrix effect using the HS-SPME-GC-MS.

In order to evaluate the applicability of the optimised HS-SPME-GC-MS method to the analysis of linear and cyclic siloxanes in waters, twelve river water samples collected at the Llobregat and Besós Rivers were analysed in triplicate and the results are summarized in Table 3. Linear siloxanes were found in Llobregat and Besós river waters at concentration levels ranging between 0.09 and 3.94 ng L<sup>-1</sup> and from 0.16 to 1.65 ng L<sup>-1</sup>, respectively. For cyclic siloxanes, concentrations of the D5 ranged from 22.2 ng L<sup>-1</sup> (Llobregat River) to 58.5 ng L<sup>-1</sup> (Besós River), while the D6 was only found in a sample from Besós River (21.2 ng L<sup>-1</sup>). D3 and D4 were not detected in any of the samples analysed. Fig. 2 shows as an example the GC-MS selected ion monitoring (SIM) chromatograms of a water sample from the Besós River. The differences in the concentration levels between linear and cyclic siloxanes are in agreement with data reported in the literature [5,6] and can be attributed to the widespread use of consumer products that mainly contain D5

siloxane [4,11]. Similar concentrations for D5 have been found in water samples from two UK rivers (12.9–59.2 ng L<sup>-1</sup>) [11].

## 4. Conclusions

A new headspace-SPME method combined with GC-MS has been developed to analyse siloxanes in water samples. The PDMS/DVB fibre (25 °C, 40 min) was found to be the most effective coating for the extraction of siloxanes. The proposed method provided low limits of quantification, from 0.01 to 0.74 ng L<sup>-1</sup> for linear siloxanes and from 18 to 34 ng L<sup>-1</sup> for cyclic siloxanes, and precise results (RSD < 17%) for the analysis of river water samples. The absence of matrix effect using the HS-SPME has been demonstrated allowing to propose the internal standard method with water standard solutions as calibrants for the quantification of the target compounds. The HS-SPME-GC-MS has proved to be a fast and sensitive method for the analysis of linear and cyclic siloxanes at ng L<sup>-1</sup> levels in river water and can be proposed as a novel method for the routine analysis of these compounds.

## Acknowledgements

The authors are very grateful for the financial support from the Spanish Ministerio de Ciencia e Innovación under project CTQ2009-09253. E.Y. Companioni also thanks the Ministry of Foreign Affairs and Cooperation of Spain (MEAC) and the Spanish Agency for International Cooperation (AECI) for the PhD.

## References

- [1] N.A. Warner, A. Evenset, G. Chistensen, G.W. Gabrielsen, K. Borga, H. Leknes, *Environ. Sci. Technol.* 44 (2010) 7705.
- [2] S. Varaprath, D.H. Stutts, G.E. Kozerski, *Silicon Chem.* 3 (2006) 79.
- [3] C.L. Lassen, S.H. Hansen, J.M. Mikkelsen, Siloxanes – consumption, toxicity and alternatives, Danish Ministry of the Environment, Environmental Protection Agency, Environmental Project No. 1031, 2005; available from: <http://www.miljoestyrelsen.dk/udgiv/publications/2005/87-7614-756-8/pdf/87-7614-757-6.pdf> (accessed 3.3.10).
- [4] A. Kierkegaard, M.S. McLachlan, *J. Chromatogr. A* 1217 (2010) 3557.
- [5] L. Kaj, J. Andersson, A.P. Cousins, M. Remberger, Y. Ekheden, B. Dusan, E. Brorström-Lundén, I. Cato, Results from the Swedish National Screening Programme 2004, Subreport 4: Siloxanes IVL Report B1643, Swedish National Research Institute, Stockholm, 2005, Available from: <http://www.ivl.se/download/18.2f3a7b311a7c806443800055371/B1643.pdf> (accessed 10.3.10).
- [6] L. Kaj, M. Schlabach, J. Andersson, A.P. Cousins, N. Schmidbauer, E. Brorström-Lundén, Siloxanes in the Nordic Environment, Nordic Council of Ministers, Copenhagen, 2005, Available from: [http://www.norden.org/da/publikationer/publikationer/2005-593/at\\_download/publicationfile](http://www.norden.org/da/publikationer/publikationer/2005-593/at_download/publicationfile) (accessed 3.3.2010).
- [7] X.M. Wang, S.C. Lee, G.Y. Sheng, L.Y. Chan, J.M. Fu, X.D. Li, Y.S. Min, C.Y. Chan, *Appl. Geochem.* 16 (2001) 1447.
- [8] A.T. Hodgson, D. Faulkner, D.P. Sullivan, D.L. DiBartolomeo, M.L. Rusell, W.J. Fisk, *Atmos. Environ.* 37 (2003) 5517.
- [9] M.S. McLachlan, A. Kierkegaard, K.M. Hansen, R. van Egmond, J.H. Christensen, C.A. Skjoth, *Environ. Sci. Technol.* 44 (2010) 5365.
- [10] S. Genualdi, T. Harner, Y. Cheng, M. MacLeod, K.M. Hansen, R. Van Egmond, M. Shohieb, S.C. Lee, *Environ. Sci. Technol.* 45 (2011) 3349.
- [11] C. Sparham, R. Van Egmond, S. O'Connor, C. Hastie, M. Whelan, R. Kanda, O. Franklin, *J. Chromatogr. A* 1212 (2008) 124.
- [12] R. Dewil, L. Appels, J. Baeyens, A. Buczynska, L. Van Vaeck, *Talanta* 74 (2007) 14.
- [13] Z. Zhang, H. Qi, N. Ren, Y. Li, D. Gao, K. Kannan, *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 60 (2011) 204.
- [14] W. Lieberman, E.D. Lykissa, R. Barrios, C. Nan Ou, G. Kala, S.V. Kala, *Environ. Health Perspect.* 107 (1999) 161.
- [15] B. He, S. Rhodes-Brower, M.R. Miller, A.E. Munson, D.R. Germolec, V.R. Walker, K.S. Korach, B.J. Meade, *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 192 (2003) 254.
- [16] A.L. Quinn, J.M. Regan, J.M. Tobin, B.J. Marinik, J.M. McMahon, D.A. McNett, C.M. Sushynski, S.D. Crofoot, P.A. Jean, K.P. Plotzke, *Toxicol. Sci.* 96 (2007) 145.
- [17] J.M. McKim Jr., P.C. Wilga, W.J. Breslin, K.P. Plotzke, R.H. Gallavan, R.G. Meeks, *Toxicol. Sci.* 63 (2001) 37.
- [18] A. Kierkegaard, M. Adolffson-Erici, M.S. McLachlan, *Anal. Chem.* 82 (2010) 9573.
- [19] A. Kierkegaard, R. Van Egmond, M. McLachlan, *Environ. Sci. Technol.* 45 (2011) 5936.

- [20] C. Sparham, R.V. Egmond, C. Hastie, S. O'Connor, D. Gore, N. Chowdhury, J. Chromatogr. A 1218 (2011) 817.
- [21] C. Sánchez-Brunete, E. Miguel, B. Albero, J.L. Tadeo, J. Chromatogr. A 1217 (2010) 7024.
- [22] Y. Lu, T. Yuan, S.H. Yun, W. Wang, Q. Wu, K. Kannan, Environ. Sci. Technol. 44 (2010) 6081.
- [23] K. Badjagbo, A. Furtos, M. Alae, S. Moore, S. Sauvé, Anal. Chem. 81 (2009) 7288.
- [24] K. Badjagbo, M. Héroux, M. Alae, S. Moore, S. Sauvé, Environ. Sci. Technol. 44 (2010) 600.
- [25] R. Huppmann, H.W. Lohoff, H.F. Schroder, Fresenius J. Anal. Chem. 354 (1996) 66.
- [26] G. Ouyang, J. Pawliszyn, Anal. Bioanal. Chem. 386 (2006) 1059.
- [27] A.D. Hall, M. Patel, Polym. Degrad. Stab. 91 (2006) 2532.
- [28] Y. Horri, K. Kannan, Arch. Environ. Contam. Toxicol. 55 (2008) 701.



**2.2.1.2 ARTÍCULO CIENTÍFICO II:**

**Solvent extraction combined with headspace – solid phase microextraction and gas chromatography – mass spectrometry for the analysis of linear and cyclic methylsiloxanes in mussels.**

E. Y. Companioni-Damas, F. J. Santos, M. T. Galceran

Journal of Chromatography A (2014), enviado.





**Solvent extraction combined with headspace solid-phase microextraction and gas chromatography-mass spectrometry for the analysis of linear and cyclic methylsiloxanes in mussels.**

E. Y. Companioni, F. J. Santos\*, M. T. Galceran

Analytical Chemistry Department, University of Barcelona,

Avda. Diagonal 645, 08028 Barcelona, Spain.

**Abstract**

A simple and fast method based on a solvent extraction combined with headspace-solid phased microextraction (HS-SPME) and gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS) was developed for the determination of linear and cyclic methylsiloxanes in mussels. The extraction efficiencies of three solvents (methanol, tetrahydrofuran and acetonitrile) were evaluated and it was found that acetonitrile was the most suitable solvent for the quantitative extraction of the target compounds. In addition, the effect of the amount of mussel extract in the HS-SPME extraction efficiency was also studied in order to achieve the maximum sensitivity. The method provides good linearity ( $r > 0.998$ ) using a matrix-matched calibration and precision (RSD  $< 14\%$ ) with low limits of detection ranging from  $0.10 \text{ ng g}^{-1} \text{ wet weigh (ww)}$  for linear and  $4 \text{ ng g}^{-1} \text{ ww}$  for cyclic methylsiloxanes. The method was applied to the analysis of linear and cyclic methylsiloxanes in mussels collected at 23 sites from the Catalan coastline (NW Mediterranean). Results showed concentrations ranging from  $0.17$  to  $4.01 \text{ ng g}^{-1} \text{ ww}$  and between  $6.7$  and  $630.8 \text{ ng g}^{-1} \text{ ww}$  for linear and cyclic methylsiloxanes, respectively, with D5 as the dominant methylsiloxane.

**Keywords:** Linear and cyclic methylsiloxanes; biota; mussels; solid-phase microextraction; gas chromatography-mass spectrometry;

\* Corresponding author.

## 1. Introduction

Volatile methylsiloxanes (VMS) are a new group of emerging pollutants that are attracting a great attention worldwide because they are globally distributed, persistent in the environment, bioaccumulative and potentially harmful to organisms [1,2]. They are used in a wide range of industrial applications, including the production of higher weight silicone polymers, and as a component of personal care and consumer products [3,4]. Due to their high vapour pressure (Table S1) [5,6], VMS are released into the atmosphere during the manufacturing processes and by the use of consumer product. The atmosphere is the major reservoir of VMS as well as the most important medium for their global distribution [7]. In addition, wastewater treatment plant (WWTPs) effluents become an important source of VMS to the environment because they are not totally removed during the wastewater treatment [8]. Once in the aquatic media, they are adsorbed in sediments and tend to bioaccumulate through the food web [2,10,11] due to their high hydrophobicity ( $\log K_{OW} > 3.85$ , Table S1) [3,5,9]. Several field works conducted in Norway [12], UK [13], Sweden [14], Scandinavia countries [1,15], and the European Arctic [2], demonstrated the important tendency of cyclic VMS to bioaccumulate in fish and other marine organisms. However, their effects to aquatic organisms are still unclear, but studies on laboratory animals revealed that they can cause estrogen mimicry, connective tissue disorders, adverse immunologic responses, and liver and lung damage [16-19]. VMS are not still legislated in the European Union and by the US Environmental Protection Agency (EPA), despite their potential risk for the marine ecosystem and their tendency to affect higher trophic level organisms including humans. Although information about their toxicity is still limited it is important to have an understanding of the occurrence and distribution of these compounds in the environment.

The Mediterranean Sea is an area that receives the impact of 21 bordering countries, being the rivers, run-off and WWTP effluent discharges considered the main sources of contamination. The Catalan coast, which is located in the NW Mediterranean Sea, is a highly populated and industrialized area with textile, tanneries, paper mills and chemical industries as principal sectors. This coastal area receives the water discharges of 6 main rivers, including the Ebro River which is one of the largest river basins in Spain that discharging to the Mediterranean Sea. The presence of several

pollutants derived from urban and industrial activities have been identified in the seawater of this coastal zone such as polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) [17], alkylphenols (APs) [18], nonionic surfactants [19], aromatic monosulfonic acids [20] and perfluorinated chemicals [21]. Regarding to the volatile methylsiloxanes, their presence has been detected in waters of the Llobregat and Besòs Rivers [22,23], which act as drivers of these pollutants into the Mediterranean Sea. Currently, there is no data available about the occurrence of VMS in the Mediterranean Sea, and this information is important to know the real impact that produces these pollutants in the marine environment. The use of mussel to assess the levels and trends of chemical pollution in coastal waters was first suggested in the mid-1970s [24]. This marine organism filters large volumes of seawater and it is able to accumulate pollutants in its tissues to a degree proportional to their bioavailability. Their limited capacity for metabolizing and their resistance to a wide range of contaminant levels, make them an ideal sentinel organism [25,26]. The usefulness of mussels as bioindicators is highly increased when chemical analysis is integrated with data on the biological effects of pollutants. Regarding the VMS, mussels have been used as sentinel organism to measure their presence in seawater of the Inner Oslofjord, Norway [15]. Published studies also show the use of different fish marine organisms to determine these pollutants in the aquatic media [2,12]. Since the mussel *Mytilus galloprovincialis* are the most abundant specie along extensive areas of the Mediterranean coast, it could be used as biomonitor organisms to assess the presence of VMS in this coastal zone. So far, there are few analytical methods published for the determination of VMS in biota. These methods are based on solvent extraction followed by direct injection in the gas chromatograph – mass spectrometer (GC-MS) [1,27] and purge and trap technique combined with and GC-MS [28]. The absence of a clean-up step in the sample treatment causes the contamination of the GC-MS system by the co-extracted matrix components, affecting its performance. Purge and trap method uses a long purging time (24 - 72h) that increases the analysis time and reduced the throughput. For these reasons, the development of new methods for the analysis of VMS in biota samples is required. Headspace-solid-phase microextraction (HS-SPME) has been widely used to the analysis of volatile in biological samples [29-32]. Some applications combine solvent extraction with HS-SPME to increase the selectivity of the method avoiding the contamination of the GC system [33]. To date, HS-SPME has not been used to the

analysis of VMS in biota samples, and can be an excellent alternative to existing methods.

The aim of this work was to develop a method using solvent extraction followed by HS-SPME-GC-MS to determine linear and cyclic methylsiloxanes in mussels. For this purpose, we evaluated several parameters affecting the extraction efficiency of HS-SPME method, such as the solvent extraction and matrix components to obtain maximum sensitivity and selectivity in the analysis of the VMS. Quality parameters, such as linearity, recovery, limits of detection and quantification and precision were established and the proposed method was applied to the analysis of linear and cyclic methylsiloxanes in mussels collected along the Catalan coastline in order to assess the occurrence of these contaminants in this area.

## 2. Experimental

### 2.1. Chemicals and Materials

Hexamethyldisiloxane (L2), octamethyltrisiloxane (L3), decamethyltetrasiloxane (L4), dodecamethylpentasiloxane (L5), hexamethylcyclotrisiloxane (D3), octamethylcyclotetrasiloxane (D4), decamethylcyclopentasiloxane (D5) and dodecamethylcyclohexasiloxane (D6) were obtained at a purity of over 97 % from ABCR (Darmstadt, Germany). Methyltris(trimethylsiloxy)silane (SS-1) and tetrakis(trimethylsiloxy)silane (SS-2) were used as surrogate internal standards for quantification of linear and cyclic methylsiloxanes. All these internal standards were also purchased from ABCR at a purity of over 97 %. Individual stock standard solutions of the target compounds and internal standards were prepared in acetonitrile from their respective pure standards at a concentration of 1000  $\mu\text{g ml}^{-1}$ . Secondary individual standard solutions were prepared by successive dilution of the stock standard solutions in acetonitrile to give concentrations of 10  $\mu\text{g ml}^{-1}$  for linear and 100  $\mu\text{g ml}^{-1}$  for cyclic methylsiloxanes. Six standard mixtures of the target compounds at concentrations ranging from 6 to 1000  $\text{ng ml}^{-1}$  for linear and between 400 and 32000  $\text{ng ml}^{-1}$  for cyclic methylsiloxanes were prepared in acetonitrile from the individual secondary standard solutions. Appropriate amounts of the surrogate internal standards SS-1 and SS-2 were added to each standard mixture to give concentrations

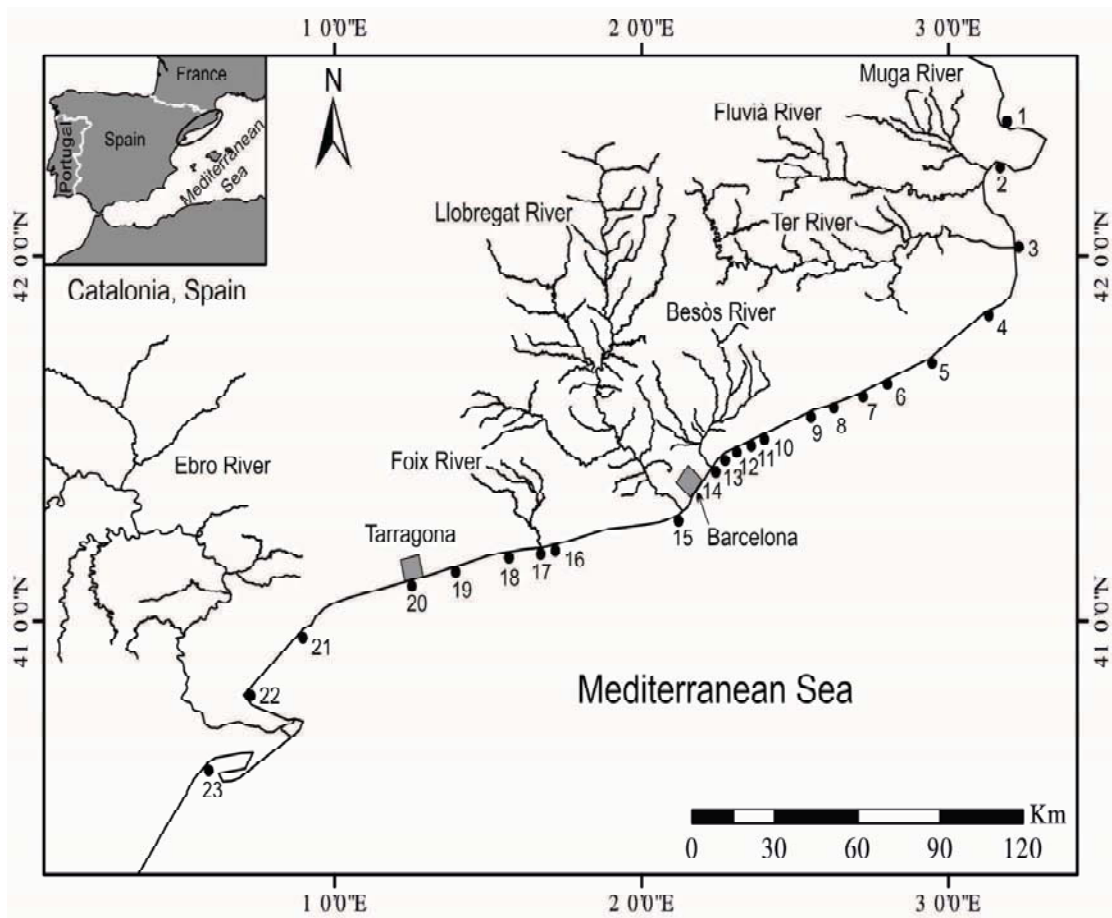
of 150 and 5000 ng ml<sup>-1</sup>, respectively. All standards were prepared monthly and stored at -20 °C and. For quantification by HS-SPME a matrix matched method was used. To this end, blank mussel extracts (2ml) were spiked with 20 µl of the standard mixtures to give concentrations ranging from 0.06 to 10 ng ml<sup>-1</sup> for linear and between 4 and 320 ng ml<sup>-1</sup> for cyclic methylsiloxanes. Matrix-matched calibration solutions for the HS-SPME analysis were prepared by adding 100 µl of the spiked extracts to 20 ml of natural mineral water contained into a 40 ml screw-cap glass vial fitted with black Viton septa (Supelco, Bellefonte, PA, USA) to obtain concentrations ranging from 0.3 to 50 ng L<sup>-1</sup> for linear and between 20 to 1600 ng L<sup>-1</sup> for cyclic methylsiloxanes. A standard mixture of the surrogate standards SS-1 (110 ng ml<sup>-1</sup>) and SS-2 (3330 ng ml<sup>-1</sup>) was prepared monthly from the corresponding secondary stock standard solutions in acetonitrile, and was added to the mussel samples prior solvent extraction for quantification.

Acetonitrile, *n*-hexane and acetone of residue analysis grade were obtained from Fluka (Bucks, Switzerland). Natural mineral water was obtained from Font Vella (San Hilari Sacalm, Spain). All glassware materials were treated with chromosulfuric acid for 24 h, solvent rinsed and dried at 150 °C before use. HS-SPME experiments were carried out using a manual SPME device purchased from Supelco (Bellefonte, PA, USA). A 65 µm polydimethylsiloxane/divinylbenzene (65µm-PDMS/DVB) fibre supplied from Supelco was used for the extraction of analytes. Before use, the fibre was conditioned in the GC injection port under helium flow according to the manufacturer's recommendation. After conditioning, fibre blanks were run periodically to ensure there were no contaminants or carryover present.

## *2.2. Sampling and sample processing*

The study area comprised the NW Mediterranean Sea along the Catalan coastline, from Llançà (42.3582° N, 3.1702° E) to Sant Carles de la Ràpita (40.6049° N, 0.5829° E) (Figure 1). Table 1 shows the location, coordinates and the characteristics of each sampling site. A total of twenty three sites were sampled during summer of 2012 and comprised municipalities with more than 5000 inhabitants, including Barcelona and Tarragona with a relatively high population density, and four river mouths (Besós River, Llobregat River, Ter River and Ebro River) with an important influence of

industrial and urban activities. Sampling area is a highly urbanized region that receives the continuous input from treated and untreated WWTP discharges, run-off and river waters. All WWTPs discharge treated effluents into the coastal waters via submarine sea emissaries (0.3 – 3.6 km from the coast at 30 m deep) that constitute the main source of the coastal water pollution [34]. Other important inputs of contaminants to the coastal waters are the river waters, especially the Besòs and Llobregat Rivers which flow through the highly populated and industrialized ring around Barcelona [35,36], and the coastal area around Tarragona city that is highly influenced by the petrochemical industries and refineries [37,38].



**Figure 1.** Sampling locations along the catalan coastline (NW Mediterranean Sea).

Mussel (*Mytilus galloprovincialis*) were manually collected at 0.3 m depth of each sampling site (~40 specimens, 5.0 – 8.0 cm shell length), and were immediately wrapped in pre-cleaned aluminium foil, stored at 0 °C and transported to the laboratory within 24 h. Once in the laboratory, the samples were processing into a laminar flow cabinet of a clean room camera to avoid any contamination from the

laboratory air. The mussels were then opened and the soft body parts were separate from the shell and rinsed with natural mineral water after removing the byssus threads.

**Table 1.** Sample code, location, coordinates and detailed description of each sampling site.

Sample code	Location	Coordinate		Site description
		N	E	
1	Llançà	42.3582	3.1702	Urban and touristic
2	Empuriabrava	42.2360	3.1260	Urban and touristic (Gulf of Roses)
3	Torroella de Montgrí	42.0236	3.1946	Ter River mouth
4	Palamós	41.8473	3.1215	Urban and touristic
5	Tossa de Mar	41.7214	2.9368	Urban and touristic
6	Blanes	41.6706	2.7914	Urban and touristic
7	Santa Susanna	41.6292	2.7190	Touristic
8	Sant Pol de Mar	41.6003	2.6253	Touristic
9	Arenys de Mar	41.5755	2.5460	Touristic and fishing
10	Cabrera de Mar	41.5040	2.3994	Touristic
11	Premià de Mar	41.4869	2.3546	Urban and touristic
12	El Masnou	41.4750	2.3074	Urban and industrial
13	Badalona	41.4307	2.2410	Urban and industrial
14	San Adrià del Besòs	41.4182	2.2335	Besòs River mouth
15	Prat de Llobregat	41.2874	2.1075	Near Llobregat River mouth
16	Cubelles	41.1972	1.6729	Foix River mouth
17	Vilanova i la Geltrú	41.2103	1.7199	Urban and fishing
18	Calafell	41.1859	1.5678	Urban and touristic
19	Torredembarra	41.1327	1.3961	Urban and touristic
20	Tarragona	41.1098	1.2534	Urban, petrochemical, industrial
21	L'Hospitalet de l'Infant	40.9663	0.8912	Urban and touristic
22	L'Ampolla	40.8085	0.8389	Near of Ebro River Delta
23	Sant Carles de la Ràpita	40.6049	0.5829	Near of Ebro River Delta

From each sampling site, pooled samples of 20 g were homogenised using an Ultra-Turrax homogenizer (Ultra-Turrax T25; IKA Werke GmbH & Co. KG, Staufen, Germany) and immediately stored at -18°C in preheated glass vials until the analyses.

### 2.3. Solvent extraction and HS-SPME analysis

For the analysis of the mussel samples, a solvent extraction step followed by HS-SPME was used. Briefly, aliquots of 1 g wet weight (ww) of each composite mussel sample (in triplicate) were weighted into 4 ml-vials, spiked with 30 µl of the surrogate standard solution to gives concentrations of 3 and 100 ng g<sup>-1</sup> ww of SS-1 and SS-2, respectively, and kept at 4°C overnight to equilibrate. SS-1 and SS-2 were used for quantification and to control the recovery of the linear and cyclic methylsiloxanes, respectively. The sample was then extracted by shaking for 30 min with 2 ml of acetonitrile at room temperature. After that, the extract was centrifuged at 3500 rpm



for 10 min and the solvent layer was transferred to a 2-ml vial. For the analysis of the target compounds, a HS-SPME method previously developed for the analysis of VMS in water sample [21] was used with minor modifications. Briefly, 20 ml of mineral natural water was placed in a 40 ml screw cap glass vial fitted with black Viton septa containing a PTFE-coated magnetic stir bar (10 mm x 5 mm), and a 100 µl aliquot of the mussel extract was added through the septum of the sample vial. To prevent any loss through the septum hole before the insertion of the SPME fibre, a stainless steel rod (0.55 mm O.D. x 15 mm of length) was used for closing the septum hole. Moreover, to avoid the possible adsorption of analytes the steel rod was not exposed to the headspace vapours. Before the HS-SPME analysis, the sample vial was vortex mixed for 3 min and conditioned for 10 min in a thermostatic water bath at the extraction temperature. The sample and the matrix-matched calibration solutions were extracted with a 65µm-PDMS/DVB fibre at 25°C for 40 min using a constant magnetic agitation rate of 750 rpm. Thermal desorption of the analytes was carried out by exposing the fibre in the GC injector port at 240°C for 2 min. To avoid possible carryover, the fibre was kept in the injector port for an additional time period of 5 min, with the injector port in split mode. Procedures blanks were run periodically during the analysis to check possible fiber contaminations. Further details about the optimisation of the HS-SPME procedure are given in section 3.1.

#### *2.4. GC-MS determination*

The determination of the linear and cyclic methylsiloxanes by GC-MS was carried out on a trace GC 2000 Series gas chromatograph (ThermoFisher, Milan, Italy) coupled to a DSQ II mass spectrometer (ThermoFisher, Milan, Italy). The chromatographic separation of the target compounds was performed on a DB-5 MS (5 % phenyl, 95 % methyl polysiloxane) fused silica capillary column (Agilent-J&W Scientific, Folson, USA) of 60 m x 0.25 mm I.D., 0.25 µm film thickness. The oven temperature was programmed from 40°C (held for 2 min) to 250°C at 10°C min<sup>-1</sup> (held for 5 min). Helium was used as a carrier gas at a constant flow-rate of 1 ml min<sup>-1</sup> held by electronic flow control. The injector temperature was maintained at 240°C and a splitless time of 2 min was used. A SPME glass inlet liner (I.D., 0.75 mm, SGE Europe) and a 23-gauge Merlin Micro-seal septum (Supelco, Bellefonte, PA, USA)

were used for the SPME analysis. The MS was operated in electron ionisation (EI) mode with an electron energy of 70 eV and an emission current of 250  $\mu\text{A}$ . Transfer line and ion source temperatures were set at 280°C and 200°C, respectively. For data acquisition, selected ion monitoring (SIM) mode was used at a dwell time of 100 ms and a delay time of 20 ms. Table 2 shows the ions selected for quantification and confirmation of the linear and cyclic methylsiloxanes using the GC-MS method. Quantification was carried out by matrix-matched method using methyltris(trimethylsiloxy)silane (SS-1) and tetrakis(trimethylsiloxy)silane (SS-2) as surrogate standards. Xcalibur version 2.0 software was used for data acquisition and results processing.

### *2.5. Quality control procedures*

Criteria for ensuring the quality of the data included specific tests for checking the GC separation, the sensitivity of the GC-MS, and the possible carryover between samples. Procedural blanks covering both instrumental and sample treatment procedures were routinely analysed for every five samples or standards to assess the contribution of background levels. In addition, a field blank was used for each sampling site in order to evaluate the field contamination of VMS via air deposition. The background contribution detected in the field blanks was subtracted from the analyte signal for quantification. A mussel sample with no detectable levels of the target compounds was used as blank for analytical optimisation. Due to the presence of methylsiloxanes in a great variety of consumer products, the analyst took care to avoid the use of personal care products or other possible contamination sources during the sampling and analysis. In addition, the preparation of standards, procedural blanks, and the sample treatment were performed in a laminar flow cabinet of a clean room (Class 100) to avoid any VMS contamination from laboratory air [22]. Method limits of detection (LOD), typically ranging from 0.03 to 4  $\text{ng g}^{-1}$  wet weight (ww), the linearity of matrix-matched calibration (from 0.3 to 50  $\text{ng L}^{-1}$  for linear and between 20 to 1600  $\text{ng L}^{-1}$  for cyclic methylsiloxanes), and the precision (generally  $\text{RSD}\% < 13\%$ ), were routinely checked to ensure the quality of the results. To confirm the identification of the target compounds, the following restrictive criteria were applied: (a) the ion abundance ratios between the selected ions monitored had to be within

**Table 2.** Quantification and confirmation ions, linear range and quality parameters of the proposed method obtained for linear and cyclic methylsiloxanes.

Compound	GC-MS (SIM)		Mussel samples				mLOD (ng g <sup>-1</sup> ww)	mLOQ (ng g <sup>-1</sup> ww)
	Quantification ion ( <i>m/z</i> ) <sup>a</sup>	Confirmation ion ( <i>m/z</i> ) <sup>a</sup>	Spiked level (ng g <sup>-1</sup> ww)	Mean ± sd <sup>b</sup> (ng g <sup>-1</sup> ww)	Spiked level (ng g <sup>-1</sup> ww)	Mean ± sd <sup>b</sup> (ng g <sup>-1</sup> ww)		
L2	147	131,117	1.6	1.8 ± 0.2	48	50 ± 3	0.03	0.1
L3	221	205,189	1.7	1.5 ± 0.2	47	47 ± 3	0.04	0.1
L4	207	295,191	1.8	1.7 ± 0.2	49	50 ± 2	0.04	0.1
L5	281	369,265	1.8	1.6 ± 0.2	50	53 ± 3	0.1	0.4
D3	207	191,177	9.9	9.9 ± 2	103	100 ± 5	4	10
D4	281	265,249	9.5	9.1 ± 1.1	102	99 ± 3	2	6
D5	355	267,339	9.4	9.0 ± 0.9	101	106 ± 6	2	6
D6	341	429,325	9.6	9.8 ± 0.8	104	101 ± 5	2	6

<sup>a</sup> Quantification ion: SS-1, *m/z* 295; SS-2, *m/z* 281; Confirmation ion: SS-1, *m/z* 207,281; SS-2, *m/z* 369,265.

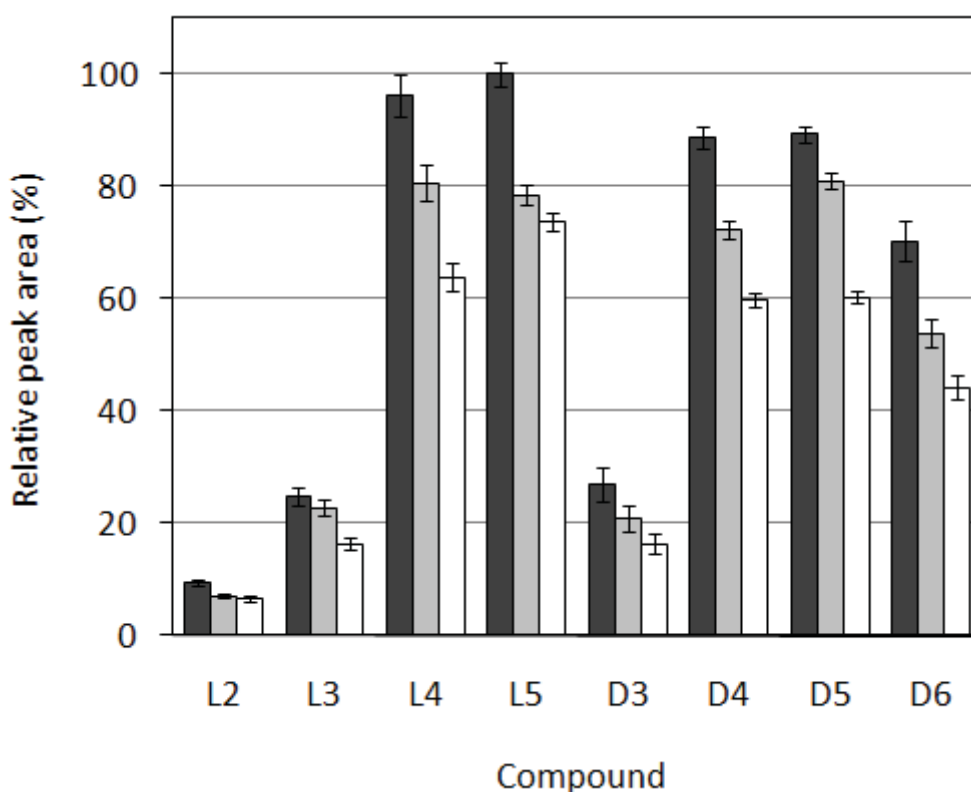
<sup>b</sup> Concentration: mean ± standard deviation, n=8.

$\pm 15\%$  of the theoretical value, and (b) the retention times had to be within  $\pm 2$  s of those observed for the standards.

### 3. Results and discussion

#### 3.1 Optimization of the extraction procedure

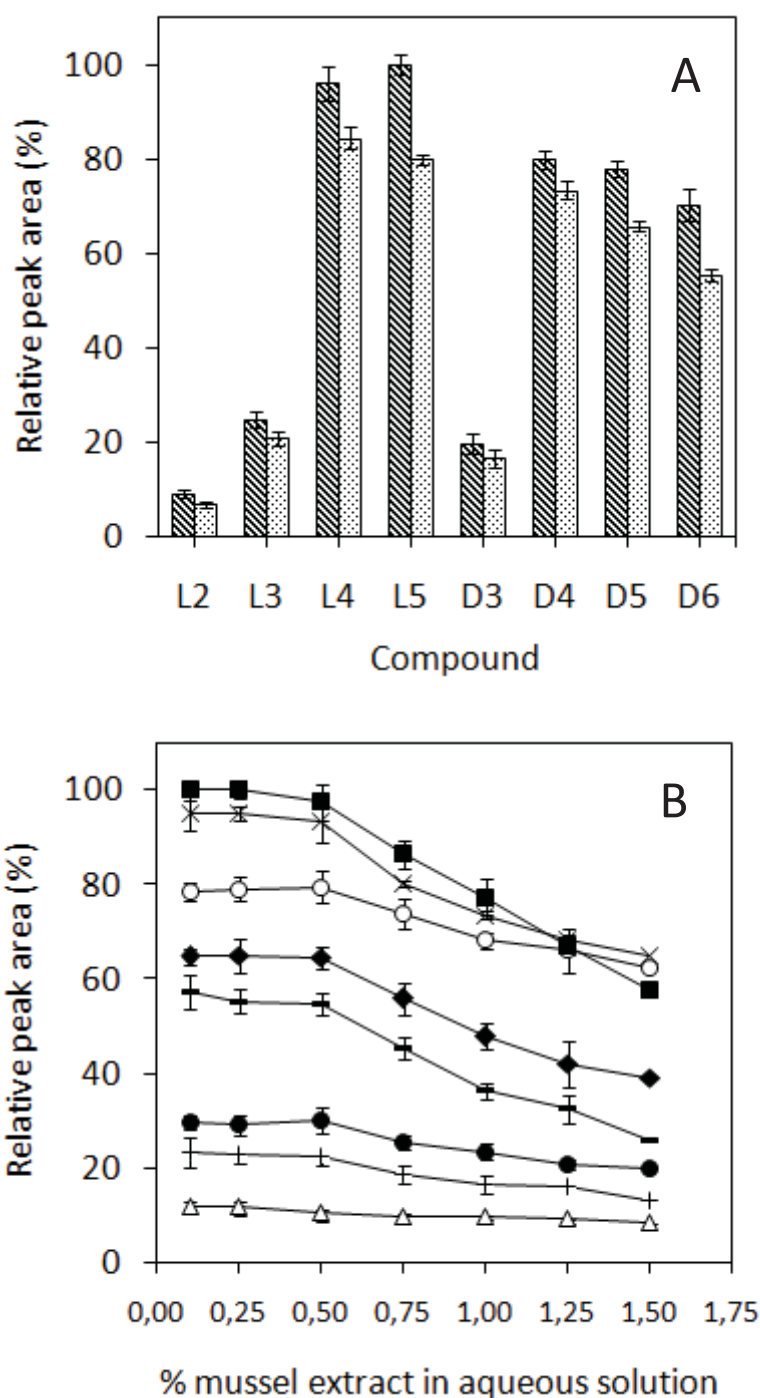
For the analysis of VMS in mussel samples, a method based on a solvent extraction procedure followed by HS-SPME extraction was developed. To this end, several parameters that affect the efficiency of the solvent extraction procedure and the partitioning of the analytes between the SPME fibre and headspace were studied and optimized sequentially. The first step of the study was the selection of the organic solvent for the extraction of the target compounds from the mussel matrix. For this



**Figure 2.** Effect of extraction solvents: acetonitrile (■), tetrahydrofuran (◻) and methanol (□), on the response of linear and cyclic methylsiloxanes from mussel samples (1g wet weight of mussel, 2 ml of each solvent, extraction time 30 min). (HS-SPME conditions are indicated in section 2.3.)

purpose, a blank mussel sample spiked at  $3 \text{ ng g}^{-1}\text{ww}$  for linear and  $100 \text{ ng g}^{-1}\text{ww}$  for cyclic VMS was extracted by shaking for 30 min with 2 ml of each studied solvent (methanol, tetrahydrofuran and acetonitrile). For the determination of VMS, an aliquot of 50  $\mu\text{l}$  of the organic extract was added to 20 ml of mineral water and analysed by HS-SPME-GC-MS using the conditions previously described in sections 2.3. and 2.4. Figure 2 shows the response, expressed as relative peak area (%), obtained for all de compounds using the studied solvents. As can be noted, acetonitrile was the solvent that provided the highest extraction efficiency for all the compounds and it was selected as extraction solvent for the analysis of VMS. To assure the quantitative extraction of the analytes, a re-extraction of the spiked blank sample was carried out using a fresh portion of 2 ml of acetonitrile. The HS-SPME analysis of this second extract showed the presence of VMS at very low concentrations (<5% of the spiked level), demonstrating that the quantitative recovery of all the compounds using only a extraction step.

It is known that the presence of organic solvents or matrix components in aqueous phase at a percentage higher than 1% (v/v) affect significantly to the distribution constant of the analytes between the fibre coating and the headspace, resulting in a decrease of extraction efficiency of the fibre [39]. Therefore, the effect on the HS-SPME extraction yield of the VMS due the presence of both acetonitrile and mussel components in the aqueous phase were evaluated. To this end, two aqueous solutions containing a percentage of 0.25% (v/v) of acetonitrile and blank mussel extract were spiked at  $10 \text{ ng L}^{-1}$  for linear and  $300 \text{ ng L}^{-1}$  for cyclic methylsiloxanes. These solutions were analysed using the HS-SPME-GC-MS method. Figure 3A shows the response obtained for all the compounds using pure acetonitrile and the mussel extract. As can be observed, the presence of matrix components on the aqueous phase caused a higher decrease on the extraction efficiencies than those found using only acetonitrile. To optimise the percentage of the mussel extract in the aqueous phase, different amounts of the spiked blank mussel extract, ranging from 0.1 to 1.5 % (v/v), were added to 20 ml of mineral water in a 40 ml vial and the solutions were analysed by HS-SPME-GC-MS. Figure 3B shows the response of the VMS in function of the percentages of the mussel extract in the aqueous phase. As can be seen, until a percentage of 0.50% (v/v) no significant differences in the peak areas were observed,



**Figure 3.** (A) Effect of acetonitrile (▨) and sample matrix (▩) on the extraction efficiency of linear and cyclic methylsiloxanes by HS-SPME using a percentage 0.25 % (v/v) of acetonitrile or mussel extract in the aqueous solution. (B) HS-SPME extraction efficiency of the target compounds using different percentages of mussel extract in the aqueous solution. (HS-SPME conditions are indicated in section 2.3.) Compounds: (△) L2, (●) L3, (×) L4, (■) L5, (+) D3, (○) D4, (◆) D5, (▬) D6.

while at higher values an important decrease in the extraction efficiency was obtained. In view of the results obtained a percentage of 0.50% (v/v) of the mussel extract in the aqueous phase was chosen for the HS-SPME analysis in order to obtain the highest response of the target analytes.

### 3.2. Performance of the analytical method

To examine the performance of the proposed method, quality parameters such as linearity, precision, accuracy and limits of detection and quantification, were established (Table 2). Linearity was studied using matrix-matched calibration solutions containing linear and cyclic methylsiloxanes at concentrations ranging 0.3 to 50 ng L<sup>-1</sup> for linear and between 20 to 1600 ng L<sup>-1</sup> for cyclic methylsiloxanes. Correlation coefficients (r) higher than 0.998 were obtained for all the compounds within the concentration range tested. Limits of detection (LODs) and quantification (LOQs) of the whole method were established by analysing field blanks in triplicate using the developed method. LODs and LOQs were determined as the concentration of analyte that provides a response equal to the mean of field blanks plus three and ten times the standard deviation, respectively. LODs ranged from 0.03 to 0.10 ng g<sup>-1</sup>ww for linear and from 1.5 to 4 ng g<sup>-1</sup> ww for cyclic methylsiloxanes, while LOQs were between 0.1 and 0.4 ng g<sup>-1</sup>ww for linear and from 5.7 to 10 ng g<sup>-1</sup>ww for cyclic methylsiloxanes (Table 2). These values were up to two orders of magnitude lower than those reported using solvent extraction [2,40,41], although for cyclic VMS the LODs are slightly higher than those obtained using purge and trap [28]. The accuracy and intra-day precision of the method was studied using blank mussel samples spiked at two concentration levels (low level: 2 ng g<sup>-1</sup>ww for linear and 10 ng g<sup>-1</sup>ww for cyclic methylsiloxanes; medium level: 50 ng g<sup>-1</sup>ww for linear and 100 ng g<sup>-1</sup>ww for cyclic methylsiloxanes). Eight independent analyses of the spiked mussel samples were carried out and the results obtained are given in Table 2. As can be seen, good agreement was achieved between the spiked concentrations and the obtained values with a relative standard deviation (RSD, %) lower than 14 % for all the compounds. In view of the results, the validity of the proposed method has been demonstrated and it can be proposed for the analysis of linear and cyclic methylsiloxanes in mussel samples. In addition, the developed method offers practical advantages over methods

reported in the literature such as a significant reduction of the sample treatment (~ 1h) and a high selectivity in the extraction of the VMS. For instance, methods based on purge and trap often requires a purge time of 24 – 72 h [28], and many of the solvent extraction methods directly inject the dirty extracts to the GC-MS [1,2,41,42].

### *3.3. Occurrence of linear and cyclic VMS in mussels.*

The occurrence of linear and cyclic methylsiloxanes in mussel collected along the Catalan coastline (NW Mediterranean Sea) as bioindicators of contamination was assessed using the developed method. A total of twenty three mussel samples were analysed in triplicate and the mean concentrations with the corresponding standard deviations are summarised in Table 3. The recovery of the surrogate SS-1 and SS-2 in all samples ranged from 89 to 96 %. Figure 4 shows, as an example, the GC-MS (SIM) chromatograms obtained for a mussels sample collected in Prat de Llobregat (sample 15). Generally, concentrations of cyclic methylsiloxanes in the analysed mussels (7.5 – 631 ng g<sup>-1</sup> ww) were up to three orders of magnitude higher than those found for linear methylsiloxanes (0.17 – 2.32 ng g<sup>-1</sup> ww). L5 and L4 were detected in fifteen out of the twenty three analysed samples with a highest values detected in levels were always below of the limits of detection of the method. The presence of the linear VMS in aquatic media is always associated with the WWTP discharges, and samples collected in the Besòs River mouth (sample 14, L4: 1.69 ± 0.16 ng g<sup>-1</sup> ww, L5: 2.32 ± 0.20 ng g<sup>-1</sup> ww). L3 was only detected in five out of the samples and L2 their detection at lower concentrations can be attributed to low production volume and uses compared with the cyclic methylsiloxanes. Similar concentrations were found in cod liver from the Inner Oslofjord, Norway (L4: 1.1 – 2.9 ng g<sup>-1</sup> ww and L5: 0.8 – 1.5 ng g<sup>-1</sup> ww) [15] and the Norwegian Arctic (L3: 0.13 and 0.33 ng g<sup>-1</sup> ww) [43], while a higher concentration value was found for L4 in flounder liver from the Wadden Sea, Denmark (33 ng g<sup>-1</sup> ww) [1].

Regarding the presence of cyclic methylsiloxanes in mussels, D5 was detected in all samples at levels ranging from 9 to 631 ng g<sup>-1</sup> ww. The concentration pattern in all studied samples is dominated by the D5 which accounted for more than 70 % of the total VMS concentrations. D6 (8.2 - 31 ng g<sup>-1</sup> ww) were detected in twelve out of the



**Table 3.** Concentrations of linear and cyclic methylsiloxanes (ng g<sup>-1</sup> wet weight) determined in mussels.

No.	Concentrations (mean ± SD) (ng g <sup>-1</sup> g ww) <sup>a</sup>							
	L2	L3	L4	L5	D3	D4	D5	D6
1	< 0.03 <sup>b</sup>	< 0.04 <sup>b</sup>	< 0.04 <sup>b</sup>	< 0.4 <sup>c</sup>	< 4 <sup>b</sup>	< 2 <sup>b</sup>	38 ± 4	8.2 ± 0.8
2	< 0.03 <sup>b</sup>	< 0.04 <sup>b</sup>	< 0.04 <sup>b</sup>	< 0.1 <sup>b</sup>	< 4 <sup>b</sup>	< 2 <sup>b</sup>	20 ± 2	< 2 <sup>b</sup>
3	< 0.03 <sup>b</sup>	0.30 ± 0.05	0.44 ± 0.07	0.80 ± 0.08	< 4 <sup>b</sup>	10 ± 2	103 ± 8	10.3 ± 1.0
4	< 0.03 <sup>b</sup>	< 0.04 <sup>b</sup>	< 0.04 <sup>b</sup>	< 0.4 <sup>c</sup>	< 4 <sup>b</sup>	< 2 <sup>b</sup>	38 ± 2	9.9 ± 1.2
5	< 0.03 <sup>b</sup>	< 0.04 <sup>b</sup>	0.22 ± 0.04	0.78 ± 0.11	< 4 <sup>b</sup>	< 2 <sup>b</sup>	29 ± 2	< 6 <sup>c</sup>
6	< 0.03 <sup>b</sup>	< 0.04 <sup>b</sup>	< 0.04 <sup>b</sup>	< 0.4 <sup>c</sup>	< 4 <sup>b</sup>	< 2 <sup>b</sup>	41 ± 3	< 6 <sup>c</sup>
7	< 0.03 <sup>b</sup>	0.17 ± 0.03	0.53 ± 0.07	0.58 ± 0.07	< 4 <sup>b</sup>	< 2 <sup>b</sup>	25 ± 4	9.4 ± 0.8
8	< 0.03 <sup>b</sup>	< 0.1 <sup>c</sup>	0.53 ± 0.06	0.91 ± 0.09	< 4 <sup>b</sup>	< 6 <sup>c</sup>	28 ± 3	8.8 ± 0.9
9	< 0.03 <sup>b</sup>	< 0.1 <sup>c</sup>	0.20 ± 0.04	0.43 ± 0.08	< 4 <sup>b</sup>	< 2 <sup>b</sup>	9 ± 1	< 6 <sup>c</sup>
10	< 0.03 <sup>b</sup>	< 0.1 <sup>c</sup>	< 0.1 <sup>c</sup>	0.49 ± 0.07	< 4 <sup>b</sup>	< 6 <sup>c</sup>	13 ± 2	< 6 <sup>c</sup>
11	< 0.03 <sup>b</sup>	< 0.1 <sup>c</sup>	0.32 ± 0.06	0.48 ± 0.09	< 4 <sup>b</sup>	< 2 <sup>b</sup>	16 ± 2	< 2 <sup>b</sup>
12	< 0.03 <sup>b</sup>	0.18 ± 0.03	0.90 ± 0.12	1.67 ± 0.25	< 4 <sup>b</sup>	< 6 <sup>c</sup>	160 ± 12	14 ± 2
13	< 0.03 <sup>b</sup>	0.25 ± 0.03	0.60 ± 0.07	0.61 ± 0.07	< 4 <sup>b</sup>	< 2 <sup>b</sup>	147 ± 6	13 ± 1
14	< 0.03 <sup>b</sup>	< 0.1 <sup>c</sup>	1.69 ± 0.16	2.32 ± 0.20	< 4 <sup>b</sup>	< 2 <sup>b</sup>	631 ± 19	31 ± 3
15	< 0.03 <sup>b</sup>	0.31 ± 0.06	0.43 ± 0.07	1.47 ± 0.16	< 4 <sup>b</sup>	20 ± 2	157 ± 9	16 ± 2
16	< 0.03 <sup>b</sup>	< 0.1 <sup>c</sup>	0.24 ± 0.03	0.57 ± 0.09	< 4 <sup>b</sup>	< 6 <sup>c</sup>	98 ± 6	14 ± 2
17	< 0.03 <sup>b</sup>	< 0.1 <sup>c</sup>	0.29 ± 0.06	0.39 ± 0.09	< 4 <sup>b</sup>	7.7 ± 0.5	38 ± 2	7.5 ± 0.5
18	< 0.03 <sup>b</sup>	< 0.1 <sup>c</sup>	< 0.1 <sup>c</sup>	0.45 ± 0.04	< 4 <sup>b</sup>	< 6 <sup>c</sup>	31 ± 1	< 6 <sup>c</sup>
19	< 0.03 <sup>b</sup>	< 0.04 <sup>b</sup>	< 0.1 <sup>c</sup>	< 0.4 <sup>c</sup>	< 4 <sup>b</sup>	< 6 <sup>c</sup>	25 ± 2	< 6 <sup>c</sup>
20	< 0.03 <sup>b</sup>	< 0.1 <sup>c</sup>	0.20 ± 0.04	0.43 ± 0.08	< 4 <sup>b</sup>	25 ± 3	79 ± 6	8.4 ± 0.9
21	< 0.03 <sup>b</sup>	< 0.04 <sup>b</sup>	< 0.1 <sup>c</sup>	< 0.4 <sup>c</sup>	< 4 <sup>b</sup>	< 2 <sup>b</sup>	45 ± 4	< 6 <sup>c</sup>
22	< 0.03 <sup>b</sup>	< 0.1 <sup>c</sup>	< 0.1 <sup>c</sup>	< 0.4 <sup>c</sup>	< 4 <sup>b</sup>	< 2 <sup>b</sup>	39 ± 3	< 6 <sup>c</sup>
23	< 0.03 <sup>b</sup>	< 0.04 <sup>b</sup>	< 0.04 <sup>b</sup>	< 0.4 <sup>c</sup>	< 4 <sup>b</sup>	< 2 <sup>b</sup>	30 ± 3	< 2 <sup>b</sup>

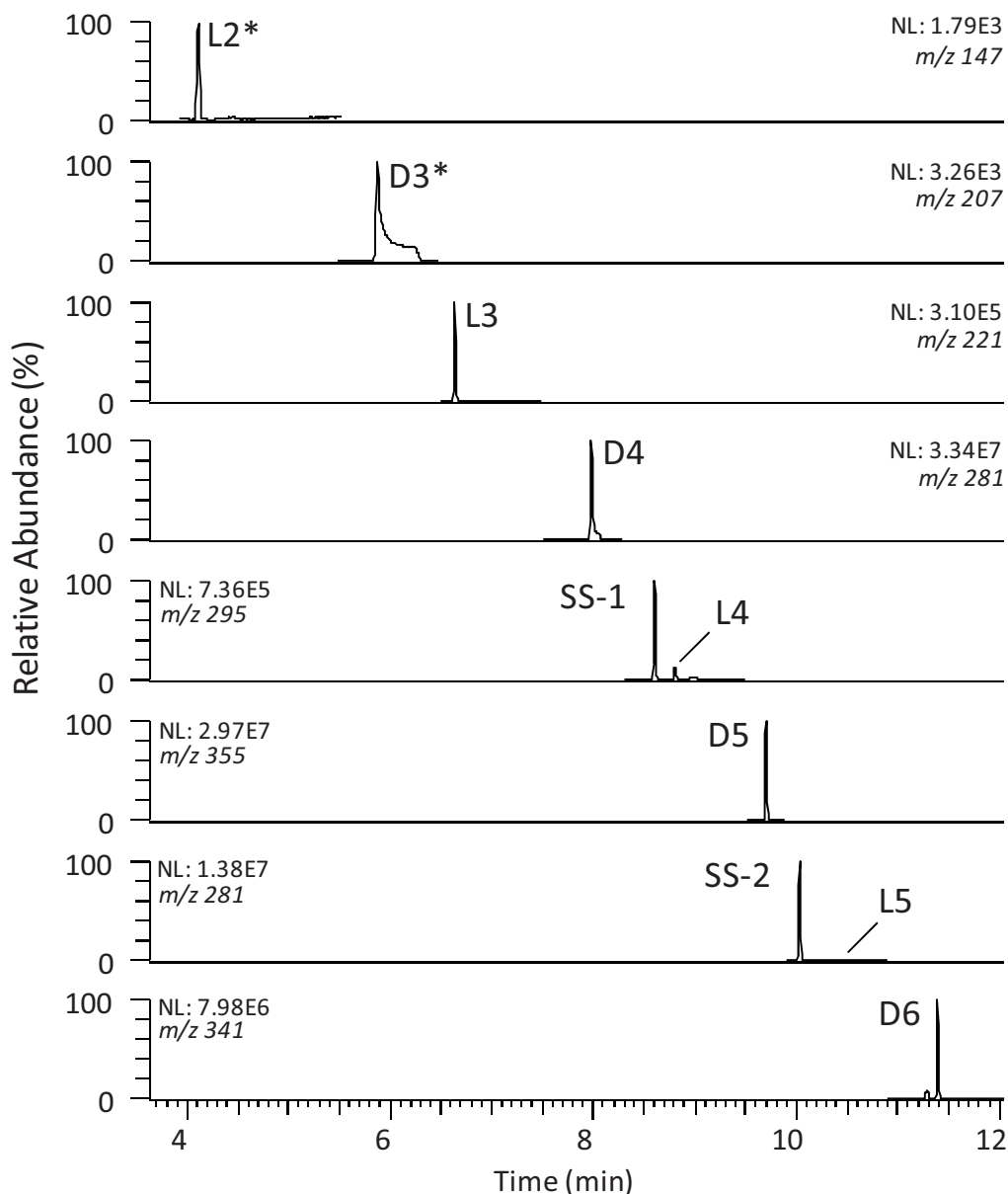
<sup>a</sup> n=3

<sup>b</sup> below method limit of detected.

<sup>c</sup> below method limit of quantification.

twenty three samples analysed, while D4 (7.7 - 25 ng g<sup>-1</sup> ww) was only determined in four samples and D3 was always below the detection limits. To our knowledge, this is the first report on the occurrence of methylsiloxanes in mussels from Spanish coastline. The concentration distribution profile obtained for these compounds (D5>D6>D4) was similar than those found for cyclic VMS in personal care and consumer products [43-45], which are considered to be the most important sources of these compounds in the marine environment. The highest concentration of D5 was found in mussels collected from Sant Adrià del Besós (sample 14: 631±19 ng g<sup>-1</sup> ww), followed by El Masnou, Badalona, Prat de Llobregat and Cubelles (samples 12, 13, 15 and 16, respectively: 98 – 160 ng g<sup>-1</sup> ww) that are located in the coastline near to Barcelona, and Torroella de Montgrí (sample 3: 103 ng g<sup>-1</sup> ww) where the levels

found could be attributed to the input of Ter River mouth. The highest values of D5 detected in samples from the Besòs River mouth could be related with the wastewater discharges of the highly populated and industrialized ring around Barcelona and the incomplete removal of these compounds in the WWTPs. In addition, relatively high levels of D5 were found in the mouth of Llobregat, Ter and Foix rivers which received extensive urban and industrial wastewaters, as well as surface runoff from agricultural



**Figure 4.** GC-MS (SIM) chromatograms of linear and cyclic volatile methylsiloxanes in a mussel sample collected near to the Llobregat River mouth (sample 15)(\*: Background contribution).

areas. The presence of D5 in mussels collected near of the Ebro river mouth (30 and 39 ng g<sup>-1</sup>ww) was also detected but at lower concentrations than those found in other river mouths. This fact could be attributed to the high flow of the Ebro river that produces a dilution effect of the contaminants [46,47]. D6 is also an important component of the personal care and consumer products, although it is always in these products and the environment at concentrations lower than those found for D5 [2,43].

In this study, D6 was mainly detected in mussels from Barcelona coastline, and it confirms that it is a highly polluted area. Similar to D5, the highest level of D6 was found in Sant Adrià del Besòs (sample 14: 31 ± 3 ng g<sup>-1</sup> ww), while lower concentrations ranging from 7.5 to 16 ng g<sup>-1</sup>ww were determined in the other sampling sites. The levels found for cyclic VMS in this study were similar to those found in fish muscle from the Humber Estuary, England (D4: 2.7 – 10.4 ng g<sup>-1</sup> ww, D5: 12 – 762 ng g<sup>-1</sup> ww and D6: 2.3 – 27 ng g<sup>-1</sup> ww) [13], and the Lake Mjøsa, Norway (D4: 2.9 – 4.5 ng g<sup>-1</sup> ww, D5: 6.4 – 230 ng g<sup>-1</sup>ww and D6: 0.82 – 7.2 ng g<sup>-1</sup> ww) [12], but up to two orders of magnitude higher than those reported for mussels from the Inner Oslofjord, Norway (D4: 1.3 – 2.3 ng g<sup>-1</sup>ww, D5: 3.3 – 8.7 ng g<sup>-1</sup>ww and D6: 1.3 – 1.8 ng g<sup>-1</sup>ww) [15]. In addition, similar levels were also detected for D4 (11 – 13 ng g<sup>-1</sup>ww) and D6 (5.2 – 8.7 ng g<sup>-1</sup>ww) in fish liver from coastal areas of Scandinavia and other Nordic Countries, although for D5 the concentrations were slightly lower (D5: 26 – 52 ng g<sup>-1</sup> ww) [1] than those determined in the present study. Similar concentration profiles were found for cyclic VMS in fish liver and muscle from the Norwegian Arctic (D4: 2.6 - 9.2 ng g<sup>-1</sup> ww, D5: 2.2 - 19.1 ng g<sup>-1</sup> ww and D6: 2.2 - 10.7 ng g<sup>-1</sup> ww) [48], although data reported for cod liver from the Inner Oslofjord (Norway) showed concentrations of cyclic methylsiloxanes up to one order of magnitude higher than those measured in the present study (D4: 70 – 134 ng g<sup>-1</sup> ww, D5: 1491 – 2200 ng g<sup>-1</sup> ww and D6: 74 – 152 ng g<sup>-1</sup> ww) [15].

## **5. Conclusions**

A method based on a solvent extraction with acetonitrile combined with a HS-SPME was developed for the analysis of linear and cyclic methylsiloxanes in mussels. In this method, the amount of the mussel extract in the aqueous phase was shown to be a

critical factor for minimising the matrix effect and increasing the extraction efficiency of the HS-SPME procedure. The proposed method provides a significant reduction in the analysis time (~ 1h) and a selective extraction of the target compounds, avoiding the presence of the matrix components into the GC-MS system. The method provides good linearity ( $r > 0.998$ ), precision ( $RSD < 14\%$ ) and low limits of detection (0.04 - 0.1 ng g<sup>-1</sup>ww for linear and 1.5 - 4 ng g<sup>-1</sup>ww for cyclic methylsiloxanes) and was applied to the analysis of VMS in mussels collected from the Catalan coastline as bioindicator of the siloxanes contamination. The highest concentration of cyclic VMS was detected in mussels collected from Barcelona coast indicating the important contribution of the urban and industrial activities to the coastal contamination. Among the VMS, D5 and D6 were the predominant compounds in all mussel samples, demonstrating that the personnel care and consumer products are the main sources of siloxane contamination. The developed method has shown to be capable of giving accurate and reproducible results for the analysis of linear and cyclic methylsiloxanes in mussels at low ng g<sup>-1</sup> ww levels, and can be proposed for the routine analysis of these compounds in mussels.

### **Acknowledgements**

The authors are very grateful for the financial support from the Spanish Ministerio de Ciencia e Innovación under project CTQ2012-30836.

### **References**

- [1] L. Kaj, M. Schlabach, J. Andersson, A. P. Cousins, N. Schmidbauer, E. Brorström-Lundén, Siloxanes in the Nordic Environment, Nordic Council of Ministers, Copenhagen, 2005, available at: <http://nordicscreening.org/index.php?module=Pagesetter&type=file&func=get&ti=5&fid=reportfile&pid=4> (accessed on 3 Marz, 2010).
- [2] N. A. Warner, A. Evenset, G. Christensen, G. W. Gabrielsen, K. Borga, H. Leknes, Environ. Sci. Technol. 44 (2010) 7705.
- [3] S. Varaprath, D. H. Stutts, G. E. Kozerski, Silicon Chemistry, 3 (2006) 79.

- [4] C. Lassen, C. L. Hansen, S. H. Mikkelsen, J. Maag, Siloxanes-Consumption, Toxicity and Alternatives, Danish Ministry of the Environment, Environmental Protection Agency, available at: <http://www2.mst.dk/udgiv/publications/2005/87-7614-756-8/pdf/87-7614-757-6.pdf> (accessed on 16 January, 2010).
- [5] S. M. Mazzoni (1997) Eco-relevant properties of organosilicon materials, pp. 53-82. In: Chandra, G.(Ed.) The Handbook of Environmental Chemistry. Part H. Organosilicon Materials, Vol. 3. Springer-Verlag, Berlin.
- [6] Y. D. Lei, F. Wania, D. Mathers, J. Chem. Eng. Data 55 (2010) 5868.
- [7] S. Xu and F. Wania, Chemosphere, 93 (2013) 835.
- [8] A.A. Bletsou, A.G. Asimakopoulos, A.S. Stasinakis, N.S. Thomaidis, and K. Kannan, Environ. Sci. Technol. 47 (2013) 1824.
- [9] S. Xu, B. Kropscott, Anal. Chem. 84 (2012) 1948.
- [10] C. Sparham, R. V. Egmond, C. Hastie, S. O'Connor, D. Gore, N. Chowdhury, J. Chromatogr. A 1218 (2011) 817.
- [11] Z. Zhang, H. Qi, N. Ren, Y. Li, D. Gao, K. Kannan, Arch. Environ. Contam. Toxicol. 60 (2011) 204.
- [12] K. Borga, E. Fjeld, A. Kierkegaard, M. McLachlan, [Environ. Sci. Technol. 46 \(2012\) 6347.](#)
- [13] A. Kierkegaard, R. van Egmond, M. S. McLachlan, Environ. Sci. Technol. 45 (2011) 5936.
- [14] A. Kierkegaard, A. Bignert, M. S. McLachlan, Chemosphere 93 (2013) 789.
- [15] M. Schlabach, M. S. Andersen, N. Green, M. Shoyen, L. Kaj, Siloxanes in the Environment of the Inner Oslofjord TA-2269/2007, 2007, available at: [www.klif.no/publikasjoner/2269/ta2269.pdf](http://www.klif.no/publikasjoner/2269/ta2269.pdf) (accessed on 5 March, 2013).
- [16] D.-G. Wang, W. Norwood, M. Alaei, J.D. Byer, S. Brimble, Chemosphere 93 (2013) 711.
- [17] R. A. Gimeno, A. F. M. Altelaar, R. M. Marcé, F. Borrull, J. Chromatogr. A, 958 (2002) 141.
- [18] R. Céspedes, S. Lacorte, A. Ginebreda, D. Barceló, Environ. Pollut. 153 (2008) 384.
- [19] M. Petrovic, A. R. Fernández-Alba, F. Borrull, R. M. Marce, E. González Mazo, D. Barceló, Environ. Toxicol. Chem. 21 (2002) 37.

- [20] M. Carmen Alonso, E. Pocurull, R. M. Marcé, F. Borrull, D. Barceló, *Environ. Toxicol. Chem.* 21 (2002) 2059.
- [21] M. Fernández SanJuan, J. Meyer, J. Damásio, M. Faria, C. Barata, S. Lacorte, *Anal. Bioanal. Chem.* 398 (2010) 1447.
- [22] E.Y. Companioni-Damas, F.J. Santos, M.T. Galceran, *Talanta* 89 (2012) 63.
- [23] J. Sanchís, E. Martínez, A. Ginebreda, M. Farré, D. Barceló, *Sci. Total Environ.* 443 (2013) 530.
- [24] E. D. Goldberg, *Mar. Pollut. Bull.* 6 (1975) 111.
- [25] E. Francioni, A. de L. R. Wadeger, A. L. Scofield, M. H. Depeledge, B. Cavalier, *Mar. Pollut. Bull.* 54 (2007) 329.
- [26] N. Nesto, S. Romaro, V. Moschino, M. Mauri, L. Daros, *Mar. Pollut. Bull.* 55 (2007) 469.
- [27] D. J. McGoldrick, J. Durham, H. Leknes, A. Kierkegaard, R. Gerhards, D. E. Powell, M. S. McLachlan, *Chemosphere* 85 (2011) 1241.
- [28] A. Kierkegaard, M. Adolfsson-Erici, M. S. McLachlan, *Anal. Chem.* 82 (2010) 9573.
- [29] F. Leduc, F. Krzewinski, B. Le Fur, A. N'Guessan, P. Malle, O. Kol, G. Duflos, *J. Sci. Food. Agric.* 92 (2012) 2560.
- [30] G. Duflos, F. Leduc, A. N'Guessan, F. Krzewinski, O. Kol, P. Malle, *J. Sci. Food. Agric.* 90 (2010) 2568.
- [31] S. T. Chan, M. W. Y. Yao, Y. C. Wong, T. Wong, C. S. Mok, D. W. M. Sin, *Eur. Food. Res. Technol.* 224 (2006) 67.
- [32] N. P. L. Tuckey, J. R. Day, M. R. Miller, *Food Chem.* 136 (2013) 218.
- [33] N. Fidalgo-Used, E. Blanco-González, A. Sanz-Medel, *Anal. Chim. Acta* 590 (2007) 1.
- [34] Agencia Catalana del Agua, Generalitat de Catalunya, available at: [http://aca-web.gencat.cat/aca/appmanager/aca/aca?\\_nfpb=true&\\_pageLabel=P1225554461208201540084](http://aca-web.gencat.cat/aca/appmanager/aca/aca?_nfpb=true&_pageLabel=P1225554461208201540084) (accessed on 18 February, 2014).
- [35] P. Castells, J. Parera, F. J. Santos, M. T. Galceran, *Chemosphere* 70 (2008) 1552.
- [36] E. Eljarrat, A. De la Gal, D. Larrazabal, B. Fabrellas, A. R. Fernández-Alba, F. Borrull, R. M. Marce, D. Barceló, *Environ. Pollut.* 136 (2005) 493.

- [37] M. Schuhmacher, J. Batiste, M. A. Nosque, J. L. Domingo, J. Corbella, *Sci. Total Environ.* 156 (1994) 269.
- [38] S. Díez, M. Ábalos, J. M. Bayona, *Water Res.* 36 (2012) 905.
- [39] J. Pawliszyn, SPME method development. In *Solid Phase Microextraction : Theory and Practice*, 1st edn (ed. J. Pawliszyn) 97-139 (Wiley-VCH, New York, 1997).
- [40] K. Woodburn, K. Drottar, J. Domoradzki, J. Durham, D. McNett, *Chemosphere* 93 (2013) 779.
- [41] D.-G. Wang, M. Alaei, H. Steer, T. Tait, Z. Williams, S. Brimble, L. Svoboda, E. Barresi, M. Dejong, J. Schachtschneider, *Chemosphere* 93 (2013) 741.
- [42] M. Carbonell, A. Navarro, J. Borrel, *Boletín Geológico y Minero* 115 (2004) 57.
- [43] Y. Horri, K. Kannan, *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* (2008) 701.
- [44] R. Wang, R. P. Moody, D. Koniecki, J. Zhu, *Environ. Int.* 35 (2009) 900.
- [45] Y. Lu, T. Yuan, W. Wang, K. Kannan, *Environ. Int.* 159 (2011) 3522.
- [46] R. López-Serna, M. Petrovic, D. Barceló, *Sci. Total Environ.* 440 (2012) 280.
- [47] B. Ferreira da Silva, A. Jelic, R. López-Serna, A. A. Mozeto, M. Petrovic, D. Barceló, *Chemosphere* 85 (2011) 1331.
- [48] A. Evenset, H. Leknes, G. N. Christensen, N. Warner, M. Remberger, G. W. Gabrielsen, *Screening of New Contaminants in Samples from the Norwegian Arctic*, Report 1049/2009, Norwegian Pollution Control Authority, available at: <http://www.miljodirektoratet.no/old/klif/publikasjoner/2510/ta2510.pdf> (accessed on 20 February, 2014).

**SUPPLEMENTARY MATERIAL**

**Table S1.** Physical-chemical properties of the linear and cyclic methylsiloxanes.

Compound	Abbrev	Molecular weight (g mol <sup>-1</sup> )	Water solubility (µg L <sup>-1</sup> , 25°C) <sup>a</sup>	Boiling point (°C)	Vapour pressure (Pa, 25 °C) <sup>b</sup>	log K <sub>ow</sub> <sup>b</sup>
<i>Linear methylsiloxane:</i>						
Hexamethyldisiloxane	L2	162	930.7	107	5620	4.2
Octamethyltrisiloxane	L3	236	34.49	153	520	4.80
Decamethyltetrasiloxane	L4	310	6.74	194	50	5.40
Dodecamethylpentasiloxane	L5	384	0.070	230	6.0	6.0
<i>Cyclic methylsiloxanes</i>						
Hexamethylcyclotrisiloxane	D3	222	1,560	135	1147	3.85
Octamethylcyclotetrasiloxane	D4	297	56.20	176	124.5 <sup>c</sup>	6.98 <sup>d</sup>
Decamethylcyclopentasiloxane	D5	371	17.03	211	20.4 <sup>c</sup>	8.07 <sup>d</sup>
Dodecamethylcyclohexasiloxane	D6	445	5.13	245	2.26 <sup>c</sup>	8.87 <sup>d</sup>

<sup>a</sup> from [3]; <sup>b</sup> from [5];

<sup>c</sup> Calculated as:  $K_{aw} = \text{Henry's law constant (Pa m}^3 \text{ mol}^{-1}) / R \times T$ ;  
Henry's law constant = Vapour pressure (Pa) / Solubility (mol m<sup>-3</sup>) [6].

<sup>d</sup> from [9]





**2.2.2 Extracción en fase sólida (SPE) e inyección splitless de grandes volúmenes con recondensación concurrente de disolvente (CSR-LVI)**

---

**2.2.2.1 ARTÍCULO CIENTÍFICO III:**

**Analysis of linear and cyclic methylsiloxanes in sewage sludges and urban soils by concurrent solvent recondensation – large volume injection – gas chromatography–mass spectrometry.**

E. Y. Companioni-Damas, F. J. Santos, M. T. Galceran

Journal of Chromatography A, 1268 (2012) 150– 156.





Contents lists available at SciVerse ScienceDirect

Journal of Chromatography A

journal homepage: [www.elsevier.com/locate/chroma](http://www.elsevier.com/locate/chroma)

# Analysis of linear and cyclic methylsiloxanes in sewage sludges and urban soils by concurrent solvent recondensation – large volume injection – gas chromatography–mass spectrometry

E.Y. Companioni-Damas, F.J. Santos\*, M.T. Galceran

Departament de Química Analítica, Universitat de Barcelona, Avda. Diagonal 645, 08028 Barcelona, Spain

## ARTICLE INFO

### Article history:

Received 27 July 2012

Received in revised form 21 October 2012

Accepted 22 October 2012

Available online 26 October 2012

### Keywords:

Linear and cyclic methylsiloxanes

Large volume splitless injection

Gas chromatography–mass spectrometry

Sewage sludge

Urban soil

## ABSTRACT

Concurrent solvent recondensation–large volume injection (CSR–LVI) is a gas chromatography injection technique that is particularly suitable for determining volatile compounds. In the present work, we evaluated the applicability of this technique for the analysis of linear and cyclic methylsiloxanes in sewage sludges and soils after solvent extraction to prevent losses of low-molecular-weight compounds. The CSR–LVI injection method was optimised to achieve maximum sensitivity and good chromatographic peak shapes. A liner packed with deactivated glass wool and a 5 m × 0.32 mm I.D. uncoated fused-silica precolumn was used. This made it possible to inject extract volumes of up to 30 µl. Good linearity ( $r > 0.9993$ ) and precision (RSD <15%), with recoveries ranging from 80 to 100% and method limits of quantification from 0.03 to 0.4 ng g<sup>-1</sup> wet weight (0.04–1.5 ng g<sup>-1</sup> dry weight for sewage sludges and 0.01–0.5 ng g<sup>-1</sup> dry weight for soils) were obtained. The developed method was applied to the analysis of linear and cyclic methylsiloxanes in sewage sludges collected from several wastewater treatment plants in Catalonia (NE Spain) and urban soils from the city of Barcelona.

© 2012 Elsevier B.V. All rights reserved.

## 1. Introduction

Polydimethylsiloxanes (PDMS) are a new group of emerging contaminants that represent a potential risk to the environment due to their bioaccumulative and persistence properties [1,2]. Because of their physico-chemical properties, such as high thermal stability, hydrophobicity, film-forming capacity and surface activity, they have been extensively used throughout the world in a wide range of industrial products and consumer goods, including electronics, personal-care products, cleaning agents and medical devices [3,4]. These compounds are released into the environment through volatilisation during manufacture processes and through the use of siloxane-based products [5]. Several studies suggest that some cyclic methylsiloxanes are potential carcinogens, can impair fertility and have endocrine-disrupting properties [5–7]. These suggestions have raised concerns about their effects on humans and the environment.

Recently, linear and cyclic methylsiloxanes have been found in environmental samples of air, water, sediment, soil, sludge and biota [1,2,8–18]. Very few papers have been published regarding their presence in sewage sludges and soils. In terms of soils, only

one paper has been published, by Sanchez-Brunette et al. [11], where the levels of linear and cyclic methylsiloxanes in agricultural and industrial soils from Spain were studied. Kaj et al. [5] and Zhang et al. [18] studied the presence of these compounds in sewage sludges from Nordic countries and China, respectively. Purge and trap [5], and solvent extraction [11,18] combined with gas chromatography–mass spectrometry (GC–MS) are the most commonly used methods for the analysis of these compounds in solid matrices. The main difficulties associated with their analysis are the relatively high volatility of these compounds and their occurrence in procedural blanks, mainly due to GC instruments and the laboratory air. To ensure reliable and reproducible results, there must be a thorough control of the blanks and prevention of losses, especially of the most volatile methylsiloxanes. A possible approach to solving this problem is to skip the preconcentration steps, although this results in a decrease in sensitivity. The use of large volume injection (LVI) techniques can be an excellent way to overcome sensitivity losses. The techniques most commonly used for LVI in gas chromatography are on-column (OC–LVI) and programmed temperature vaporisation (PTV–LVI) [19]. OC–LVI is proposed for most analytes from high to low volatility, including thermally labile compounds. However, this method is not sufficiently rugged for dirty samples containing matrix components with high boiling points, since the inertness of the precolumn and the efficiency of the chromatography peaks are lost [19,20].

\* Corresponding author. Tel.: +34 934034874; fax: +34 934021233.

E-mail address: [javier.santos@ub.edu](mailto:javier.santos@ub.edu) (F.J. Santos).

**Table 1**  
Retention time and quantification and confirmation ions selected for the analysis of linear and cyclic methylsiloxanes by CRV–LVI–GC–MS method.

Abbreviation	Name	Chemical formula	Retention time (min)	Quantification ion ( <i>m/z</i> )	Confirmation ion ( <i>m/z</i> )
D3	Hexamethylcyclotrisiloxane	C <sub>6</sub> H <sub>18</sub> O <sub>3</sub> Si <sub>3</sub>	10.38	207 [M–CH <sub>3</sub> ] <sup>+</sup>	191, 177
IS <sup>a</sup>	Bis(trimethylsiloxy)methylsilane	C <sub>7</sub> H <sub>22</sub> O <sub>2</sub> Si <sub>3</sub>	10.54	207 [M–CH <sub>3</sub> ] <sup>+</sup>	221, 191
L3	Octamethyltrisiloxane	C <sub>8</sub> H <sub>24</sub> O <sub>2</sub> Si <sub>3</sub>	10.84	221 [M–CH <sub>3</sub> ] <sup>+</sup>	205, 189
D4	Octamethylcyclotetrasiloxane	C <sub>8</sub> H <sub>24</sub> O <sub>4</sub> Si <sub>4</sub>	12.06	281 [M–CH <sub>3</sub> ] <sup>+</sup>	265, 249
SS-1 <sup>b</sup>	Methyltris(trimethylsiloxy)silane	C <sub>10</sub> H <sub>30</sub> O <sub>3</sub> Si <sub>4</sub>	12.90	295 [M–CH <sub>3</sub> ] <sup>+</sup>	207, 281
L4	Decamethyltetrasiloxane	C <sub>10</sub> H <sub>30</sub> O <sub>3</sub> Si <sub>4</sub>	13.16	207 [M–CH <sub>3</sub> –Si(CH <sub>3</sub> ) <sub>4</sub> ] <sup>+</sup>	295, 191
D5	Decamethylcyclopentasiloxane	C <sub>10</sub> H <sub>30</sub> O <sub>5</sub> Si <sub>5</sub>	14.46	355 [M–CH <sub>3</sub> ] <sup>+</sup>	267, 339
SS-2 <sup>b</sup>	Tetrakis(trimethylsiloxy)silane	C <sub>9</sub> H <sub>28</sub> O <sub>3</sub> Si <sub>4</sub>	15.00	281 [M–CH <sub>3</sub> –Si(CH <sub>3</sub> ) <sub>4</sub> ] <sup>+</sup>	369, 265
L5	Dodecamethylpentasiloxane	C <sub>12</sub> H <sub>36</sub> O <sub>4</sub> Si <sub>5</sub>	15.80	281 [M–CH <sub>3</sub> –Si(CH <sub>3</sub> ) <sub>4</sub> ] <sup>+</sup>	369, 265
D6	Dodecamethylcyclohexasiloxane	C <sub>12</sub> H <sub>36</sub> O <sub>6</sub> Si <sub>6</sub>	17.06	341 [M–CH <sub>3</sub> –Si(CH <sub>3</sub> ) <sub>4</sub> ] <sup>+</sup>	429, 325

<sup>a</sup> IS: internal standard.<sup>b</sup> SS: surrogate standard.

PTV–LVI provides higher ruggedness for dirty extract injections, which allows analysis of up to about 100–150 µl of sample at once using the solvent-split injection mode [19,21]. For volatile compounds, PTV splitless injection must be applied to prevent losses, but only up to 25 µl of sample can be injected [19]. Concurrent solvent recondensation (CSR) is an alternative large volume injection technique that was introduced by Magni and Porzane [22] and Biedermann et al. [23]. It is a splitless injection technique that allows the injection of up to 50 µl of sample in a conventional split/splitless injector and takes advantage of the high pressure increase in the injector port due to expansion of the solvent vapours and the strong suction effect caused by recondensation in the retention gap at a low temperature. Since there are no losses of high-volatile compounds, CSR–LVI splitless injection is suitable for the analysis of volatile compounds [24]. So far, the CSR–LVI technique has been used for a limited number of applications [24,25], despite its considerable advantages.

The aim of this paper was to develop a fast and sensitive method based on solvent extraction and CSR–LVI–GC–MS to analyse linear and cyclic methylsiloxanes in soils and sludges, preventing losses of the analytes during sample treatment. For this purpose, we evaluated the performance of the CSR–LVI injection technique by optimising several parameters that affect the sensitivity of the method, such as liner type, retention gap length, injector and initial oven temperatures, splitless time and injection volume. Finally, the proposed method was validated and applied to the analysis of linear and cyclic methylsiloxanes in sewage sludge and urban soil samples.

## 2. Experimental

### 2.1. Chemical and materials

The linear and cyclic methylsiloxanes studied were: octamethyltrisiloxane (L3), decamethyltetrasiloxane (L4), dodecamethylpentasiloxane (L5), hexamethylcyclotrisiloxane (D3), octamethylcyclotetrasiloxane (D4), decamethylcyclopentasiloxane (D5) and dodecamethylcyclohexasiloxane (D6). All of the compounds were obtained from ABCR (Darmstadt, Germany) and had a purity above 97%. For quantification, methyltris(trimethylsiloxy)silane (SS-1) and tetrakis(trimethylsiloxy)silane (SS-2) were used as surrogate internal standards, while bis(trimethylsiloxy)methylsilane (IS) was employed as internal standard. All of these standards were also purchased from ABCR (>97% purity). Individual stock standard solutions of the target compounds and internal standards were prepared in *n*-hexane from their respective pure standards at a concentration of 1000 µg ml<sup>-1</sup>. Standard mixtures of the target compounds at concentrations of 1 µg ml<sup>-1</sup> and 100 ng ml<sup>-1</sup> were prepared in *n*-hexane from the individual secondary standard

solutions of 10 µg ml<sup>-1</sup>. All standards were prepared monthly and were stored at –20 °C. A set of seven calibration solutions containing the linear and cyclic methylsiloxanes at concentrations ranging from 0.01 and 30 ng ml<sup>-1</sup> was prepared daily by dilution of the corresponding standard mixtures in *n*-hexane. In addition, appropriate amounts of the internal standard (IS) and the surrogates (SS-1 and SS-2) were added to each calibration solution to give concentrations of 5 ng ml<sup>-1</sup>, 3 ng ml<sup>-1</sup> and 3.5 ng ml<sup>-1</sup>, respectively. A mixture of the surrogate standards SS-1 (50 ng ml<sup>-1</sup>) and SS-2 (10 µg ml<sup>-1</sup>), prepared daily from the corresponding individual stock standard solutions in acetone, was added to the sample prior to extraction for quantification. In addition, a standard solution of IS at 50 ng ml<sup>-1</sup> in *n*-hexane was used as a syringe standard for recovery determination. *n*-Hexane of residue analysis grade was obtained from Fluka (Bucks, Switzerland). Anhydrous sodium sulphate (purity >99%) of residue analysis grade and fine copper powder of analysis grade (>99.7%) were obtained from Merck (Darmstadt, Germany). Before use, the anhydrous sodium sulphate was baked at 400 °C for 4 h and the copper powder was treated prior use with diluted nitric acid (regent grade, Fluka), rinsed with water (HPLC grade, Fluka) and acetone (residue analysis grade, Fluka), and dried using purified nitrogen. Strata SI-1 silica SPE cartridges (100 mg, 1 ml) were purchased from Phenomenex (Torrance, CA, USA).

### 2.2. Sludge and soil samples

Sludge samples were collected from six wastewater treatment plants (WWTPs) located in the region of Catalonia (NE Spain) in April 2011. Two of the WWTPs treat effluents of industrial and urban origin (WWTP 1 and 2), while the other WWTPs receive only urban sewage (WWTP 3–6). All of the plants carry out primary and secondary wastewater treatment. Surface urban soils (0–5 cm) were collected from six areas in the city of Barcelona (NE Spain) in November 2011. The sampling sites were natural parks located in different areas of the city that contain grass-covered zones or other vegetation types. Depending on the size of the area, several subsamples of top soil (0–5 cm) were collected at each site. Sludge and soil samples were shipped to our laboratory in glass containers without headspace under cool conditions (4 °C). Since no blank sludge samples could be found, a sludge sample of urban industrial origin was thermally treated for five days at 50 °C to remove the target compounds. After this treatment, an appropriate amount of water (75%) was added to this material for achieving similar moisture that that present in the sludge samples analysed (70–80%). Since the concentrations of linear and cyclic methylsiloxanes in this sample were lower than the limits of detection, it was used as a field/laboratory blank. For soil samples, an agricultural soil (20% moisture content) without detectable amounts of the target compounds was used as a blank for recovery and analytical optimisation.

**Table 2**  
Recoveries (%) and method limits of detection (mLOD) and quantification (mLOQ) of linear and cyclic methylsiloxanes using spiked sludge and soils samples.

Compound	Sludge <sup>a</sup>			Urban soil <sup>a</sup>		mLOD (ng g <sup>-1</sup> ww)	mLOQ (ng g <sup>-1</sup> ww)
	Recovery (%) ± SD <sup>b</sup>						
	Low level <sup>c</sup>	Medium level <sup>d</sup>	High level <sup>e</sup>	Low level <sup>c</sup>	Medium level <sup>d</sup>		
L3	80 ± 12	89 ± 4	94 ± 3	84 ± 9	94 ± 8	0.004	0.01
L4	82 ± 11	92 ± 5	99 ± 2	86 ± 8	98 ± 6	0.01	0.02
L5	84 ± 11	95 ± 3	102 ± 2	84 ± 8	96 ± 6	0.04	0.11
D3	–	93 ± 13	103 ± 10	92 ± 6	96 ± 7	0.11	0.37
D4	–	95 ± 12	101 ± 9	94 ± 8	94 ± 6	0.11	0.35
D5	–	91 ± 8	95 ± 6	91 ± 5	97 ± 4	0.14	0.36
D6	–	90 ± 7	99 ± 7	94 ± 7	95 ± 5	0.03	0.13

<sup>a</sup> Moisture content (%): 75% for sludge and 20% for urban soil.

<sup>b</sup> n = 6.

<sup>c</sup> Low level for spiked sludge: 5 ng g<sup>-1</sup> for linear methylsiloxanes. For spiked soil: 5 ng g<sup>-1</sup> for linear and 40 ng g<sup>-1</sup> for cyclic methylsiloxanes.

<sup>d</sup> Medium level for spiked sludge and soil: 100 ng g<sup>-1</sup> for linear and cyclic methylsiloxanes.

<sup>e</sup> High level for spiked sludge: 400 ng g<sup>-1</sup> for linear and cyclic methylsiloxanes.

### 2.3. Sample extraction and clean-up

For the analysis of blank, soil and sewage sludge samples, solid–liquid extraction and clean-up by solid-phase extraction (SPE) were used. Briefly, 0.5 g of wet sample (soil or sludge) was spiked with an appropriate amount of the surrogate standard solution in acetone to give concentrations of 50 ng g<sup>-1</sup> wet weight (ww) and 10 µg g<sup>-1</sup> ww for surrogates SS-1 and SS-2, respectively. Surrogate standard SS-1 was used for quantification and to control the recovery of the target compounds in each sample at low concentration levels (linear and cyclic methylsiloxanes in soils and linear methylsiloxanes in sludges), while the surrogate standard SS-2 was used for the target compounds present in the samples at high concentration levels (cyclic methylsiloxanes in sludges). The water content (%) of each sample was determined by drying an aliquot of 0.5 g at 105 °C to constant weight. Before extraction, the sample was kept overnight at 4 °C for equilibration and then mixed with 2 g of anhydrous sodium sulphate and kept at 4 °C for 3 h. The sample was then extracted by shaking for 10 min with 3 ml of *n*-hexane in a 5 ml closed vial containing 0.2 g of activated Cu. After that, the extract was centrifuged at 3500 rpm for 10 min and then cooled at 4 °C for 30 min before transferring the hexane layer was then transferred into a 5 ml vial. The sample was again extracted with 3 ml of *n*-hexane following the procedure described above, and the extract obtained was combined with the previous one and kept at 4 °C. The clean-up of the extract was then carried out using a silica SPE cartridge (100 mg, 1 ml), which was previously rinsed with 10 ml of *n*-hexane. Once the extract at 4 °C was loaded into the SPE cartridge (ca. 4.5 ml), 1.5 ml of *n*-hexane was passed through the sorbent to achieve complete elution of the target compounds. The final extract (ca. 5.5 ml) was collected into a 6 ml vial and stored at 4 °C. Before GC–MS analysis, an appropriate amount of bis(trimethylsiloxy)methylsilane, as the syringe internal standard, was added to an aliquot of 0.5 ml of the clean extract to give a concentration of 5 ng ml<sup>-1</sup>. For analysis of cyclic methylsiloxanes in the sewage sludge samples a dilution of the extract (1:200, w/w) was required for quantification.

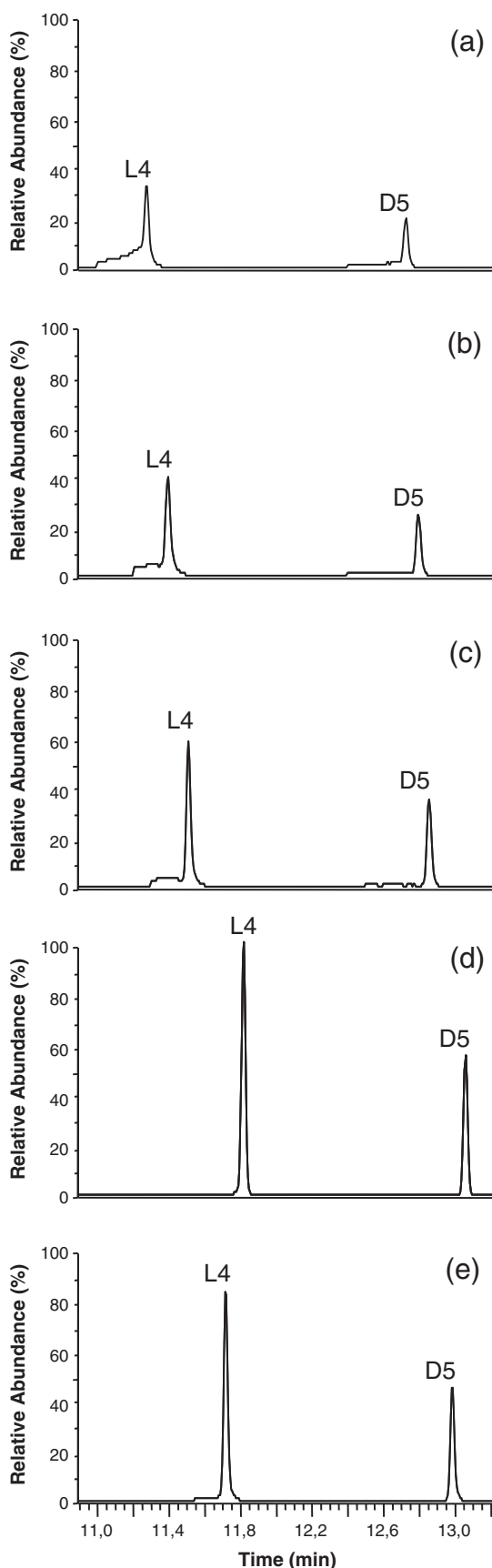
### 2.4. GC–MS determination

The GC–MS analysis of linear and cyclic methylsiloxanes was carried out on a TRACE GC 2000 Series Gas Chromatograph (ThermoFisher, Milan, Italy) coupled to a DSQ II Mass Spectrometer (ThermoFisher). An AS2000 autosampler (ThermoFisher) equipped with a 50 µl syringe (Hamilton, Bonaduz, Switzerland) was used for the CSR–LVI splitless injection. The syringe needle was inserted into the injector to a depth of 30 mm from the top and the injection was performed at 100 µl s<sup>-1</sup>. A glass liner of 105 × 5 mm I.D. filled

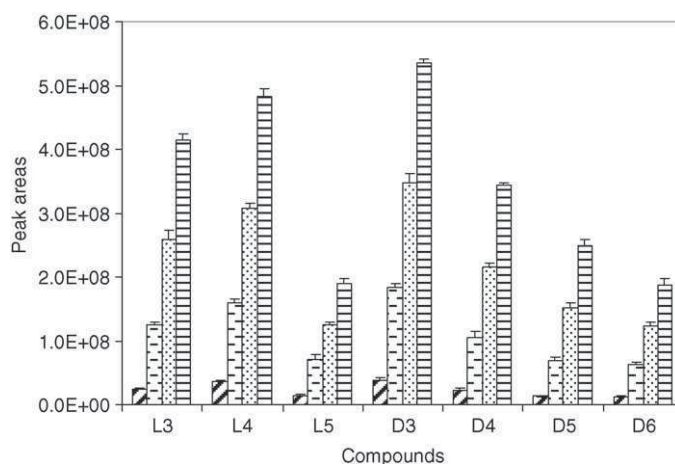
with 5 mm of deactivated glass wool (Panreac, Barcelona, Spain) in the base and a 23-gauge Merlin Microseal septum (a high temperature resistant fluorocarbon elastomer, Supelco, Bellefonte, PA, USA) were used for the CSR–LVI injection mode. Following optimisation of the injection volumes, 30 µl of the extracts and standards were used for analysis. Further details about the optimisation of the injection volume are given in Section 3.1. The chromatographic separation of the target compounds was performed on a DB-5 MS (5% phenyl, 95% methyl polysiloxane) fused-silica capillary column (J&W Scientific, Folsom, CA, USA) of 60 m × 0.25 mm I.D. with a film thickness of 0.25 µm. The column was fitted with an uncoated fused-silica deactivate column of 5 m × 0.32 mm I.D. (J&W Scientific) installed 2 mm from the injector port end. The oven temperature was programmed from 60 °C (held for 5 min) to 285 °C at 10 °C min<sup>-1</sup> (held for 15 min). Helium (Abelló Linde S.A., Barcelona, Spain) with a purity of 99.999% was used as carrier gas at a constant flow-rate of 1 ml min<sup>-1</sup> held by electronic flow control. The injector temperature was kept at 200 °C and the splitless mode (closing the split vent and septum purge for 1.5 min) was used for the CSR–LVI injections. The MS was operated in electron ionisation (EI) mode at electron energy of 70 eV and 100 µA of electron emission. Transfer line and ion source temperatures were set at 280 °C and 200 °C, respectively. For data acquisition, selected ion monitoring (SIM) mode was used at a dwell time of 100 ms and a delay time of 20 ms. Table 1 shows the ions selected for quantification and confirmation of the linear and cyclic methylsiloxanes using the GC–MS method. The quantification was carried out by internal standard method, using the surrogate standards methyltris(trimethylsiloxy)silane (SS-1) and tetrakis(trimethylsiloxy)silane (SS-2). For recovery determination, bis(trimethylsiloxy)methylsilane (IS) was used as internal standard and added to the extracts before GC–MS analysis. Xcalibur version 2.0 software was used for data acquisition and processing the results.

### 2.5. Quality control procedures

Specific tests to check the GC separation, the sensitivity of the GC–MS and the validity of the calibration were carried out daily. In addition, procedural blanks covering both instrumental and sample treatment procedures were routinely performed for every five samples or standards in order to evaluate the contribution of background levels which was subtracted from the analyte responses. Retention time and asymmetry factor control charts were used to ensure the performance of the GC–column (Fig. S1 in Supplementary data for L4 and D6). Instrumental limits of quantification, typically ranging from 0.001 to 0.03 ng ml<sup>-1</sup>, were periodically tested. In addition, quality parameters of the method, such as limit of detection (LOD) and quantification (LOQ), precision (generally

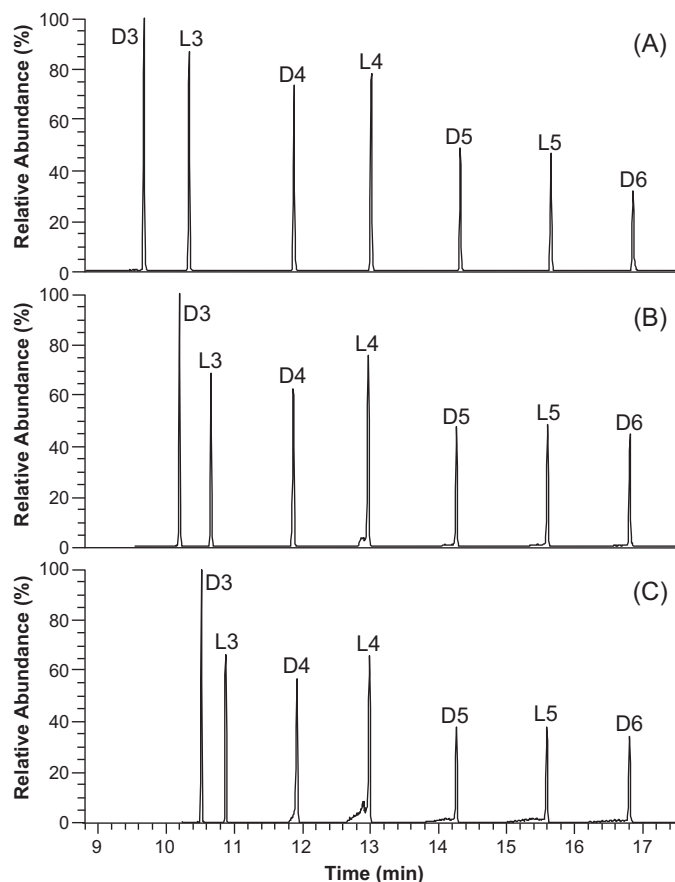


**Fig. 1.** Effect of the retention gap length: (a) 2 m, (b) 3 m, (c) 4 m and (d) 5 m  $\times$  0.32 mm I.D. (using a 5 mm I.D.  $\times$  105 mm of length) and the liner internal diameter: (e) 3 mm I.D.  $\times$  0.32 mm I.D. (using a 5 m  $\times$  0.32 mm I.D. retention gap) on the peak shape of L4 and D5.



**Fig. 2.** Effect of injection volume on the response of linear and cyclic methylsiloxanes using the CSR-LVI-GC-MS method. Injection volume: (▨) 1  $\mu$ l, (▤) 10  $\mu$ l, (⋯) 20  $\mu$ l and (▧) 30  $\mu$ l.

RSD <15%) and linearity (in the range of 0.1–30  $\text{ng ml}^{-1}$ ), were routinely checked to ensure the quality of the results. To prevent contamination problems during the GC-MS analysis of real samples, the glass wool of the liner was systematically replaced after 200 injections and the retention gap was changed every 6 months. Analysis of quality control sludge and soil samples (the blank sludge and blank soil spiked at 1 and 50  $\text{ng g}^{-1}$  dw, dry weight,



**Fig. 3.** CSR-LVI-GC-MS (SIM) chromatograms of a mixture of linear and cyclic methylsiloxanes obtained using different injection volumes: (a) 30  $\mu$ l, (b) 40  $\mu$ l and (c) 50  $\mu$ l.

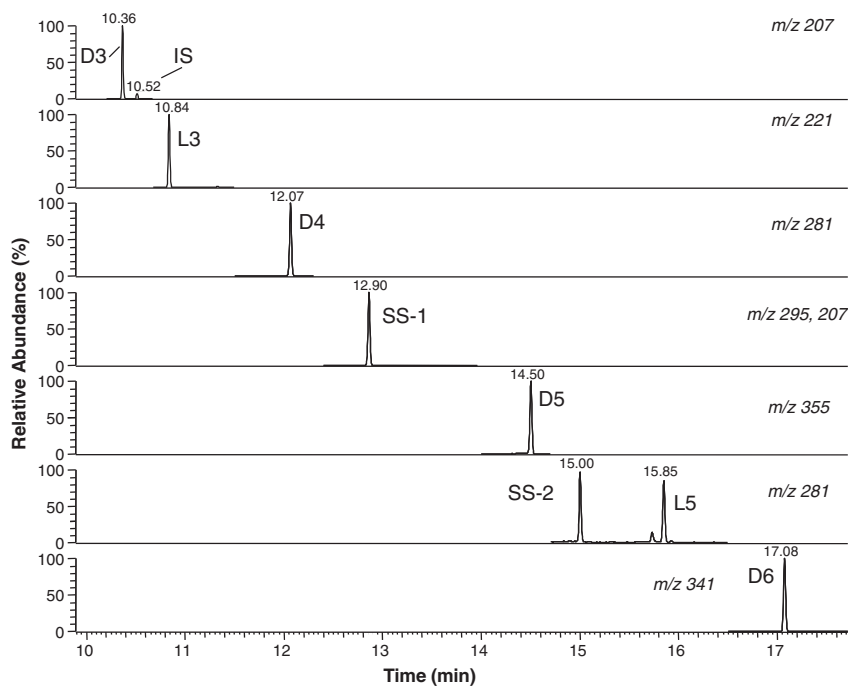


Fig. 4. CSR–LVI–GC–MS (SIM) chromatograms of a sewage sludge (sample 4) analysed by the proposed method.

for linear and cyclic methylsiloxanes, respectively) was performed to validate the proposed method. For each sample, a field blank was used to determine the contribution of the background contamination during sampling and storage. The preparation of standards, procedural blanks and sample treatments were carried out in a laminar flow cabinet of a clean room (class 100) to prevent contamination from the ambient air [9]. Because the methylsiloxanes are present in many consumer products, the analyst took care to avoid the use of personal care products or other possible contamination sources during sampling and analysis. All glassware materials were treated with chromosulphuric acid for 24 h, solvent rinsed and dried at 150 °C before use. To confirm the identification of methylsiloxanes, the following restrictive criteria were applied: (a) the ion abundance ratios between the selected ions monitored had to be within  $\pm 15\%$  of the theoretical value, and (b) the retention times had to be within  $\pm 2$  s of those observed for the standards.

### 3. Results and discussion

#### 3.1. Optimisation of the CSR–LVI conditions for GC–MS analysis

Due to the high volatility of some linear and cyclic methylsiloxanes, the inclusion of concentration steps before the GC–MS analysis resulted in partial losses of the target compounds by volatilisation. For instance, recoveries of L3 and D3 lower than 40% were obtained when the final extracts were concentrated by rotary evaporation. To increase sensitivity of the analysis avoiding evaporation steps, CSR–LVI was applied. This technique uses fast injection, a packed liner and an inert uncoated fused-silica precolumn (retention gap) for solvent recondensation after vaporisation in the injector port. When the sample is injected, its vapours are transferred from the injector into the precolumn due to the strong pressure pulse produced in the injector by the solvent evaporation and suction into the retention gap by solvent recondensation. This makes it possible to inject sample volumes higher than the 1–2  $\mu$ l typically injected in a conventional splitless injection.

The first step in the optimisation of the CSR–LVI technique was the selection of the appropriate liner volume and retention gap length to allow the injection of large volumes of samples and standards. Initially, retention gaps of several lengths (5 m, 4 m, 3 m and 2 m  $\times$  0.32 mm I.D.), were evaluated to obtain both maximum sensitivity and the best peak shape for all compounds. In all cases, a liner of 5 mm I.D. ( $\times$ 105 mm of length) was packed with deactivated glass wool, 5 cm from the base of the liner, in order to improve the sample vaporisation in the GC injector. For this study, 20  $\mu$ l of a standard solution containing all the target compounds at 20 ng ml<sup>-1</sup> in *n*-hexane was injected at 100  $\mu$ l s<sup>-1</sup> using an injector temperature of 250 °C, an initial temperature of 60 °C and a splitless time of 1 min. The effect of the retention gap length on the peak shapes of L4 and D5 is shown in Fig. 1a–d. Fronting peaks were observed for retention gaps up to 4 m of length (Fig. 1a–c), probably because the capacity of the precolumn for condensation of solvent was exceeded. In contrast, using a retention gap of 5 m of length (Fig. 1d), symmetric peaks were obtained. The influence of the liner volume on the peak shape was then evaluated using straight-through liners with two different diameters, 5 mm and 3 mm I.D. ( $\times$ 105 mm of length). Peak distortions were observed for the high-volatile compounds when a 3 mm I.D. liner was used as shown in Fig. 1e for L4, while 5 mm I.D. liner proved the best peak shapes (Fig. 1d for L4 and D5). Afterwards, the effect of the injection volume (1–50  $\mu$ l) on the response of the target compounds was evaluated. Fig. 2 shows the peak area obtained for linear and cyclic methylsiloxanes using injection volumes from 1 to 30  $\mu$ l. As can be seen, 30  $\mu$ l provided the highest responses for all compounds. At injection volumes higher than 30  $\mu$ l (Fig. 3), the peak shapes became distorted (fronting peaks) because the capacity of the retention gap for condensation of the solvent and trapping the analytes was exceeded, and the flooded zone could reach the analytical column. Since increasing the retention gap length resulted in wider peaks, an injection volume of 30  $\mu$ l was chosen as the optimum. Other parameters, such as injection temperature (180–250 °C), initial oven temperature (40–60 °C) and splitless time (0.5–2 min) were



also investigated. Increasing the injector temperature to 200 °C resulted in an enhancement of the peaks of the most volatile compounds (specially for D3), while at temperatures between 200 and 250 °C no significant differences on the peak area were observed (Fig. S2(A) in Supplementary data). Moreover, maximum responses were obtained for all the compounds after an splitless time of 1.5 min (Fig. S2(B) in Supplementary data). As regards to the initial oven temperature, a reduction of 2 min in the analysis time was observed when increasing the temperature from 40 to 60 °C (Fig. S3 in Supplementary data). In summary, the CSR–LVI optimal conditions for the analysis of methylsiloxanes were: a retention gap of 5 m × 0.32 mm I.D., a liner of 5 mm I.D. (× 105 mm of length), an injection volume of 30 µl and an injector temperature of 200 °C using an initial oven temperature of 60 °C and a splitless time of 1.5 min.

3.2. Performance of the analytical method

To examine the validity of the developed method, recovery and limits of detection and quantification were established using sludge and soil samples. In order to reduce background contamination, the samples were handled in a laminar flow cabinet [9]. Recoveries of the whole method for the target compounds were studied using a blank sludge sample spiked at three concentration levels, 5 ng g<sup>-1</sup> dw (low level), 100 ng g<sup>-1</sup> dw (medium level) and 400 ng g<sup>-1</sup> dw (high level), and a blank soil sample spiked at 5 ng g<sup>-1</sup> dw for linear and 40 ng g<sup>-1</sup> dw for cyclic methylsiloxanes (low level) and 100 ng g<sup>-1</sup> dw (medium level). Before analysis, the spiked samples were kept overnight at 4 °C for equilibration. Six independent analyses of each spiked sample were carried out using the developed method. Table 2 shows the recovery and the standard deviation obtained for each analyte and spiked level. Good recoveries ranging from 80 to 100% were obtained, even for the more volatile compounds such as L3 and D3, with a RSD lower than 15%. The recovery of the surrogate standards (SS-1 and SS-2) was also determined and ranged from 92 to 97% for the spiked sludge and soil samples. Limits of detection and quantification of the whole method were established by analysing field blanks in triplicate. LODs and LOQs were determined as the concentration of analyte that provides a response equal to the mean of field blanks plus three and ten times the standard deviation, respectively, and are given in Table 2. Taking into account the average moisture content of the sludge and the soil analysed (75% for sludge and 20% for soil) the method LOQs expressed on dry weight (dw) for linear and cyclic methylsiloxanes ranged between 0.04 and 1.5 ng g<sup>-1</sup> dw for sewage sludge and from 0.01 to 0.05 ng g<sup>-1</sup> dw for soils. These values are 10 to 100 times lower than those reported in the literature for soils [5,11] and similar to those published for sludges (0.28–1 ng g<sup>-1</sup> dw) [18].

3.3. Analysis of linear and cyclic methylsiloxanes in sludge and soil samples

To examine the applicability of the proposed method, six sewage sludge samples collected from several WWTPs located in the region of Catalonia (NE Spain) and six soil samples from urban natural parks in Barcelona, were analysed in triplicate. Table 3 shows the moisture content (%) of the analysed samples and the concentration mean values with their corresponding standard deviations obtained for linear and cyclic methylsiloxanes. Recoveries of the surrogate internal standards were always higher than 90% for all the samples. Fig. 4, as an example, the GC–MS (SIM) chromatograms obtained for the sewage sludge sample 4. All target compounds were found in the sewage sludge samples at concentrations ranging from 4.8 to 55 ng g<sup>-1</sup> dw for linear and 670 to 82,112 ng g<sup>-1</sup> dw for cyclic methylsiloxanes. These results are in agreement with those

**Table 3** Mean concentrations (ng g<sup>-1</sup> dry weight) of linear and cyclic methylsiloxanes found in sewage sludge and urban soil samples.

Compound	Sewage sludge						Urban soil					
	Sample 1	Sample 2	Sample 3	Sample 4	Sample 5	Sample 6	Sample 1	Sample 2	Sample 3	Sample 4	Sample 5	Sample 6
Moisture (%)	75	80	72	70	77	76	17	24	16	12	23	24
L3	24 ± 3	12 ± 1	20 ± 1	4.8 ± 0.3	45 ± 6	45 ± 6	< 0.005 <sup>b</sup>	< 0.006 <sup>b</sup>	< 0.005 <sup>b</sup>	< 0.005 <sup>b</sup>	< 0.006 <sup>b</sup>	< 0.006 <sup>b</sup>
L4	21 ± 1	11 ± 1	19 ± 2	5.5 ± 0.1	19 ± 1	47 ± 3	< 0.01 <sup>b</sup>	< 0.01 <sup>b</sup>	0.34 ± 0.03	< 0.01 <sup>b</sup>	< 0.01 <sup>b</sup>	< 0.01 <sup>b</sup>
L5	23 ± 1	21 ± 1	31 ± 1	43 ± 5	21 ± 1	55 ± 6	< 0.04 <sup>b</sup>	< 0.05 <sup>b</sup>	0.24 ± 0.02	< 0.04 <sup>b</sup>	< 0.05 <sup>b</sup>	< 0.05 <sup>b</sup>
D3	4148 ± 190	1204 ± 109	4642 ± 403	1012 ± 44	670 ± 50	2912 ± 99	< 0.15 <sup>b</sup>	< 0.16 <sup>b</sup>	< 0.14 <sup>b</sup>	< 0.14 <sup>b</sup>	< 0.16 <sup>b</sup>	< 0.16 <sup>b</sup>
D4	8078 ± 562	4402 ± 152	15,070 ± 499	3539 ± 136	2528 ± 208	14,673 ± 430	< 0.14 <sup>b</sup>	< 0.15 <sup>b</sup>	< 0.14 <sup>b</sup>	< 0.13 <sup>b</sup>	< 0.15 <sup>b</sup>	< 0.15 <sup>b</sup>
D5	19,272 ± 1596	9214 ± 963	49,919 ± 5253	2106 ± 209	3185 ± 273	82,112 ± 2847	11 ± 1	15 ± 2	30 ± 4	11 ± 1	14 ± 1	14 ± 2
D6	10,597 ± 964	1954 ± 101	4069 ± 51	2465 ± 339	1840 ± 114	11,935 ± 592	35 ± 3	47 ± 5	36 ± 3	12 ± 1	7.2 ± 0.5	11 ± 1

<sup>a</sup> n = 3.

<sup>b</sup> < mLLOD (ng g<sup>-1</sup> dry weight).

reported in the literature on sewage sludge samples collected in the European Nordic countries [5,6] ( $<1\text{--}550\text{ ng g}^{-1}$  dw for linear and  $96\text{--}89,000\text{ ng g}^{-1}$  dw for cyclic methylsiloxanes). The differences between the levels found in linear and cyclic methylsiloxanes ( $\sim 3$  orders of magnitude) can be attributed to the higher production and use of cyclic methylsiloxanes in the European Union [5,27]. In contrast, linear methylsiloxanes levels found in sewage sludges from China [18] were higher than those of cyclic compounds, probably due to a greater use of linear compounds in this country. The concentration pattern of cyclic methylsiloxanes in all of the studied samples is dominated by the D5, which is the main siloxane component in consumer products such as personal-care products [26,28]. To the best of our knowledge, this is the first report on the occurrence of siloxanes in sewage sludge from Spanish WWTPs. For the urban soil samples (Table 3), only D5 and D6 were found at concentration levels ranging from  $11$  to  $30\text{ ng g}^{-1}$  dw and from  $7.2$  to  $47\text{ ng g}^{-1}$  dw, respectively. For linear methylsiloxanes, only L4 and L5 were detected in sample 3 at very low concentration levels ( $0.34\text{ ng g}^{-1}$  and  $0.24\text{ ng g}^{-1}$ , respectively). These concentration levels are in line with those reported in the literature on agricultural soils ( $9.2\text{--}56.9\text{ ng g}^{-1}$  dw for D5 and  $5.8\text{--}27.1\text{ ng g}^{-1}$  dw for D6) [8] and are lower than those found in industrial soils ( $22.3\text{--}184.1\text{ ng g}^{-1}$  dw for D5 and  $28.2\text{--}482.6\text{ ng g}^{-1}$  dw for D6) [11]. Since the urban soils analysed come from natural parks in the city of Barcelona, the presence of methylsiloxanes may be attributed to atmospheric deposition.

#### 4. Conclusions

A CSR–LVI–GC–MS method has been developed for the determination of linear and cyclic methylsiloxanes in sewage sludges and soil samples. The use of CSR–LVI technique allowed the injection of  $30\text{ }\mu\text{l}$  of sample extract in a standard split/splitless injector improving the detectability and making possible the elimination of concentration steps during sample treatment. This was crucial for preventing losses of the most volatile compounds. Among the CSR–LVI parameters, the retention gap length and the liner internal diameter were found to be most critical factors affecting the sensitivity of the method. The proposed method has shown to be capable of giving accurate and reproducible results with enough selectivity and sensitivity at  $\text{ng g}^{-1}$  levels and can be proposed for the analysis of linear and cyclic methylsiloxanes in sewage sludge and soil samples.

#### Acknowledgements

The authors are very grateful for the financial support from the Spanish Ministerio de Ciencia e Innovación under project CTQ2009-09253. E.Y. Companioni also thanks the Ministry of Foreign Affairs and Cooperation of Spain (MEAC) and the Spanish Agency for International Cooperation (AECI) for a PhD.

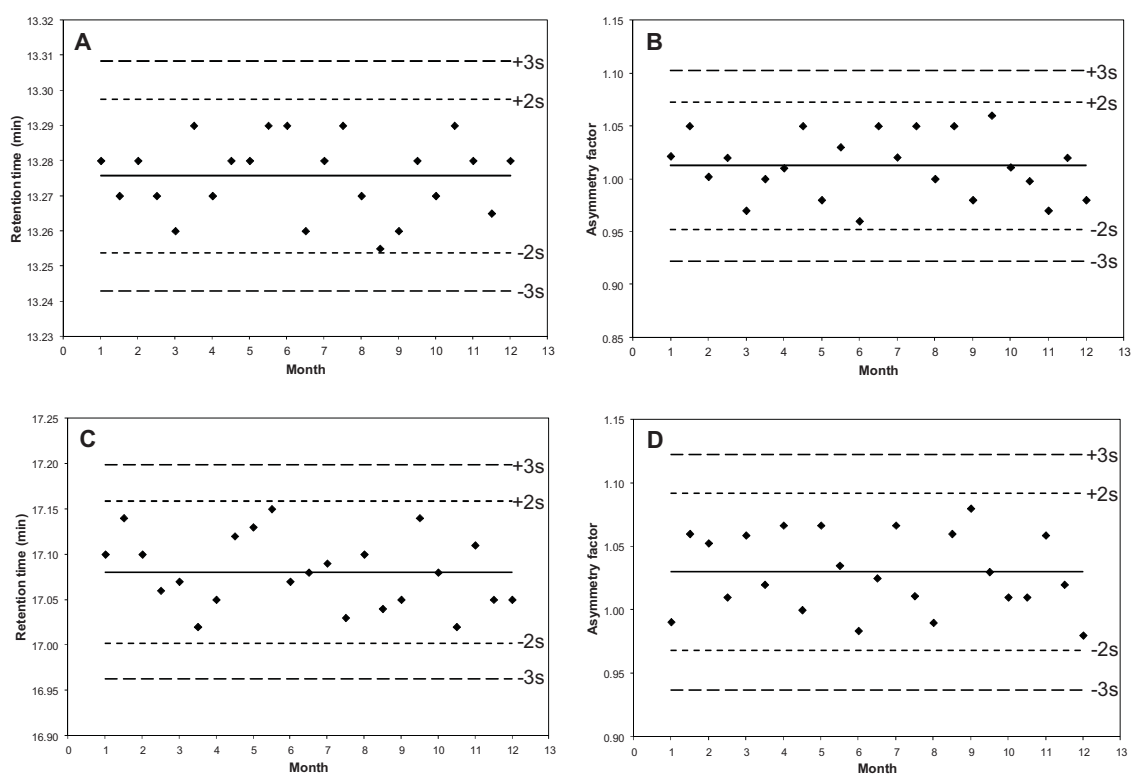
#### Appendix A. Supplementary data

Supplementary data associated with this article can be found, in the online version, at <http://dx.doi.org/10.1016/j.chroma.2012.10.043>.

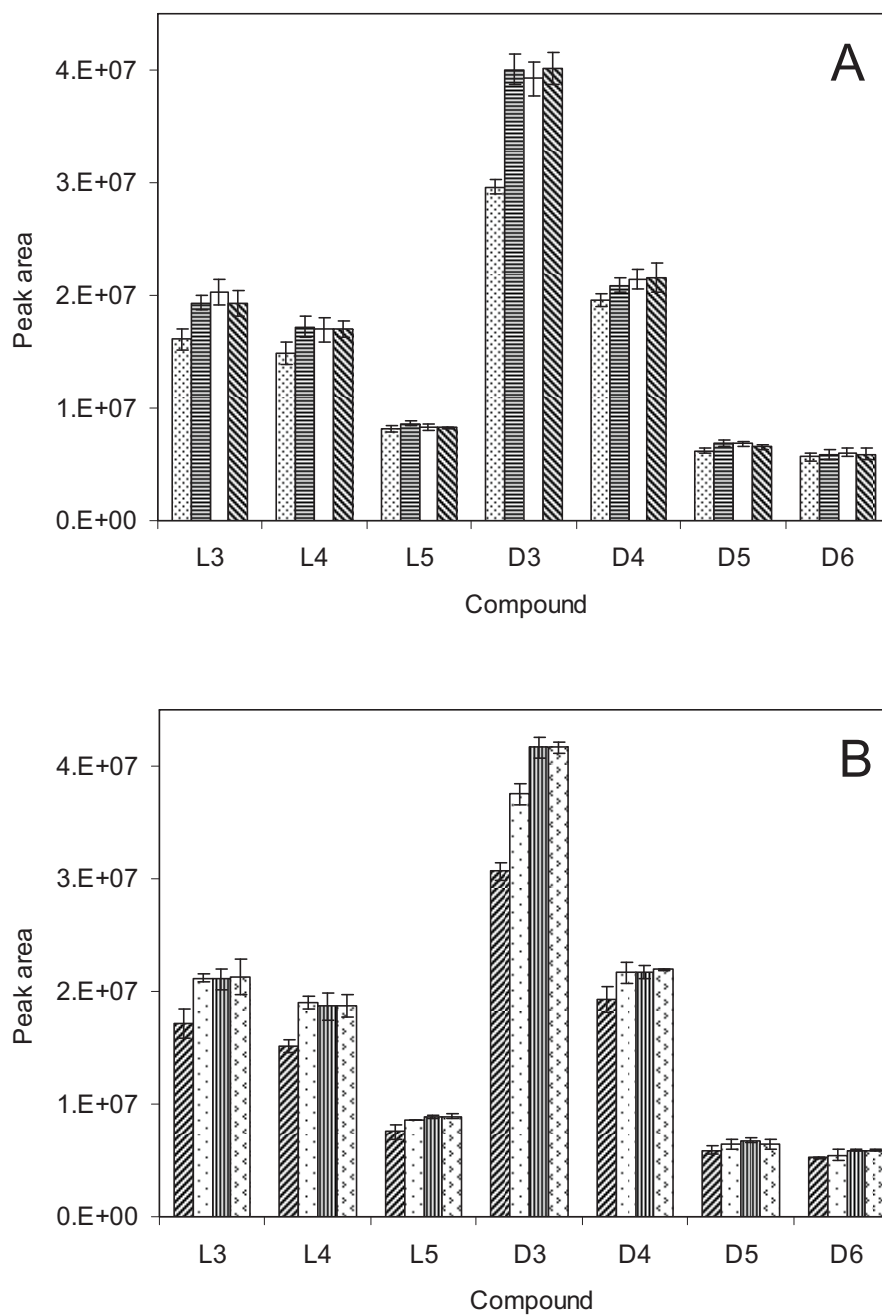
#### References

- [1] S. Genualdi, T. Harner, Y. Cheng, M. MacLeod, K.M. Hansen, R. Van Egmond, M. Shoiëb, S.C. Lee, *Environ. Sci. Technol.* 45 (2011) 3349.
- [2] N.A. Warner, A. Evenset, G. Christensen, G.W. Gabrielsen, K. Borga, H. Leknes, *Environ. Sci. Technol.* 44 (2010) 7705.
- [3] C. Lassen, C.L. Hansen, S.H. Mikkelsen, J. Maag, *Siloxanes-Consumption, Toxicity and Alternatives*, Danish Ministry of the Environment, Danish Environmental Protection Agency, COWI A/S, Environmental Project No. 1031, available from: <http://www2.mst.dk/Udgiv/publications/2005/87-7614-756-8/pdf/87-7614-6.pdf>, 2005 (accessed 16.04.10).
- [4] S. Varapath, D.H. Stutts, G.E. Kozerski, *Silicon Chem.* 3 (2006) 79.
- [5] L. Kaj, M. Schlabach, J. Andersson, A.P. Cousins, N. Schmidbauer, E. Brorström-Lundén, *Siloxanes in the Nordic Environment*, Nordic Council of Ministers, Copenhagen, available at: <http://nordicscreening.org/index.php?module=Pagesetter&type=file&func=get&tid=5&fid=reportfile&pid=4>, 2005 (accessed 03.03.10).
- [6] L. Kaj, J. Andersson, A.P. Cousins, M. Remberger, Y. Ekheden, B. Dusan, E. Brorström-Lundén, I. Cato, *Results from the Swedish National Screening Programme 2004, Subreport 4: Siloxanes*, IVL Report B1643, Swedish National Research Institute, Stockholm, available at: <http://www.ivl.se/download/18.2f3a7b311a7c806443800055371/B1643.pdf>, 2005 (accessed 10.03.10).
- [7] Y. Lu, T. Yuan, S.H. Yun, W. Wang, Q. Wu, K. Kannan, *Environ. Sci. Technol.* 44 (2010) 6081.
- [8] A. Kierkegaard, M.S. McLachlan, *J. Chromatogr. A* 1217 (2010) 3557.
- [9] E.Y. Companioni-Damas, F.J. Santos, M.T. Galceran, *Talanta* 89 (2012) 63.
- [10] R. Sparham, S. Van Egmond, C. O'Connor, M. Hastie, R. Whelan, O. Kanda, *Franklin, J. Chromatogr. A* 1212 (2008) 124.
- [11] C. Sánchez-Brunete, E. Miguel, B. Alberó, J.L. Tadeo, *J. Chromatogr. A* 1217 (2010) 7024.
- [12] X.M. Wang, S.C. Lee, G.Y. Sheng, L.Y. Chan, J.M. Fu, X.D. Li, Y.S. Min, C.Y. Chan, *Appl. Geochem.* 16 (2001) 1447.
- [13] R. Dewil, L. Appels, J. Baeyens, A. Buczynska, L. Van Vaeck, *Talanta* 74 (2007) 14.
- [14] A. Kierkegaard, R. Van Egmond, M. McLachlan, *Environ. Sci. Technol.* 45 (2011) 5936.
- [15] R. Sparham, R.V. Egmond, C. Hastie, S. O'Connor, D. Gore, N. Chowdhury, *J. Chromatogr. A* 1218 (2011) 817.
- [16] K. Borga, E. Fjeld, A. Kierkegaard, M.S. McLachlan, *Environ. Sci. Technol.* (2012), doi:10.1021/es300875d.
- [17] A. Kierkegaard, M. Adolfsson-Erici, M.S. McLachlan, *Anal. Chem.* 82 (2010) 9573.
- [18] Z. Zhang, H. Qi, N. Ren, Y. Li, D. Gao, K. Kannan, *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 60 (2011) 204.
- [19] E. Hoh, K. Mastovska, *J. Chromatogr. A* 1186 (2008) 2.
- [20] E.M. Kristenson, S. Angioi, R.J.J. Vreuls, M.C. Gennaro, U.A.T. Brinkman, *J. Chromatogr. A* 1058 (2004) 243.
- [21] W. Engewald, J. Teske, J. Efer, *J. Chromatogr. A* 856 (1999) 259.
- [22] P. Magni, T. Porzane, *J. Sep. Sci.* 26 (2003) 1491.
- [23] M. Biedermann, A. Fiscalini, K. Grob, *J. Sep. Sci.* 27 (2004) 1157.
- [24] D. Cavagnino, P. Magni, G. Zilioli, S. Trestianu, *J. Chromatogr. A* 1019 (2003) 211.
- [25] S. Walorczyk, *J. Chromatogr. A* 1222 (2012) 98.
- [26] Y. Horri, K. Kannan, *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 55 (2008) 701.
- [27] SPIN – Substances in preparations in the Nordic countries – database. Danish Ministry of the Environment, Environmental Protection Agency. Available from: [http://www.mst.dk/English/Chemicals/assessment\\_of\\_chemicals/spin\\_database/](http://www.mst.dk/English/Chemicals/assessment_of_chemicals/spin_database/), 2000 (accessed 10.06.2012).
- [28] R. Wang, R.P. Moody, D. Koničky, J. Zhu, *Environ. Int.* 35 (2009) 900.

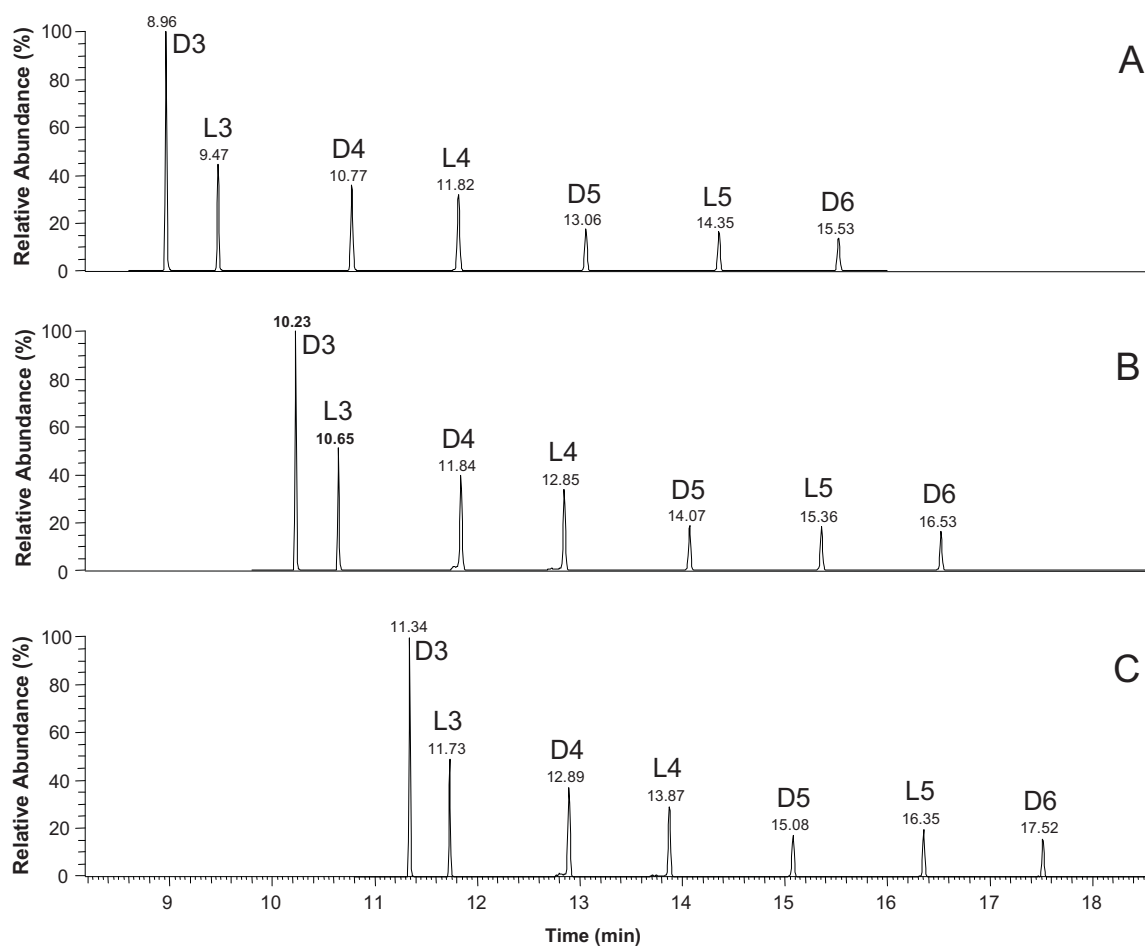
SUPPLEMENTARY DATA



**Figure S1.** Retention time and asymmetry factor control charts for L4 (A and B) and D6 (B and C), respectively.



**Figure S2.** Effects of the injector port temperature (A) and the splitless time (B) on the response of linear and cyclic methylsiloxanes using CSR-LVI method. Injector port temperatures: (▨) 180°C, (▩) 200 °C, (□) 230 °C and (▧) 250 °C. Splitless times: (▨) 0.5 min, (▩) 1 min, (▧) 1.5 min and (▧) 2 min.



**Figure S3.** Effect of the initial oven temperature on the chromatographic separation of the target compounds using CSR-LVI. Initial oven temperatures: (A) 60 °C, (B) 50 °C and (C) 40 °C.

**2.2.2.2 ARTÍCULO CIENTÍFICO IV:**

**Linear and cyclic methylsiloxanes in air by concurrent solvent recondensation – large volume injection – gas chromatography–mass spectrometry.**

E. Y. Companioni-Damas, F. J. Santos, M. T. Galceran

Talanta 118 (2014) 245–252.





Contents lists available at ScienceDirect

Talanta

journal homepage: [www.elsevier.com/locate/talanta](http://www.elsevier.com/locate/talanta)

# Linear and cyclic methylsiloxanes in air by concurrent solvent recondensation–large volume injection–gas chromatography–mass spectrometry



E.Y. Companioni-Damas, F.J. Santos\*, M.T. Galceran

Analytical Chemistry Department, University of Barcelona, Avda. Diagonal 645, 08028 Barcelona, Spain

## ARTICLE INFO

### Article history:

Received 9 August 2013

Received in revised form

7 October 2013

Accepted 15 October 2013

Available online 23 October 2013

### Keywords:

Linear and cyclic methylsiloxanes

Large volume injection

Gas chromatography–mass spectrometry

Indoor and outdoor air

Air analysis

## ABSTRACT

In the present work, a simple and fast method for the analysis of linear and cyclic methylsiloxanes in ambient air based on active sampling combined with gas chromatography – mass spectrometry (GC–MS) was developed. The retention efficiency of five sampling sorbents (activated coconut charcoal, Carboxpack B, Cromosorb 102, Cromosorb 106 and Isolute ENV+) was evaluated and Isolute ENV+ was found to be the most effective. A volume of 2700 L of air can be sampled without significant losses of the most volatile methylsiloxanes. To improve the sensitivity of the GC–MS method, concurrent solvent recondensation – large volume injection (CSR–LVI), using volumes up to 30  $\mu\text{L}$  of sample extract, is proposed and limits of quantification down to 0.03–0.45  $\text{ng m}^{-3}$ , good linearity ( $r > 0.999$ ) and precision (RSD % < 9%) were obtained. The developed method was applied to the analysis of ambient air. Concentrations of linear and cyclic methylsiloxanes in indoor air ranging from 3.9 to 319  $\text{ng m}^{-3}$  and between 48 and 292668  $\text{ng m}^{-3}$ , were obtained, respectively, while levels from 6 to 22  $\text{ng m}^{-3}$  for linear and between 2.2 and 439  $\text{ng m}^{-3}$  for cyclic methylsiloxanes in outdoor air from Barcelona (Spain), were found.

© 2013 Elsevier B.V. All rights reserved.

## 1. Introduction

Volatile methylsiloxanes (VMS) constitute a group of chemicals that are widely used in a great variety of industrial products and consumer goods, including personal care products, household products, cleaning agents, sealants, and in the manufacture of biomedical devices [1–3]. Due to their high volatility [4], these compounds are released into the atmosphere during industrial manufacturing and by the use of siloxane-based consumer goods [5]. Additional sources of VMS emissions are landfills and wastewater treatment plants [6]. Atmospheric half-lives for cyclic VMS have been estimated to be approximately from 10 to 30 days, while for linear VMS are around 9 days [7–9], which are considered to be enough for long-range transport [10,11]. Due to their widespread use, these compounds have been found in outdoor air from industrialised and urban areas [12–16], sewage treatment plants [2,6,15], rural sites [15,17,18], and even in Arctic areas [10,11]. The occurrence of these compounds has also been reported in indoor ambient air from industrial [16] and office buildings [19–22], homes [2,22], supermarkets [22] and also in indoor dust [23]. Most of these studies showed that the

predominant VMS found in urban sites and indoor environments is decamethylcyclopentasiloxane (D5) followed by octamethylcyclotetrasiloxane (D4) and dodecamethylcyclohexasiloxane (D6), which are the most abundant in personal care products [24]. Several studies performed in mammals suggest that D4 can impair fertility and cause liver damage [25–29] and D5 is a potential carcinogenic compound [2,3,30]. Toxicity assays carried out on aquatic environments showed that D4 is very toxic to sensitive aquatic organisms, while D5 and D6 do not exhibit adverse effects on fish [3,31–35]. Several risk assessment programs conducted in Canada [36–38], the UK [39], Sweden [40] and in a consortium of Nordic countries [2], showed that methylsiloxanes are ubiquitous at concentrations that may have harmful effects on the environment.

Sampling methods for the analysis of VMS in air are relatively new and limited. Active sampling using tubes filled with Tenax TA [2], or with a combination of sorbents (silica gel, carbon-sieve and charcoal [12], Tenax TA/carbon-sieve [21] or Tenax GR/graphitised carbon black [22]) followed by two-stage thermal desorption coupled to gas chromatography–mass spectrometry have been proposed. Isolute ENV+ commercial SPE cartridges [11,13–18] and passive air samplers with sorbent – polyurethane – foam disks impregnated with polystyrene–divinylbenzene copolymeric resin [6,10,15] followed by Soxhlet extraction have also been employed. The main difficulties in the analysis of these

\* Corresponding author. Tel.: +34 93 403 4874; fax: +34 93 402 1233.  
E-mail address: [javier.santos@ub.edu](mailto:javier.santos@ub.edu) (F.J. Santos).



compounds are their high volatility, and their occurrence in the laboratory air, GC instruments, laboratory facilities, reagents and materials, and to the use of personal care products [41]. Procedural blanks make the determination of linear and cyclic methylsiloxanes difficult particularly from background locations. To ensure reliable results, there must be a thorough control of the blanks and avoid concentration steps to prevent losses of the most volatile compounds during sample preparation and processing, although it results in a decrease in sensitivity. To overcome this problem, several large volume injection (LVI) techniques combined with GC have been recently proposed for the GC analysis of VMS [41,42]. Among them, concurrent solvent recondensation–large volume injection (CSR–LVI) allowed the injection of up to 30  $\mu\text{L}$  of sample extract with good peak shapes and minimising volatilisation losses of VMS [42].

The aim of this work was to develop a simple, effective and reliable method for the analysis of VMS in ambient air using sorbent traps for active sampling and CSR–LVI combined with GC–MS for their determination. For this purpose, the efficiency of several sorbents for the sampling of linear and cyclic VMS from air was evaluated. Quality parameters such as linearity, recovery, limits of detection and quantification, and intra-day precision were established, and the proposed method was applied to the analysis of indoor and outdoor air samples.

## 2. Experimental

### 2.1. Chemicals and materials

Hexamethyldisiloxane (L2), octamethyltrisiloxane (L3), decamethyltetrasiloxane (L4), dodecamethylpentasiloxane (L5), hexamethylcyclotrisiloxane (D3), octamethylcyclotetrasiloxane (D4), decamethylcyclopentasiloxane (D5), dodecamethylcyclohexasiloxane (D6) were obtained at a purity of over 97% from ABCR (Darmstadt, Germany). For quantification, methyltris(trimethylsiloxy) silane (SS-1) and tetrakis(trimethylsiloxy) silane (SS-2) were used as surrogate internal standards, while bis(trimethylsiloxy) methylsilane (IS) was employed as injection internal standard. All these standards were also purchased from ABCR (>97% purity). Individual stock standard solutions of each target compound and internal standard of 2000  $\mu\text{g ml}^{-1}$ , except for SS-2 which was 10000  $\mu\text{g ml}^{-1}$ , were prepared in *n*-hexane from their respective pure standards. Two standard mixtures of the target compounds containing L2, L3, L4, L5 and D3, at 0.8  $\mu\text{g ml}^{-1}$ , and D4, D5 and D6 at 3  $\mu\text{g ml}^{-1}$  were prepared in *n*-hexane from individual secondary standard solutions of 80  $\mu\text{g ml}^{-1}$ . All standard solutions were prepared monthly and stored at  $-18^\circ\text{C}$ . A set of seven calibration solutions containing L2, L3, L4, L5 and D3 at concentrations ranging from 0.05 to 200  $\text{ng ml}^{-1}$ , and D4, D5 and D6 at concentrations ranging from 0.05 to 500  $\text{ng ml}^{-1}$ , were prepared daily by dilution of the corresponding standard mixtures in *n*-hexane. In addition, appropriate amounts of internal standard (IS) and the surrogates (SS-1 and SS-2) were added to each calibration solution to give a concentration of 50  $\text{ng ml}^{-1}$ . For quantification, a standard mixture containing the surrogates SS-1 (30  $\mu\text{g mL}^{-1}$ ) and SS-2 (5700  $\mu\text{g mL}^{-1}$ ), prepared daily from the individual stock standard solutions, was added to the upper frit of sorbent cartridge (20  $\mu\text{l}$ ) prior to air sampling. In addition, a standard solution of IS at a concentration of 1000  $\text{ng ml}^{-1}$  in *n*-hexane was used for recovery determination and was added to the final extract to give a concentration of 50  $\text{ng ml}^{-1}$ . *n*-Hexane and dichloromethane of residue analysis grade were obtained from Fluka (Bucks, Switzerland). Carboxorb B (60/80 mesh), activated coconut charcoal (80/120 mesh), and Cromosorb 102 and 106 (60/80 mesh) were purchased from Sigma-Aldrich (St. Louis, MO,

USA). Empty polypropylene SPE cartridges with polyethylene frits were also supplied from Sigma-Aldrich. Isolute ENV+ SPE cartridges (100 mg, 1 ml) were obtained from Supelco (Bellefonte, PA, USA).

### 2.2. Sampling locations

Air samples were collected from six indoor and two outdoor environments of urban origin located in Barcelona city (NE Spain) between March and April 2011. Indoor air samples were taken from different sites, including offices, chemical laboratories and apartments. The offices contain a large amount of office equipment, such as personal computers, laser and ink-jet printers and office furniture, and are regularly occupied by 10–15 persons. Laboratories are dedicated to the sample treatment of environmental and food matrices and include a great variety of laboratory equipment which contains some silicone-based components, such as tubes and connections, small equipment, facility sealing, etc. In addition, two apartments located in different areas of Barcelona city were also studied. In this case, the samples were taken from the living room and the bathroom of the apartments during the weekend, which is the time period of maximum occupancy. All indoor samples were collected at least 1.5 m above the floor to minimise the presence of dust and particulate matter. Outdoor air samples were collected at the university campus area in Barcelona city, where there are located several faculties and apartment buildings. Two sets of air samples were taken at 12 m above the ground.

### 2.3. Air sampling

All samples were collected using two sampling trains connected in parallel to a dual-head micro-diaphragm pump (Thermo Fisher Scientific, Barrington, IL, USA) [17]. Each sampling train consists of two SPE cartridges assembled in series with the inlets facing down and was connected to the pump by PTFE tubes (Fig. S1 in Supplementary material). The first cartridge was used for the sorption of the target compounds, while the second or backup cartridge was employed to check the breakthrough of the compounds. Each pump head operated independently to pull air through the cartridges at a selected flow rate. Each set of parallel samples (duplicate analyses) was accompanied by a field blank cartridge which was treated identically as the samples. At each sampling location, a field blank was collected by turning the pump on for few seconds to determine the contribution of the background contamination. The temperature and the relative humidity were measured in each sampling site and the mean values during the sampling ranged from 15 to 22  $^\circ\text{C}$  and between 61% and 84%, respectively.

### 2.4. Sampling process optimisation

Several stationary phases: activated coconut charcoal, Carboxorb B, Cromosorb 102 and 106, and Isolute ENV+ were used to select the appropriate sorbent for sampling the target compounds from air samples. Polypropylene SPE cartridges (1 ml) filled with 100 mg of each sorbent and also the commercial Isolute ENV+ cartridge (100 mg/1 ml), rinsed with 10 ml of *n*-hexane and 10 ml of dichloromethane, and dried using purified nitrogen (>99.999%) for 30 min were used. The sorbents were spiked with 20  $\mu\text{l}$  of a standard solution of the target compounds at 10  $\mu\text{g ml}^{-1}$  (in *n*-hexane) and 20  $\mu\text{L}$  of a surrogate standard mixture, containing SS-1 and SS-2 at 10  $\mu\text{g ml}^{-1}$ , on a plug of silanized glass wool positioned immediately ahead of the sorbent bed [45]. After spiking, 20 L of air from a clean room was drawn through the cartridge at a flow rate of 0.2  $\text{L min}^{-1}$ . For the elution of the target compounds, several solvents such as

*n*-hexane, dichloromethane and mixtures of them were tested. A procedural blank was carried out for each sorbent to subtract the background contribution from the methylsiloxanes responses. The extracts obtained were analysed by GC–MS.

The retention efficiency of the target compounds at high sampling volumes using the polymeric materials (Cromosorb 102, Cromosorb 106 and Isolute ENV+), was evaluated by sampling from 50 to 500 L of clean air at a flow rate of 0.2 L min<sup>-1</sup> after spiking the sorbents. After sampling, the sorbents were eluted with 12 ml of dichloromethane and the sample extracts were analysed by GC–MS. The sampling flow rate on the retention efficiency of Isolute ENV+ was studied by sampling volumes of 500 L at different flow rates (0.2–1.5 L min<sup>-1</sup>). The sampling breakthrough volume of the Isolute ENV+ sorbent was determined by pumping several air volumes (500–5300 L) at a flow rate of 1.5 L min<sup>-1</sup> through the cartridges spiked with 20 µL of a 10 µg mL<sup>-1</sup> of standards. After each sampling experiment, the primary and backup cartridges were eluted with 12 ml of dichloromethane and the extracts were analysed by GC–MS.

### 2.5. Sampling and sample treatment method

For sampling atmospheric target compounds, a commercially available Isolute ENV+ SPE cartridge (100 mg/1 ml) was selected. To prevent any contamination before and after sampling, the cartridges were sealed with PTFE end caps and stored frozen at -18 °C in a closed glass jar. Prior to the sampling, 20 µL of a surrogate standard mixture, containing SS-1 at 30 µg mL<sup>-1</sup> and SS-2 at 5700 µg mL<sup>-1</sup>, were added to the cartridge upper frit (silanized glass wool). For air sampling, a known volume of air (2700 L) was pumped through the cartridge tube at a flow-rate of 1.5 L min<sup>-1</sup>. After sampling, the sample and field blank cartridges were immediately sealed at both ends with PTFE endcaps, stored frozen at -18 °C and analysed within 24 h. The elution of the target compounds was performed with 3 ml of *n*-hexane. Before GC–MS analysis, 50 µL of a standard solution of bis(trimethylsiloxy) methylsilane (1000 ng mL<sup>-1</sup>), used as injection internal standard, was added to an aliquot of 1.0 ml of the extract to obtain a concentration of 50 ng mL<sup>-1</sup>. For the analysis of the cyclic methylsiloxanes D4, D5 and D6, a dilution of the extract (1:200, w/w) was required for quantification.

### 2.6. GC–MS determination

The GC–MS analysis of the linear and cyclic methylsiloxanes was carried out on a Trace GC 2000 Series gas chromatograph (ThermoFisher, Milan, Italy) coupled to a DSQ II mass spectrometer (ThermoFisher). The chromatographic separation of the target compounds was performed on a DB-5 MS (5% phenyl, 95% methyl polysiloxane) fused – silica capillary column (J&W Scientific, Folsom, CA, USA) of 60 m × 0.25 mm I.D., with a film thickness of 0.25 µm. The oven temperature was programmed from 60 °C (held for 5 min) to 285 °C at 15 °C min<sup>-1</sup> (held for 15 min). Helium (Abelló Linde, S.A., Barcelona, Spain) with a purity of 99.999% was used as carrier gas at a constant flow-rate of 1 ml min<sup>-1</sup> held by electronic flow control. For optimisation of air sampling and comparison of sorbent efficiency, 2 µm of sample extracts and standards were injected in splitless mode (1 min) at an injector port temperature of 200 °C. For the CSR–LVI injection, an AS2000 autosampler (ThermoFisher) equipped with a 50 µL syringe (Hamilton, Bonaduz, Switzerland) was used. The syringe needle was inserted in the injector to a depth of 30 mm from the top and the injection was performed at 100 µL s<sup>-1</sup>. A glass liner of 105 × 5 mm ID filled in its base with 5 mm of deactivated glass wool (Panreac, Barcelona, Spain) and a 23-gauge Merlin Micro-seal septum (a high temperature resistant fluorocarbon elastomer,

Supelco, Bellefonte, PA, USA) were used in the injector port. In addition, the chromatographic column was fitted with an uncoated fused – silica deactivated column of 5 m × 0.32 mm ID (J&W Scientific) installed at 2 mm from the injector port. A volume of 30 µL of sample extracts and standards in *n*-hexane was injected for CSR–LVI–GC–MS analysis. The injector temperature was kept at 200 °C and the split and the septum purge outlet were closed during 1.5 min.

The MS was operated in electron ionisation (EI) mode at electron energy of 70 eV and 100 µA of electron emission. Transfer line and ion source temperatures were set at 280 and 200 °C, respectively. For MS acquisition, selected ion monitoring (SIM) mode was employed at a dwell time of 100 ms and a delay time of 20 ms. Table 1 shows the ions selected for quantification and confirmation of the linear and cyclic methylsiloxanes. The quantification was carried out using methyltris(trimethylsiloxy)silane (SS-1) for the determination of L2 – L5 and D3, and tetrakis(trimethylsiloxy)silane (SS-2) for D4, D5 and D6 as surrogate internal standards. For recovery determination, bis(trimethylsiloxy)methylsilane (IS) was used as injection internal standard. Xcalibur version 2.0 software was used for data acquisition and processing of the results.

### 2.7. Quality control

Because the methylsiloxanes are present in a great variety of consumer products, the analyst took care to avoid the use of personal care products or other possible contamination sources. For every set of five samples, a procedural blank covering both instrumental and sample treatment procedures was performed in order to evaluate the contribution of background levels, which was subtracted from the analyte response for quantification. For each sampling site, a field blank was used to determine the contribution of the background contamination during the storage and transportation. The contribution of sampling and storage, sample treatment and instrumental measurement to the blank has been evaluated (Fig. S2 in Supplementary material) and the sample treatment is the most important. So, a thorough control of this step is recommended. The preparation of standard solutions, procedural blanks, sample treatments, and the experiments for the optimisation of the sampling conditions were carried out into a laminar flow cabinet of a clean room (class 100) to avoid any contamination of ambient air [43]. Retention times, peak areas and asymmetry factor control charts were used to assess the performance of the GC-column during the CSR–LVI injection. In addition, the glass wool of the GC liner was systematically replaced after 200 injections to avoid contamination problems during the GC–MS analysis of real samples. The instrumental limits of quantification, typically ranging from 0.01 to 0.03 ng mL<sup>-1</sup>, were periodically tested. In addition, quality parameters of the method such as the limits of detection (LOD) and quantification (LOQ), precision (RSD% < 10%) and linearity (ranging from 0.05 to 500 ng mL<sup>-1</sup>), were routinely checked to ensure the quality of the results. All glassware materials were treated with chromium sulphuric acid for 24 h, solvent rinsed and dried at 200 °C before use. To confirm the identification of methylsiloxanes, the following restrictive criteria were applied: (a) the ion abundance ratios between the selected ions monitored should be within ± 15% of the theoretical value, and (b) the retention times should be within ± 2 s of those observed for the standards.

## 3. Results and discussion

### 3.1. Optimisation of air sampling procedure

Recently, a solid-phase extraction method using hydroxylated polystyrene–divinylbenzene copolymer as sorbent (Isolute ENV+)

**Table 1**  
Quantification and confirmation ions selected for the determination of linear and cyclic methylsiloxanes by CSR–LVI–GC–MS.

Abbreviation	Name	Time window (min)	Selected ion for monitoring (relative abundance, %)	
			Quantification ion ( <i>m/z</i> )	Confirmation ion ( <i>m/z</i> )
L2	Hexamethyldisiloxane	8.40–9.20	147 (100)	131 (45), 117 (5)
D3	Hexamethylcyclotrisiloxane	9.20–10.35	207 (100)	191 (27), 177 (5)
IS <sup>a</sup>	Bis(trimethylsiloxy)methylsilane	9.20–10.35	207 (100)	221 (13), 191 (10)
L3	Octamethyltrisiloxane	10.35–11.30	221 (100)	205 (10), 189 (6)
D4	Octamethylcyclotetrasiloxane	11.30–12.00	281 (100)	265 (10), 249 (8)
SS-1 <sup>b</sup>	Methyltris(trimethylsiloxy)silane	12.00–12.80	207 (100)	295 (30), 281 (12)
L4	Decamethyltetrasiloxane	12.00–12.80	207 (100)	295 (19), 191 (7)
D5	Decamethylcyclopentasiloxane	12.80–13.50	355 (100)	267 (75), 339 (10)
SS-2 <sup>b</sup>	Tetrakis(trimethylsiloxy)silane	13.50–14.80	281 (100)	369 (14), 265 (7)
L5	Dodecamethylpentasiloxane	13.50–14.80	281 (100)	369 (21), 265 (9)
D6	Dodecamethylcyclohexasiloxane	14.80–16.00	341 (100)	429 (41), 325 (24)

<sup>a</sup> IS: Internal standard.

<sup>b</sup> SS-1 and SS-2: surrogate standards.

has been proposed for the analysis of cyclic and linear VMS in air samples [15,17,18]. However, studies comparing the efficiency of Isolute ENV+ with that of other sorbents have not been performed. In this paper, the behaviour of several stationary phases, such as activated coconut charcoal, Carboxpack B and Chromosorb 102 and 106, currently used for adsorption of volatile organic compounds [44], is studied. The first step of the study was the selection of the solvent to elute the compounds from the sorbents. Among the solvent tested (*n*-hexane, dichloromethane and mixtures of them), dichloromethane (12 ml) was selected since it was the only solvent that provided the quantitative elution of the target compounds, mainly for activated coconut charcoal. Recoveries ( $n=4$ ) of the linear and cyclic methylsiloxanes from spiked clean air samples using the studied sorbents are given in Fig. 1A. Quantitative recoveries were obtained for all the compounds using Chromosorb 102, Chromosorb 106 and Isolute ENV+, while low recoveries were achieved for the most volatile methylsiloxanes using activated coconut charcoal (L2: 18% and D3: 30%) and Carboxpack B (L2: 38% and D3: 53%). These low recoveries are probably due to the adsorption of water on the surface of the sorbents that reduce their retention capacity. To evaluate this effect, experiments using humidified (relative humidity ~70%) and dried nitrogen were carried out for activated coconut charcoal and Carboxpack B. Recoveries higher than 95% were obtained for all the compounds when dried nitrogen was used, while values ranging from 15% for L2 to 40% for D3 were achieved using humidified nitrogen. These findings confirmed that carbon-based sorbents are seriously affected by the moisture of the air and therefore the use of Carboxpack B or activated coconut charcoal was discarded for further experiments.

The retention efficiency of the target compounds at high sampling volumes was evaluated using the polymeric materials (Chromosorb 102, Chromosorb 106 and Isolute ENV+) which were spiked as described above (Section 2.4). Significant losses were found for some of the sorbents when 500 L was used (Fig. 1B). For instance, losses from 42% to 63% were obtained for L2 using Chromosorb 102 and 106. The better sorption capacity of Isolute ENV+ could be attributed to the higher specific surface area of the hypercrosslinked resin (1100 m<sup>2</sup> g<sup>-1</sup>) [46] in comparison with the conventional macroporous polymers Chromosorb 102 (350 m<sup>2</sup> g<sup>-1</sup>) and Chromosorb 106 (750 m<sup>2</sup> g<sup>-1</sup>) [47]. Therefore, in order to maximise the sampling volume Isolute ENV+ was selected for further work. Then, the effect of the sampling flow rate (from 0.2 to 1.5 L min<sup>-1</sup>) on the retention efficiency of Isolute ENV+ was studied. Recoveries higher than 95% were obtained for all the compounds demonstrating that the flow within the tested range did not cause a significant effect on the retention efficiency

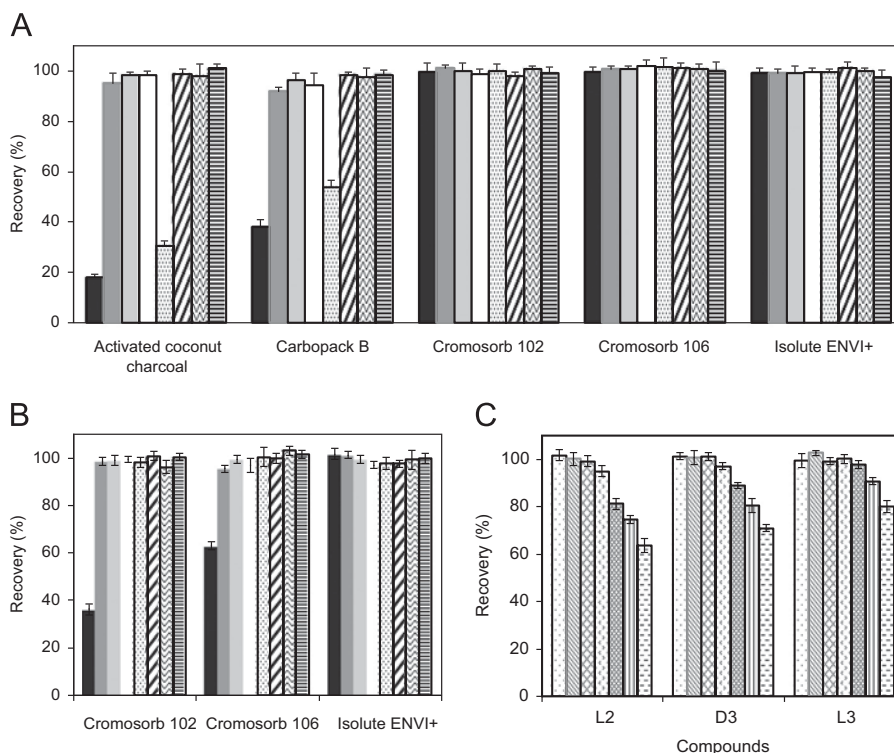
of the sorbent. Hence, a flow rate of 1.5 L min<sup>-1</sup> was chosen as optimal value to decrease analysis time and prevent potential losses and degradation of the analytes. Finally, the breakthrough volume of the target compounds was determined by drawing air volumes (500–5300 L) through Isolute ENV+ cartridges at a flow rate of 1.5 L min<sup>-1</sup>. Figure 1C shows the recoveries obtained for the more volatile compounds, L2, L3 and D3. As can be seen, L2 showed a significant loss above 2700 L, while for D3 and L3 considerable losses were observed at air volumes above 3300 and 4100 L, respectively. For the less volatile compounds (L4, L5, D4, D5 and D6), the breakthrough volume was not achieved up to 5300 L. In view of the results obtained and with the aim of establishing a general method for the analysis of all the compounds, a sampling volume of 2700 L was chosen.

### 3.2. CSR–LVI conditions for GC–MS analysis

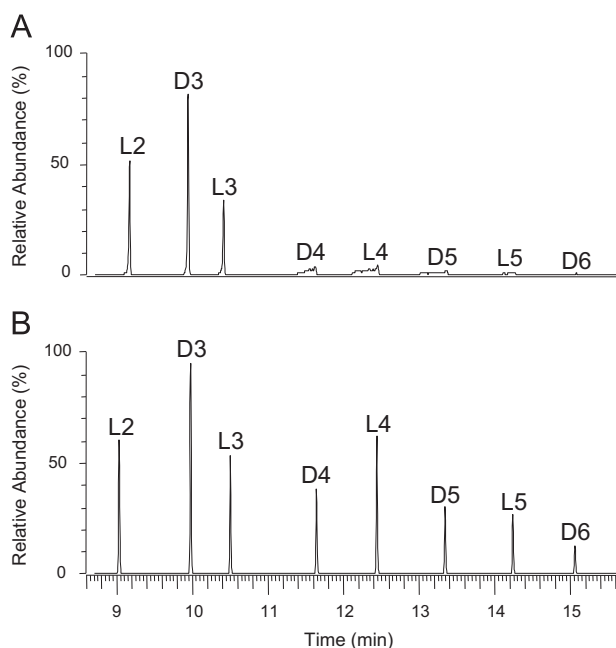
Due to the high volatility of some linear and cyclic methylsiloxanes, the use of concentration steps before GC–MS analysis resulted in a partial loss of the target compounds by volatilisation. For instance, L2 was completely lost and the recovery for D3 was only of 30% when a standard mixture (200 ng ml<sup>-1</sup>) in dichloromethane was concentrated from 12 ml to 0.5 ml using rotary evaporation. Losses also occurred when using a gently stream of nitrogen. To increase sensitivity of the method avoiding concentration steps, CSR–LVI was applied at the conditions given in the experimental section. However, when a high volume (30 μl) of a standard mixture in dichloromethane (20 ng ml<sup>-1</sup>) was injected fronting peaks were obtained (Fig. 2A), while this effect was not observed when injecting the same standard using conventional splitless injection (2 μl). In contrast, when injecting a standard in *n*-hexane (30 μl) this distortion was not observed (Fig. 2B). For this reason, this solvent was selected for the elution from the Isolute ENV+ cartridge, and the minimum volume was evaluated. It was found that a volume of 3 ml was enough to obtain quantitative recoveries for all the compounds (Table S1 in Supplementary material).

### 3.3. Performance of the analytical method

To evaluate the validity of the developed method, quality parameters such as linearity, precision, recoveries and limits of detection and quantification, were established. The linearity on the response was examined by injecting 30 μL of standard mixtures containing the target compounds at concentrations between 0.05 and 200 ng ml<sup>-1</sup> for L2, L3, L4, L5 and D3 and from 0.05 to 500 ng ml<sup>-1</sup> for D4, D5 and D6, and correlation coefficients (*r*)



**Fig. 1.** Sampling efficiency of the studied sorbents (activated coconut charcoal, Carpack B, Cromosorb 102, Cromosorb 106 and Isolute ENV+), ( $n=4$ ) (A) Air volume sampled: 20 L ( $200 \text{ mL min}^{-1}$ ), (B) Air volume sampled: 500 L ( $200 \text{ mL min}^{-1}$ ). Compounds: (■) L2, (▒) L3, (░) L4, (□) L5, (◻) D3, (◼) D4, (◽) D5, (◾) D6; (C) Recoveries of L2, L3 and D3 obtained with Isolute ENV+ using air volumes of 500 L (□), 1300 (▒), 2200 (◻), 2700 (◼), 3300 (◽), 4100 (◾) and 5300 (◿) at a flow rate:  $1.5 \text{ L min}^{-1}$ .



**Fig. 2.** CSR–LVI–GC–MS (SIM) reconstructed ion chromatograms of a mixture of linear and cyclic methylsiloxanes ( $20 \text{ } \mu\text{g mL}^{-1}$ ) obtained using: (A) dichloromethane and (B) *n*-hexane as injection solvents (injection volume:  $30 \text{ } \mu\text{L}$ ).

higher than 0.999 were obtained for all the compounds. Recoveries of the whole method were studied at two concentration levels ( $20$  and  $200 \text{ ng m}^{-3}$ ) using Isolute ENV+ cartridges spiked with known amounts of an appropriate standard solution. Eight replicate analyses were carried out for each spiked level and

**Table 2**  
Recoveries (%) and method limits of detection (mLOD) and quantification (mLOQ) of linear and cyclic methylsiloxanes (air sampling volume  $2700 \text{ L}$  at  $1.5 \text{ L min}^{-1}$ ).

Compound	Recovery (%) $\pm$ sd <sup>a</sup>		mLOD ( $\text{ng m}^{-3}$ )	mLOQ ( $\text{ng m}^{-3}$ )
	Low level <sup>b</sup>	Medium level <sup>c</sup>		
L2	$99 \pm 8$	$101 \pm 5$	0.18	0.45
L3	$98 \pm 5$	$96 \pm 4$	0.02	0.08
L4	$100 \pm 9$	$99 \pm 3$	0.02	0.05
L5	$101 \pm 6$	$102 \pm 4$	0.01	0.03
D3	$97 \pm 6$	$100 \pm 4$	0.10	0.28
D4	$98 \pm 9$	$104 \pm 3$	0.15	0.40
D5	$100 \pm 6$	$101 \pm 4$	0.10	0.28
D6	$102 \pm 7$	$103 \pm 6$	0.08	0.18

<sup>a</sup>  $n=8$ .

<sup>b</sup> Low level:  $20 \text{ ng m}^{-3}$ .

<sup>c</sup> Medium level:  $200 \text{ ng m}^{-3}$ .

recoveries higher than 96% were obtained for all the compounds (Table 2). Precision of the method was also determined at the two concentration levels,  $20$  and  $200 \text{ ng m}^{-3}$ , and relative standard deviations (RSD, %) lower than 9% were obtained. The recoveries of the surrogate internal standards (SS-1 and SS-2) were also determined and ranged from 94% to 99% with a RSD (%) lower than 12%. Method LODs (mLODs) and LOQs (mLOQs) expressed as the concentration of analyte that provides a response equal to the mean of field blanks plus three and ten times the standard deviation, respectively, are given in Table 2. mLOQs were between  $0.03$  and  $0.45 \text{ ng m}^{-3}$  for linear and cyclic methylsiloxanes for a sampling volume of  $2700 \text{ L}$  (Table 2). These values were 10–100 times lower than those reported by Krogseth et al. [15] using Isolute ENV+ cartridges ( $120 \text{ mg}$ ) and higher sampling air volumes.

### 3.4. Analysis of indoor and outdoor air samples

To examine the applicability of the developed method, two outdoor air samples of urban origin (Barcelona, Spain) and six indoor air samples were analysed in duplicate using the optimised sampling conditions (2700 L at 1.5 L min<sup>-1</sup>). To guaranty that breakthrough volume of the sampling cartridges was not surpassed, the second cartridge coupled online was analysed and the amount of target compounds found in this cartridge was always lower than 3%. Recoveries of the surrogate internal standards were always higher than 95%. Table 3 shows the concentration mean values with their corresponding standard deviations found for linear and cyclic methylsiloxanes in the analysed air samples. As an example, Fig. 3 shows the CSR–LVI–GC–MS (SIM) chromatograms obtained of an indoor air sample (laboratory 1). Generally, concentrations of cyclic methylsiloxanes were up to three orders

of magnitude higher than those of linear methylsiloxanes in both environments, indoor and outdoor air. These findings are in agreement with data reported in the literature [2,10,40], and can be associated to the high production and uses of cyclic compounds in the European Union [2,3,40]. D5 was the compound detected at the highest concentrations, followed by D4 and D6. This distribution pattern of cyclic VMS has also been found in urban air from different cities located in United States, Canada, France and Switzerland [10,13,14].

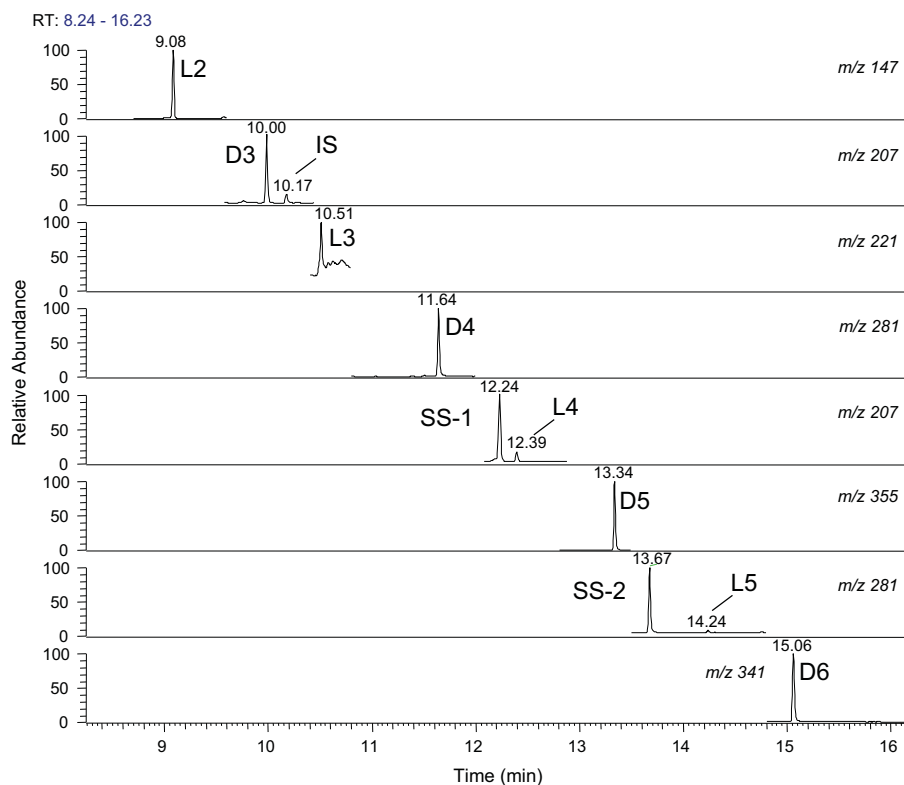
For indoor air, the cyclic methylsiloxanes D5 followed by D4 and D6 were found to be the most abundant chemicals, with concentrations ranging from 156 ng m<sup>-3</sup> to 292.7 µg m<sup>-3</sup> (Table 3). D5 accounted routinely for more than 53% (laboratory air) of the total VMS with a maximum of 92% at home environments. The predominance of D5 is in accordance with the data reported in several studies which determined the content of cyclic methylsiloxanes in a

**Table 3**  
Mean concentrations (ng m<sup>-3</sup>) of linear and cyclic methylsiloxanes found in indoor and outdoor air samples.

Compound	Concentration (mean ± sd) (ng m <sup>-3</sup> ) <sup>a</sup>							
	Indoor air						Outdoor air	
	Office 1	Office 2	Laboratory 1	Laboratory 2	Home 1	Home 2	Urban air 1	Urban air 2
L2	26 ± 2	33 ± 4	89 ± 9	319 ± 27	12 ± 1	18 ± 2	22 ± 3	12 ± 1
L3	9.5 ± 0.4	10.6 ± 0.6	13 ± 1	17 ± 2	15 ± 2	17 ± 2	16 ± 2	14 ± 1
L4	10.5 ± 0.4	11 ± 1	< 0.05 <sup>b</sup>	13.4 ± 0.7	15 ± 1	20 ± 2	17 ± 2	16 ± 2
L5	3.9 ± 0.3	4.5 ± 0.3	4.2 ± 0.5	6.7 ± 0.9	265 ± 18	129 ± 11	8 ± 1	6.0 ± 0.5
D3	122 ± 6	48 ± 3	471 ± 30	508 ± 36	170 ± 12	126 ± 11	5.0 ± 0.5	2.2 ± 0.2
D4	416 ± 25	226 ± 12	641 ± 45	833 ± 75	3052 ± 115	1592 ± 75	79 ± 5	73 ± 6
D5	2415 ± 168	1704 ± 166	2854 ± 263	2320 ± 195	229114 ± 7388	292668 ± 8974	439 ± 24	375 ± 18
D6	393 ± 25	156 ± 11	569 ± 51	380 ± 30	84562 ± 4012	23123 ± 1029	60 ± 4	45 ± 4

<sup>a</sup> n=2.

<sup>b</sup> < mLOQ (ng m<sup>-3</sup>).



**Fig. 3.** CSR–LVI–GC–MS (SIM) chromatograms of an air sample obtained from Laboratory 1 (sampling air volume: 2700 L, flow rate: 1.5 L min<sup>-1</sup>).

great variety of personal-care products [48–50]. For indoor air samples collected at homes, concentrations of cyclic methylsiloxanes were in line with those reported in indoor air samples from Sweden (0.6–164  $\mu\text{g m}^{-3}$ ) [2], UK (0.22–350  $\mu\text{g m}^{-3}$ ) and Italy (0.23–730  $\mu\text{g m}^{-3}$ ) [22], although for linear methylsiloxanes values up to two orders of magnitude lower were found [2,22]. Concentrations ranging from 3.9 to 33  $\text{ng m}^{-3}$  for linear and between 48 and 2415  $\text{ng m}^{-3}$  for cyclic methylsiloxanes were found in the office indoor air samples analysed in our study. These values are lower than those published by Hodgson et al. [21], who reported levels for D5 between 1.1 and 7.4 ppb (16.9–113.9  $\mu\text{g m}^{-3}$ ), Shield et al. [19], that found values from 2.5 to 10.2  $\mu\text{g m}^{-3}$  for D4 and between 7 and 39.6  $\mu\text{g m}^{-3}$  for D5, and Pieri et al. [22] (0.04–170  $\mu\text{g m}^{-3}$ ). In addition, the levels found for cyclic VMS in office environments were two-order of magnitude lower than those determined at home indoor air samples. These differences could be attributed to the existence of distinct emission sources of cyclic VMS. In office indoor air, the human occupants, computers and printers are the main sources of emissions of cyclic VMS, while at home environments, the siloxane-containing products are the predominant contamination source. Regarding the results obtained for laboratory air, levels of cyclic methylsiloxanes, except for D4, were lower than those reported for D5 and D6 in laboratory air from the University of Iowa, USA (< 59–39000  $\text{ng m}^{-3}$ ) [13]. In the laboratory air samples collected our study, the cyclic VMS levels were 1.5 times higher than those found in office environments. Taking into account that the number of occupants is similar between the laboratories and the offices, these differences could be attributed to the methylsiloxane emission from the laboratory equipment and facilities (e.g., instrumentation, silicone tubes, sealants and electronics).

Regarding outdoor air samples collected in Barcelona city, levels of cyclic methylsiloxanes ranged from 2.2 to 439  $\text{ng m}^{-3}$ . These concentrations, except for D3, were higher than those reported for urban air in cities from United States, Canada, Hawaii and France (0.13–280  $\text{ng m}^{-3}$ ) [10]. Recently, concentrations in line with those obtained in our study were reported for D5 and D6 in outdoor air from Zurich (Switzerland) (10–650  $\text{ng m}^{-3}$ ) [14] and Chicago (USA) (< 8.5–1100  $\text{ng m}^{-3}$ ) [13], although these values were clearly lower than those found in cities located at the South of China (up to 3.3  $\mu\text{g m}^{-3}$ ) [12]. For the linear methylsiloxanes, concentrations ranging between 6 and 22  $\text{ng m}^{-3}$  were detected in Barcelona urban air and these values were higher than those found in cities from North America and Europe [10,15].

#### 4. Conclusions

A simple method for determining linear and cyclic methylsiloxanes in air using active sampling combined with CSR–LVI–GC–MS is developed. Air sampling volumes of 2700 L and Isolute ENV+ as sorbent are proposed for the quantitative sorption of linear and cyclic VMS. The use of the CSR–LVI technique for sample injection allowed increasing the detectability of the method, avoiding the use of concentration steps during sample treatment, providing method limits of detection down to 0.01–0.18  $\text{ng m}^{-3}$ . One of the advantages of the method is its capability of determining the most volatile compounds, such as L2 and D3, which are not often analysed in other studies. The developed method has been applied to the analysis of linear and cyclic VMS in air samples and concentrations were found from 4  $\text{ng m}^{-3}$  for L5 (office air) to 293  $\mu\text{g m}^{-3}$  for D5 (home air). Concentrations of cyclic methylsiloxanes in outdoor air from urban ambient were 5–500 times lower than those found in indoor environments, indicating that emissions from indoor air could be a significant contributor to outdoor air concentrations. The method proved to be able of giving reproducible results for the analysis of linear and cyclic VMS in air

samples at  $\text{ng m}^{-3}$  levels, and can be proposed for the routine analysis of these compounds in ambient air.

#### Acknowledgement

The authors are very grateful for the financial support from the Spanish *Ministerio de Ciencia e Innovación* under Project CTQ2012-30836. E.Y. Companioni also thanks the Ministry of Foreign Affairs and Cooperation of Spain (MEAC) and the Spanish Agency for International Cooperation (AECI) for the Ph.D. Scholarship.

#### Appendix A. Supplementary material

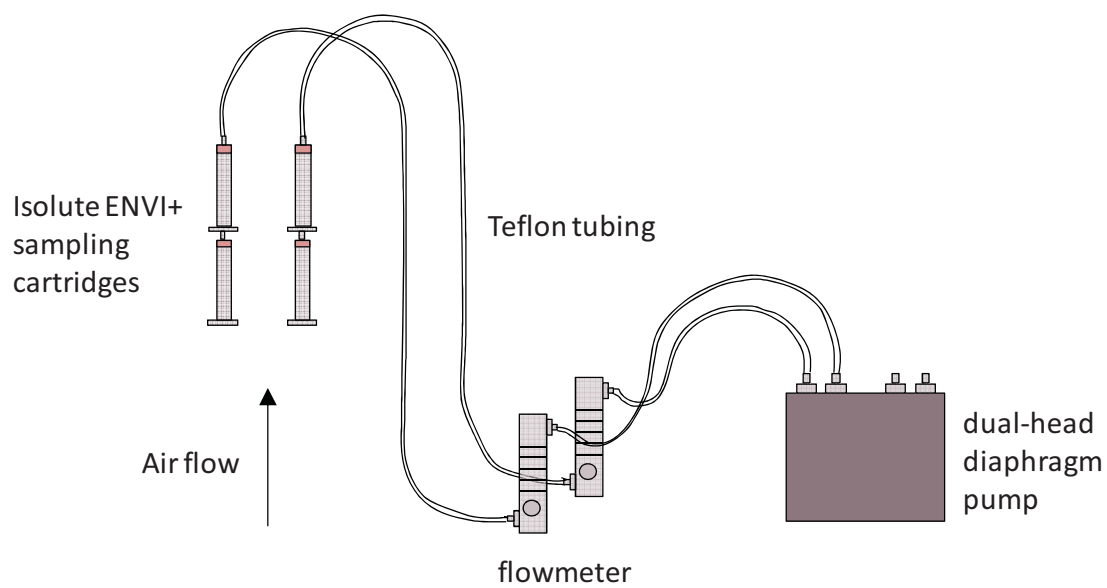
Supplementary data associated with this article can be found in the online version at <http://dx.doi.org/10.1016/j.talanta.2013.10.020>.

#### References

- [1] S. Varaprath, D.H. Stutts, G.E. Kozerski, *Silicon Chem.* 3 (2006) 79–102.
- [2] L. Kaj, M. Schlabach, J. Andersson, A.P. Cousins, N. Schmidbauer, E. Brorström-Lundén, *Siloxanes in the Nordic Environment*, Nordic Council of Ministers, Copenhagen, 2005. Available from: (<http://nordicscreening.org/index.php?module=Pagesetter&type=file&func=get&tid=5&fid=reportfile&pid=4>) (accessed 03.03.10).
- [3] C. Lassen, C.L. Hansen, S.H. Mikkelsen, J. Maag, *Siloxanes-Consumption, Toxicity and Alternatives*, Danish Ministry of the Environment, Environmental Protection Agency. Available from: (<http://www2.mst.dk/udgiv/publications/2005/87-7614-756-8/pdf/87-7614-757-6.pdf>) (accessed 16.01.10).
- [4] S.M. Mazzoni, Eco-relevant properties of organosilicon materials, in: G. Chandra (Ed.), *The Handbook of Environmental Chemistry*. Part H. Organosilicon Materials, vol. 3, Springer-Verlag, Berlin, 1997, pp. 53–82.
- [5] J.F. Hobson, R. Atkinson, W.P.L. Carter, Part H. Organosilicon Materials, in: G. Chandra (Ed.), *The Handbook Environmental Chemistry*, Springer-Verlag, Berlin, 1997.
- [6] Y. Cheng, M. Shoeib, L. Ahrens, T. Harner, J. Ma, *Environ. Pollut.* 159 (2011) 2380–2386.
- [7] M.J. Whelan, E. Estrada, R. van Egmond, *Chemosphere* 57 (2004) 1427–1437.
- [8] R. Atkinson, *Environ. Sci. Technol.* 25 (1991) 863–866.
- [9] R. Sommerlade, H. Parlar, D. Wrobel, P. Kochs, *Environ. Sci. Technol.* 27 (1993) 2435–2440.
- [10] S. Genualdi, T. Harner, Y. Cheng, M. MacLeod, K.M. Hansen, R. Van Egmond, M. Shoeib, S.C. Lee, *Environ. Sci. Technol.* 45 (2011) 3349–3354.
- [11] I.S. Krogseth, A. Kierkegaard, M.S. McLachlan, K. Breivik, K.M. Hansen, M. Schlabach, *Environ. Sci. Technol.* 47 (2013) 502–509.
- [12] X.M. Wang, S.C. Lee, G.Y. Sheng, L.Y. Chan, J.M. Fu, X.D. Li, Y.S. Min, C.Y. Chan, *Appl. Geochem.* 16 (2001) 1447–1454.
- [13] R.A. Yucuis, C.O. Stanier, K.C. Hornbuckle, *Chemosphere* 92 (2013) 905–910.
- [14] A.N. Buser, A. Kierkegaard, C. Bogdal, M. MacLeod, M. Scheringer, K. Hungerbühler, *Environ. Sci. Technol.* 47 (2013) 7045–7051.
- [15] I.S. Krogseth, X. Zhang, Y.D. Lei, F. Wania, K. Breivik, *Environ. Sci. Technol.* 47 (2013) 4463–4470.
- [16] L. Xu, Y. Shi, T. Wang, Z. Dong, W. Su, Y. Cai, *Environ. Sci. Technol.* 46 (2012) 11718–11726.
- [17] A. Kierkegaard, M.S. McLachlan, *J. Chromatogr. A* 1217 (2010) 3557–3560.
- [18] M.S. McLachlan, A. Kierkegaard, K.M. Hansen, R. van Egmond, J.H. Christensen, C.A. Skjøth, *Environ. Sci. Technol.* 44 (2010) 5365–5370.
- [19] H.C. Shields, C.J. Weschler, *J. Air Waste Manage. Assoc.* 42 (1992) 792–804.
- [20] H. Shields, D.M. Fleischer, C.J. Weschler, *Indoor Air* 6 (1996) 2–17.
- [21] A.T. Hodgson, D. Faulkner, D.P. Sullivan, D.L. DiBartolomeo, M.L. Rusell, W.J. Fisk, *Atmos. Environ.* 37 (2003) 5517–5528.
- [22] F. Pieri, A. Katsoyiannis, T. Martellini, D. Hugnes, K.C. Jones, A. Cincinelli, *Environ. Int.* 59 (2013) 363–371.
- [23] Y. Lu, T. Yuan, S.H. Yun, W. Wang, Q. Wu, K. Kannan, *Environ. Sci. Technol.* 44 (2010) 6081–6087.
- [24] D.G. Wang, W. Norwood, M. Alae, J.D. Byer, S. Brimble, *Chemosphere* 93 (2013) 711–725.
- [25] J.M. McKim Jr., P.C. Wilga, W.J. Breslin, K.P. Plotzke, R.H. Gallavan, R.J. Meeks, *Toxicol. Sci.* 63 (2001) 37–46.
- [26] B. He, S. Rhodes-Brower, M.R. Miller, A.E. Munson, D.R. Germolec, V.R. Walker, K.S. Korach, B.J. Meade, *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 192 (2003) 254–261.
- [27] A.L. Quinn, A. Dalu, L.S. Meeker, P.A. Jean, R.G. Meeks, J.W. Crissman, R.H. Gallavan Jr., K.P. Plotzke, *Reprod. Toxicol.* 23 (2007) 532–540.
- [28] A.L. Quinn, J.M. Regan, J.M. Tobin, B.J. Marinik, J. McMahon, D.A. McNett, C.M. Sushynski, S.D. Crofoot, P.A. Jean, K.P. Plotzke, *Toxicol. Sci.* 96 (2007) 145–153.
- [29] W.H. Siddiqui, D.G. Stump, V.L. Reynolds, K.P. Plotzke, J.F. Holson, R.G. Meeks, *Reprod. Toxicol.* 23 (2007) 202–215.

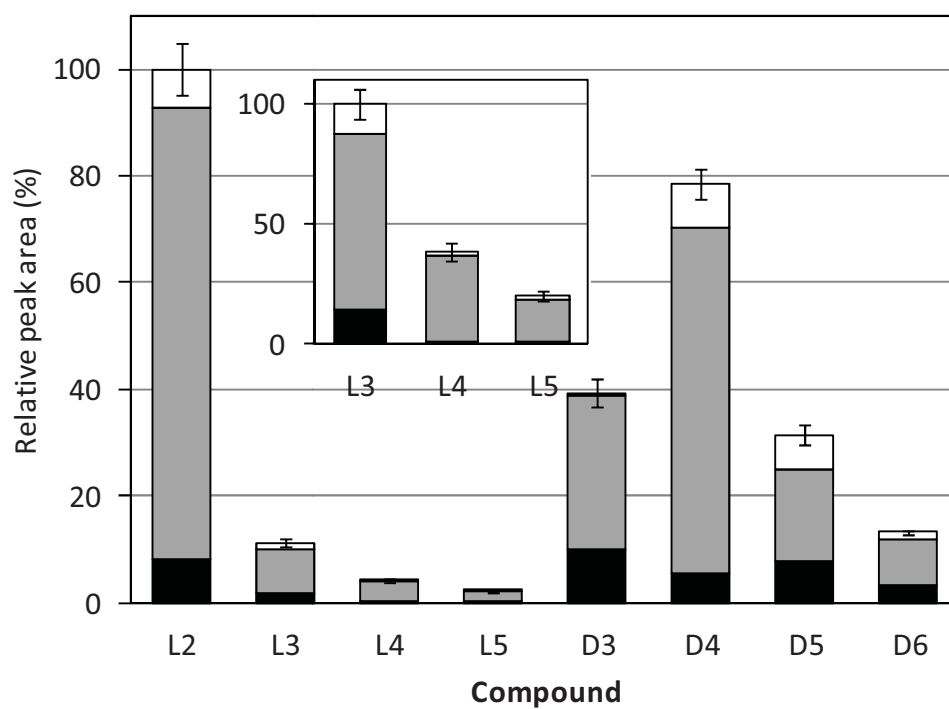
- [30] U.S. Environmental Protection Agency (USEPA), Siloxane D5 in Dry Cleaning Applications. Available from: ([www.epa.gov/dfe/pubs/garment/d5fs3.pdf](http://www.epa.gov/dfe/pubs/garment/d5fs3.pdf)) (accessed 11.02.13).
- [31] D.J. Kent, P.C. McNamara, A.E. Putt, J.F. Hobson, E.M. Silberhorn, *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 29 (1994) 372–389.
- [32] D.J. Kent, P. Fackler, D. Hartley, J.F. Hobson, *Environ. Toxicol. Water Qual.* 11 (1996) 145–149.
- [33] J.F. Hobson, *Environ. Toxicol. Chem.* 14 (1995) 1635–1638.
- [34] P.H. Fackler, E. Dionne, D.A. Hartley, J.L. Hamelink, *Environ. Toxicol. Chem.* 14 (1995) 1649–1656.
- [35] J.V. Souza, P.C. McNamara, A.E. Putt, M.W. Machado, D.C. Suprenant, J.L. Hamelink, D.J. Kent, E.M. Silberhorn, J.F. Hobson, *Environ. Toxicol. Chem.* 14 (1995) 1639–1648.
- [36] Environment Canada, Health Canada, Screening Assessment for the Challenge Decamethylcyclopentasiloxane (D5). Available from: (<http://www.ec.gc.ca/ese-ees/default.asp?lang=En&n=13CC261E-1>) (accessed November 2008).
- [37] Environment Canada, Health Canada, Screening Assessment for the Challenge Dodecamethylcyclohexasiloxane (D6). Available from: (<http://www.ec.gc.ca/ese-ees/default.asp?lang=En&n=FCOD11E7-1>) (accessed November 2008).
- [38] Environment Canada, Health Canada, Screening Assessment for the Challenge Octamethylcyclotetrasiloxane (D4). Available from: (<http://www.ec.gc.ca/ese-ees/default.asp?lang=En&n=2481B508-1>) (accessed November 2008).
- [39] D.N. Brooke, M.J. Crookes, D. Gray, S. Robertson, Environmental Risk Assessment Report: Decamethylcyclopentasiloxane, Environmental Agency of England and Wales, Bristol, April 2009.
- [40] L. Kaj, J. Andersson, A.P. Cousins, M. Remberger, Y. Ekheden, B. Dusan, E. Brorström-Lundén, I. Cato, Results from the Swedish National Screening Programme 2004, Subreport 4: Siloxanes, IVL Report B1643, Swedish National Research Institute, Stockholm, 2005. Available from: (<http://www.ivl.se/download/18.2f3a7b311a7c80644380055371/B1643.pdf>) (accessed 10.03.10).
- [41] D.G. Wang, M. Alae, H. Steer, T. Tait, Z. Williams, S. Brimble, L. Svoboda, E. Barresi, M. Dejons, J. Schachtschneider, E. Kamiski, W. Norwood, E. Sverko, *Chemosphere* 93 (2013) 741–748.
- [42] E.Y. Companioni-Damas, F.J. Santos, M.T. Galceran, *J. Chromatogr. A* 1268 (2012) 150–156.
- [43] E.Y. Companioni-Damas, F.J. Santos, M.T. Galceran, *Talanta* 89 (2012) 63–69.
- [44] A. Kumar, I. Viden, *Environ. Monit. Assess.* 131 (2007) 301–321.
- [45] Validation guidelines for air sampling methods utilizing chromatographic analysis, T-005, version 3.0, 2010. Available from: (<http://www.osha.gov/dts/sitc/methods/chromguide/chromguide.pdf>) (accessed 24.06.12).
- [46] N. Masqué, R.M. Marcé, F. Borrull, *Trends Anal. Chem.* 17 (1998) 384–394.
- [47] M.R. Ras, F. Borrull, R.M. Marcé, *Trends Anal. Chem.* 28 (2009) 347–361.
- [48] Y. Horii, K. Kannan, *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 55 (2008) 701–710.
- [49] R. Wang, R.P. Moody, D. Koniecki, J. Zhu, *Environ. Int.* 35 (2009) 900–904.
- [50] Y. Lu, T. Yuan, W. Wang, K. Kannan, *Environ. Pollut.* 159 (2011) 3522–3528.

**SUPPLEMENTARY MATERIAL**



**Figure S1.** Diagram of air sampling system.





**Figure S2.** Contribution of the sampling and storage (□), sample treatment (■) and instrumental measurement (■) to the method blank for linear and cyclic methylsiloxanes (results are the mean of 8 independent measurements)

**Table S1.** Recoveries (%) and relative standard deviations of linear and cyclic methylsiloxanes after elution with *n*-hexane from the Isolute ENVI+ cartridges.

Compound	Recovery (%) <sup>a</sup>									
	2 ml of <i>n</i> -hexane		3 ml of <i>n</i> -hexane		4 ml of <i>n</i> -hexane		5 ml of <i>n</i> -hexane		6 ml of <i>n</i> -hexane	
	Mean (%)	RSD (%)	Mean (%)	RSD (%)	Mean (%)	RSD (%)	Mean (%)	RSD (%)	Mean (%)	RSD (%)
L2	85	8	100	2	106	11	96	7	94	3
L3	84	6	106	6	104	7	102	8	94	6
L4	91	3	98	5	99	4	99	5	98	3
L5	83	13	97	5	108	7	101	3	97	5
D3	89	3	102	8	97	3	100	4	108	10
D4	95	2	106	6	99	9	99	5	95	6
D5	91	5	99	9	103	6	97	4	100	4
D6	90	4	99	3	99	3	103	3	101	6

<sup>a</sup> n=3



**2.2.2.3 ARTÍCULO CIENTÍFICO V:**

**Solid phase extraction combined with large volume injection – gas chromatography – mass spectrometry for the analysis of linear and cyclic methylsiloxanes in wastewater.**

E. Y. Companioni-Damas, F. J. Santos, M. T. Galceran

Talanta (2014) enviado.



**Solid phase extraction disk combined with large volume injection – gas chromatography – mass spectrometry for the analysis of linear and cyclic methylsiloxanes in wastewaters**

E. Y. Companioni-Damas, F. J. Santos\*, M. T. Galceran  
Analytical Chemistry Department, University of Barcelona,  
Av. Diagonal 645, 08028-Barcelona, Spain.

**Abstract**

In the present work, a method for the analysis of linear and cyclic methylsiloxanes in wastewater based on solid-phase extraction and gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS) was developed. For the analysis of the water phase, solid phase extraction (SPE) using C<sub>18</sub> disk cartridges is proposed, thus allowing to reduce the sample size to 10 ml and the analysis time. For the analysis of the particulate matter, solvent extraction (n-hexane) was used. In both cases, to improve the detectability of the method, concurrent solvent recondensation – large volume injection (CSR-LVI) was applied. The proposed method showed good linearity ( $r > 0.999$ ) and precision (RSD % < 10 %) with recoveries higher than 89%, and limits of quantification ranging from 1.7 to 2.6 ng L<sup>-1</sup> for the dissolved phase and between 1.1 and 5.0 ng g<sup>-1</sup> dried weight (dw) for the particulate phase. The method was applied to the analysis of linear and cyclic methylsiloxanes in influent and effluent wastewaters from several wastewater treatment plants (WWTPs) and the total concentrations ranged from 12 to 20093 ng L<sup>-1</sup> and between 0.3 and 563 ng L<sup>-1</sup>, respectively. Removal efficiency of methylsiloxanes in two WWTPs was assessed and values higher than 86% were found for most of the compounds, except for D3 (47%), L3 (70%) and L2 (20%).

**Keywords:** Linear and cyclic methylsiloxanes; wastewater; solid-phase disk extraction; large-volume injection; gas chromatography-mass spectrometry.

\* Corresponding author.

## **1. Introduction**

In recent years, volatile methylsiloxanes (VMS) have attracted a great attention because they are widely distributed in the environment [1], present potential carcinogenicity [1-3], cause adverse effects on reproduction [4-8] and exhibit a high bioaccumulation capacity [9-12]. These compounds are widely used in a great variety of industrial products and as components of personal care products (e.g. skin lotions, hair-care products and deodorants) [13] and many consumer products, such as sealants, antifoams, cleaning agents and waxes [2,14]. VMS are mainly released to the atmosphere due to their high vapour pressure, low water solubility, and high Henry's Law constants (Table S1 in Supplementary data) [14-17]. However, in aquatic systems, the rate of volatilization of these compounds can be retarded due to their high affinity to the dissolved and particulate organic matter [18-20]. It is recognized that the most important emission sources of VMS to the aquatic media are the effluents of wastewater treatment plants (WWTPs) [1,21]. In the wastewater treatment systems, the removal efficiency for these pollutants is mainly governed by a combination of two processes: volatilization and sorption into sewage sludge. However, because of their high hydrophobicity, a significant fraction of these pollutants is accumulated in the suspended particulate matter present in the WWTP effluents and the VMS not eliminated during the wastewater treatment are released to the aquatic environment, mainly bounded to the suspended particulate [22-25]. Although, there are some studies related with the occurrence of cyclic VMS in effluents and influents of the WWTPs [25-31], information about their fate and behaviour is still scarce [26,32] and, therefore, further studies should be performed to accurately assess their possible environmental risk.

The analysis of linear and cyclic methylsiloxanes in wastewaters has been performed using purge and trap [1], headspace (HS) [33], headspace-solid phase microextraction (HS-SPME) [34,35], membrane-assisted solvent extraction [36] and ultrasound-assisted dispersive liquid-liquid microextraction [37]. HS and HS-SPME techniques present some limitations for the analysis of wastewaters because the partition coefficients of the target compounds between the headspace and the aqueous phase is highly affected by the presence of dissolved organic matter in the sample [25]. Purge and trap has proved unsuitable for the determination of the linear and cyclic VMS at levels lower than 1 and 40 ng L<sup>-1</sup>, respectively [1], while liquid-liquid extraction is not able to obtain a good

recovery of the more volatile compounds, such hexamethylcyclotrisiloxane (D3) and octamethyltrisiloxane (L3), probably due to losses during the extraction [26]. Solid-phase extraction (SPE) is recognised as an effective preconcentration technique that has been widely used to isolate target analytes due to its simplicity of operation, high selectivity and good reproducibility. Despite its evident advantages, SPE has not been applied to the analysis of methylsiloxanes in wastewaters.

The aim of this work was to develop a fast, simple and effective new method for the determination of linear and cyclic VMS in wastewaters using SPE disk combined with large-volume injection gas chromatography-mass spectrometry. To achieve maximum sensitivity and selectivity, several parameters affecting the extraction and the elution of the target compounds were optimised. Quality parameters, such as linearity, recovery, limits of detection and quantification and precision were established and the proposed method was applied to the analysis of linear and cyclic methylsiloxanes in dissolved and suspended particulate matter of influents and effluents of wastewater samples collected in several WWTPs from Catalonia (NE, Spain).

## **2. Experimental**

### *2.1. Chemicals and Materials*

Hexamethyldisiloxane (L2), octamethyltrisiloxane (L3), decamethyltetrasiloxane (L4), dodecamethylpentasiloxane (L5), hexamethylcyclotrisiloxane (D3), octamethylcyclotetrasiloxane (D4), decamethylcyclopentasiloxane (D5) and dodecamethylcyclohexasiloxane (D6) were obtained at a purity of over 97 % from ABCR (Darmstadt, Germany). Methyltris(trimethylsiloxy)silane (SS-1) and tetrakis(trimethylsiloxy)silane (SS-2) were used as surrogate internal standards for quantification, while bis(trimethylsiloxy)methylsilane (IS) was employed as injection internal standard. All these standards were also supplied from ABCR at a purity of over 97 %. Individual stock standard solutions of the target compounds and the internal standards at a concentration of 1000  $\mu\text{g ml}^{-1}$  were prepared in *n*-hexane from their respective pure standards. A standard mixture containing linear and cyclic methylsiloxanes at a concentration of 100  $\text{ng ml}^{-1}$ , were prepared in *n*-hexane from individual secondary standard solutions of 10  $\mu\text{g ml}^{-1}$ . All standard solutions were



prepared monthly and were stored at  $-18^{\circ}\text{C}$ . For the GC-MS analysis of the target compounds in the dissolved and particulate phase, two set of calibration standard solutions at concentrations ranging from  $0.04$  to  $25\text{ ng ml}^{-1}$  were prepared in *n*-hexane and in a mixture of tetrahydrofuran/*n*-hexane (60/40, v/v) by dilution of the  $100\text{ ng ml}^{-1}$  standard mixture, respectively. In addition, appropriate amounts of the internal standards were added to each calibration solution to give concentrations of  $5\text{ ng ml}^{-1}$ . For quantification, an adequate amount of a surrogate standard mixture in methanol of SS-1 ( $0.8\text{ }\mu\text{g ml}^{-1}$ ) and SS-2 ( $80\text{ }\mu\text{g ml}^{-1}$ ) was added to the particulate solid phase prior solvent extraction, while for the analysis of dissolved phase a standard solution of the surrogate standard SS-1 at a concentration of  $80\text{ ng ml}^{-1}$  in tetrahydrofuran (THF) was used and added to the sample prior extraction. In addition, two standard solutions of IS at concentrations of  $12$  and  $250\text{ ng ml}^{-1}$  in *n*-hexane were used for recovery determination and were added to the extracts of dissolved and particulate phase to give a concentration of  $5\text{ ng ml}^{-1}$ , respectively.

*n*-Hexane, tetrahydrofuran and methanol of residue analysis grade were obtained from Fluka (Bucks, Switzerland). Anhydrous sodium sulphate (purity  $> 99\%$ ) of residue analysis grade was purchased from Merck (Darmstadt, Germany). Before use, the anhydrous sodium sulphate was baked at  $400^{\circ}\text{C}$  for 4 h. Glass-fibre syringe filters ( $25\text{ mm}$ ,  $0.45\text{ }\mu\text{m}$ ) were purchased from Sigma Aldrich (St. Louis, MO, USA). Empore C<sub>18</sub> SPE disk cartridges ( $5.5\text{ mg}$ ,  $1\text{ ml}$ ) were supplied by 3M Filtration Products (St. Paul, MN, USA). Bottled natural mineral water was obtained from Font Vella (San Hilari Sacalm, Spain). All glassware materials were treated with chromosulfuric acid for 24 h, solvent rinsed and dried at  $150^{\circ}\text{C}$  before use.

## 2.2. Wastewater samples

Wastewater samples (influent and effluent) were collected during September 2011 from six wastewater treatment plants (WWTPs) located near of Besós and Llobregat Rivers in the region of Catalonia (NE Spain). All WWTPs receive untreated urban and industrial wastewaters from the metropolitan area of Barcelona with inhabitant equivalents ranging from 373,333 (WWTP-6) to 2,843,750 (WWTP-1). Sampled sites are characterised as areas with relatively high population density and high industrial

activity related to the textile, chemical and car industries and electronic production. All of the treatment plants carry out primary and secondary wastewater treatment. Six influents of WWTPs (1L) and two effluents (5L) from two of them (WWTP 5 and 6) were collected in glass bottles fitted with black Viton septa and shipped to our laboratory without headspace under cool conditions (4 °C). Once in laboratory, wastewater samples were centrifuged at 3,500 rpm for 10 min and 4°C using a high speed refrigerated centrifuge 4239R from ALC (Milan, Italy). The dissolved phase was transferred to a glass bottles without headspace and kept at 4 °C in a refrigerator until analysis, while the suspended particulate matter (SPM) was collected and frozen at -18 °C. Both dissolved and particulate phases were analysed within 24-48 h period after sampling. Since no blank of particulate matter could be found, a wastewater sample from an urban and industrial origin was centrifuged and thermally treated for five days at 100 °C for removing the presence of the target compounds. After this treatment, a blank sample was prepared by mixing 0.5 g of the treated solid material with 1L of natural mineral water for achieving a total suspended solid (TSS) of 500 mg L<sup>-1</sup>. Since the levels of linear and cyclic methylsiloxanes in this sample were lower than the limits of detection, it was used for collecting the field blanks. For the optimisation and validation of the analytical method, a dissolved phase (1L) of a wastewater sample of industrial origin containing the target compounds at concentrations lower than the limits of quantification of the method (0.5-1.0 ng L<sup>-1</sup>) and a thermally treated particulate matter containing an appropriate amount of water (80-90%) for achieving similar moisture than that found in the analysed samples, were used.

### *2.3 Sample extraction procedure*

For the analysis of the target compounds in the dissolved phase of wastewater samples, C<sub>18</sub> SPE disk cartridges of reduced size were used. Briefly, 10 ml of dissolved phase was spiked with an appropriate amount of a surrogate standard solution SS-1 in THF to give a concentration of 160 ng L<sup>-1</sup>. Surrogate standard SS-1 was used for both quantification and recovery determination of the target compounds in each sample. The aqueous sample was then passed through the C<sub>18</sub> SPE disk cartridge at a flow rate of 1 ml min<sup>-1</sup> applying a positive pressure after conditioning with 0.5 ml of methanol and 1 ml of natural mineral water. After extraction, the SPE disk cartridge was dried using

purified nitrogen (>99.999%) for 15 s at a flow of 5 ml min<sup>-1</sup> and the target compounds were eluted using 200 µL of tetrahydrofuran. The final extract was collected into a 0.5 ml vial and stored at 4 °C. Further details about the optimization of the extraction conditions and the elution volume are given in Section 3.1. Before GC-MS analysis, 130 µL of a standard solution of bis(trimethylsiloxy)methylsilane (12 ng ml<sup>-1</sup> in *n*-hexane) used as injection internal standard, was added to the final extract to obtain a concentration of 5 ng ml<sup>-1</sup> and a suitable solvent composition (tetrahydrofuran/*n*-hexane, 60/40 v/v) for analysis by CSR-LVI technique. All analyses of dissolved phase samples were performed in triplicate.

For the analysis of the suspended particulate matter, a method previously developed for the analysis of linear and cyclic methylsiloxanes in soils and sludges [38] was applied with minor modifications. Briefly, 0.2 g of wet solid phase was spiked with an appropriate amount of surrogate standard solutions in methanol to give concentrations of 0.08 µg g<sup>-1</sup> wet weight (ww) and 8 µg g<sup>-1</sup> ww for SS-1 and SS-2, respectively. Surrogate standard SS-1 was used for quantification and controlling the recovery of L2 – L5, D3 and D4, while the surrogate standard SS-2 was used for the target compounds present in the samples at high concentration levels, such as D5 and D6. The water content (%) of each sample was determined gravimetrically by drying an aliquot of 0.2 g at 105 °C to constant weight. Before extraction, the sample was kept overnight at 4°C to equilibrate and then mixed with 1g of anhydrous sodium sulphate and kept for 3 h at 4°C for drying. The sample was extracted by shaking for 10 min with 2 ml of *n*-hexane in a 3ml closed vial. After that, the extract was centrifuged at 3500 rpm (4°C) for 10 min and the hexane layer was transferred into a 4 ml vial. The sample was again extracted with 2 ml of *n*-hexane as described above and the resulting extract was combined with the previous one. Before GC-MS determination, an appropriate amount of IS was added to an aliquot of 0.5 ml of the extract to give a concentration of 5 ng ml<sup>-1</sup>. For the analysis of the cyclic methylsiloxanes D5 and D6, which are present at higher concentrations than those found for the other compounds, a dilution of the final extract (1:100, w/w) was required and an appropriate amount of the IS was added to an aliquot of 0.5 ml of the diluted extract for quantification.

#### 2.4. CSR-LVI-GC-MS analysis

The GC-MS analysis of the linear and cyclic methylsiloxanes was carried out on a Trace GC 2000 Series gas chromatograph (Thermo Fisher Scientific, Milan, Italy) coupled to a DSQ II mass spectrometer (Thermo Fisher Scientific). The chromatographic separation of the target compounds was performed on a DB-5 MS (5 % phenyl, 95 % methyl polysiloxane) fused – silica capillary column (Agilent-J&W Scientific, Folsom, CA, USA) of 60 m x 0.25 mm I.D., with a film thickness of 0.25  $\mu\text{m}$ . The oven temperature was programmed from 60 °C (held for 5 min) to 285 °C at 15 °C  $\text{min}^{-1}$  (held for 15 min). For optimisation of the  $\text{C}_{18}$  SPE disk extraction, one-microliter of samples and standards (in tetrahydrofuran) were injected in splitless mode (1 min) at 200 °C in a GC conventional injector port. For CRS-LVI injection, an AS2000 autosampler (Thermo Fisher Scientific) equipped with a 50  $\mu\text{l}$  syringe (Hamilton, Bonaduz, Switzerland) was used. The syringe needle was inserted in the injector to a depth of 30 mm from the top and the injection was performed at 100  $\mu\text{l s}^{-1}$ . A glass liner of 105 x 5 mm ID filled in its base with 5 mm of deactivated glass wool (Panreac, Barcelona, Spain) and a 23-gauge Merlin Micro-seal septum (a high temperature resistant fluorocarbon elastomer, Supelco, Bellefonte, PA, USA) were used in the injector port. In addition, the chromatographic column was fitted with an uncoated fused – silica deactivated column of 5 m x 0.32 mm ID (Agilent-J&W Scientific) installed at 2 mm from the injector port. Helium (Abelló Linde, S.A., Barcelona, Spain) with a purity of 99.999 % was used as carrier gas at a constant flow-rate of 1  $\text{ml min}^{-1}$  held by electronic flow control. After optimisation of the CRS-LVI injection, a volume of 20  $\mu\text{l}$  of sample extracts and standards in tetrahydrofuran/*n*-hexane (60/40, v/v) were injected for the analysis of the dissolved phase. The injector temperature was kept at 200°C and the split and the septum purge outlet were closed during 1.5 min. Further details about the optimisation of the injection volume and solvent are given in Section 3.1. For the analysis of the particulate phase, a volume of 30  $\mu\text{l}$  of extracts and standards in *n*-hexane were injected using the CSR-LVI-GC-MS conditions previously established [39].

The MS was operated in electron ionisation (EI) mode at an electron energy of 70 eV and an electron emission of 100  $\mu\text{A}$ . Transfer line and ion source temperatures were set at 280 °C and 200 °C, respectively. For data acquisition, selected ion monitoring (SIM)

mode was used at a dwell time of 100 ms and a delay time of 20 ms. Table S2 (Supplementary material) shows the ions selected for quantification and confirmation of the target compounds. The quantification was carried out by internal standard method, using SS-1 and SS-2 as surrogate standards and bis(trimethylsiloxy)methylsilane (IS) for recovery determination. Xcalibur version 2.0 software was used for data acquisition and processing the results.

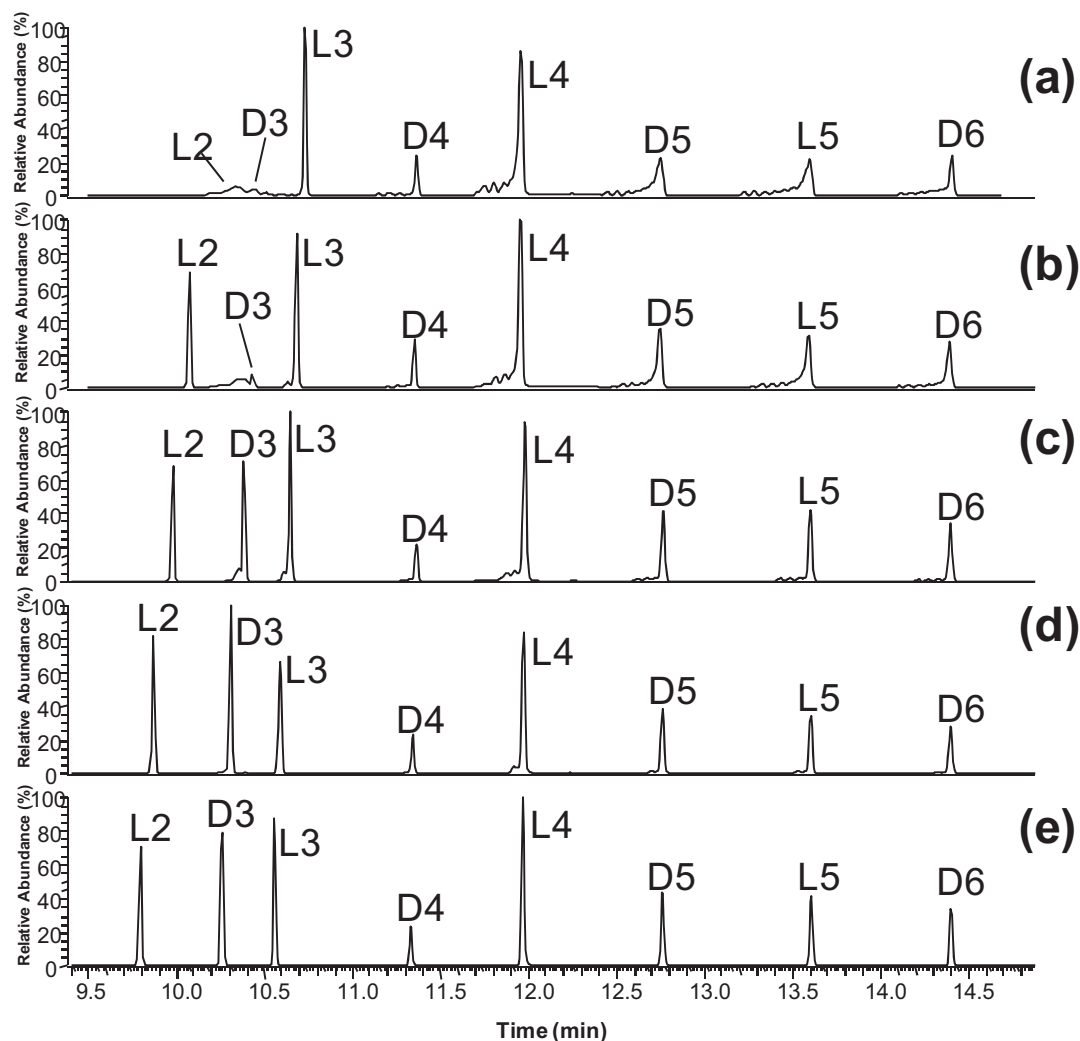
### *2.5. Quality control procedures*

A daily specific GC tests to check the separation, sensitivity and calibration of the instrumental method were carried out. In addition, procedural blanks covering both the instrumental and the SPE disk procedure were routinely performed for every set of three samples or standards to evaluate the contribution of the background levels on the siloxane response, which was subtracted for quantification. The preparation of standard solutions, procedural blanks and sample treatment were carried out in a laminar flow cabinet of a clean room (class 100) to avoid any contamination of ambient air. In addition, the analyst involved in this work refrained from using hand lotions or other personal care products that contain siloxanes before or during the sampling and analysis. To control any contamination occurred during sampling and storage a field blank was collected at each sampling. Field blanks were obtained by exposing a blank sample (Section 2.2) to the ambient air during the sampling period and they were analysed along with the corresponding wastewater samples. Retention times, peak areas and asymmetric factor control charts were used to assess the performance of the GC-column during the CSR-LVI injection. In addition, the glass wool of the GC liner was systematically replaced after 200 CSR-LVI injections to avoid cross-contamination between samples, blanks and standards. Quality parameters of the method, such as limit of detection (LOD) and quantification (LOQ), precision (generally RSD < 10%) and linearity (ranging between 0.04 and 25 ng ml<sup>-1</sup>), were routinely evaluated to ensure the feasibility of the results. To confirm the identification of the target compounds, the following restrictive criteria were applied: (a) the ion abundance ratios between the selected ions monitored had to be within ±15% of the theoretical value, and (b) the retention times had to be within ±2 s of those observed for the standards.

### **3. Results and Discussion**

#### *3.1. Optimization of the SPE disk extraction*

The background contamination and the losses of methylsiloxanes by volatilisation during the sample treatment are two of the main challenges on the analysis of these compounds at trace levels in environment samples [40]. To reduce the background contamination, especial attention must be paid to avoid or minimize potential VMS sources (e.g., ambient air, instruments, laboratory products and reagents) [14,33,40,41], while for preventing the partial losses of the target compounds the use of fast extraction techniques that require of small solvent volumes is recommended. In this way, the use of the solid-phase extraction disks of reduced size, that allows to minimize both sample volume and the amount of elution solvent with a significantly reduction in the analysis time, could solve this problem [42]. For this reason, initial experiments were conducted to establish the optimal extraction and elution conditions of the target compounds using a C<sub>18</sub> SPE disk cartridge. The first step in the optimisation was the selection of the elution solvent. To this end, several solvents such as *n*-hexane, dichloromethane, and tetrahydrofuran, which are currently used for extraction of methylsiloxanes, were assessed [40]. For this study, 1 ml of a natural mineral water spiked at 5 µg L<sup>-1</sup> with a standard mixture of 0.25 µg ml<sup>-1</sup> in THF was passed through preconditioned disk and then it was eluted with 400 µl of the corresponding solvent. One-microliter of each extract was analysed by GC-MS using conventional splitless injection. Among the solvent tested, tetrahydrofuran was selected because it was the only solvent that provided recoveries higher than 95% for all the target compounds, while low recoveries were achieved (<30%) using *n*-hexane or dichloromethane. Afterwards, the elution volume was optimised from 150 to 300 µL, since the use of concentration steps before GC-MS analysis was avoided to prevent possible losses. An elution volume of 200 µL was chosen since it provided the highest recovery (>95%) for all the compounds (Figure S1 in Supplementary data). After optimization of the desorption conditions, the breakthrough volume of the target compounds was determined by drawing several volumes (from 5 to 20 mL) of a spiked blank water phase of a wastewater sample through the C<sub>18</sub> SPE disk cartridges. The blank phase contained the target compounds at concentrations lower than the limits of quantification of the method (0.5-0.8 ng L<sup>-1</sup>) and was spiked at a constant amount (5 ng) of the target



**Figure 1.** Effect of the solvent composition on the peak shapes of the target compounds. (Injection volume: 10  $\mu\text{l}$ , concentration 20  $\text{ng ml}^{-1}$ ). Solvent composition of the tetrahydrofuran/*n*-hexane mixture (v/v): (a) 100/0, (b) 90/10, (c) 80/20, (d) 70/30 and (e) 60/40.

compounds. Recoveries higher than 95% were obtained for all the compounds at sample volumes up to 10 mL (Figure S2, in Supplementary data) and this aqueous volume was selected as optimum for further experiments.

In order to increase the sensitivity of the GC-MS analysis, CSR-LVI injection technique previously developed [38,39] was applied. This method use a retention gap of 5m length, a liner internal diameter of 5 mm, injection volume of 30  $\mu\text{l}$  of *n*-hexane. This CSR-LVI injection conditions were used for the analysis of the target compounds in the particulate phase. However, when high volumes (10  $\mu\text{l}$ ) of a standard mixture in

tetrahydrofuran ( $20 \text{ ng ml}^{-1}$ ) were injected fronting peaks were obtained (Figure 1a) because tetrahydrofuran is not an appropriate solvent for large -volume injection.

Since using *n*-hexane these distortions were not observed, experiments conducted to examine the performance of tetrahydrofuran/*n*-hexane mixtures on the peak shape were carried out. For this purpose, standard solutions of the target compounds were prepared in different tetrahydrofuran /*n*-hexane mixtures (90/10, 80/20, 70/30, 60/40 and 50/50) at a concentration of  $20 \text{ ng ml}^{-1}$  and  $10 \mu\text{L}$  of each solution were injected in the CSR-LVI-GC-MS system. Figures 1b – 1e show the chromatograms obtained for each solvent mixture. As can be noted, peak distortions decreased for all the target analytes when the percentage of *n*-hexane was increased. Good peak shapes were obtained using a mixture tetrahydrofuran /*n*-hexane 60/40 (v/v) and therefore, it was selected as optimum injection solvent. Afterward, to achieve the maximum sensitivity, the effect of the injection volume was evaluated from 10 to  $50 \mu\text{L}$  and as can be seen in Figure S3 (in Supplementary material), an injection volume of  $30 \mu\text{L}$  produced fronting peaks while for volumes of  $20 \mu\text{L}$  good peak shapes were obtained, and therefore this volume was selected for this study.

### *3.2. Performance of the analytical method*

To assess the performance of the proposed method recoveries, limits of detection and quantification were established using wastewater samples (Table 1). In addition, linearity on the response of the CSR-LVI-GC-MS method was examined by injecting standard mixtures containing the target compounds at concentrations ranging from  $0.04$  to  $25 \text{ ng mL}^{-1}$  in tetrahydrofuran/*n*-hexane (60/40, v/v) ( $20 \mu\text{L}$ ) and in *n*-hexane ( $30 \mu\text{L}$ ) which were used for the quantification VMS in the water phase and particulate matter, respectively. Correlation coefficients (*r*) higher than 0.999 were obtained for all the compounds at the optimal CSR-LVI conditions. Recoveries of the whole method were determined by spiking a dissolved aqueous sample obtained from a wastewater of industrial origin which contained the target compounds at concentration levels lower than the limits of quantification of the method. Two spiked levels were studied:  $75 \text{ ng L}^{-1}$  for L2 and  $25 \text{ ng L}^{-1}$  for L3 – L5 and D3 – D6 (low level) and  $700 \text{ ng L}^{-1}$  for L2 and  $150 \text{ ng L}^{-1}$  for L3 – L5 and D3 – D6 (high level). Good recoveries (Table 1) ranging



from 91 to 100% were obtained, even for the more volatile compounds, such as L2, L3 and D3. Recoveries of the method developed for the analysis of the target compounds in particulate matter were calculated using a blank particulate matter sample spiked at two concentration levels: 50 ng g<sup>-1</sup> ww for L2 – L5, D3 and D4, and 500 ng g<sup>-1</sup> for D5 and D6 (low level) and 100 ng g<sup>-1</sup> ww for L2 – L5, D3 and D4, and at 2000 ng g<sup>-1</sup> for D5 and D6 (high level). Recoveries higher than 89 % were obtained for all the compounds (Table 1). Precision of the method was also determined at the low concentration levels and relative standard deviations (RSD%) lower than 10 % were obtained. Limits of detection and quantification of the method were also determined by analysing field blanks in triplicate. LODs and LOQs were established as the concentration of analyte that provides a response equal to the means of field blanks plus three and ten times the standard deviation, respectively, and are given in Table 1.

For the water phase, method LODs ranged between 0.5 and 0.8 ng L<sup>-1</sup> and from 1.7 to 2.6 ng L<sup>-1</sup> for method LOQs and these values are one order of magnitude lower than those reported for cyclic methylsiloxanes in water using membrane – assisted solvent extraction [36], headspace-solid phase microextraction [34], headspace [33] and liquid-liquid extraction [26], and two orders of magnitude lower than those published using purge and trap [1]. For the particulate phase, method LOQs ranged from 0.2 to 0.8 ng g<sup>-1</sup> wet weight (Table 1) and between 1.1 and 5.0 ng g<sup>-1</sup> expressed on dry weight (dw) basis according to the average moisture of the samples analysed (85%). These values are 10 times lower than those reported in the literature for sediments and sludges using purge and trap [1] and solvent extraction [25] and slightly lower than those published for sediments using ultrasound-assisted extraction [26].

### *3.3. Analysis of wastewater samples*

To assess the applicability of the proposed method six influents and two effluents collected from several WWTPs located in Catalonia (NE, Spain) were analysed in triplicate. Table 2 shows the concentration mean values with their corresponding standard deviations obtained for linear and cyclic methylsiloxanes in the water and particulate phases of four influent samples, while Table 3 summarises the levels of methylsiloxanes measured in the influents and effluents of two WWTPs collected for

**Table 1.** Recoveries (%) and method limits of detection (mLOD) and quantification (mLOQ) of linear and cyclic methylsiloxanes for the analysis of the aqueous and particulate matter of wastewater samples.

Compound	Water phase				Particulate matter <sup>a</sup>			
	Recovery (%) (mean ± sd) <sup>b</sup>		mLOD (ng L <sup>-1</sup> )	mLOQ (ng L <sup>-1</sup> )	Recovery (%) (mean ± sd) <sup>b</sup>		mLOD (ng g <sup>-1</sup> ww)	mLOQ (ng g <sup>-1</sup> ww)
	Low level <sup>c</sup>	High level <sup>d</sup>			Low level <sup>e</sup>	High level <sup>f</sup>		
L2	92 ± 10	96 ± 5	0.8	2.6	89 ± 9	92 ± 4	0.3	0.8
L3	91 ± 8	97 ± 3	0.6	1.7	90 ± 9	93 ± 3	0.05	0.2
L4	96 ± 6	100 ± 5	0.5	1.7	93 ± 8	97 ± 5	0.07	0.2
L5	93 ± 7	98 ± 3	0.6	2.3	90 ± 8	92 ± 7	0.07	0.2
D3	94 ± 9	96 ± 4	0.8	2.5	87 ± 9	89 ± 5	0.2	0.7
D4	98 ± 9	100 ± 8	0.7	2.3	94 ± 8	97 ± 6	0.2	0.6
D5	91 ± 8	99 ± 3	0.8	2.3	90 ± 9	92 ± 8	0.2	0.5
D6	93 ± 9	97 ± 5	0.7	2.1	89 ± 10	91 ± 8	0.06	0.2

<sup>a</sup> moisture content (%): 85 %<sup>b</sup> n=8<sup>c</sup> Low spiked level for dissolved phase: 75 ng L<sup>-1</sup> for L2 and 25 ng L<sup>-1</sup> for L3- L5 and D3 – D6.<sup>d</sup> High spiked level for dissolved phase: 700 ng L<sup>-1</sup> for L2 and 150 ng L<sup>-1</sup> for L3- L5 and D3 – D6.<sup>e</sup> Low spiked level for particulate matter: 50 ng g<sup>-1</sup>ww for L2 – L5, D3 and D4, and 500 ng g<sup>-1</sup>ww for D5 and D6.<sup>f</sup> Low spiked level for particulate matter: 100 ng g<sup>-1</sup>ww for L2 – L5, D3 and D4, and 2000 ng g<sup>-1</sup>ww for D5 and D6.

evaluating the removal efficiency of these compounds in these treatment plants. In addition, the total suspended solids (TSS) and the moisture content (%) are also given for each sample. Figure 2 shows as an example the GC-MS (SIM) chromatograms obtained for the particulate phase of an influent wastewater collected at WWTP 6. Generally, total concentrations (dissolved + particulate phases) of linear and cyclic methylsiloxanes found in influent samples (Tables 2 and 3) ranged from 12 to 708 ng L<sup>-1</sup> and between 21 and 20093 ng L<sup>-1</sup>, respectively. In all samples, concentrations of cyclic methylsiloxanes were up to two orders of magnitude higher than those of linear methylsiloxanes and D5 (8770–20,093 ng L<sup>-1</sup>) and D6 (3124–11,000 ng L<sup>-1</sup>) were always detected at the highest concentrations, followed by D4 (352 and 868 ng L<sup>-1</sup>) and D3 (21 to 112 ng L<sup>-1</sup>). The differences found in the concentrations of cyclic and linear methylsiloxanes are in accordance with the higher production and use of cyclic methylsiloxanes in the European Union [1,23,40], being D5 and D6 the predominant compounds present in personal care products, which are considered to be the most important sources of cyclic methylsiloxanes in WWTPs [40,41]. Concentration levels found for cyclic VMS are in agreement with those reported in the literature on influents of WWTPs collected in the Nordic Countries (280–26,000 ng L<sup>-1</sup>) [1] and Spain (13–24,824 ng L<sup>-1</sup>) [26,37], being D5 the predominant compound in all these samples. Levels higher than those found in the present study were reported in influents from Canada (282–135,000 ng L<sup>-1</sup>) [36], whereas lower levels were detected in Greece [32] and China [35]. Regarding linear methylsiloxanes, L2 and L5 were found to be the most abundant compounds at a total concentration ranging from 334 to 708 ng L<sup>-1</sup> and between 130 and 336 ng L<sup>-1</sup>. These results are in line with data reported on the occurrence of linear VMS in wastewater influents (3.4–230 ng L<sup>-1</sup> [1], 1.4 – 1,307 ng L<sup>-1</sup> [26]) with a concentration pattern dominated by L5. The distribution of methylsiloxanes between water and particulate phase showed different patterns (Figure 3). Linear and cyclic methylsiloxanes with high molecular weight, such as D5, D6 and L5, were mainly detected in the particulate phase and accounted 99.3–99.9% of the total concentration which can be attributed to their lower solubility in water (Table S1 in Supplementary data). D4 and L4 also showed a high predominance in the particulate phase (95 y 83 %, respectively), whereas D3 and L3 were distributed nearly in the same proportion between both phases. L2 was found entirely in the water phase (99%) due to their high solubility in water (Table S1). Although D3 exhibit a

**Table 2.** Concentrations of linear and cyclic methylsiloxanes found in water ( $\text{ng L}^{-1}$ ) and particulate matter ( $\text{ng g}^{-1}$  dry weight, dw) of influents of WWTPs.

Comp.	Concentration (mean $\pm$ sd) <sup>a</sup>											
	WWTP 1			WWTP 2			WWTP 3			WWTP 4		
	Water phase ( $\text{ng L}^{-1}$ )	Particulate matter ( $\text{ng g}^{-1}\text{dw}$ )	Total ( $\text{ng L}^{-1}$ )	Water phase ( $\text{ng L}^{-1}$ )	Particulate matter ( $\text{ng g}^{-1}\text{dw}$ )	Total ( $\text{ng L}^{-1}$ )	Water phase ( $\text{ng L}^{-1}$ )	Particulate matter ( $\text{ng g}^{-1}\text{dw}$ )	Total ( $\text{ng L}^{-1}$ )	Water phase ( $\text{ng L}^{-1}$ )	Particulate matter ( $\text{ng g}^{-1}\text{dw}$ )	Total ( $\text{ng L}^{-1}$ )
L2	584 $\pm$ 67	32 $\pm$ 4	600	334 $\pm$ 49	< 5.0 <sup>c</sup>	334	592 $\pm$ 26	73 $\pm$ 10	611	645 $\pm$ 25	< 5.0 <sup>c</sup>	645
L3	12 $\pm$ 2	19 $\pm$ 1	22	6 $\pm$ 1	14 $\pm$ 1	12	9 $\pm$ 2	83 $\pm$ 12	31	24 $\pm$ 3	20 $\pm$ 3	30
L4	6 $\pm$ 1	129 $\pm$ 8	71	< 1.7 <sup>b</sup>	59 $\pm$ 10	23	7 $\pm$ 1	194 $\pm$ 12	57	17 $\pm$ 3	102 $\pm$ 18	45
L5	< 2.3 <sup>b</sup>	663 $\pm$ 60	333	< 2.3 <sup>b</sup>	279 $\pm$ 15	110	< 2.3 <sup>b</sup>	983 $\pm$ 47	255	< 2.3 <sup>b</sup>	760 $\pm$ 34	211
D3	25 $\pm$ 3	174 $\pm$ 19	112	15 $\pm$ 2	59 $\pm$ 6	38	< 2.5 <sup>b</sup>	80 $\pm$ 5	21	23 $\pm$ 3	101 $\pm$ 15	51
D4	47 $\pm$ 6	1636 $\pm$ 107	868	< 2.3 <sup>b</sup>	1205 $\pm$ 81	475	23 $\pm$ 3	1706 $\pm$ 78	465	19 $\pm$ 4	1573 $\pm$ 124	456
D5					35364 $\pm$			43748 $\pm$			43378 $\pm$	
	77 $\pm$ 10	39873 $\pm$ 1236	20093	18 $\pm$ 2	631	13951	56 $\pm$ 3	1887	11387	57 $\pm$ 9	981	12116
D6					15046 $\pm$			28400 $\pm$			23547 $\pm$	
	16 $\pm$ 2	21881 $\pm$ 829	11000	6 $\pm$ 1	407	5934	11 $\pm$ 2	1711	7367	< 2.1 <sup>b</sup>	871	6546
TSS ( $\text{mg L}^{-1}$ )		502			394			259			278	
Moisture (%)		87			85			88			81	

<sup>a</sup> n=3<sup>b</sup> < mLOQ ( $\text{ng L}^{-1}$ ).<sup>c</sup> < mLOQ ( $\text{ng g}^{-1}\text{dw}$ ).

TSS: Total suspended solids.

**Table 3.** Concentration levels of linear and cyclic methylsiloxanes found in water (ng L<sup>-1</sup>) and particulate matter (ng g<sup>-1</sup> dry weight, dw) of influents and effluents of two WWTPs.

Comp.	Concentration (mean ± sd) <sup>a</sup>											
	WWTP 5						WWTP 6					
	Influent			Effluent			Influent			Effluent		
	Water phase (ng L <sup>-1</sup> )	Particulate phase (ng g <sup>-1</sup> dw)	Total (ng L <sup>-1</sup> )	Water phase (ng L <sup>-1</sup> )	Particulate phase (ng g <sup>-1</sup> dw)	Total (ng L <sup>-1</sup> )	Water phase (ng L <sup>-1</sup> )	Particulate phase (ng g <sup>-1</sup> dw)	Total (ng L <sup>-1</sup> )	Water phase (ng L <sup>-1</sup> )	Particulate phase (ng g <sup>-1</sup> dw)	Total (ng L <sup>-1</sup> )
L2	702 ± 54	22 ± 1	708	563 ± 36	8 ± 1	563	496 ± 19	10 ± 1	499	367 ± 9	< 5.0 <sup>c</sup>	367
L3	37 ± 5	41 ± 4	49	17 ± 2	36 ± 4	18	15 ± 3	19 ± 3	21	6 ± 1	6.0 ± 0,2	6.2
L4	11 ± 2	84 ± 11	35	< 1.7 <sup>b</sup>	41 ± 3	1.3	< 1.7 <sup>b</sup>	95 ± 7	29	< 1.7 <sup>b</sup>	13 ± 4	0.3
L5	< 2.3 <sup>b</sup>	447 ± 13	130	< 2.3 <sup>b</sup>	269 ± 8	9	4.7 ± 0.7	485 ± 23	151	< 2.3 <sup>b</sup>	251 ± 10	6.3
D3	41 ± 6	23 ± 2	48	22 ± 3	19 ± 3	23	28 ± 3	9 ± 2	31	19 ± 3	9.2 ± 1.5	19
D4	78 ± 5	1076 ± 73	390	35 ± 5	346 ± 31	46	43 ± 5	1027 ± 50	352	33 ± 4	341 ± 19	42
D5	95 ± 12	34241 ± 1792	10025	31 ± 3	3718 ± 192	150	68 ± 9	28910 ± 1656	8770	47 ± 6	5289 ± 285	179
D6	18 ± 2	12461 ± 789	3632	< 2.1 <sup>b</sup>	5469 ± 388	175	4.6 ± 0.7	10363 ± 1216	3124	< 2.1 <sup>b</sup>	8897 ± 373	222
TSS (mg L <sup>-1</sup> )		290			32			301			25	
Moisture (%)		86			88			84			89	

<sup>a</sup> n=3

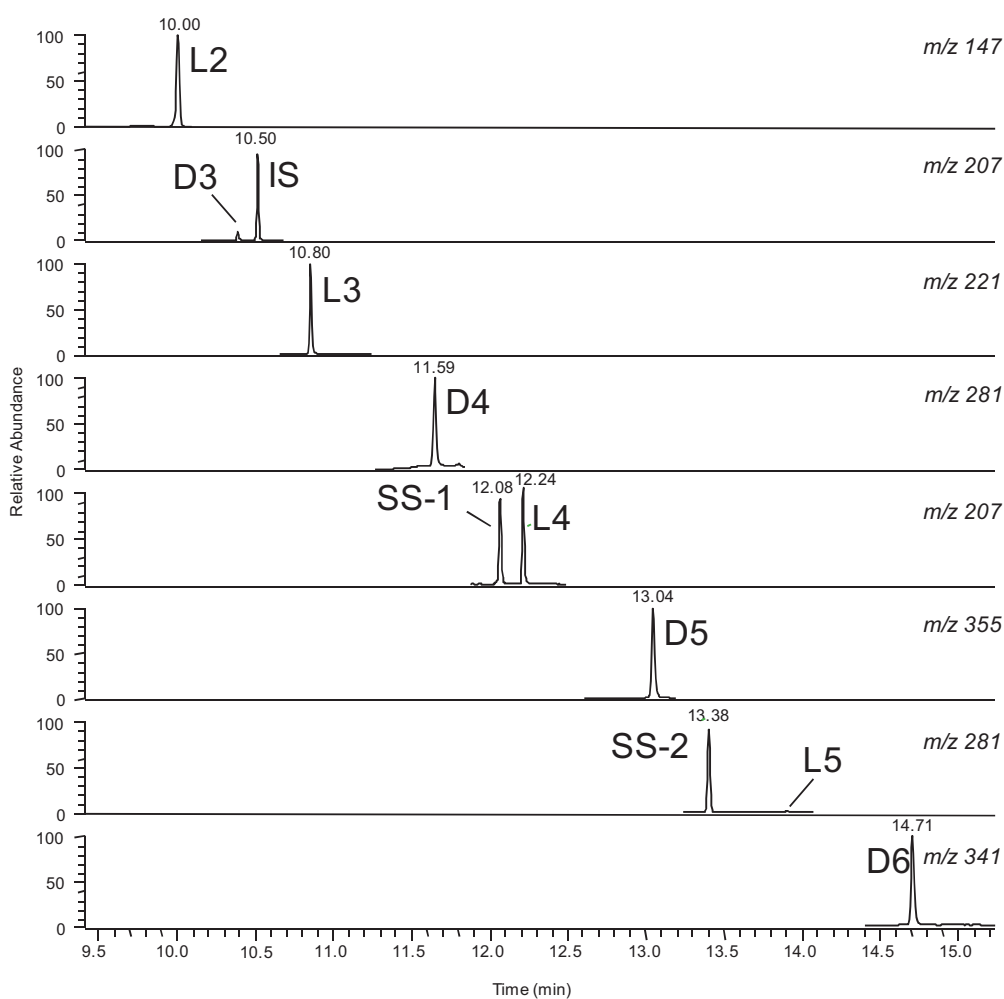
<sup>b</sup> < mLOQ (ng L<sup>-1</sup>).

<sup>c</sup> < mLOQ (ng g<sup>-1</sup>dw).

TSS: Total suspended solids.

higher solubility in water than L2, their presence in the water phase was significantly lower, suggesting a high interaction of D3 with the particulate phase probably related with the organic matter content.

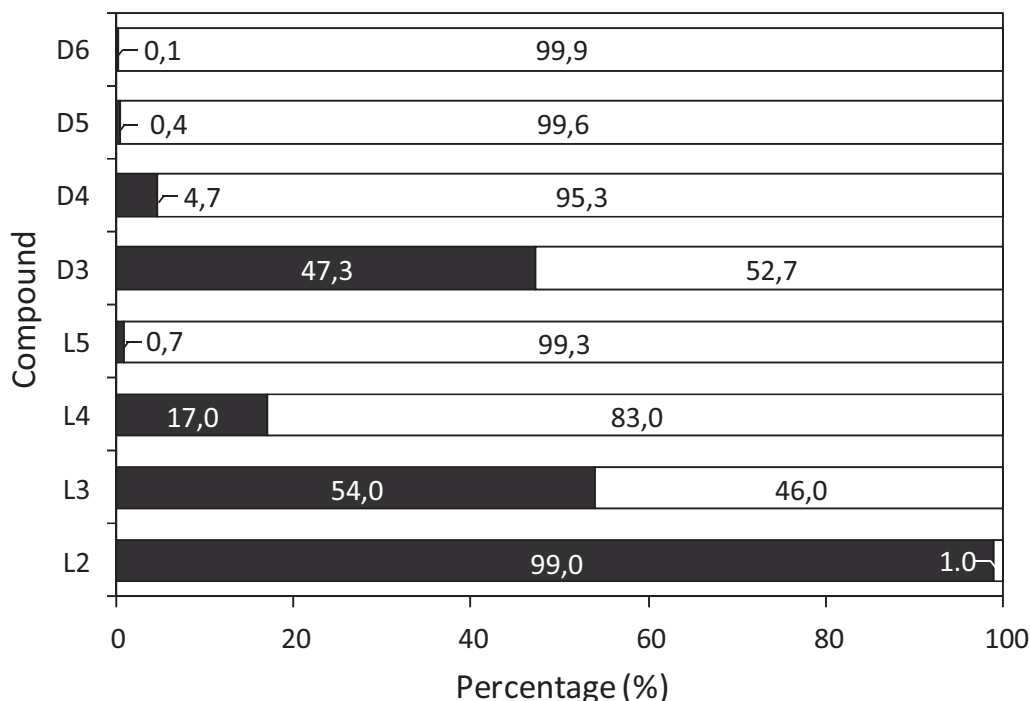
Regarding the wastewater effluents, total concentrations (water and particulate phase) of methylsiloxanes ranged from 19 to 222 ng l<sup>-1</sup> for cyclic VMS and between 0.3 to 563 ng L<sup>-1</sup> for lineal VMS (Table 3). In all samples, D6 (175 and 224 ng L<sup>-1</sup>) and L2 (367 and 563 ng L<sup>-1</sup>) were the compounds detected at the highest concentration levels, followed by D5 (150 and 179 ng L<sup>-1</sup>). These results are in agreement with those reported for linear cyclic methylsiloxes in effluents from Nordic Countries (1.2 – 980 ng L<sup>-1</sup>) [1]. High levels of cyclic VMS were also reported in effluent wastewaters from Catalonia (Spain) (9.9 – 3,587 ng L<sup>-1</sup>) [26], Canada (20 – 1,560 ng L<sup>-1</sup>) [36] and



**Figure 2.** CSR-LVI-GC-MS (SIM) chromatograms obtained for the particulate phase of the influent wastewater sample collected at WWTP 6.

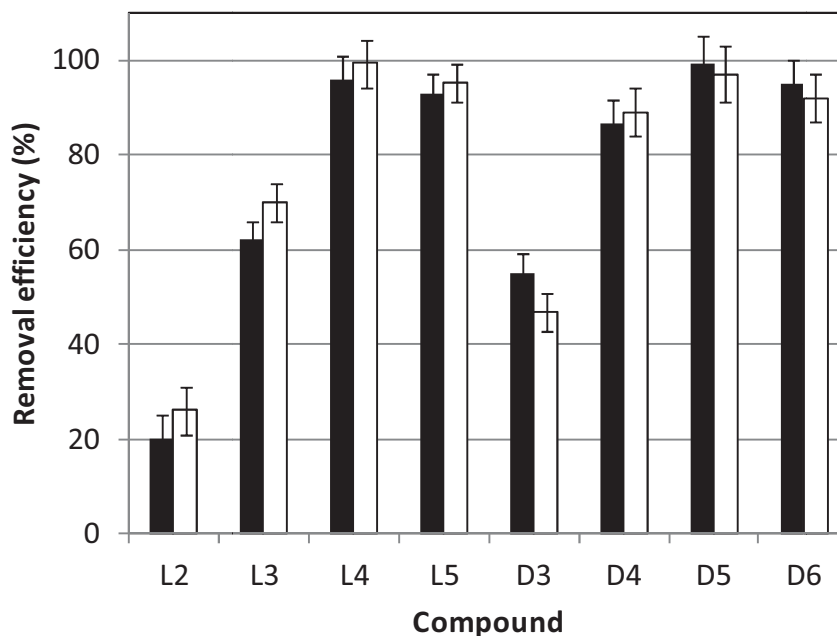
Greece ( $2 - 6,020 \text{ ng L}^{-1}$ ) [32]. Recently, Cortada et al. [37] reported high levels of linear ( $1700 \text{ ng L}^{-1}$ ) and cyclic VMS ( $600 - 22,700 \text{ ng L}^{-1}$ ) in effluent wastewaters from a WWTP in Spain.

An estimation of the removal efficiency for methylsiloxanes in two studied WWTPs (WWTP 5 and 6) was performed considering the concentrations of VMS found in their influents and effluents. Generally, removal mechanisms of these compounds in WWTPs are attributed to the volatilization to air and adsorption into sewage sludge [40]. Therefore, high removal efficiencies can be expected for these compounds because they tend to associate with the particulate matter. Removal efficiencies from 86 to 99% were found for D4-D6, L4 and L5 (Figure 4). For the D3 and L3, which are distributed nearly in a 50% to the particulate phase, removal efficiencies ranging from 47 to 70 % were observed. On the contrary, low removal efficiencies for L2 (20-26 %) were found and it could be attributed to the poor adsorption onto the particulate phase (1%). These results are in agreement with those reported in the literature for D4 and D5 in a pilot-scale WWTP (86 – 99%) [30], and in municipal WWTPs [28,31,36].



**Figure 3.** Distribution (%) percentage of concentration means of linear and cyclic methylsiloxanes in water (■) and particulate phase (□) of wastewater influents.

Concerning to linear methylsiloxanes, the present work provides the first data about their removal efficiencies in wastewater treatment plants.



**Figure 4.** Removal efficiencies (%) of linear and cyclic methylsiloxanes estimated for two WWTPs: (■) WWTP 5 and (□) WWTP 6.

#### 4. Conclusions

A fast and simple new method for the analysis of linear and cyclic methylsiloxanes in wastewaters using SPE disk cartridges combined with CSR-LVI-GC-MS is developed. The use of C<sub>18</sub> SPE disk cartridges of reduced size (5.5 mg, 1 ml) for the analysis of water phase allowed decreasing the sample treatment time, minimising the possible losses of the target compounds by volatilisation. In addition, the use of CSR-LVI technique for sample injection improved the detectability of the method, avoiding the use of concentration steps during sample treatment and providing low method limits of detection (0.5-0.8 ng L<sup>-1</sup> for water phase and 0.3-1.9 ng g<sup>-1</sup> dw for particulate phase). The developed method has been applied to the analysis of linear and cyclic methylsiloxanes in wastewater. For the effluents, VMS levels were 10-50 times lower than those found in influents, indicating a high a removal efficiency in the WWTPs for most of the compounds (>86%), except for D3 and L3 (47-70 %) and L2 (20-26%) which were mainly distributed in the dissolved



phase. The developed method has shown to be capable of giving accurate and reproducible results for the analysis of linear and cyclic methylsiloxanes in wastewater at ng L<sup>-1</sup> levels, and can be proposed for the routine analysis of these compounds in wastewater.

### Acknowledgements

The authors are very grateful for the financial support from the Spanish *Ministerio de Ciencia e Innovación* under project CTQ2012-30836.

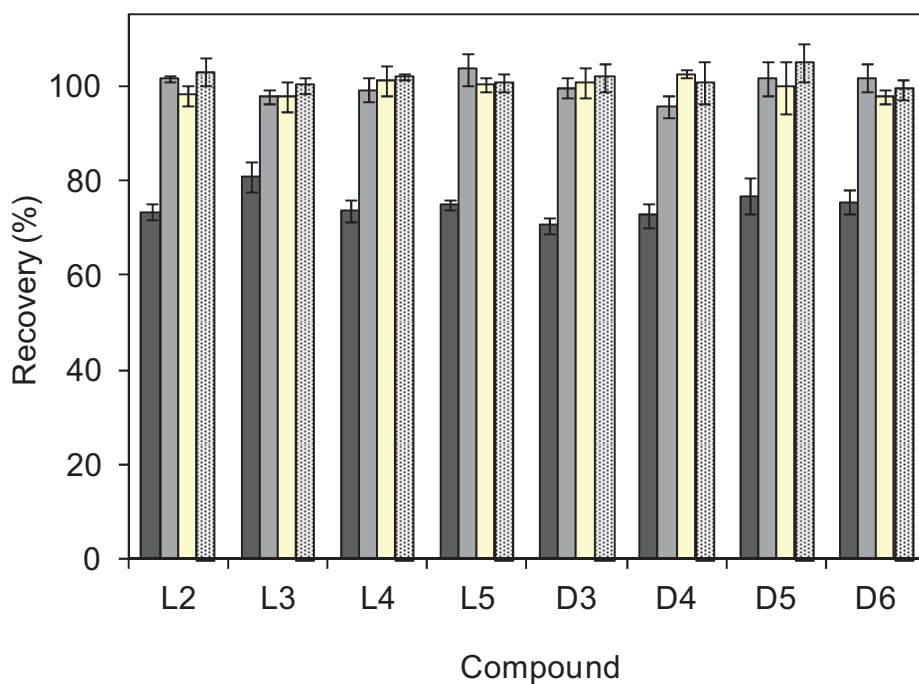
### References

- [1] L. Kaj, M. Schlabach, J. Andersson, A. P. Cousins, N. Schmidbauer, E. Brorström-Lundén, Siloxanes in the Nordic Environment, Nordic Council of Ministers, Copenhagen, 2005, available at:  
<http://nordicscreening.org/index.php?module=Pagesetter&type=file&func=get&tid=5&fid=reportfile&pid=4> (accessed on 3 March, 2010).
- [2] C. Lassen, C. L. Hansen, S. H. Mikkelsen, J. Maag, Siloxanes-Consumption, Toxicity and Alternatives, Danish Ministry of the Environment, Environmental Protection Agency, available at:  
<http://www2.mst.dk/udgiv/publications/2005/87-7614-756-8/pdf/87-7614-757-6.pdf> (accessed on 16 January, 2010).
- [3] U.S. Environmental Protection Agency (USEPA). Siloxane D5 in dry cleaning applications, available at: [www.epa.gov/dfe/pubs/garment/d5fs3.pdf](http://www.epa.gov/dfe/pubs/garment/d5fs3.pdf) (accessed on 11 February, 2013).
- [4] J.M. Mc Kim Jr, P. C. Wilga, W. J. Breslin, K. P. Plotzke, R. H. Gallavan, R. J. Meeks, *Toxicol. Sci.* 63 (2001) 37.
- [5] B. He, S. Rhodes-Brower, M. R. Miller, A. E. Munson, D. R. Germolec, V. R. Walker, K. S. Korach, B. J. Meade, *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 192 (2003) 254.
- [6] A. L. Quinn, A. Dalu, L. S. Meeker, P. A. Jean, R. G. Meeks, J. W. Crissman, R. H. Gallavan Jr., K. P. Plotzke, *Reprod. Toxicol.* 23 (2007) 532.

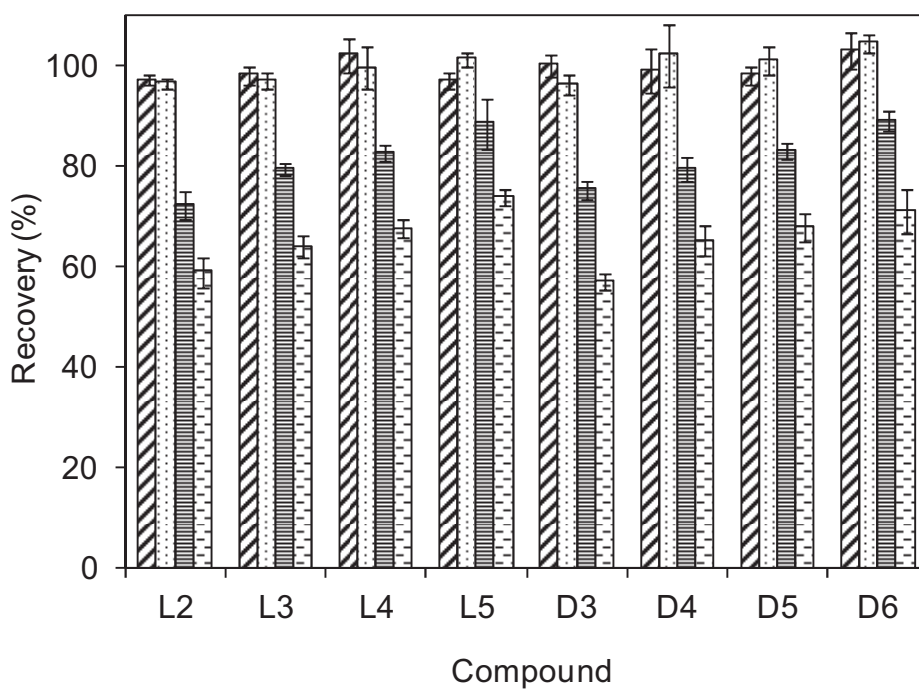
- [7] A. L. Quinn, J. M. Regan, J. M. Tobin, B. J. Marinik, J. McMahon, D. A. McNett, C. M. Sushynski, S. D. Croofot, P. A. Jean, K. P. Plotzke, *Toxicol. Sci.* 96 (2007) 145.
- [8] W. H. Siddiqui, D. G. Stump, V. L. Reynolds, K. P. Plotzke, J. F. Holson, R. G. Meeks, *Reprod. Toxicol.* 23 (2007) 202.
- [9] A. Kierkegaard, R. van Egmond, M. S. McLachlan, *Environ. Sci. Technol.* 45 (2011) 5936.
- [10] A. Kierkegaard, A. Bignert, M. S. McLachlan, *Chemosphere* 93 (2013), 789.
- [11] K. Woodburn, K. Drott, J. Domoradzki, J. Durham, D. McNett, R. Jezowski, *Chemosphere* 93 (2013) 749
- [12] K. Borga, E. Fjeld, A. Kierkegaard, M. S. McLachlan, *Environ. Sci. Technol.* 46 (2012) 6347.
- [13] J.G. Navea, M.A. Young, S. Xu, V.H. Grassian, C.O. Stanier, *Atmos Environ* 45 (2011) 3181.
- [14] S. Varaprath, D. H. Stutts, G. E. Kozerski, *Silicon Chemistry* 3 (2006) 79.
- [15] S. M. Mazzoni (1997) Eco-relevant properties of organosilicon materials, pp. 53-82. In: Chandra, G.(Ed.) *The Handbook of Environmental Chemistry. Part H. Organosilicon Materials, Vol. 3.* Springer-Verlag, Berlin.
- [16] Y. D. Lei, F. Wania, D. Mathers, *J. Chem. Eng. Data* 55 (2010) 5868.
- [17] S. Xu, B. Kropscott, *Anal. Chem.* 84 (2012) 1948.
- [18] M. D. David, N. J. Fendinger, V. C. Hand, *Environ. Sci. Technol.* 34 (2000) 4554.
- [19] M. J. Whelan, D. Sanders, R. Van Egmond, *Chemosphere* 74 (2009) 1111.
- [20] M. J. Whelan, R. Van Egmond, D. Gore, D. Sanders, *Water Res.* 44 (2010) 3679.
- [21] M. Schlabach, M. S. Andersen, N. Green, M. Shoyen, L. Kaj, Siloxanes in the Environment of the Inner Oslofjord TA-2269/2007, 2007, available at: [www.klif.no/publikasjoner/2269/ta2269.pdf](http://www.klif.no/publikasjoner/2269/ta2269.pdf) (accessed on 5 March, 2013).
- [22] Z. Zhang, H. Qi, N. Ren, Y. Li, D. Gao, K. Kannan, *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 60 (2011) 204.
- [23] N. A. Warner, A. Evenset, G. Christenser, G.W. Gabrielsen, K. Borgå, H. Leknes, *Environ. Sci. Technol.* 44 (2010) 7705.
- [24] C. Sparham, R. V. Egmond, C. Hastie, S. O'Connor, D. G. ore, N. Chowdhury, *J. Chromatogr. A* 1218 (2011) 817.

- [25] D.-G. Wang, M. Alae, H. Steer, T. Tait, Z. Williams, S. Brinble, L. Svodoba, E. Barresi, M. Dejong, J. Schachtschneider, E. Kaminski, W. Norwood, E. Sverko, *Chemosphere* 93 (2013) 741.
- [26] J. Sanchís, E. Martínez, A. Ginebreda, M. Farré, D. Barceló, *Science of the Total Environment*, 443 (2013) 530.
- [27] R. Van Egmond, C. Sparham, C. Hastie, D. Gore, N. Chowdhury, *Chemosphere* 93 (2013) 757.
- [28] J. A. Mueller, D. M. Di Toro, J. A. Maiello, *Environmental Toxicology and Chemistry*, 14 (1995) 1657.
- [29] N.J. Fendinger, D. C. McAvoy, W. S. Eckhoff, B. B. Price, *Environ. Sci. Technol.* 31(1997)1555.
- [30] W. J. Parker, J. Shi, N. J. Fendinger, H. D. Monteith, G. Chandra, *Environmental Toxicology and Chemistry*, 18(1999) 172.
- [31] O. Kazuyuki, T. Masaki, M. Tadao, K. Hiroshi, *Journal of Japan Sewage Works Association*, 44 (2007) 125.
- [32] A. A. Bletsou, A. G. Asimakopoulos, A. S. Stasinakis, N. S. Thomaidis, K. Kannan, *Env. Sci. Technol.* 47 (2013) 1824.
- [33] C. Sparham, R. Van Egmond, S. O'Connor, C. Hastie, M. Whelan, R. Kanda, O. Franklin, *J. Chromatogr. A* 1212 (2008) 124.
- [34] E.Y. Companioni-Damas, F. J. Santos, M. T. Galceran, *Talanta* 89 (2012) 63.
- [35] L. Xu, Y. Shi, Y. Cai, *Water Research* 47 (2013) 715.
- [36] D.-G. Wang, H. Steer, T. Tait, Z. Williams, G. Pacepavicius, T. Young, T. Ng, S.A. Smyth, L. Kinsman, M. Alae, *Chemosphere* 93 (2013) 766.
- [37] C. Cortada, L. Costa dos Reis, L. Vidal, J. Llorca, A. Canals, *Talanta* 120 (2014) 191.
- [38] E.Y. Companioni-Damas, F. J. Santos, M. T. Galceran, *J. Chromatogr. A* 1268 (2012) 150.
- [39] E.Y. Companioni-Damas, F. J. Santos, M. T. Galceran, *Talanta* 118 (2014) 245.
- [40] D.-G. Wang, W. Norwood, M. Alae, J.D. Byer, S. Brimble, *Chemosphere* 93 (2013) 711.
- [41] Y. Horii, K. Kannan, *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 55 (2008) 701.
- [42] E.M. Thurman, K. Snavely, *Trends Anal. Chem.*, 19 (2000) 18.

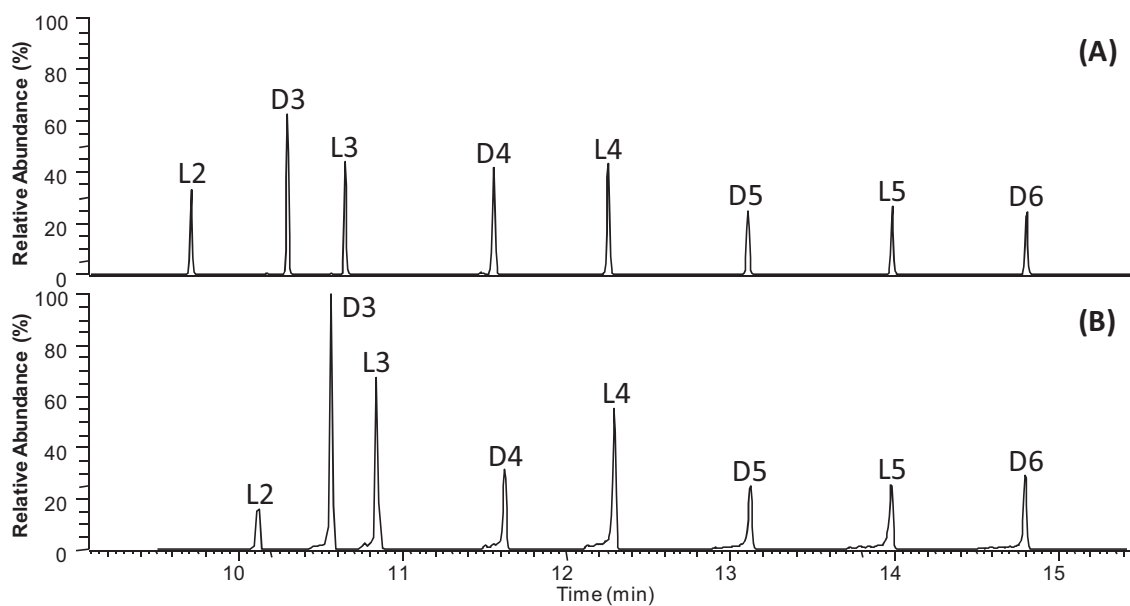
SUPPLEMENTARY MATERIAL



**Figure S1.** Effect of elution volume (tetrahydrofuran) on the recovery (%) of the linear and cyclic methylsiloxanes. Elution volumes: (■) 150 µl, (■) 200 µl, (■) 250 µl, and (■) 300 µl.



**Figure S2.** Effect of the sample volume on the recovery (%) of the linear and cyclic methylsiloxanes. Water volume: (▨) 5 ml, (▨) 10 ml, (▨) 15 ml and (▨) 20 ml.



**Figure S3.** CSR-LVI-GC-MS (SIM) reconstructed ion chromatograms of a mixture of linear and cyclic methylsiloxanes ( $20 \text{ ng ml}^{-1}$ ) in tetrahydrofuran/n-hexane 60/40 (v/v) obtained using an injection volume of: (A)  $20 \mu\text{l}$  and (B)  $30 \mu\text{l}$ .

**Table S1.** Physical-chemical properties of the linear and cyclic methylsiloxanes.

Compound	Abbreviation	Molecular weight (g mol <sup>-1</sup> )	Water solubility (μg L <sup>-1</sup> , 25°C) <sup>a</sup>	Boiling point (°C)	Vapour pressure (Pa, 25 °C) <sup>b</sup>	log K <sub>aw</sub> <sup>c</sup>	log K <sub>ow</sub> <sup>b</sup>
<i>Linear methylsiloxane:</i>							
Hexamethyldisiloxane	L2	162	930.7	107	5620	2.60	4.2
Octamethyltrisiloxane	L3	236	34.49	153	520	3.16	4.80
Decamethyltetrasiloxane	L4	310	6.74	194	50	2.97	5.40
Dodecamethylpentasiloxane	L5	384	0.070	230	6.0	4.12	6.0
<i>Cyclic methylsiloxanes</i>							
Hexamethylcyclotrisiloxane	D3	222	1,560	135	1147	1.82	3.85
Octamethylcyclotetrasiloxane	D4	297	56.20	176	124.5 <sup>d</sup>	2.69 <sup>e</sup>	6.98 <sup>e</sup>
Decamethylcyclopentasiloxane	D5	371	17.03	211	20.4 <sup>d</sup>	3.13 <sup>e</sup>	8.07 <sup>e</sup>
Dodecamethylcyclohexasiloxane	D6	445	5.13	245	2.26 <sup>d</sup>	3.01 <sup>e</sup>	8.87 <sup>e</sup>

<sup>a</sup> from [14]; <sup>b</sup> from [15];

<sup>c</sup> Calculated as:  $K_{aw} = \text{Henry's law constant (Pa m}^3 \text{ mol}^{-1}) / R \times T$ ; Henry's law constant = Vapour pressure (Pa) / Solubility (mol m<sup>-3</sup>).

<sup>d</sup> from [16]; <sup>e</sup> from [17]

**Table S2.** Quantification and confirmation ions selected for the determination of linear and cyclic methylsiloxanes by CSR-LVI-GC-MS.

Abbreviation	Name	Retention time ( $t_R$ , min)	Time window (min)	Selected ion monitoring (relative abundance, %)	
				Quantification ion ( $m/z$ )	Confirmation ion ( $m/z$ )
L2	Hexamethyldisiloxane	10.01	9.40 – 10.10	147 (100%, $[M-CH_3]^+$ )	131 (45), 117 (5)
D3	Hexamethylcyclotrisiloxane	10.38	10.10 – 10.70	207 (100%, $[M-CH_3]^+$ )	191 (27), 177 (5)
IS <sup>a</sup>	Bis(trimethylsiloxy)methylsilane	10.50	10.10 – 10.70	207 (100%, $[M-CH_3]^+$ )	221 (13), 191 (10)
L3	Octamethyltrisiloxane	10.80	10.70 – 11.20	221 (100%, $[M-CH_3]^+$ )	205 (10), 189 (6)
D4	Octamethylcyclotetrasiloxane	11.59	11.20 – 11.80	281 (100%, $[M-CH_3]^+$ )	265 (10), 249 (8)
SS-1 <sup>b</sup>	Methyltris(trimethylsiloxy)silane	12.08	11.80 – 12.60	207 (100%, $[M-CH_3]^+$ )	295 (30), 281 (12)
L4	Decamethyltetrasiloxane	12.24	11.80 – 12.60	207 (100%, $[M-CH_3-Si(CH_3)_4]^+$ )	295 (19), 191 (7)
D5	Decamethylcyclopentasiloxane	13.04	12.60 – 13.20	355 (100%, $[M-CH_3]^+$ )	267 (75), 339 (10)
SS-2 <sup>b</sup>	Tetrakis(trimethylsiloxy)silane	13.36	13.20 – 14.40	281 (100%, $[M-CH_3-Si(CH_3)_4]^+$ )	369 (14), 265 (7)
L5	Dodecamethylpentasiloxane	13.89	13.20 – 14.40	281 (100%, $[M-CH_3-Si(CH_3)_4]^+$ )	369 (21), 265 (9)
D6	Dodecamethylcyclohexasiloxane	14.71	14.40 – 15.30	341 (100%, $[M-CH_3-Si(CH_3)_4]^+$ )	429 (41), 325 (24)

<sup>a</sup> IS: Internal standard<sup>b</sup> SS-1 and SS-2: Surrogate internal standards

# **DISCUSIÓN DE RESULTADOS**

## **CAPÍTULO 3**



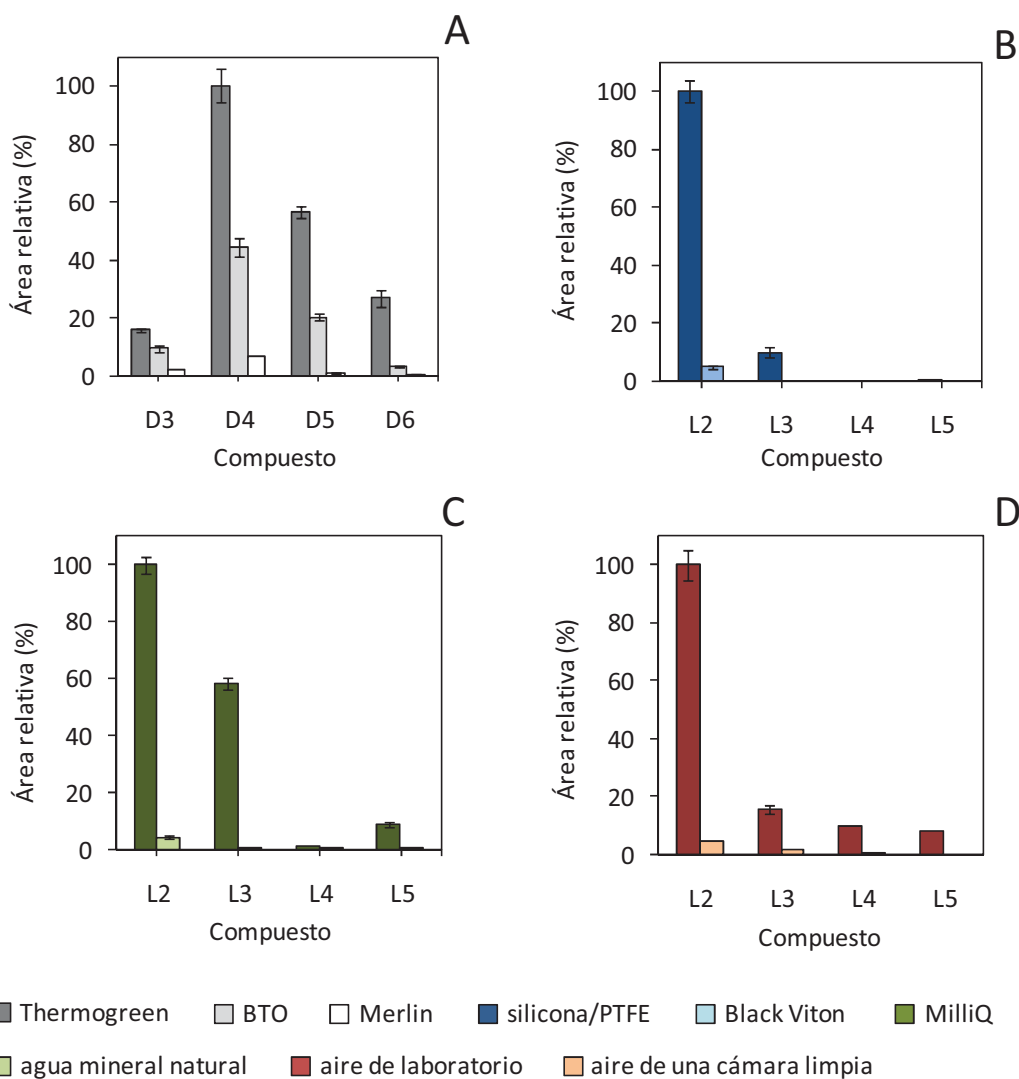


### 3.1 Metodologías de análisis de metilsiloxanos volátiles

Uno de los problemas más críticos a los que nos hemos enfrentado al establecer métodos para la determinación de VMS en muestras ambientales ha sido la contaminación de fondo. Esta contaminación nos ha obligado a aplicar cuidados especiales que permitan evitarla y minimizarla, además de emplear blancos para garantizar el control de los procedimientos analíticos y obtener resultados fiables. En esta tesis se han evaluado las causas de esta contaminación en el análisis de VMS en muestras de distinta naturaleza, desde aire y aguas a sedimentos y material biológico y se proponen procedimientos para reducirla al mínimo. Así, en primer lugar, durante el desarrollo de un método analítico para la determinación de VMS mediante HS-SPME (*apartado 2.2.1.1*), se evaluaron las posibles fuentes de contaminación. Entre las más importantes que se detectaron cabe citar las aportaciones de los septum de silicona del inyector del cromatógrafo de gases y de los viales de extracción, el aire del laboratorio y el agua Milli-Q, utilizada para preparar los patrones de calibración. A modo de ejemplo, en la Figura 3.1 se muestra la reducción de la contaminación de fondo conseguida para los compuestos de interés, entre un 62 y 99%, utilizando en el inyector del cromatógrafo un septum tipo Merlin en lugar de septum de silicona y una cámara limpia con una cabina de flujo laminar para el tratamiento y extracción de las muestras y para la preparación de los patrones. Además, para la preparación de las soluciones de calibración, se sustituyó el agua Milli-Q por agua mineral embotellada y se emplearon septum Black Viton en lugar de septum de silicona en las tapas en los viales de extracción. Dada la efectividad de estas medidas, se han aplicado en todos los estudios llevados a cabo en esta tesis. Así, en todos los casos se ha trabajado en una cámara limpia y se ha utilizado septums Merlin.

En relación con las fuentes de contaminación de fondo procedentes de cada una de las etapas del procedimiento de análisis que pueden afectar la determinación de los VMS, se comenta a continuación el estudio realizado en el desarrollo de un método para el análisis de VMS en aire, donde se evaluaron de manera individual la contaminación de los blancos instrumentales, los blancos de método y los blancos de muestreo (Figura S2, *apartado 2.2.2.2*). Este trabajo experimental permite resumir esta problemática, que es general y se ha presentado de modo similar al establecer metodología para el análisis de VMS en las diferentes matrices consideradas en esta

tesis. Este estudio ha puesto de manifiesto que los contaminantes predominantes son el L2 y D4 y que la mayor contaminación de fondo, tanto de los VMS lineales como de los cíclicos y que representa entre un 60 y un 93% del total, se produce durante el tratamiento de las muestras. El patrón de composición de la contaminación de fondo de los VMS lineales en las distintas etapas del procedimiento de análisis, toma de muestra, tratamiento de la muestra y análisis instrumental, es siempre el mismo,



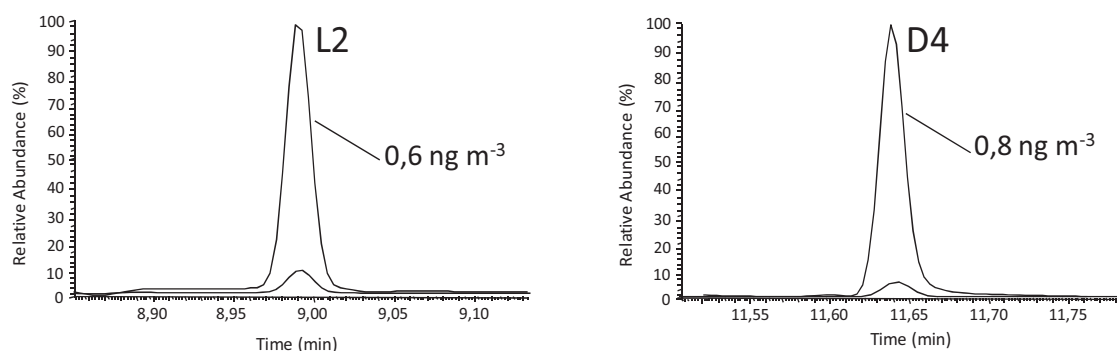
**Figura 3.1.** Contaminación de fondo en el análisis de VMS mediante HS-SPME debida a: (A) septum del inyector del cromatógrafo, (B) septum de los viales de extracción (40ml), (C) agua utilizada en los patrones de calibración y (D) zona de preparación de muestras y patrones.

siendo el compuesto predominante el L2 ( $L2 > L3 > L4 > L5$ ). Por el contrario, el patrón de composición que presenta la contaminación de fondo debida a los VMS cíclicos varía en las distintas etapas del proceso de análisis. Así, en los blancos correspondientes a la etapa de muestreo predominan el D4 y D5, en el tratamiento de muestra el D4 es el mayoritario, mientras que en el blanco instrumental los contaminantes dominantes son el D3 y el D5. Es lógico suponer que estas diferencias están asociadas a las distintas fuentes de contaminación que existen en cada una de las etapas de análisis. Así por ejemplo, la presencia de D4 y D5 como contaminantes predominantes en la etapa de muestreo se puede asociar principalmente a procesos de deposición atmosférica, puesto que estos dos contaminantes han sido detectados como mayoritarios en muestras de aire de ambientes exteriores (*apartado 2.2.2.2*). Con respecto a la contaminación de fondo producida durante el tratamiento de muestra, cabe indicar que las aportaciones procedentes del aire del laboratorio se han reducido al mínimo puesto que, como ya se ha comentado, esta etapa del análisis se realiza en una cabina de flujo laminar dentro de una cámara limpia. Por esta razón, la contaminación en esta etapa debe provenir de los materiales y reactivos utilizados para el análisis, en donde el D4 es el contaminante dominante (Figura S2, *apartado 2.2.2.2*). En cuanto a la contaminación de fondo producida durante la determinación instrumental, cuyo principal origen se encuentra en el cromatógrafo de gases, especialmente el inyector, los blancos obtenidos se caracterizan por el predominio del D3, D5 y L2. Dado que en los métodos establecidos e incluidos en el apartado 2 de esta memoria, se ha utilizado un septum tipo Merlin en lugar de los septum de silicona, hay que suponer que esta contaminación de fondo se origina principalmente a partir de residuos de los polímeros de silicona de los septum que pueden haber quedado depositados en las paredes interiores del inyector. A pesar de que el inyector se somete a una cuidadosa limpieza, pueden permanecer trazas de estos polímeros en sus paredes debido al uso continuo durante años de los septum de silicona. Por otra parte, la contaminación proveniente de la fase estacionaria de las columnas capilares utilizadas es despreciable debido a que se han utilizado columnas de bajo sangrado (DB5-MS) cuya aportación se ha comprobado que es mínima.

Hasta ahora no existen datos publicados en la literatura donde se compare la contaminación de fondo por VMS proveniente de las distintas etapas del análisis. Sin

embargo, en un ejercicio interlaboratorio donde se compararon diferentes métodos de análisis para determinar VMS cíclicos en biota marina (McGoldrick y co., 2011), también se observó que el D4 era el contaminante predominante en los blancos de análisis (D4>D6>D5). Con respecto a los VMS lineales, no existen datos publicados por otros autores acerca de la contaminación de fondo producida por estos compuestos. En nuestro caso, dado que se ha detectado con el mismo patrón de composición para la contaminación de fondo de VMS lineales en las diferentes etapas del procedimiento de análisis, se hace difícil asociar la presencia de estos compuestos en los blancos a una fuente de contaminación concreta.

Un aspecto de la metodología analítica directamente relacionado con la contaminación de fondo, lo constituye el procedimiento utilizado para el cálculo de los límites de detección (LODs) y cuantificación (LOQs) del método y para la determinación cuantitativa de los compuestos de interés en las muestras. En todos los trabajos de esta tesis, la cuantificación se ha efectuado restando del área del pico correspondiente a cada compuesto en la muestra, el área correspondiente en el blanco de muestreo. Con este procedimiento se ha eliminado en la cuantificación la contribución de la contaminación de fondo que permanece, aunque se hayan tomado las medidas pertinentes para su eliminación o al menos su disminución. Por su parte, el cálculo de los límites de detección y cuantificación de los métodos desarrollados también se ha realizado utilizando los blancos obtenidos durante la toma de muestra,



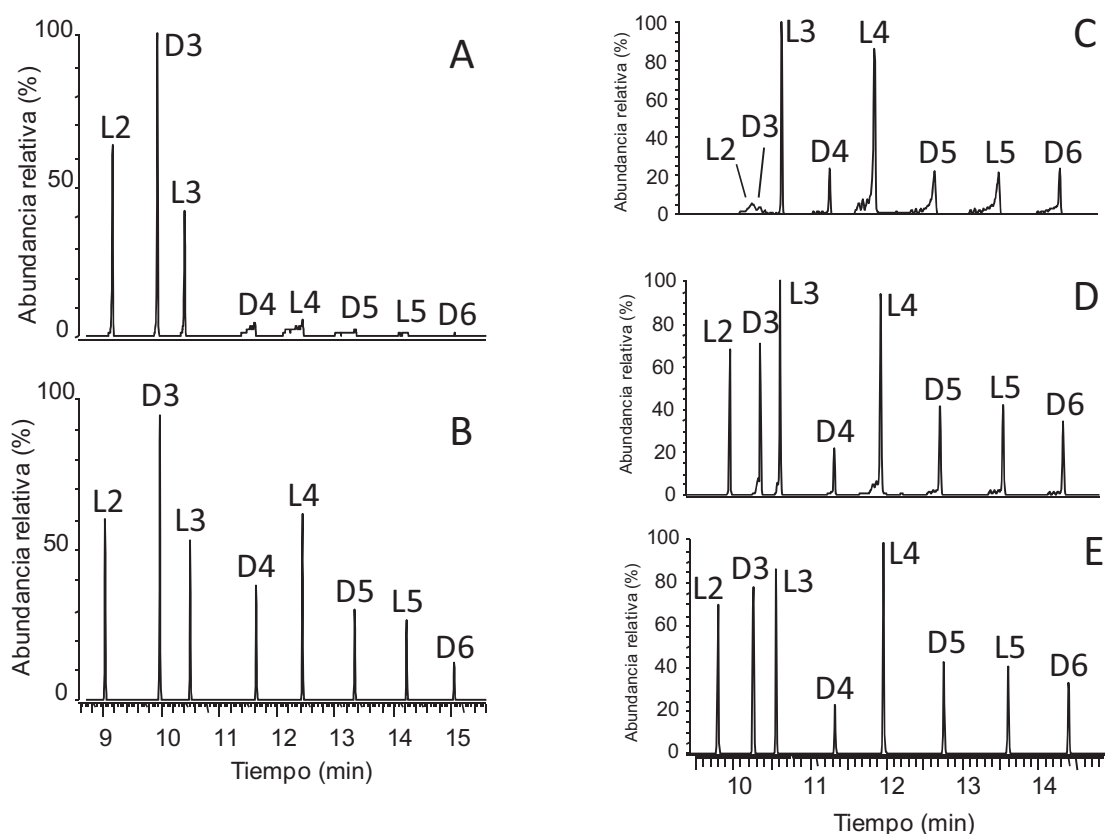
**Figura 3.2.** Comparación de la señal obtenida para el L2 y D4 en un blanco de muestreo y en una muestra blanca adicionada.

los cuales se adicionaron con los compuestos de interés a bajos niveles de concentración. A modo de ejemplo, en la Figura 3.2 se muestran los picos cromatográficos obtenidos para el L2 y D4 en un

blanco de muestreo y en un blanco adicionado a 0,6 y 0,8 ng m<sup>-3</sup>, respectivamente. El empleo de los blancos de muestreo permite tener en cuenta en la determinación de los LODs y LOQs los contaminantes que se pueden incorporar desde la toma de muestra hasta la determinación final. Así, para cada método se calcularon los valores de LOD y LOQ a partir de la señal promedio obtenida para un número suficientemente elevado de blancos de muestreo ( $n > 20$ ), más 3 o 10 veces su desviación estándar, respectivamente. Hay que indicar que en los casos en que en el blanco de muestreo de una muestra en particular se ha detectado una señal que se aleja de manera significativa de la señal promedio, efecto que normalmente es debido a una contaminación puntual, se calculan los LODs y LOQs para dicha muestra utilizando la señal obtenida en su blanco de muestreo (por triplicado) en lugar de la señal promedio.

Uno de los aspectos de especial relevancia en el desarrollo de los métodos de análisis que se han establecido en esta tesis y al que se ha dedicado especial atención ha sido el de evitar o minimizar las pérdidas de los VMS por volatilización. Una de las estrategias seguidas para afrontar este problema ha consistido en no concentrar los extractos obtenidos, que habitualmente se realiza con corriente de nitrógeno o con un rotavapor. Para compensar la pérdida de sensibilidad que implica analizar extractos sin concentrar, se ha optado por utilizar la inyección de grandes volúmenes empleando la técnica CSR-LVI. Esta estrategia se ha aplicado en tres de los métodos desarrollados, dedicado el primero a determinar VMS en suelos y lodos (*apartado 2.2.2.1*) y los otros dos al análisis de aguas residuales (*apartado 2.2.2.3*) y aire (*apartado 2.2.2.2*). Como se ha comentado en la introducción del capítulo 2 de esta memoria, la CSR-LVI ha sido hasta el momento muy poco utilizada y, en general, se ha empleado para el análisis de compuestos semivolátiles. Para este tipo de compuestos se ha logrado inyectar un volumen máximo de 50  $\mu$ l, empleando disolventes no polares (n-hexano o tolueno) como disolvente de inyección, un *liner* que contiene en su parte inferior lana de vidrio o un adsorbente (Carbofrit) y una precolumna inerte (*retention gap*) de 2 a 5 m de longitud y de 0.32 ó 0.53 mm de

diámetro interno (Magni y Porzane, 2002; Walorczyk, 2012). En nuestro caso, nos hemos propuesto utilizar esta técnica (CSR-LVI) para determinar compuestos de mayor volatilidad que los estudiados hasta el momento, como son los VMS lineales y cíclicos, que a causa de su volatilidad el efecto producido por el disolvente de inyección en la forma de los picos fue muy crítico. Como se ha comentado en el capítulo 2 de esta memoria durante la inyección de la muestra el disolvente condensa en la precolumna, donde se retienen los analitos de interés mientras los vapores de disolvente se transfieren gradualmente a la columna de separación. La particularidad está en que en el análisis de compuestos volátiles los vapores del disolvente al transferirse a la columna de separación pueden arrastrar en parte a estos compuestos. Este efecto se hace más importante cuanto mayor es el volumen de disolvente inyectado, ya que el proceso de transferencia de sus vapores a la cabeza de columna tiene más duración, con lo cual puede arrastrar consigo una mayor cantidad de los



**Figura 3.3.** Efecto del disolvente de inyección en la forma de los picos obtenidos mediante CSR-LVI-GC-MS. Disolventes de inyección utilizados: (A) diclorometano, (B) n-hexano, (C) tetrahidrofurano, (D) tetrahidrofurano/n-hexano 80/20 (v/v) y (E) tetrahidrofurano/n-hexano 60/40 (v/v) . Volumen de inyección: 10  $\mu\text{L}$  (20  $\text{pg } \mu\text{L}^{-1}$ ).

compuestos de interés. Este proceso conduce a la obtención de picos distorsionados, cuya forma depende evidentemente de la volatilidad de los compuestos, del tamaño de la precolumna y del disolvente de inyección. El efecto del disolvente de inyección se pone de manifiesto en la Figura 3.3, donde se incluyen los cromatogramas obtenidos utilizando diferentes tipos de disolventes y un volumen de inyección de 10  $\mu\text{l}$ . Como se puede observar, el empleo de un disolvente polar como el tetrahidrofurano da lugar a una gran deformación de los picos de todos los compuestos estudiados, quizás con la única excepción del L3. El efecto de la disminución de la polaridad del disolvente se observa bien en dicha figura si se comparan las distorsiones obtenidas al utilizar diclorometano, que permite una mejora sustancial en los picos del L2 y del D3, y especialmente con n-hexano o mezclas tetrahidrofurano/n-hexano (Figura 3.3, B y E), que permiten obtener picos totalmente simétricos. La utilización de una mezcla tetrahidrofurano/n-hexano (60/40, v/v) permitió el análisis de aguas residuales utilizando la técnica CSR-LVI después de una extracción en fase sólida donde los extractos obtenidos se encontraban en tetrahidrofurano (*apartado 2.2.2.3*). El efecto de la polaridad del disolvente de inyección en la forma de los picos es un aspecto a tener en cuenta en la optimización del volumen máximo de inyección. Así, al utilizar como disolvente de inyección n-hexano empiezan a aparecer picos deformados al inyectar un volumen de muestra superior a los 30  $\mu\text{l}$  (*apartado 2.2.2.1*), mientras que el volumen máximo de inyección de la mezcla tetrahidrofurano/n-hexano (60/40, v/v) de mayor polaridad es menor, 20  $\mu\text{l}$  (*apartado 2.2.2.3*). Gracias a la inyección de volúmenes de muestra entre 20 y 30  $\mu\text{l}$  con la técnica CSR-LVI se lograron alcanzar bajos LODs en los métodos desarrollados, tanto para el análisis de suelos y lodos (0.01-0.56  $\text{ng g}^{-1}$  p.s.), como de aire (0.01-0.18  $\text{ng m}^{-3}$ ) y de aguas residuales (0.5-0.8  $\text{ng L}^{-1}$ ), siendo en muchos casos menores a los publicados por otros autores (Tabla 3.1). Estos resultados se lograron, como se mencionó anteriormente, sin aplicar etapas de concentración a los extractos evitando así las pérdidas de los compuestos volátiles.

Es importante comentar que recientemente se ha publicado un trabajo (Wang y col.; 2013c) en el que también se propone el uso de la inyección de grandes volúmenes para compensar la pérdida en sensibilidad producida al no concentrar los extractos. Sin embargo, estos autores emplean otra técnica de inyección, la PTV-LVI en el modo de eliminación de disolvente. Ahora bien, el empleo de esta técnica para el análisis de



compuestos volátiles requiere una optimización muy cuidadosa de las condiciones de inyección para conseguir que los compuestos volátiles no se pierdan durante la etapa de apertura de la válvula de *split* al evacuar el disolvente. Por ello hay que utilizar un disolvente para la inyección que tenga una temperatura de ebullición suficientemente baja y distinta de la de los analitos estudiados. Por esta razón, los autores del trabajo tan solo analizan los compuestos de mayor punto de ebullición, D4, D5 y D6, utilizando n-pentano como disolvente de inyección. Es muy probable que ese disolvente no pueda ser utilizado para el análisis de compuestos de mayor volatilidad

**Tabla 3.1.** Comparación de los LODs obtenidos en los métodos desarrollados en esta tesis con los que se encuentran publicados en la literatura.

Matrices	L2	L3	L4	L5	D3	D4	D5	D6
Agua (ng L <sup>-1</sup> )								
HS-SPME	0,05	0,003	0,01	0,25	11	6	6	6
SPE-LVI	0,84	0,56	0,45	0,62	0,84	0,73	0,79	0,67
Literatura	6	0,4-3,5	0,4-4,0	0,1-20	400	0,03-13	0,06-27	0,2-30
Suelos y lodos (ng g <sup>-1</sup> p.s.)								
Ex-CSR-LVI <sup>a</sup>		0,01	0,01	0,05	0,14	0,14	0,18	0,04
Ex-CSR-LVI <sup>b</sup>		0,02	0,04	0,16	0,44	0,44	0,56	0,12
Literatura		0,4-0,5	0,3-0,5	0,5-0,9	0,01	0,002-7	0,003-37	0,005-4
Mejillones (ng g <sup>-1</sup> p.h.)								
Ex-HS-SPME	0,03	0,04	0,04	0,10	4	2	2	2
Literatura <sup>c</sup>						0,53-100	0,21-35	0,24-25
Aire (ng m <sup>-3</sup> )								
SPE-CSR-LVI	0,18	0,02	0,02	0,01	0,10	0,15	0,10	0,08
Literatura		0,011			1,1-7,1	0,43-7,35	0,12-7,1	0,80-7,51

Nota: LODs calculados en peso seco según los datos de humedad en suelos (20%)<sup>a</sup> y lodos (75%)<sup>b</sup>, <sup>c</sup>: LODs publicados en la literatura en peces. **Ex**: Extracción con disolventes; **p.s.**: peso seco; **p.h.**: peso húmedo.

como el L2 y D3, que se podrían perder con el disolvente evacuado. En cambio, la técnica CSR-LVI propuesta en esta tesis permite analizar un mayor número de VMS, desde el L2 al D6, y también utilizar un volumen de inyección mayor (30µl) que la PTV-LVI (15µl). Por estas razones, se puede considerar que la técnica CSR-LVI es una mejor alternativa para el análisis de VMS que la técnica PTV-LVI en el modo de eliminación de disolvente propuesta por Wang y col. (2013c).

Otro de los aspectos importantes en el establecimiento de métodos de análisis para la determinación de VMS es la técnica de extracción a aplicar. En esta tesis se han

utilizado varias técnicas, la HS-SPME, la SPE y la extracción con disolventes. La utilización de una u otra ha dependido del tipo de muestra a analizar. Por ejemplo, para el análisis de aguas se ha optimizado un método de HS-SPME, para el análisis de muestras de aire se ha utilizado SPE, mientras que para el análisis de muestras sólidas se ha empleado la extracción con disolventes. Los métodos desarrollados para el análisis de los VMS en aguas son un ejemplo de la importancia de la muestra a analizar en la elección de la técnica de extracción. Así, para el análisis de aguas superficiales, en concreto aguas fluviales, se desarrolló un método por HS-SPME mientras que para el análisis de aguas residuales se empleó la SPE. El método de HS-SPME desarrollado (*apartado 2.2.1.1*) constituye el primer método publicado en la literatura que utiliza esta técnica de extracción/preconcentración para la determinación de VMS. Este método emplea una temperatura de extracción de 25°C, un tiempo de extracción de 40 min, una relación volumen de espacio de cabeza/volumen de muestra de 1 (20ml/20ml) y una fibra de SPME de polidimetilsiloxano/divinilbenceno (PDMS/DVB) (65µm). Cabe mencionar que la eficiencia de extracción para los VMS de la fibra mixta de divinilbenceno/polidimetilsiloxano/carboxen (DVB/PDMS/CAR), recomendada para compuestos muy volátiles (Tabla 2.1), es similar a la obtenida con la seleccionada en este estudio (PDMS/DVB, 65µm), en especial para el D4, mientras que las fibras de polidimetilsiloxano (PDMS) (100µL) y la mixta de carboxen/polidimetilsiloxano (CAR/PDMS) (65µL) presentan una baja eficiencia de extracción. Al parecer la presencia de DVB en la fibra juega un rol importante en la eficiencia de extracción de los VMS, probablemente debido a que estos compuestos se adsorben mejor en las partículas porosas de estos polímeros que sobre el Carboxen, ya que presentan un diámetro de poro ligeramente mayor. Cabe mencionar que para evitar pérdidas por volatilización de los analitos de interés las muestras se introdujeron en los viales de extracción enfriados a 4°C, y además las muestras se filtraron previamente a través de un filtro de fibra de nylon (0,2 µm) para evitar que la presencia de materia particulada en suspensión afectara al proceso de extracción. Esta técnica ha resultado ser efectiva y sensible alcanzándose unos límites de detección en aguas superficiales de 0,003 a 0,25 ng L<sup>-1</sup> para los VMS lineales y de 6 a 11 ng L<sup>-1</sup> para los cíclicos (*apartado 2.2.1.1*), y ha permitido la adecuada cuantificación de los metilsiloxanos L2-L5, D5 y D6 en muestras de agua superficial. Para este tipo de matriz, la técnica HS-SPME permite realizar el análisis una manera sencilla y rápida,

reduciendo la manipulación de las muestras al mínimo, con lo cual se evitan tanto las pérdidas de analitos como la contaminación de las muestras. Sin embargo, al intentar aplicar esta técnica para la extracción de VMS en aguas residuales se obtuvieron resultados muy deficientes, tanto por lo que respecta a la capacidad de extracción, con respuestas 3-4 veces inferiores a las obtenidas para aguas superficiales, como en la reproducibilidad con desviaciones estándar elevadas (RSD: 30-40%). La baja capacidad de extracción en este tipo de aguas se puede relacionar con la presencia de grandes cantidades de materia orgánica en esta matriz que dificulta la transferencia de los analitos a la fase gas. Xu y col. (2013) utilizaron el método de HS-SPME propuesto por nosotros para el análisis de VMS en aguas residuales y también observaron un efecto matriz significativo. Sin embargo, lograron minimizar este efecto centrifugando las muestras de agua residual para eliminar la materia particulada en suspensión antes de la extracción. En nuestro caso, este procedimiento no permitió eliminar el efecto matriz que siguió siendo importante y que se debe a presencia de materia orgánica disuelta y por esta razón, se descartó el uso de la técnica HS-SPME para el análisis de aguas residuales, y se optó por utilizar la técnica SPE. El método desarrollado se incluye en el *apartado 2.2.2.3* de esta memoria donde para el análisis de la fracción soluble se propone utilizar cartuchos de 1 ml que contienen discos SPE de C<sub>18</sub> de pequeño diámetro (4 mm), con lo cual se consigue reducir la escala de trabajo utilizando volúmenes de muestra de tan solo 10 ml y volúmenes de elución reducidos (200 µl), lo que permite disminuir el tiempo de análisis y también las pérdidas por volatilización. En el montaje del sistema de extracción el cartucho de SPE se conecta a una jeringa de 10 ml que contiene la muestra, por lo que al ser un sistema cerrado se evitan las pérdidas por volatilización durante la extracción. Sin embargo, este método de SPE conlleva una cierta manipulación de las muestras puesto que requiere una etapa inicial de separación de la fase disuelta y la particulada del agua residual mediante centrifugación. Para minimizar las pérdidas en esta etapa se propone la centrifugación de la muestra a 4°C. El método puesto a punto permite el análisis de las dos fases, la disuelta y la particulada, lo que es imprescindible en el caso de las aguas residuales, donde el contenido de materia particulada suspendida es muy elevado y en ella se concentra una parte importante de los VMS dada su hidrofobicidad. En la literatura (Tabla 1.4, *apartado: 1.4.2*) se han propuesto métodos basados en HS y purga y trampa para el análisis de aguas residuales en los que se

analiza la muestra sin ninguna separación de las fases disuelta y particulada. Ahora bien, en estas condiciones, la extracción de los analitos contenidos en el material particulado suspendido en el agua residual es incompleta. Por ejemplo, en el método de purga y trampa publicado por Van Egmond y col. (2013) se indican recuperaciones de entre 19 y 28% para el D<sub>6</sub> y de entre 43 y 77% para el D<sub>5</sub>. Por el contrario, en el método propuesto en esta memoria (*apartado 2.2.2.3*) se consigue una extracción más exhaustiva del material particulado una vez separado de la fase disuelta, obteniéndose recuperaciones del orden del 90%.

En cuanto a la comparación de las técnicas HS-SPME y SPE desarrolladas en esta tesis para la determinación de VMS en aguas, también resulta interesante analizar los límites de detección obtenidos. La técnica HS-SPME permite alcanzar LODs hasta dos órdenes de magnitud más bajos para los VMS lineales (0,003-0,25 ng L<sup>-1</sup>) que los obtenidos con SPE (0,5-0,8 ng L<sup>-1</sup>). Sin embargo, para los VMS cíclicos, la SPE permite obtener LODs un orden de magnitud más bajos (0,7 y 0,8 ng L<sup>-1</sup> frente a 6-11 ng L<sup>-1</sup>) (Tabla 3.1). Este hecho puede explicarse por la composición de la fibra de SPME. Esta fibra está compuesta por polisiloxanos y éstos contribuyen a la contaminación de fondo de los VMS cíclicos D<sub>3</sub>, D<sub>4</sub>, D<sub>5</sub> y D<sub>6</sub> por lo que los límites de detección de estos compuestos son peores. De todos modos, cabe mencionar que la contaminación de fondo de VMS cíclicos debida a la fibra es estable y, por tanto, la cuantificación de estos compuestos con HS-SPME se puede realizar de manera fiable. Este hecho se pone de manifiesto en la precisión alcanzada en la determinación de VMS cíclicos en aguas de río utilizando la técnica HS-SPME, que presenta una desviación estándar relativa menor del 7% (*apartado 2.2.1.1*). En comparación con los LODs que se han publicado en la literatura para el análisis de aguas (Tabla 3.1), los valores alcanzados en este estudio con la técnica HS-SPME resultan en general más bajos para los VMS lineales (0,003-0,25 ng L<sup>-1</sup>), mientras que para los VMS cíclicos el método basado en SPE combinada con CSR-LVI (*apartado: 2.2.2.3*) permite alcanzar para el D<sub>3</sub> LODs inferiores (0,8 ng L<sup>-1</sup>) a los de la literatura y para el D<sub>6</sub> valores cercanos a los publicados (0,7 ng L<sup>-1</sup>) (Tabla 3.1). Aunque Bletsou y col. (2013) encontraron para el D<sub>4</sub> y D<sub>5</sub> en aguas LODs (0,03 y 0,06 ng L<sup>-1</sup>, respectivamente) más bajos que los nuestros (Tabla 3.1), hay que destacar que en

nuestro caso los métodos aplicados no utilizan etapas de concentración con nitrógeno o rotavapor evitándose así las pérdidas de los analitos más volátiles como el L2 y D3.

De modo general, la mayor parte de los métodos publicados en la literatura en los que se analizan VMS no utilizan una etapa de purificación del extracto antes de su inyección en el cromatógrafo de gases (Tabla 1.4, *apartado 1.4.2*), lo que permite minimizar la manipulación de la muestra y evitar las pérdidas por volatilización. Sin embargo, la inyección de extractos contaminados puede ocasionar la adsorción de compuestos de elevado peso molecular en el *liner* y en la columna cromatográfica, y provocar, por tanto, efectos adversos como el ensanchamiento de los picos cromatográficos y la contaminación cruzada entre muestras. Este problema es especialmente grave en extractos con un contenido elevado de materia orgánica, tales como los que se obtienen en el análisis de los lodos de plantas de tratamiento de aguas residuales. Para evitar este problema, se propone utilizar una etapa de purificación de los extractos orgánicos antes de su inyección en el cromatógrafo de gases en los métodos desarrollados en esta tesis. Para esto se han propuesto dos estrategias, la primera se ha aplicado a suelos y lodos mediante la utilización de cartuchos de SPE para purificar el extracto (*apartado 2.2.2.1*), mientras en la segunda, empleada en el análisis de mejillones, se utiliza una extracción adicional del extracto obtenido utilizando HS-SPME, que en este caso hace la función de purificación además de preconcentración (*apartado 2.2.1.2*). Para la purificación de los extractos obtenidos en la extracción de lodos y suelos se ha empleado un cartucho de SPE de sílice (100 mg/1ml), donde quedan retenidos los compuestos interferentes presentes en el extracto de n-hexano, como lípidos y otras macromoléculas (*apartado 2.2.2.1*). Zhang y col. (2011) también han utilizado una columna de sílice (0.5g) para purificar los extractos de VMS en n-hexano obtenidos de sedimentos y lodos. A diferencia de nuestro trabajo, estos autores concentran los extractos con un rotavapor y corriente de nitrógeno hasta 1 ml antes de las etapas de purificación y de inyección (1µl) en el cromatógrafo. Estas etapas de concentración pueden ocasionar pérdidas de los analitos más volátiles, y quizás por esta razón estos autores no analizaron el D3, L2 y L3. En el procedimiento propuesto en esta tesis, el extracto no se somete a ninguna etapa de concentración para evitar pérdidas y se hace pasar directamente por un cartucho de SPE de sílice. Posteriormente, se inyecta el extracto (30µl) con la técnica CSR-LVI,

utilizando un *liner* que contiene lana de vidrio en su interior y trabajando a una temperatura de inyector de 200°C, lo que permite que los compuestos de elevado punto de ebullición no eliminados con el cartucho de SPE queden retenidos en el *liner*. Ahora bien, hay que cambiar sistemáticamente el *liner* cada 200 inyecciones para evitar que se produzcan contaminaciones cruzadas en el análisis. Las recuperaciones obtenidas de los VMS con el método propuesto para el análisis de suelos y lodos, son superiores al 80%, lo que indica que esta etapa de purificación no genera pérdidas importantes para los VMS.

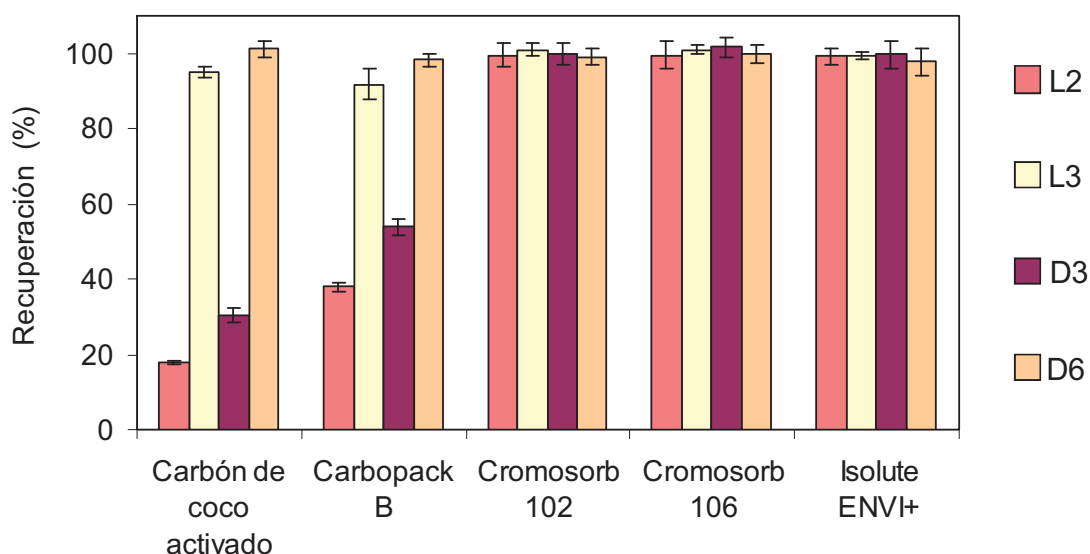
Como se ha indicado, la otra estrategia utilizada en esta tesis para la extracción selectiva de los analitos de los extractos ha consistido en emplear la técnica HS-SPME como si se tratara de una etapa de purificación. Este procedimiento se ha utilizado en el análisis de VMS en mejillones (*apartado 2.2.1.2*) y se basa en la transferencia de los compuestos volátiles desde una solución acuosa del extracto a la fase gas donde son captados por la fibra de SPME, mientras que los compuestos interferentes no volátiles como los lípidos quedan en la disolución. No se propone utilizar como etapa de purificación para los extractos de mejillones el método de SPE con un cartucho de sílice, tal y como se ha llevado a cabo con los extractos de suelos y lodos, dado que los extractos contienen un disolvente polar (acetonitrilo) que dificulta la retención de los compuestos interferentes también de carácter polar. En el método propuesto, se utilizaron las condiciones de HS-SPME optimizadas previamente para el análisis de aguas (*apartado 2.2.1.1*). El principal problema que se observó en la combinación de la extracción con disolventes y HS-SPME fue la presencia de disolvente orgánico en la disolución acuosa sometida a HS-SPME. Una proporción de disolvente orgánico superior al 2% (v/v) puede producir una disminución importante en la transferencia de los analitos al espacio de cabeza debido al efecto competitivo que ejerce el disolvente orgánico contenido en la disolución acuosa (Pawlizyn, 1997). En el método propuesto para el análisis de mejillones (*apartado 2.2.1.2*), se demostró que el extracto de mejillón ejerce un efecto aún mayor que el disolvente en la eficiencia de extracción por HS-SPME debido a los componentes de la matriz. Por esta razón, se optimizó la cantidad de extracto orgánico añadido al agua para la extracción con esta técnica. En este caso la máxima sensibilidad se alcanza para un contenido de extracto orgánico del 0,5% (v/v). A pesar de que esto conlleva la dilución del extracto orgánico

unas 20 veces, los límites de detección que se alcanzaron (VMS lineales: 0,03-0,10 ng g<sup>-1</sup>p.h., cíclicos: 2-4 ng g<sup>-1</sup>p.h.) resultaron ser suficientemente bajos como para cuantificar adecuadamente los compuestos de interés en las muestras de mejillón estudiadas. Hasta hoy en día, no se han publicado valores de LODs para los VMS lineales en biota y para los VMS cíclicos, los LODs obtenidos en nuestro estudio (Tabla 3.1), son inferiores a los publicados por otros autores aplicando extracción con disolventes e inyección directa en el GC-MS (Woodburny y col., 2013; Wang y col., 2013c) (Tabla 1.4, Capítulo 1), pero son superiores a los obtenidos para el D4, D5 y D6 por Kierkegaard y col. (2010) utilizando purga y trampa (0,21-0,53 ng g<sup>-1</sup>p.h.). No obstante, es importante señalar que en comparación con dicho método, el propuesto en el presente estudio resulta más ventajoso debido a su mayor simplicidad y rapidez y, por tanto, se puede recomendar su empleo.

Debe decirse que la utilización de la técnica HS-SPME como etapa de purificación combinada con la extracción con disolventes también podría ser aplicada para el análisis de otras matrices sólidas como suelos y lodos. De hecho, Xu y col. (2013) emplearon la técnica HS-SPME en el análisis de lodos de depuradora, después de una extracción inicial de la muestra mediante UAE con acetona. Estos autores concentran el extracto obtenido (en acetona) utilizando corriente de nitrógeno hasta un volumen de 200 µl y éste se diluye posteriormente con agua (40 ml) y se analiza por HS-SPME. Sin embargo, la etapa de concentración del extracto puede conducir a pérdidas de los analitos más volátiles y, por esta razón, en el método propuesto en esta tesis para el análisis de biota (mejillones) se utiliza una alícuota del extracto orgánico (100µl) sin concentrar evitándose este tipo de pérdidas. Los resultados obtenidos en esta tesis permiten proponer tanto la SPE como la HS-SPME para la purificación y preconcentración de los extractos, siendo esta última más adecuada para el análisis de muestras de origen biológico, ya que presentan un contenido muy elevado de lípidos y proteínas.

Para el análisis de VMS en aire, se ha desarrollado un método que utiliza cartuchos de SPE de Isolute ENVI+ para su captación. En una primera fase del trabajo, se ha comparado la eficiencia del Isolute ENVI+ para la captación de VMS lineales y cíclicos en aire, con la de otros adsorbentes poliméricos (Chromosorb 102 y 106) y adsorbentes de base carbono (Carbón de coco activado y Carboxen B) (*Apartado*

2.2.2.2). A modo de ejemplo en la Figura 3.4 se muestran las recuperaciones obtenidas para los siloxanos L2, L3, D3 y D6 con los diferentes adsorbentes utilizados, donde se puede observar que los adsorbentes base carbono no son adecuados para la retención de los siloxanos, ya que se obtienen recuperaciones bajas para algunos de los compuestos estudiados. Esto es debido a la humedad del aire que hace disminuir el área superficial del adsorbente, afectando en consecuencia de forma negativa en su capacidad de retención. Del resto de los adsorbentes, el Isolute ENVI+ es el que proporciona los mejores resultados, ya que no presenta pérdidas significativas al aumentar el volumen de aire captado, Isolute ENVI+ de 100 mg y utilizando este volumen de muestreo, se obtuvieron para probablemente debido a su alta área superficial específica lo que permite muestrear con este adsorbente un volumen de hasta 2,7 m<sup>3</sup> de aire. Con el empleo de un cartucho de



**Figura 3.4.** Comparación de diferentes materiales adsorbentes para la captación de VMS del aire. Volumen de aire muestreado: 20L (200 ml min<sup>-1</sup>).

VMS lineales (L2-L5) y cíclicos (D3-D6) recuperaciones elevadas (97-102%) y bajos límites de detección (0,02 - 0,15 ng m<sup>-3</sup>) en comparación a los reportados por otros autores (Tabla 3.1). Kierkegaard y McLachlan (2013) utilizaron el mismo tipo de cartucho para analizar aire de zonas remotas donde las concentraciones de VMS son muy bajas (pg m<sup>-3</sup> para los VMS lineales) y obtuvieron para el D3 una recuperación del 44%. Esta baja recuperación se puede atribuir al elevado volumen de muestreo (12



$\text{m}^3$  a  $12 \text{ L min}^{-1}$ ) utilizado por estos autores para alcanzar LODs suficientemente bajos que puede superar el volumen de ruptura de los compuestos más volátiles como el L2 y el D3. De hecho, nosotros hemos demostrado (Fig.1c, *apartado 2.2.2.2*) que volúmenes de aire superiores a los  $3 \text{ m}^3$  producen pérdidas de estos dos compuestos que pueden llegar a ser superiores al 30%. En cambio, en el método desarrollado en esta tesis se ha logrado aumentar su sensibilidad utilizando la inyección de grandes volúmenes ( $30 \mu\text{l}$  de extracto de n-hexano) con la técnica CSR-LVI (*apartado: 2.2.2.2*). Con este procedimiento se ha conseguido alcanzar unos límites de cuantificación para los VMS cíclicos muy similares a los publicados por Kierkegaard y McLachlan (2013) ( $0,13\text{-}0,27 \text{ ng m}^{-3}$ ), pero utilizando en su lugar un volumen de muestreo cuatro veces menor ( $2,7 \text{ m}^3$  a  $1,5 \text{ L min}^{-1}$ ), lo que permite obtener buenas recuperaciones ( $>95\%$ ) para los compuestos más volátiles. En estas condiciones, la sensibilidad alcanzada resultó suficiente para determinar VMS lineales y cíclicos en aire urbano, donde se determinaron bajas concentraciones para los metilsiloxanos lineales L2 y L5 ( $12$  y  $6 \text{ ng m}^{-3}$ , respectivamente). Estos resultados demuestran que para el análisis de muestras de aire que contienen bajos niveles de VMS utilizando los cartuchos de SPE Isolute ENVI+ es recomendable utilizar la inyección de grandes volúmenes en lugar de captar volúmenes de muestra excesivamente grandes ( $>10 \text{ m}^3$ ), que pueden comprometer la eficiencia de la retención de los compuestos más volátiles. Por otra parte, se debe indicar que la estrategia planteada en esta tesis de utilizar este tipo de material adsorbente para el muestreo activo de VMS del aire ha permitido alcanzar LODs más bajos que los publicados por otros autores que han utilizado también otros tipos de materiales adsorbentes tales como Tenax o Tenax GR/Carbón grafitizado combinados con desorción térmica y GC-MS (Tabla 1.4, *capítulo 1*), y por tanto se propone esta estrategia como la más efectiva para analizar muestras de aire a bajas concentraciones de VMS.

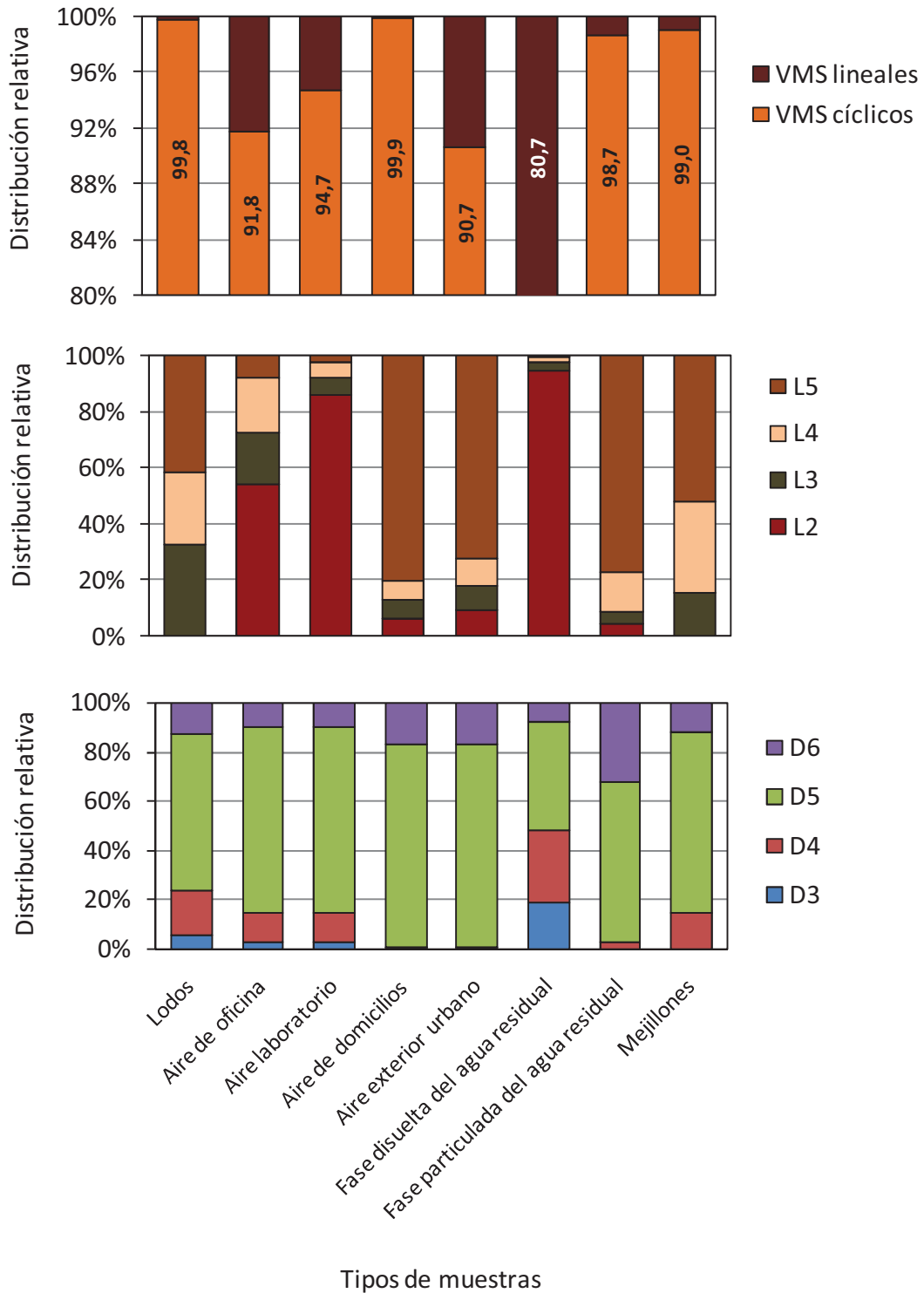
### **3.2 Presencia de metilsiloxanos volátiles en el medio ambiente**

La aplicación de los métodos desarrollados en esta tesis para el análisis de VMS en diferentes tipos de muestras ambientales ha permitido obtener nuevos datos acerca de la presencia y distribución de estos compuestos en el medio ambiente. Los resultados obtenidos, muestran de modo general y con independencia del tipo de matriz

estudiada, un elevado predominio de los VMS cíclicos con respecto a los lineales. En la Figura 3.5 (A) se muestra este predominio de los VMS cíclicos, que representa una proporción superior al 90% (del 90.7 al 99.9%) en los lodos de plantas depuradoras de aguas residuales, en aire de diferentes orígenes, en mejillones y en la fase particulada del agua residual. Este hecho concuerda con el mayor volumen de producción y usos que tienen actualmente los VMS cíclicos con respecto a los lineales (Kaj y col, 2005b). En el presente estudio, únicamente se ha observado predominio de los VMS lineales (80.7%) en la fase disuelta de las aguas residuales, lo cual se explica por las relativamente elevadas concentraciones de L2 (334-702 ng L<sup>-1</sup>) (*apartado 2.2.2.3*), compuesto que se encuentra prácticamente tan solo en la fase disuelta (99%) debido a su solubilidad en agua. Otros autores también han detectado un elevado contenido de L2 en aguas residuales, como por ejemplo Cortada y col. (2014) que encontraron concentraciones de hasta 1700 ng L<sup>-1</sup> en aguas residuales de dos plantas de tratamiento de Murcia (España).

Otro aspecto interesante a comentar es acerca del patrón de distribución de concentraciones que presentan los VMS lineales y cíclicos en las diferentes matrices estudiadas. En relación con los lineales, en la Figura 3.5 (B) puede observarse que los compuestos L2 y L5 son los más abundantes aunque su predominio varía según el tipo de muestra. Por ejemplo, en el caso de las aguas residuales, se observaron diferencias en el patrón de composición relativa de los VMS lineales entre la fase disuelta y la particulada, con un predominio del L2 en la fase disuelta, y del L5 en la fase particulada. Este hecho se puede atribuir a la solubilidad de estos compuestos en agua. Así, el L2, al ser más soluble, se encuentra predominantemente en la fase disuelta, mientras que el L5 de mayor carácter hidrofóbico, se concentra en la fase particulada (*apartado 2.2.2.3*). Con respecto a la presencia de VMS lineales en aguas residuales, otros autores también han observado el predominio del L2 y L5 en países del Norte de Europa (Kaj y col., 2005b), sin embargo no se han publicado datos de su contenido relativo en la fase disuelta y particulada.

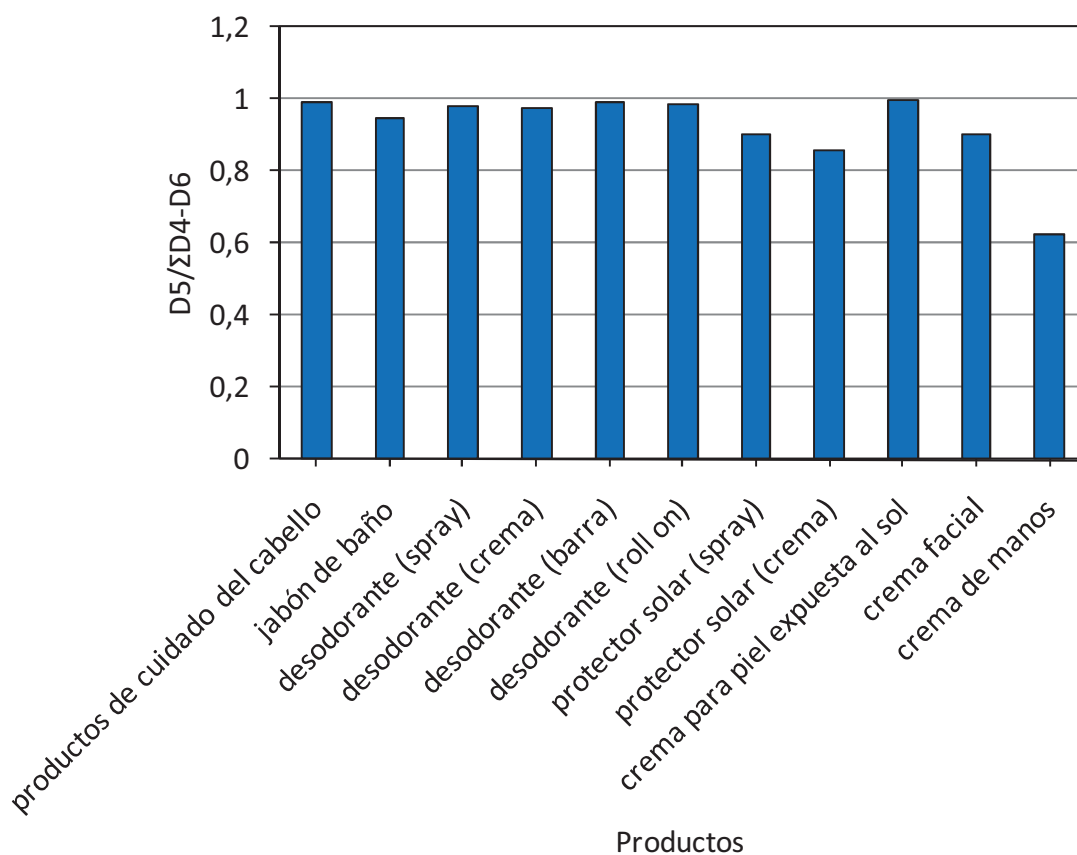
Con respecto al patrón de distribución de las concentraciones encontrado para los VMS cíclicos, cabe señalar que a diferencia de los lineales, en todas las matrices siempre el compuesto predominante es el D5 (Figura 3.5 B). Este hecho concuerda con los resultados que se han publicado en la literatura por otros autores, que ponen



**Figura 3.5.** (A) Abundancia relativa de los VMS cíclicos respecto a los lineales; (B) Composición relativa de los VMS lineales y (C) Composición relativa de los VMS cíclicos en diferentes tipos de muestras ambientales. Nota: En las muestras de lodos no se analizó el L2.

también de manifiesto el predominio del D5 en la composición de los VMS cíclicos en diferentes tipos de matrices ambientales (Tabla 1.3, Capítulo 1). A su vez, esta distribución está relacionada con la composición de los VMS cíclicos en productos de aseo personal (Figura 3.6), que se consideran la principal fuente de emisión de VMS al medio ambiente.

Los valores de concentración de VMS lineales y cíclicos totales obtenidos en las distintas matrices ambientales analizadas concuerdan en general con los publicados en la literatura. En la Tabla 3.2 se incluyen los resultados obtenidos en esta tesis, los publicados por otros autores para muestras recogidas en España, así como información sobre los intervalos de concentraciones en muestras de diversos países europeos donde se han realizado la mayor parte de los estudios, y otros países como EUA, Canadá y Japón. Para aguas residuales los niveles de concentración de los VMS cíclicos totales obtenidos en nuestro trabajo ( $12277\text{-}32073\text{ ng L}^{-1}$ ), son del mismo orden de magnitud



**Figura 3.6.** Predominio del D5 en la composición de los VMS cíclicos en productos de aseo personal (Dudzina y col. 2014).

que los publicados por otros autores en aguas residuales procedentes de España, de países del norte de Europa e Inglaterra y China, y son notablemente inferiores a los encontrados en aguas residuales de Canadá. Por lo que hace referencia a las concentraciones de VMS lineales totales en este tipo de aguas en España (esta tesis, Sanchís y col., 2012; Cortada y col., 2014) son un orden de magnitud superior a las detectadas en los países del Norte de Europa. En relación a los niveles de contaminación encontrados en los lodos de plantas de tratamiento de aguas residuales, los valores de concentración de VMS cíclicos totales obtenidos ( $8223-111632 \text{ ng g}^{-1} \text{ p.s}$ ) son similares a los de lodos provenientes de países del Norte de Europa y superiores a las que se encuentran en lodos procedentes de China (Tabla 3.2). Con respecto a las concentraciones totales de VMS lineales, los valores determinados en nuestro estudio son un orden de magnitud inferior que los de lodos de países del Norte de Europa. Con respecto a la presencia de VMS en aguas fluviales, las concentraciones de VMS lineales totales en muestras de aguas de los ríos Llobregat y Besós (España) analizadas, se encuentran entre los  $0,8$  y  $4,7 \text{ ng L}^{-1}$ , mientras que los VMS cíclicos totales se encuentran en concentraciones un orden de magnitud superior ( $22-81 \text{ ng L}^{-1}$ ).

Estos valores de concentración se pueden considerar bajos en comparación con las concentraciones de VMS cíclicos totales publicados por otros autores, tanto en el río Llobregat en España ( $177-1531 \text{ ngL}^{-1}$ ) (Sanchís y col., 2012) como en ríos en la zona sur de Ontario y Quebec en Canadá ( $11-1577 \text{ ngL}^{-1}$ ) (Wang y col., 2013c). Hay que comentar, sin embargo, que las mayores concentraciones encontradas por dichos autores, pueden estar relacionadas con los puntos de toma de muestra ya que han analizado aguas que provienen de zonas cercanas a descargas de plantas de tratamiento de aguas residuales, por lo que es lógico encontrar mayores niveles de VMS cíclicos.

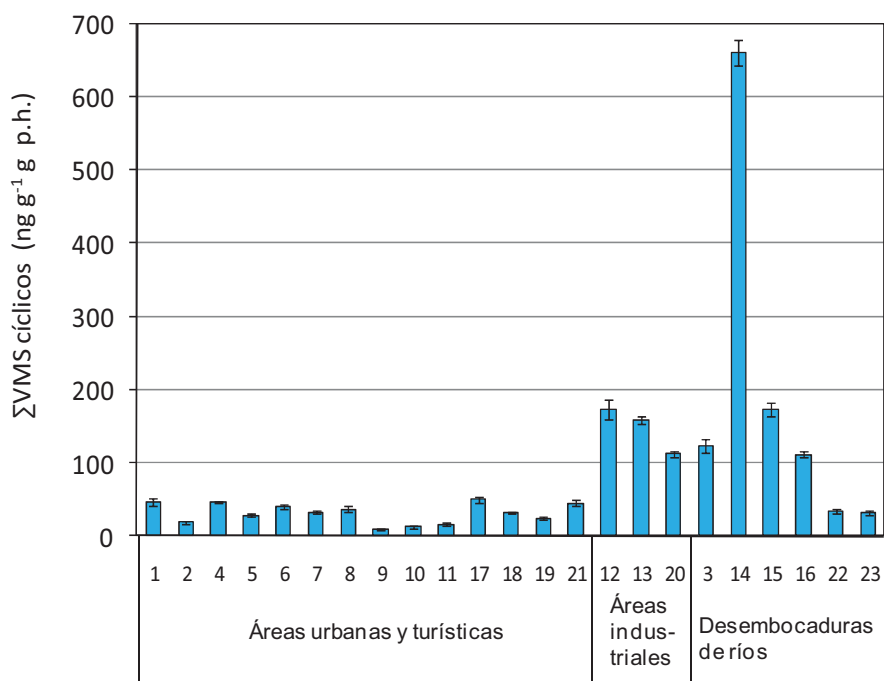
En el estudio de la presencia de VMS en mejillones colectados a lo largo de la costa de Cataluña (*apartado 2.2.1.2*), se observaron diferencias en los niveles de contaminación en función del área de estudio. Como se puede observar en la Figura 3.7, donde se muestran los valores de VMS cíclicos totales encontrados en los diferentes puntos de muestreo, los mayores niveles de contaminación corresponden a muestras de las desembocaduras de ríos y a la cercanía de zonas industriales,

**Tabla 3.2.** Comparación de los niveles de concentración de VMS lineales y cíclicos totales detectados en las muestras analizadas con los valores publicados en la literatura.

Matriz	$\Sigma$ VMS lineales	$\Sigma$ VMS cíclicos	País	Referencia
Agua residual	478-1026 ng L <sup>-1</sup>	12277-32073 ng L <sup>-1</sup>	España	Esta tesis
	54-1700 ng L <sup>-1</sup>	1089-25195 ng L <sup>-1</sup>	España	Sanchís y col., 2012; Cortada y col., 2014
	27-308 ng L <sup>-1</sup>	890-59217 ng L <sup>-1</sup>	Dinamarca, Finlandia, Noruega, Inglaterra	Kaj y col. 2005b; Schlachbach y col., 2007; Van Egmond y col., 2013
		11542-992230 ng L <sup>-1</sup>	Canadá	Wang y col., 2013c
		170-17460 ng L <sup>-1</sup>	China	Xu y col., 2013
Agua fluvial	0,8-4,7 ng L <sup>-1</sup>	22-81 ng L <sup>-1</sup>	España	Esta tesis
		177-1531 ng L <sup>-1</sup>	España	Sanchís y col., 2012
		11-1577 ng L <sup>-1</sup>	Canadá	Wang y col., 2013c
Lodos	44-147 ng g <sup>-1</sup> p.s.	8223-111632 ng g <sup>-1</sup> p.s.	España	Esta tesis
	4-1064 ng g <sup>-1</sup> p.s.	401-100530 ng g <sup>-1</sup> p.s.	Dinamarca, Finlandia, Noruega, Suecia, Islandia	Kaj y col., 2005b
		1505-8930 ng g <sup>-1</sup> p.s.	China	Xu y col., 2013
Suelos		21-66 ng g <sup>-1</sup> p.s.	España	Esta tesis
		15-611 ng g <sup>-1</sup> p.s.	España	Sánchez-Brunete y col., 2010
		8-932 ng g <sup>-1</sup> p.s.	Canadá	Wang y col., 2013b
Mejillones	0,5-4,0 ng g <sup>-1</sup> p.h.	9-662 ng g <sup>-1</sup> p.h.	España	Esta tesis
		5,9-12,8 ng g <sup>-1</sup> p.h.	Noruega	Schlachbach y col., 2007
Aire exterior	42 y 63 ng m <sup>-3</sup>	495 y 583 ng m <sup>-3</sup>	España	Esta tesis
	0,03-0,61 ng m <sup>-3</sup>	2-4020 ng m <sup>-3</sup>	Noruega, Irlanda, Islandia, Francia, Checoslovaquia, Suecia y Dinamarca	Genualdi y col., 2011; Kierkegaard y McLachlan, 2013; Kaj y col. 2005a,b
	0,01-1,23 ng m <sup>-3</sup>	1,6-1464 ng m <sup>-3</sup>	Canadá y EUA	Genualdi y col., 2011; Yucuis y col. 2014
	1,1-10,5 ng m <sup>-3</sup>	29-457 ng m <sup>-3</sup>	Ártico	Krogseth y col., 2013
Aire interior	50-356 ng m <sup>-3</sup>	2134-317509 ng m <sup>-3</sup>	España	Esta tesis
		964-60410 ng m <sup>-3</sup>	EUA	Yucuis y col. 2014

principalmente de ciudades como Barcelona y Tarragona. En comparación con los datos de la literatura, las concentraciones de VMS cíclicos totales determinadas en el presente estudio (9 a 622 ng g<sup>-1</sup>p.h.) son hasta dos órdenes de magnitud superiores que las publicadas para mejillones procedentes del Fiordo de Oslo en Noruega (Tabla 3.2), que son los únicos datos disponibles acerca de la presencia de VMS en este tipo de organismos.

En los suelos analizados en este estudio, de tipo urbano y procedentes de zonas densamente pobladas del área metropolitana de Barcelona, los valores de VMS cíclicos totales (21 y 66 ng g<sup>-1</sup>p.s) son menores que los publicados por Sánchez-Brunete y col. (2010), que también analizan suelos procedentes de España (15-611 ng g<sup>-1</sup>p.s.) (Tabla 3.2). Probablemente estas diferencias se deben a que dichos autores analizaron suelos de origen industrial así como suelos agrícolas mezclados con lodos de plantas de tratamiento de aguas residuales, que contienen concentraciones de VMS cíclicos normalmente muy elevadas (Tabla 1.3, Capítulo 1). Los niveles de VMS cíclicos totales obtenidos por Wang y col. (2013c) en suelos agrícolas mezclados con lodos de depuradoras de hasta 932 ng g<sup>-1</sup>p.s. corroboran esta explicación.



**Figura 3.7.** Concentraciones de VMS cíclicos totales en mejillones colectados en la costa de Cataluña.

En cuanto al estudio de VMS en aire, nuestros resultados muestran diferencias bien marcadas entre las concentraciones de VMS cíclicos totales en ambientes interiores (2134- 317509 ng m<sup>-3</sup>) y en ambientes exteriores, los cuales son hasta tres órdenes de magnitud más bajos (495 y 583 ng m<sup>-3</sup>). Los VMS lineales presentan el mismo comportamiento, aunque en este caso los niveles en aire de ambientes interiores (50- 356 ng m<sup>-3</sup>) son tan solo un orden de magnitud mayores que en el aire de exterior (42 y 63 ng m<sup>-3</sup>). En comparación con los datos de la literatura para aire de ambientes interiores, Yucuis y col. (2014) obtuvieron unos valores de VMS cíclicos totales un orden de magnitud menor que los determinados por nosotros (Tabla 3.2). Las concentraciones más elevadas encontradas en nuestro caso provienen de muestras de aire interior de domicilios (VMS cíclicos totales hasta de 317,5 µg m<sup>-3</sup>), donde otros autores también han reportado concentraciones muy altas de estos compuestos (D6: 0,6-164 µg m<sup>-3</sup>) (Kaj y col., 2005b). En el caso de aire de ambientes exteriores, se han observado concentraciones de VMS cíclicos y lineales totales relativamente bajas y similares a los valores máximos encontrados en el Ártico (Krogseth y col., 2013), mientras que en países del Norte de Europa, Canadá y EUA la proporción de VMS cíclicos y lineales es significativamente diferente a la obtenida en nuestro estudio. Así, en estos países, las concentraciones de VMS cíclicos totales son más elevadas, con valores hasta de 4020 ng m<sup>-3</sup>, mientras que las concentraciones de VMS lineales totales son hasta dos órdenes de magnitud menores (Tabla 3.2) que las encontradas en la presente tesis. Estas mayores concentraciones para los VMS cíclicos, pueden ser debidas, como indica Cheng (Cheng y col., 2011), a la cercanía de los puntos de muestreo a fuentes de emisión de VMS de tipo industrial, tales como plantas de tratamiento de aguas residuales o vertidos de aguas residuales.





# **CONCLUSIONES**

## **CAPÍTULO 4**



## CONCLUSIONES

En esta tesis doctoral se han desarrollado metodologías analíticas para la determinación de metilsiloxanos volátiles (VMS) en distintos tipos de matrices ambientales. La estrategia general ha consistido en desarrollar métodos rápidos y sensibles, sin utilizar etapas de concentración de los extractos para evitar pérdidas de los analitos por volatilización. Asimismo, se ha puesto especial interés en controlar y minimizar la contaminación de fondo que dificulta en gran medida el análisis de estos compuestos para lo cual se proponen diferentes estrategias. La utilización de los métodos establecidos en el análisis de muestras de diverso origen ha permitido obtener nuevos datos sobre la presencia y distribución de estos contaminantes en el medio ambiente.

A continuación se resumen las principales conclusiones obtenidas en esta tesis.

### **En relación a la contaminación de fondo y a las pérdidas por volatilización**

- Se ha demostrado que con independencia de la matriz analizada y el método utilizado, la contaminación de fondo que se produce durante el análisis de VMS tiene lugar mayoritariamente en la etapa de tratamiento de muestra, siendo en general los contaminantes predominantes el L2 y D4. Además, se ha comprobado que el patrón de composición de la contaminación de fondo de los VMS lineales en las distintas etapas del procedimiento de análisis es siempre el mismo ( $L2 > L3 > L4 > L5$ ) a diferencia de los VMS cíclicos que varía a lo largo de las distintas etapas. Así, los contaminantes mayoritarios provenientes de la etapa de toma de muestra son el D4 y D5, mientras que el D4 es el compuesto que predomina debido al tratamiento de muestra y el D3 y el D5 como resultado de la aportación durante la determinación instrumental.

- Para minimizar la contaminación de fondo en el análisis de los VMS se propone realizar el tratamiento de las muestras y la preparación de los patrones en una cámara limpia, y así evitar la contaminación procedente del aire del laboratorio. Además, se recomienda emplear un septum tipo Merlin en el inyector del cromatógrafo de gases y sustituir los septums de silicona de los viales de extracción y de inyección por otros materiales como Viton y PTFE. Para minimizar aún más las aportaciones de fondo de estos compuestos se propone el uso de agua mineral embotellada en lugar de agua MilliQ y el uso de columnas de bajo sangrado, como la DB5-MS, para llevar a cabo la determinación cromatográfica.

- Para evitar las pérdidas por volatilización en los métodos propuestos se propone no concentrar los extractos obtenidos con rotavapor o corriente de nitrógeno y, a fin de compensar la pérdida de sensibilidad que conlleva este procedimiento, se propone emplear la técnica de inyección de grandes volúmenes CSR-LVI. Se ha demostrado que los parámetros de inyección más críticos en la obtención de picos cromatográficos sin distorsiones son: el disolvente de inyección, el diámetro interno del *liner* del inyector y

la longitud de la precolumna. Con esta técnica se ha conseguido inyectar hasta 30  $\mu\text{l}$  de extracto orgánico, utilizando n-hexano como disolvente de inyección, un *liner* de 5mm de diámetro interno con lana de vidrio, una pre-columna de 5m de longitud y una temperatura de inyector de 200°C.

- La aplicabilidad de la técnica de inyección de grandes volúmenes CSR-LVI se ha demostrado mediante el análisis de diferentes tipos de muestras, como suelos, aguas residuales y aire, así como matrices con un elevado grado de contaminación como lodos de plantas depuradoras. En el caso de aguas residuales, se propone utilizar una mezcla tetrahidrofurano/n-hexano (60/40, v/v) como disolvente de inyección y un volumen máximo de inyección de 20  $\mu\text{l}$ , puesto que la inyección con el disolvente del extracto (tetrahidrofurano) produce deformación en los picos cromatográficos.

#### **El establecimiento de métodos de extracción para el análisis de VMS en muestras de distinto origen ha puesto de manifiesto que:**

- La técnica HS-SPME es adecuada para el análisis de VMS en aguas fluviales. Las fibras mixtas que contienen DVB son las que han permitido obtener mayores eficacias de extracción. En concreto se propone utilizar una fibra de PDMS/DVB (65 $\mu\text{m}$ ), trabajando a una temperatura y tiempo de extracción de 25 °C y 40 min, respectivamente. Los límites de detección obtenidos con este método (VMS lineales: 0,003-0,25  $\text{ng L}^{-1}$  y cíclicos: 6-11  $\text{ng L}^{-1}$ ), permiten la determinación de VMS lineales y cíclicos en aguas de río a concentraciones de  $\text{ng L}^{-1}$ . Sin embargo, la técnica HS-SPME no es adecuada para el análisis de aguas residuales, ya que la sensibilidad del método se ve reducida por un efecto matriz elevado, lo que hace aumentar los límites de detección del método y disminuir considerablemente su precisión (RSD: 30-40%).

- La técnica HS-SPME es útil como técnica de preconcentración en el análisis de muestras complejas. Así, se propone para la determinación de los VMS en muestras de biota (mejillones), después de una etapa inicial de extracción de las muestras con acetonitrilo (2ml). El empleo de la HS-SPME permite obtener bajos límites de detección (VMS lineales: 0,03-0,10  $\text{ng g}^{-1}\text{p.h.}$  y cíclicos: 2 - 4  $\text{ng g}^{-1}\text{p.h.}$ ), extrayendo de forma selectiva los compuestos volátiles de la muestra y evitando la posibles interferencias de los componentes no volátiles de la muestra que permanecen en la fase acuosa.

- El uso de la SPE con discos de  $\text{C}_{18}$  es una opción rápida y eficaz para el análisis de VMS en aguas residuales. Su utilización ha permitido alcanzar recuperaciones superiores al 96% para todos los compuestos. Se propone la miniaturización de este método de SPE para reducir el tiempo de análisis y las pérdidas por volatilización, utilizando discos de extracción de tamaño reducido (5,5 mg/1ml), analizando solamente 10 ml de muestra y eluyendo con un mínimo volumen de disolvente (200 $\mu\text{l}$  de tetrahidrofurano). La utilización adicional de la técnica CSR-LVI como método de

inyección ha permitido alcanzar bajos límites de detección (VMS lineales y cíclicos: 0,5-0,8 ng L<sup>-1</sup>), lo que ha permitido la cuantificación de los VMS en la fase disuelta de muestras de aguas residuales a concentraciones de ng L<sup>-1</sup>.

- La extracción con n-hexano (2 x 3ml) seguida de una purificación con SPE (sílice, 100 mg/1 ml) ha resultado ser una opción útil para el análisis de VMS en suelos y lodos. La utilización adicional de la técnica de inyección CSR-LVI ha permitido obtener bajos límites de detección (suelos y lodos: 0,004 - 0,14 ng g<sup>-1</sup> p.h.). El método proporciona buenas recuperaciones para los compuestos de interés (80-103%) y ha permitido la determinación de VMS cíclicos en suelos urbanos, así como VMS lineales y cíclicos en lodos de depuradora. El método también resulta efectivo para el análisis de VMS en la fase particulada de aguas residuales, alcanzándose en este caso recuperaciones para todos los analitos superiores al 87% y límites de detección entre 0,05 y 0,3 ng g<sup>-1</sup> p.h.

- Para determinar VMS en aire, el uso de cartuchos SPE de Isolute ENVI+ (100mg/1ml) permite muestrear un mayor volumen de aire que otros adsorbentes poliméricos, como Chromosorb 102 y 106, y adsorbentes de base carbono como el carbón de coco activado o el carbón grafitizado. El método propuesto utilizando este tipo de adsorbente combinado con la inyección de grandes volúmenes permite alcanzar bajos límites de detección (0,01-0,18 ng m<sup>-3</sup>) sin la necesidad de muestrear un volumen excesivamente elevado de aire (<2,7m<sup>3</sup>), con lo que se reduce el tiempo de muestreo y se evitan las pérdidas de los compuestos más volátiles.

### **En relación con la presencia de VMS en el medio ambiente**

- Las concentraciones de VMS encontradas en las diferentes matrices ambientales estudiadas (lodos, aire ambiente, agua residual y mejillones) han mostrado un predominio muy elevado de los VMS cíclicos con respecto a los lineales, siendo casi del 100% en muestras como lodos y aire interior de domicilios. Esto se debe a la mayor emisión de estos compuestos al medio ambiente, como consecuencia de su mayor volumen de producción y uso en comparación con los lineales.

- El patrón de composición de los VMS lineales detectado en las distintas matrices muestra un predominio del L2 y el L5, aunque su proporción varía según el tipo de muestra. En cambio, el patrón de los VMS cíclicos presenta siempre al D5 como compuesto mayoritario independientemente del tipo de matriz analizada. Este hecho está de acuerdo con el predominio del D5 en los productos de higiene personal utilizados en Europa, considerados como la principal fuente de emisión de VMS al medio ambiente.

- El análisis de los VMS en aguas residuales ha puesto de manifiesto que estos compuestos se acumulan en la fase particulada (46,0-99,9%), lo que puede asociarse a su carácter marcadamente hidrofóbico, mientras que la fase disuelta se caracteriza por el

predominio del L2 (99,0%). Puesto que la adsorción en la materia particulada constituye, junto a la volatilización al aire, un mecanismo importante de eliminación de estos contaminantes en las plantas de tratamiento, este resultado puede explicar la elevada eficiencia de eliminación que se ha observado para la mayor parte de los compuestos (L3-L5, D4-D6: 63-99%) y la deficiente eliminación del L2 (22 y 24%) debido a su mayor solubilidad en agua.

- Los valores de concentración de VMS totales que se han determinado en aguas residuales ( $\Sigma$ VMS lineales: 478-1026 ng l<sup>-1</sup> y cíclicos: 12277-32073 ng l<sup>-1</sup>) y lodos de plantas depuradoras ( $\Sigma$ VMS lineales: 44-147 ng g<sup>-1</sup>p.s. y cíclicos: 8223-111632 ng g<sup>-1</sup>p.s), son en general similares a los datos publicados en la literatura. Sin embargo, los niveles de VMS encontrados en otras matrices, como suelos, aguas fluviales y aire, son significativamente distintos. En algunos casos, como muestras de suelos urbanos ( $\Sigma$ VMS cíclicos: 21-66 ng g<sup>-1</sup>p.s.) y aguas fluviales ( $\Sigma$ VMS lineales: 0,8-4,7 ng l<sup>-1</sup> y cíclicos: 22-81 ng l<sup>-1</sup>), las concentraciones encontradas son inferiores a los de la literatura, lo que sugiere que las zonas de muestreo seleccionadas en nuestro estudio se encuentran alejadas de las fuentes de emisión de estos compuestos, mientras que muchos de los datos publicados corresponden a muestras recogidas en áreas cercanas a las fuentes emisoras.

- Los niveles de concentración de VMS totales encontrados en mejillones procedentes de la costa de Cataluña muestran un importante aporte de los VMS cíclicos en las muestras procedentes de las desembocaduras de los ríos Llobregat y Besós (203 y 631 ng g<sup>-1</sup>p.h.) y áreas con una marcada influencia industrial cercanas a las ciudades de Barcelona y Tarragona (102 - 174 ng g<sup>-1</sup>p.h.), mientras que la contaminación es menor en zonas costeras de tipo turístico-urbano, como la zona del litoral que va desde Premià de Mar hasta Llançà (9 - 48 ng g<sup>-1</sup>p.h.). El análisis de mejillones como organismo bioindicador de contaminación de VMS ha mostrado ser un método útil y eficaz para evaluar la presencia de estos compuestos en aguas costeras y se propone su uso para el estudio y control de estos contaminantes en el medio acuático marino.

# **BIBLIOGRAFÍA**





Amirav, A., and Dagan, S. (1997). A direct sample introduction device for mass spectrometry studies and gas chromatography mass spectrometry analyses. *European Journal of Mass Spectrometry* 3, 105.

Atkinson, R. (1991) Kinetics of the Gas-Phase Reactions of a Series of Organosilicon Compounds with OH and NO<sub>3</sub> Radicals and O<sub>3</sub> at 297±2 K, *Environ. Sci. Technol.* 25, 863–866.

Badjagbo, K., Furtos, A., Alae, M., Moore, S., and Sauvé, S. (2009). Direct analysis of volatile methylsiloxanes in gaseous matrixes using atmospheric pressure chemical ionization-tandem mass spectrometry. *Anal. Chem.* 81, 7288–7293.

Badjagbo, K., H roux, M., Alae, M., Moore, S., and Sauvé, S. (2010). Quantitative analysis of volatile methylsiloxanes in waste-to-energy landfill biogases using direct APCI-MS/MS. *Environ. Sci. Technol.* 44, 600–605.

Biedermann, M., and Grob, K. (2012). On-line coupled high performance liquid chromatography-gas chromatography for the analysis of contamination by mineral oil. Part 1: method of analysis. *J Chromatogr A* 1255, 56–75.

Biedermann, M., Fiscalini, A., and Grob, K. (2004). Large volume splitless injection with concurrent solvent recondensation: keeping the sample in place in the hot vaporizing chamber. *J Sep Sci* 27, 1157–1165.

Biedermann, M., Grob, K. (2013). Programmed temperature vaporizing injector to filter off disturbing high boiling and involatile material for on-line high performance liquid chromatography gas chromatography with on-column transfer. *J. Chromatogr. A.* 1281, 106–114.

Bletsou, A.A., Asimakopoulos, A.G., Stasinakis, A.S., Thomaidis, N.S., and Kannan, K. (2013). Mass loading and fate of linear and cyclic siloxanes in a wastewater treatment plant in Greece. *Environ. Sci. Technol.* 47, 1824–1832.

Borg , K., Fjeld, E., Kierkegaard, A., and McLachlan, M.S. (2012). Food web accumulation of cyclic siloxanes in Lake Mj sa, Norway. *Environ. Sci. Technol.* 46, 6347–6354.

Borg , K., Fjeld, E., Kierkegaard, A., and McLachlan, M.S. (2013). Consistency in Trophic Magnification Factors of Cyclic Methyl Siloxanes in Pelagic Freshwater Food Webs Leading to Brown Trout. *Environ. Sci. Technol.* 47, 14394–14402.

Brooke, D. N.; Crookes, M. J.; Gray, D.; Robertson, S. Environmental Risk Assessment Report: Octamethylcyclotetrasiloxane; Environment Agency of England and Wales: Bristol, U.K., 2009a; disponible en: <http://publications.environment-agency.gov.uk/pdf/SCHO0309BPQZ-e-e.pdf>. (revisada el 3 de Marzo del 2010).

Brooke, D. N.; Crookes, M. J.; Gray, D.; Robertson, S. Environmental Risk Assessment Report: Decamethylcyclopentasiloxane; Environment Agency of England and Wales: Bristol, U.K., 2009b; disponible en: <http://publications.environment-agency.gov.uk/pdf/SCHO0309BPQX-e-e.pdf>. (revisada el 3 de Marzo del 2010).

Brooke, D. N.; Crookes, M. J.; Gray, D.; Robertson, S. Environmental Risk Assessment Report: Dodecamethylcyclohexasiloxane; Environment Agency of England and Wales: Bristol, U.K., 2009c; disponible en: <http://publications.environment-agency.gov.uk/pdf/SCHO0309BPQY-e-e.pdf>. (revisada el 3 de Marzo del 2010).

Buser, A.M., Kierkegaard, A., Bogdal, C., MacLeod, M., Scheringer, M., and Hungerbühler, K. (2013). Concentrations in Ambient Air and Emissions of Cyclic Volatile Methylsiloxanes in Zurich, Switzerland. *Environ. Sci. Technol.* *47*, 7045–7051.

Butts, M., Cella, J., Wood, C.D., Gillette, G., Kerboua, R., Leman, J., Lewis, L., Rajaraman, S., Rubinsztajn, S., Schattenmann, F., et al. (2002). Silicones. In *Encyclopedia of Polymer Science and Technology*, (John Wiley & Sons, Inc.),.

Cassidy, S.L., Dotti, A., Kolesar, G.B., Dochterman, L.W., Meeks, R.G., and Chevalier, H.J. (2001). Hexamethydisiloxane: A 13-week subchronic whole-body vapor inhalation toxicity study in Fischer 344 rats. *Int. J. Toxicol.* *20*, 391–399.

Cavagnino, D., Magni, P., Zilioli, G., and Trestianu, S. (2003). Comprehensive two-dimensional gas chromatography using large sample volume injection for the determination of polynuclear aromatic hydrocarbons in complex matrices. *J Chromatogr A* *1019*, 211–220.

Chandra G. (1997) *Organosilicon Materials*, Vol 3/H. Springer-Verlag, Berlin, Germany.

Cheng, Y., Shoeib, M., Ahrens, L., Harner, T., and Ma, J. (2011). Wastewater treatment plants and landfills emit volatile methyl siloxanes (VMSs) to the atmosphere: investigations using a new passive air sampler. *Environ. Pollut.* *159*, 2380–2386.

Cortada, C., dos Reis, L.C., Vidal, L., Llorca, J., and Canals, A. (2014). Determination of cyclic and linear siloxanes in wastewater samples by ultrasound-assisted dispersive liquid–liquid microextraction followed by gas chromatography–mass spectrometry. *Talanta* *120*, 191–197.

David, M.D., Fendinger, N.J., and Hand, V.C. (2000). Determination of Henry's Law Constants for Organosilicones in Acutal and Simulated Wastewater. *Environ. Sci. Technol.* *34*, 4554–4559.

De Boer, J., Colin Allchin, R., L., and Bart Zegers, J. P. B. (2001). Method for the analysis of polybrominated diphenylethers in sediments and biota. *Trend Anal. Chem.* *20*, 591–599.

Dellavedova, P., Vitelli, M., Ferraro, V., Toro, M.D., and Santoro, M. (2006). Application of Enhanced Large Volume Injection; an Approach to the Analysis of Petroleum Hydrocarbons in Water. *Chroma* *63*, 73–76.

Dettmer, K., Engewald, W. (2003). Ambient air analysis of volatile organic compounds using adsorptive enrichment. *Chromatographia* *57*, S-339 – S-347.

Dewil, R., Appels, L., Baeyens, J., Buczynska, A., and Van Vaeck, L. (2007). The analysis of volatile siloxanes in waste activated sludge. *Talanta* *74*, 14–19.

Dudzina, T., von Goetz, N., Bogdal, C., Biesterbos, J.W.H., and Hungerbühler, K. (2014). Concentrations of cyclic volatile methylsiloxanes in European cosmetics and personal care products: Prerequisite for human and environmental exposure assessment. *Environment International* 62, 86–94.

ECHA: European Chemicals Agency (2013). Results of evaluation of PBT/vPvB properties of decamethylcyclopentasiloxane.; disponible en: [http://echa.europa.eu/documents/10162/13628/decamethyl\\_pbtSheet\\_en.pdf](http://echa.europa.eu/documents/10162/13628/decamethyl_pbtSheet_en.pdf).(revisada el 22 de Abril del 2014).

Eisert, R., Levsen, K. (1996). Solid-phase microextraction coupled to gas chromatography: A new method for the analysis of organics in water. *J. Chromatogr. A* 733, 143–157.

Eisert, R., Pawliszyn, J. (1997). New Trends in Solid-Phase Microextraction. *Critical Rev. Anal. Chem.* 27, 103–135.

Eljarrat, E., Caixach, J., Rivera, J. (2001). Toxic Potency Assessment of Non and Mono-ortho PCBs, PCDDs, PCDFs, and PAHs in Northwest Mediterranean Sediments (Catalonia, Spain). *Environ. Sci. Technol.* 35, 3589–3594.

Engewald, W., Teske, J., and Efer, J. (1999). Programmed temperature vaporiser-based injection in capillary gas chromatography. *J Chromatogr A* 856, 259–278.

Environment Canada and Health Canada, (2008a). Screening assessment for the challenge octamethylcyclotetrasiloxane (D4), disponible en: [https://www.ec.gc.ca/ese-ees/2481B508-1760-4878-9B8A-270EEE8B7DA4/batch2\\_556-67-2\\_en.pdf](https://www.ec.gc.ca/ese-ees/2481B508-1760-4878-9B8A-270EEE8B7DA4/batch2_556-67-2_en.pdf) (revisada el 24 de Octubre del 2013).

Environment Canada and Health Canada, (2008b). Screening assessment for the challenge decamethylcyclopentasiloxane (D5), disponible en: [http://www.ec.gc.ca/ese-ees/13CC261E-5FB0-4D33-8000-EA6C6440758A/batch2\\_541-02-6\\_en.pdf](http://www.ec.gc.ca/ese-ees/13CC261E-5FB0-4D33-8000-EA6C6440758A/batch2_541-02-6_en.pdf) (revisada el 24 de Octubre del 2013).

Environment Canada and Health Canada, (2008c). Screening assessment for the challenge dodecamethylcyclohexasiloxane (D6), disponible en: [http://www.ec.gc.ca/ese-ees/FC0D11E7-DB34-41AA-B1B3-E66EFD8813F1/batch2\\_540-97-6\\_en.pdf](http://www.ec.gc.ca/ese-ees/FC0D11E7-DB34-41AA-B1B3-E66EFD8813F1/batch2_540-97-6_en.pdf) (revisada el 24 de Octubre del 2013).

Environment Canada and Health Canada, (2011). Risk management scope for Octamethyltrisiloxane (L3), disponible en: [http://www.ec.gc.ca/ese-ees/9B3AF91C-71D1-4C5F-ACC1-DB946930072E/B12%20107-51-7%20RM%20Scope%20\\_EN.pdf](http://www.ec.gc.ca/ese-ees/9B3AF91C-71D1-4C5F-ACC1-DB946930072E/B12%20107-51-7%20RM%20Scope%20_EN.pdf) (revisada el 15 de diciembre del 2013).

Evenset A., Leknes H., Christensen G. N., Warner N., Remberger M., Gabrielsen G. W., Screening of New Contaminants in Samples from the Norwegian Arctic , Report 1049/2009, Norwegian Pollution Control Authority, available at: <http://www.miljodirektoratet.no/old/klif/publikasjoner/2510/ta2510.pdf> (accessed on 20 February, 2014).

Fernández-González, V., Concha-Graña, E., Muniategui-Lorenzo, S., López-Mahía, P., and Prada-Rodríguez, D. (2008). A multivariate study of the programmed temperature

vaporization injection-gas chromatographic-mass spectrometric determination of polycyclic aromatic hydrocarbons Application to marine sediments analysis. *Talanta* 74, 1096–1103.

Fidalgo-Used, N., Blanco-González, E., and Sanz-Medel, A. (2007). Review: Sample handling strategies for the determination of persistent trace organic contaminants from biota samples. *Anal. Chim. Acta.* 590, 1–16.

Fidalgo-Used, N., Montes-Bayón, M., Blanco-González, E., and Sanz-Medel, A. (2008). Enantioselective determination of the organochlorine pesticide bromocyclen in spiked fish tissue using solid-phase microextraction coupled to gas chromatography with ECD and ICP-MS detection. *Talanta* 75, 710–716.

Genualdi, S., Harner, T., Cheng, Y., MacLeod, M., Hansen, K.M., van Egmond, R., Shoeib, M., and Lee, S.C. (2011). Global Distribution of Linear and Cyclic Volatile Methyl Siloxanes in Air. *Environ. Sci. Technol.* 45, 3349–3354.

Godula, M., Hajšlová, J., and Alterová, K. (1999). Pulsed Splitless Injection and the Extent of Matrix Effects in the Analysis of Pesticides. *J. High Resol. Chromatogr.* 22, 395–402.

Grob Jr, K., Karrer, G., and Riekkola, M.-L. (1985). On-column injection of large sample volumes using the retention gap technique in capillary gas-chromatography. *Journal of Chromatography A* 334, 129–155.

Grob, K. (1988). *On-Column Injection in Capillary Gas Chromatography — Basic Technique, Retention Gaps, Solvent Effects.* 591 Seiten, zahlr. Abb. Dr. Alfred Hüthig Verlag, Heidelberg, Basel. New York 1987. Preis: 188,— DM. *Nahrung* 32, 422–422.

Grob, K., and Stoll, J.-M. (1986). Loop-type interface for concurrent solvent evaporation in coupled HPLC-GC. Analysis of raspberry ketone in a raspberry sauce as an example. *J. High Resol. Chromatogr.* 9, 518–523.

Grob, K., Biedermann, M. (2002). The Two Options for Sample Evaporation in Hot GC Injectors: Thermospray and Band Formation. Optimization of Conditions and Injector Design. *Anal. Chem.* 74, 10-16.

Grob, K., Schmarr, H.-G., and Mosandl, A. (1989). Early solvent vapor exit in GC for coupled LC-GC involving concurrent eluent evaporation. *J. High Resol. Chromatogr.* 12, 375–382.

Grümping R., Michalke K., Hirner A. V., Hensel R., (1999) Microbial degradation of octamethylcyclotetrasiloxane. *Appl. Environ. Microbiol.* 65, 2276-2278.

Hanssen, L., Warner, N.A., Braathen, T., Odland, J.Ø., Lund, E., Nieboer, E., and Sandanger, T.M. (2013). Plasma concentrations of cyclic volatile methylsiloxanes (cVMS) in pregnant and postmenopausal Norwegian women and self-reported use of personal care products (PCPs). *Environ Int* 51, 82–87.

He, B., Rhodes-Brower, S., Miller, M.R., Munson, A.E., Germolec, D.R., Walker, V.R., Korach, K.S., and Meade, B.J. (2003). Octamethylcyclotetrasiloxane exhibits estrogenic activity in mice via ER $\alpha$ . *Toxicology and Applied Pharmacology* 192, 254–261.

- Herbert, P., Silva, A.L., João, M.J., Santos, L., and Alves, A. (2006). Determination of semi-volatile priority pollutants in landfill leachates and sediments using microwave-assisted headspace solid-phase microextraction. *Anal Bioanal Chem* 386, 324–331.
- Hoh, E., Mastovska, K., J. (2008) Review: Large volume injection techniques in capillary gas chromatography. *J. Chromatogr. A* 1186, 2–15.
- Horii, Y., and Kannan, K. (2008). Survey of organosilicone compounds, including cyclic and linear siloxanes, in personal-care and household products. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 55, 701–710.
- Hübschmann, H.-J. (2008). Chapter 2: Fundamentals. In *Handbook of GC/MS*, (Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA), pp. 7–277.
- Jing, H., and Amirav, A. (1997). Pesticide Analysis with the Pulsed-Flame Photometer Detector and a Direct Sample Introduction Device. *Anal. Chem.* 69, 1426–1435.
- Kaj L., Andersson J., Cousins A.P., Remberger M., Ekheden Y., Dusan B., Brorström-Lundén E., Cato I., Results from the Swedish National Screening Programme 2004, Subreport 4: Siloxanes, IVL Report B1643, Swedish National Research Institute, Stockholm, 2005a, disponible en: <http://www.ivl.se/download/18.2f3a7b311a7c806443800055371/B1643.pdf> (revisada el 10 de Marzo del 2010).
- Kaj L., Schlabach M., Andersson J., Cousins A. P., Schmidbauer N., Brorström-Lundén E., Siloxanes in the Nordic Environment, Nordic Council of Ministers, Copenhagen, 2005b, disponible en: <http://nordicscreening.org/index.php?module=Pagesetter&type=file&func=get&tid=5&fid=reportfile&pid=4> (revisada el 3 de Marzo del 2010).
- Kent, D.J., McNamara, P.C., Putt, A.E., Hobson, J.F., and Silberhorn, E.M. (1994). Octamethylcyclotetrasiloxane in aquatic sediments: Toxicity and risk assessment. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 29, 372–389.
- Kierkegaard, A., Adolfsson-Erici, M., and McLachlan, M.S. (2010). Determination of cyclic volatile methylsiloxanes in biota with a purge and trap method. *Anal. Chem.* 82, 9573–9578.
- Kierkegaard, A., and McLachlan, M.S. (2010). Determination of decamethylcyclopentasiloxane in air using commercial solid phase extraction cartridges. *J Chromatogr A* 1217, 3557–3560.
- Kierkegaard, A., van Egmond, R., and McLachlan, M.S. (2011). Cyclic volatile methylsiloxane bioaccumulation in flounder and ragworm in the Humber Estuary. *Environ. Sci. Technol.* 45, 5936–5942.
- Kierkegaard, A., and McLachlan, M.S. (2013). Determination of linear and cyclic volatile methylsiloxanes in air at a regional background site in Sweden. *Atmospheric Environment* 80, 322–329.
- Kierkegaard, A., Bignert, A., and McLachlan, M.S. (2013a). Bioaccumulation of decamethylcyclopentasiloxane in perch in Swedish lakes. *Chemosphere* 93, 789–793.

- Kierkegaard, A., Bignert, A., and McLachlan, M.S. (2013b). Cyclic volatile methylsiloxanes in fish from the Baltic Sea. *Chemosphere* 93, 774–778.
- Kipping, F. S. (1907b). Organic derivative of silicon III. Di-benzylmethylethylpropylsilicon. *J. Chem. Soc.* 91, 717–747.
- Kipping, F.S. (1904). Organic derivative of silicon I. Preparation of alkylsilicon chlorides. *Proc. Chem. Soc.* 20, 15–16.
- Kipping, F.S. (1907a). Organic derivative of silicon II. Synthesis of benzyl ethylpropyl silicol, its sulfonation and the resolution of the dl- sulfonic derivative. *J. Chem. Soc.* 91, 209–240.
- Kipping, F.S. (1912). Organic derivative of silicon XVI. Preparation and properties of diphenylsilicanediol. *J. Chem. Soc.* 101, 2108–2125.
- Kjeldsen, F., Christensen, L.P., and Edelenbos, M. (2001). Quantitative Analysis of Aroma Compounds in Carrot (*Daucus carota* L.) Cultivars by Capillary Gas Chromatography Using Large-Volume Injection Technique. *J. Agric. Food Chem.* 49, 4342–4348.
- Korytár, P., Matisová, E., Lefflerová, H. (2000). Large Volume Injection in Fast Gas Chromatography with On-Column Injector. *J. High Resol. Chromatogr.* 23, 149–155.
- Kristenson, E.M., Angioi, S., Vreuls, R.J.J., Gennaro, M.C., and Brinkman, U.A.T. (2004). Miniaturised pressurised liquid extraction of chloroanilines from soil with subsequent analysis by large-volume injection-gas chromatography-mass spectrometry. *J Chromatogr A* 1058, 243–249.
- Krogseth, I.S., Kierkegaard, A., McLachlan, M.S., Breivik, K., Hansen, K.M., and Schlabach, M. (2013b). Occurrence and seasonality of cyclic volatile methyl siloxanes in Arctic air. *Environ. Sci. Technol.* 47, 502–509.
- Krogseth, I.S., Zhang, X., Lei, Y.D., Wania, F., and Breivik, K. (2013a). Calibration and application of a passive air sampler (XAD-PAS) for volatile methyl siloxanes. *Environ. Sci. Technol.* 47, 4463–4470.
- Lamaa, L., Ferronato, C., Fine, L., Jaber F., Chovelon, J.M. (2013). Evaluation of adsorbents for volatile methylsiloxanes sampling based on the determination of their breakthrough volume. *Talanta* 115, 881–886.
- Lambropoulou, D.A., Konstantinou, I.K., and Albanis, T.A. (2006a). Coupling of headspace solid phase microextraction with ultrasonic extraction for the determination of chlorinated pesticides in bird livers using gas chromatography. *Anal. Chim. Acta* 573-574, 223–230.
- Lambropoulou, D.A., Konstantinou, I.K., and Albanis, T.A. (2006b). Sample pretreatment method for the determination of polychlorinated biphenyls in bird livers using ultrasonic extraction followed by headspace solid-phase microextraction and gas chromatography-mass spectrometry. *J Chromatogr A* 1124, 97–105.

- Lassen, C. Hansen, L. Mikkelsen. S. H., Maag, J. Siloxanes-Consumption, Toxicity and Alternatives, Danish Ministry of the Environment, Danish Environmental Protection Agency, COWI A/S, Environmental Project No. 1031, 2005, disponible en: <http://www2.mst.dk/Udgiv/publications/2005/87-7614-756-8/pdf/87-7614-6.pdf> (revisada el 16 de Enero del 2010).
- Lei, Y.D., Wania, F., and Mathers, D. (2010). Temperature-Dependent Vapor Pressure of Selected Cyclic and Linear Polydimethylsiloxane Oligomers. *J. Chem. Eng. Data* 55, 5868–5873.
- Li, Y., Whitaker, J.S., and McCarty, C.L. (2009). New Advances in Large-Volume Injection Gas Chromatography-Mass Spectrometry. *Journal of Liquid Chromatography & Related Technologies* 32, 1644–1671.
- Magni, P., and Porzano, T. (2003). Concurrent solvent recondensation large sample volume splitless injection. *Journal of Separation Science* 26, 1491–1498.
- Malleret, L., Bruchet, A., and Hennion, M.-C. (2001). Picogram Determination of “Earthy-Musty” Odorous Compounds in Water Using Modified Closed Loop Stripping Analysis and Large Volume Injection GC/MS. *Anal. Chem.* 73, 1485–1490.
- Mazzoni, S. M. (1997) Eco-relevant properties of organosilicon materials, pp. 53-82. In: G. Chandra, (Ed.). *The Handbook of Environmental Chemistry. Part H. Organosilicon Materials, Vol. 3.* Springer-Verlag, Berlin.
- McGoldrick, D.J., Chan, C., Drouillard, K.G., Keir, M.J., Clark, M.G., and Backus, S.M. (2014). Concentrations and trophic magnification of cyclic siloxanes in aquatic biota from the Western Basin of Lake Erie, Canada. *Environ. Pollut.* 186, 141–148.
- McKim, J.M., Jr, Kolesar, G.B., Jean, P.A., Meeker, L.S., Wilga, P.C., Schoonhoven, R., Swenberg, J.A., Goodman, J.I., Gallavan, R.H., and Meeks, R.G. (2001). Repeated inhalation exposure to octamethylcyclotetrasiloxane produces hepatomegaly, transient hepatic hyperplasia, and sustained hypertrophy in female Fischer 344 rats in a manner similar to phenobarbital. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 172, 83–92.
- McKim, J.M., Jr, Wilga, P.C., Breslin, W.J., Plotzke, K.P., Gallavan, R.H., and Meeks, R.G. (2001). Potential estrogenic and antiestrogenic activity of the cyclic siloxane octamethylcyclotetrasiloxane (D4) and the linear siloxane hexamethyldisiloxane (HMDS) in immature rats using the uterotrophic assay. *Toxicol. Sci.* 63, 37–46.
- McLachlan, M.S., Kierkegaard, A., Hansen, K.M., van Egmond, R., Christensen, J.H., and Skjøth, C.A. (2010). Concentrations and Fate of Decamethylcyclopentasiloxane (D5) in the Atmosphere. *Environ. Sci. Technol.* 44, 5365–5370.
- Misselwitz, M., Cochran, J. (2010). Large Volume Splitless Injection Using an Unmodified Split/Splitless Injection Port for the Analysis of Environmental Compounds in Water, Restek Corporation, 110 Benner Circle, Bellefonte, PA, USA, disponible en: <http://www.epa.gov/region6/6pd/qa/presentations10/c10-misselwitz-p2.pdf> (revisada el 4 de Enero del 2010).
- Misselwitz, M., Cochran, J., Thomas, J., Grossman, S. (2010). Large volume splitless and cold on-column injection approaches using unmodified splitless and PTV injection



ports for the analysis of halogenated pesticides and brominated flame retardants, Restek Corporation, 110 Benner Circle, Bellefonte, PA, USA, disponible en: <http://www.xcdtech.com/dioxin2010/pdf/1490.pdf> (revisada el 4 de Enero del 2010).

Mueller, J.A., Di Toro, D.M., and Maiello, J.A. (1995). Fate of octamethylcyclotetrasiloxane (OMCTS) in the atmosphere and in sewage treatment plants as an estimation of aquatic exposure. *Environmental Toxicology and Chemistry* 14, 1657–1666.

Navea, J.G., Xu, S., Stanier, C.O., Young, M.A., and Grassian, V.H. (2009a). Effect of ozone and relative humidity on the heterogeneous uptake of octamethylcyclotetrasiloxane and decamethylcyclopentasiloxane on model mineral dust aerosol components. *J Phys Chem A* 113, 7030–7038.

Navea, J.G., Xu, S., Stanier, C.O., Young, M.A., and Grassian, V.H. (2009b). Heterogeneous uptake of octamethylcyclotetrasiloxane (D4) and decamethylcyclopentasiloxane (D5) onto mineral dust aerosol under variable RH conditions. *Atmospheric Environment* 43, 4060–4069.

Navea, J.G., Young, M.A., Xu, S., Grassian, V.H., and Stanier, C.O. (2011). The atmospheric lifetimes and concentrations of cyclic methylsiloxanes octamethylcyclotetrasiloxane (D4) and decamethylcyclopentasiloxane (D5) and the influence of heterogeneous uptake. *Atmospheric Environment* 45, 3181–3191.

Norwood, W.P., Alae, M., Sverko, E., Wang, D., Brown, M., and Galicia, M. (2013). Decamethylcyclopentasiloxane (D5) spiked sediment: Bioaccumulation and toxicity to the benthic invertebrate *Hyalella azteca*. *Chemosphere* 93, 805–812.

Occupational Safety & Health Administration (OSHA) (2007), Chemical Sampling Information: Hexamethylcyclotrisiloxane, disponible en: [https://www.osha.gov/dts/chemicalsampling/data/CH\\_245140.html](https://www.osha.gov/dts/chemicalsampling/data/CH_245140.html) (revisada el 22 de Marzo del 2012).

Ouyang, G., Pawliszyn, J. (2006) SPME in environmental analysis. *Anal. Bioanal. Chem.* 386, 1059-1073.

Parker, W.J., Shi, J., Fendinger, N.J., Monteith, H.D., and Chandra, G. (1999). Pilot plant study to assess the fate of two volatile methyl siloxane compounds during municipal wastewater treatment. *Environmental Toxicology and Chemistry* 18, 172–181.

Parrott, J.L., Alae, M., Wang, D., and Sverko, E. (2013). Fathead minnow (*Pimephales promelas*) embryo to adult exposure to decamethylcyclopentasiloxane (D5). *Chemosphere* 93, 813–818.

Pawliszyn, J. (1997) *Solid Phase Microextraction : Theory and Practice* (Wiley-VCH, New York).

Pieri, F., Katsoyiannis, A., Martellini, T., Hughes, D., Jones, K.C., and Cincinelli, A. (2013). Occurrence of linear and cyclic volatile methyl siloxanes in indoor air samples (UK and Italy) and their isotopic characterization. *Environ Int* 59, 363–371.

Ras M. R., Borrull F., Marcé R. M. (2009). Sampling and preconcentration techniques for determination of volatile organic compounds in air samples. *Trends Anal. Chem.* 28, 347–361.

Rattray, C., Cochran, J., English, C. (2012). Lowering Detection Limits for 1,4-Dioxane in Drinking Water Using Large Volume Injection in an Unmodified Splitless GC Inlet, Restek Corporation, 110 Benner Circle, Bellefonte, PA, USA, disponible en: <http://www.restek.com/pdfs/EVAN1548-UNV.pdf> (revisada el 25 de Mayo del 2014).

REACH (registration, evaluation, authorisation and restriction of chemicals). European Commission, EC-1907/2006 2006, disponible en: <http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=oj:l:2006:396:0001:0849:en:pdf> (revisada el 1 de Octubre del 2013).

REACH, Annex XIII: Criteria for the identification of persistence, bioaccumulative and toxic substances, and very persistence and very bioaccumulative substances, 2008, disponible en: <http://www.reachonline.eu/REACH/EN/REACH-EN/articleXIII.html> (revisada el 6 de Junio del 2014).

Robarge, T., C., Phillips, E., Conoley, M. (2010). Large Volume Techniques, Large Volume Splitless Applications: Analysis of Hydrocarbons in Water and Soil, Thermo Electron Corporation, Austin, Texas, USA, disponible en: [http://www.brechbuehler.ch/fileadmin/redacteur/pdf/gc-gc\\_ms/gc/trace-gc/lvi-gc/52832 TRACE GC ultra Large Volume Product brochure.pdf](http://www.brechbuehler.ch/fileadmin/redacteur/pdf/gc-gc_ms/gc/trace-gc/lvi-gc/52832 TRACE GC ultra Large Volume Product brochure.pdf) (revisada el 4 de Enero del 2010).

Robarge, T., C., Phillips, E., Conoley, M. (2007). Use of a Novel Large Volume Splitless Injection Technique and Sequential Full Scan/SIM for Simultaneous Screening and Confirmation of Toxicological Specimens, Application Note: 10014, Thermo Fisher Scientific Inc., Austin, TX, USA, disponible en: <http://www.thermo.com.cn/Resources/201007/2710442972.pdf> (revisada el 4 de Enero del 2010).

Robarge, T., Phillips, E., Conoley, M. (2004). Analysis of Pesticides and PCB's Using a Large Volume Splitless Injection Technique, Application Note: 10013, Thermo Electron Corporation, Austin, Texas, USA, disponible en: <http://www.thermoscientific.jp/application/environment/docs/AN10013.pdf> (revisada el 4 de Enero del 2010).

Rodil, R., Carro, A.M., Lorenzo, R.A., and Cela Torrijos, R. (2005). Selective Extraction of Trace Levels of Polychlorinated and Polybrominated Contaminants by Supercritical Fluid-Solid-Phase Microextraction and Determination by Gas Chromatography/Mass Spectrometry. Application to Aquaculture Fish Feed and Cultured Marine Species. *Anal. Chem.* 77, 2259–2265.

Sánchez-Brunete, C., Miguel, E., Albero, B., and Tadeo, J.L. (2010). Determination of cyclic and linear siloxanes in soil samples by ultrasonic-assisted extraction and gas chromatography-mass spectrometry. *J Chromatogr A* 1217, 7024–7030.

Sánchez-Brunete, C., Pérez, R.A., Miguel, E., and Tadeo, J.L. (1998). Multiresidue herbicide analysis in soil samples by means of extraction in small columns and gas

chromatography with nitrogen–phosphorus and mass spectrometric detection. *Journal of Chromatography A* 823, 17–24.

Sánchez-Brunete, C., Rodríguez, A., and Tadeo, J.L. (2003). Multiresidue analysis of carbamate pesticides in soil by sonication-assisted extraction in small columns and liquid chromatography. *Journal of Chromatography A* 1007, 85–91.

Sanchís, J., Martínez, E., Ginebreda, A., Farré, M., and Barceló, D. (2013). Occurrence of linear and cyclic volatile methylsiloxanes in wastewater, surface water and sediments from Catalonia. *Sci. Total Environ.* 443, 530–538.

Schlabach M., Andersen M. S., Green N., Shoyen M., Kaj L., Siloxanes in the Environment of the Inner Oslofjord TA-2269/2007, 2007, disponible en: [www.klif.no/publikasjoner/2269/ta2269.pdf](http://www.klif.no/publikasjoner/2269/ta2269.pdf) (revisada el 5 de Marzo del 2013).

Schweigkofler, M., and Niessner, R. (1999). Determination of Siloxanes and VOC in Landfill Gas and Sewage Gas by Canister Sampling and GC-MS/AES Analysis. *Environ. Sci. Technol.* 33, 3680–3685.

SCIENTIFIC COMMITTEE ON CONSUMER PRODUCTS (SCCP), Opinion on Octamethylcyclotetrasiloxane (D4) Cyclomethicone (INCI name), 2005, disponible en: [http://ec.europa.eu/health/ph\\_risk/committees/04\\_sccp/docs/sccp\\_o\\_035.pdf](http://ec.europa.eu/health/ph_risk/committees/04_sccp/docs/sccp_o_035.pdf) (revisada el 22 de Junio del 2014).

Shields, H.C., and Weschler, C.J. (1992). Volatile Organic Compounds Measured at a Telephone Switching Center From 5/30/85-12/6/88: A Detailed Case Study. *Journal of the Air & Waste Management Association* 42, 792–804.

Shields, H.C., Fleischer, D.M., and Weschler, C.J. (1996). Comparisons among VOCs Measured in Three Types of U.S. Commercial Buildings with Different Occupant Densities. *Indoor Air* 6, 2–17.

Shirey, R.E., (2000). Optimization of extraction conditions and fiber selection for semivolatiles using solid-phase microextraction. *J. Chromatogr. Sci.* 38, 279–288.

Siddiqui, W.H., Stump, D.G., Reynolds, V.L., Plotzke, K.P., Holson, J.F., and Meeks, R.G. (2007). A two-generation reproductive toxicity study of decamethylcyclopentasiloxane (D5) in rats exposed by whole-body vapor inhalation. *Reprod. Toxicol.* 23, 216–225.

Slack, G. C., Snow, N. H., Kou, D. (2003) Extraction of volatile organic compounds from solids and liquids, pp. 183-223. In: S. Mitra (Ed.). *Sample preparation techniques in analytical chemistry*. John Wiley & Sons, Inc., Hoboken, New Jersey.

Sommerlade, R., Parlar, H., Wrobel, D., and Kochs, P. (1993). Product analysis and kinetics of the gas-phase reactions of selected organosilicon compounds with OH radicals using a smog chamber-mass spectrometer system. *Environ. Sci. Technol.* 27, 2435–2440.

Sousa, J.V., McNamara, P.C., Putt, A.E., Machado, M.W., Surprenant, D.C., Hamelink, J.L., Kent, D.J., Silberhorn, E.M., and Hobson, J.F. (1995). Effects of

octamethylcyclotetrasiloxane (OMCTS) on freshwater and marine organisms. *Environmental Toxicology and Chemistry* 14, 1639–1647.

Sparham, C., Van Egmond, R., O'Connor, S., Hastie, C., Whelan, M., Kanda, R., and Franklin, O. (2008). Determination of decamethylcyclopentasiloxane in river water and final effluent by headspace gas chromatography/mass spectrometry. *J Chromatogr A* 1212, 124–129.

Sparham, C., van Egmond, R., Hastie, C., O'Connor, S., Gore, D., and Chowdhury, N. (2011). Determination of decamethylcyclopentasiloxane in river and estuarine sediments in the UK. *J Chromatogr A* 1218, 817–823. Teske, J., and Engewald, W. (2002). Methods for, and applications of, large-volume injection in capillary gas chromatography. *TrAC Trends in Analytical Chemistry* 21, 584–593.

U.S. Environmental Protection Agency (U.S. EPA). Non-confidential inventory update reporting production volume information. Toxic Substances Control Act (TSCA) Inventory, 2002; disponible en: <http://www.epa.gov/oppt/iur/tools/data/2002-vol.htm> (se accedió el 20 de Febrero del 2013).

U.S. Environmental Protection Agency. Work Plan Chemicals for Assessment During 2013 and 2014; disponible en: <http://www.epa.gov/oppt/existingchemicals/pubs/workplanlist.html> (se accedió el 22 de Abril del 2014).

US EPA; Non-confidential Production Volume Information Submitted by Companies for Chemicals Under the 1986-2002 Inventory Update Rule (IUR). Hexamethyldisiloxane (107-46-0). disponible en: <http://www.epa.gov/oppt/iur/tools/data/2002-vol.html> (se accedió el 22 de Mayo del 2009).

Utell, M. J., Gelein, R., Yu, C. P., Kenaga, C., Geigel, E., Torres, A., Chalupa, D., Gibb, F. R., Speers, D. M., Mast, R. W., Morrow P. E. (1998). Quantitative Exposure of Humans to an Octamethylcyclotetrasiloxane (D4) Vapor. *Toxicol. Sci.* 44, 206–213.

Van Egmond, R., Sparham, C., Hastie, C., Gore, D., and Chowdhury, N. (2013). Monitoring and modelling of siloxanes in a sewage treatment plant in the UK. *Chemosphere* 93, 757–765.

Varaparth, S., Frye, C.L., and Hamelink, J. (1996). Aqueous solubility of permethylsiloxanes (silicones). *Environmental Toxicology and Chemistry* 15, 1263–1265.

Varaparth, S., Stutts, D.H., and Kozerski, G.E. (2006). A Primer on the Analytical Aspects of Silicones at Trace Levels-Challenges and Artifacts – A Review. *Silicon Chem* 3, 79–102.

Velicogna, J., Ritchie, E., Princz, J., Lessard, M.-E., and Scroggins, R. (2012). Ecotoxicity of siloxane D5 in soil. *Chemosphere* 87, 77–83.

Vogt, W., Jacob, K., Ohnesorge, A.-B., and Werner Obwexer, H. (1979). Capillary gas chromatographic injection system for large sample volumes. *Journal of Chromatography A* 186, 197–205.

Wachholz, S., Keidel, F., Just, U., Geissler, H., and Käppler, K. (1995). Analysis of a mixture of linear and cyclic siloxanes by cryo-gas chromatography-Fourier transform infrared spectroscopy and gas chromatography-mass spectrometry. *Journal of Chromatography A* 693, 89–99.

Walorczyk, S. (2012). Gas chromatographic-tandem mass spectrometric analysis of pesticides residues in produce using concurrent solvent recondensation-large volume injection. *J Chromatogr A* 1222, 98–108.

Walorczyk, S., and Drożdżyński, D. (2012). Improvement and extension to new analytes of a multi-residue method for the determination of pesticides in cereals and dry animal feed using gas chromatography-tandem quadrupole mass spectrometry revisited. *J Chromatogr A* 1251, 219–231.

Wang, D.-G., Alae, M., Steer, H., Tait, T., Williams, Z., Brimble, S., Svoboda, L., Barresi, E., Dejong, M., Schachtschneider, J., et al. (2013c). Determination of cyclic volatile methylsiloxanes in water, sediment, soil, biota, and biosolid using large-volume injection-gas chromatography-mass spectrometry. *Chemosphere* 93, 741–748.

Wang, D.-G., Norwood, W., Alae, M., Byer, J.D., and Brimble, S. (2013a). Review of recent advances in research on the toxicity, detection, occurrence and fate of cyclic volatile methyl siloxanes in the environment. *Chemosphere* 93, 711–725.

Wang, D.-G., Steer, H., Tait, T., Williams, Z., Pacepavicius, G., Young, T., Ng, T., Smyth, S.A., Kinsman, L., and Alae, M. (2013b). Concentrations of cyclic volatile methylsiloxanes in biosolid amended soil, influent, effluent, receiving water, and sediment of wastewater treatment plants in Canada. *Chemosphere* 93, 766–773.

Wang, R., Moody, R.P., Koniecki, D., and Zhu, J. (2009). Low molecular weight cyclic volatile methylsiloxanes in cosmetic products sold in Canada: implication for dermal exposure. *Environ Int* 35, 900–904.

Wang, X., Lee, S., Sheng, G., Chan, L., Fu, J., Li, X., Min, Y., and Chan, C. (2001). Cyclic organosilicon compounds in ambient air in Guangzhou, Macau and Nanhai, Pearl River Delta. *Applied Geochemistry* 16, 1447–1454.

Warner, N.A., Evenset, A., Christensen, G., Gabrielsen, G.W., Borgå, K., and Leknes, H. (2010). Volatile siloxanes in the European arctic: assessment of sources and spatial distribution. *Environ. Sci. Technol.* 44, 7705–7710.

Warner, N.A., Kozerski, G., Durham, J., Koerner, M., Gerhards, R., Campbell, R., and McNett, D.A. (2013). Positive vs. false detection: A comparison of analytical methods and performance for analysis of cyclic volatile methylsiloxanes (cVMS) in environmental samples from remote regions. *Chemosphere* 93, 749–756.

Whelan, M.J., and Breivik, K. (2013). Dynamic modelling of aquatic exposure and pelagic food chain transfer of cyclic volatile methyl siloxanes in the Inner Oslofjord. *Chemosphere* 93, 794–804.

Whelan, M.J., Estrada, E., and van Egmond, R. (2004). A modelling assessment of the atmospheric fate of volatile methyl siloxanes and their reaction products. *Chemosphere* 57, 1427–1437.

- Whelan, M.J., Sanders, D., and van Egmond, R. (2009). Effect of Aldrich humic acid on water-atmosphere transfer of decamethylcyclopentasiloxane. *Chemosphere* 74, 1111–1116.
- Woodburn, K., Drottar, K., Domoradzki, J., Durham, J., McNett, D., and Jezowski, R. (2013). Determination of the dietary biomagnification of octamethylcyclotetrasiloxane and decamethylcyclopentasiloxane with the rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Chemosphere* 93, 779–788.
- Xu, L., Shi, Y., and Cai, Y. (2013). Occurrence and fate of volatile siloxanes in a municipal wastewater treatment plant of Beijing, China. *Water Res.* 47, 715–724.
- Xu, S. (1998). Hydrolysis of Poly(dimethylsiloxanes) on Clay Minerals As Influenced by Exchangeable Cations and Moisture. *Environ. Sci. Technol.* 32, 3162–3168.
- Xu, S., (1999) Fate of cyclic methylsiloxanes in soils. 1. The degradation pathway, *Environ. Sci. Technol.* 33, 603-608.
- Xu, S., and Kropscott, B. (2012). Method for simultaneous determination of partition coefficients for cyclic volatile methylsiloxanes and dimethylsilanediol. *Anal. Chem.* 84, 1948–1955.
- Xu, S., Chandra, G. (1999) Fate of cyclic methylsiloxanes in soils. 2. Rates of degradation and volatilization, *Environ. Sci. Technol.* 33, 4034-4039.
- Yucuis, R.A., Stanier, C.O., and Hornbuckle, K.C. (2013). Cyclic siloxanes in air, including identification of high levels in Chicago and distinct diurnal variation. *Chemosphere* 92, 905–910.
- Zhang, Z., Qi, H., Ren, N., Li, Y., Gao, D., and Kannan, K. (2011). Survey of cyclic and linear siloxanes in sediment from the Songhua River and in sewage sludge from wastewater treatment plants, Northeastern China. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 60, 204–211.
- Zhao, Y., Yang, L., Wang, Q. (2007). Pulsed Large Volume Injection Gas Chromatography Coupled with Electron-Capture Negative Ionization Quadrupole Mass Spectrometry for Simultaneous Determination of Typical Halogenated Persistent Organic Pollutants. *J. Am. Soc. Mass. Spectrom.*, 18, 1375–1386.