

## Determinación de di(2-etilhexil) adipato en aguas del lago Ypacarai por microextracción líquido-líquido dispersiva

### Determination of di(2-ethylhexyl) adipate in waters of lake Ypacarai by dispersive liquid-liquid microextraction

Sergio Rodríguez Bonet<sup>1,2,3</sup>, Tomás López Arias<sup>2</sup> & Julio Benítez Villalba<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Dpto. de Química. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad Nacional de Asunción. Paraguay. Email: sergiorb@gmail.com

<sup>2</sup>Dpto. de Biotecnología. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad Nacional de Asunción. Paraguay.

<sup>3</sup>Dpto. de Investigación y Desarrollo. Instituto Nacional de Tecnología, Normalización y Metrología. Paraguay.

**Resumen:** El lago Ypacarai es un valioso recurso hídrico del Paraguay, es el lago más grande del país y es conocido internacionalmente a través de la música y el turismo. El gran crecimiento demográfico y las actividades antropogénicas desarrolladas en su cuenca han causado su contaminación y degradación ambiental en los últimos años. El objetivo de este trabajo fue cuantificar di(2-etilhexil) adipato (DEHA) en aguas del lago Ypacarai, aplicando un método analítico desarrollado y validado. Dentro de la metodología analítica se aplicó la técnica de microextracción líquido-líquido dispersiva (DLLME) optimizada mediante un diseño experimental multivariante. La validación del método analítico se realizó evaluando cada una de las características de desempeño siguiendo los lineamientos de la guía Eurachem 2014. La metodología desarrollada optimizada y validada se aplicó correctamente a la determinación de DEHA en las aguas del lago Ypacarai. Los límites de detección LOD y cuantificación LOQ fueron 0,004 mg.L<sup>-1</sup> y 0,014 mg.L<sup>-1</sup> respectivamente. La precisión del método evaluada mediante la repetibilidad y precisión intermedia fue de 2,37 % y 3,78 % y una recuperación 87,14 % al LOQ y 97,62 % a 0,3 mg.L<sup>-1</sup>. Los resultados comprueban la presencia de este contaminante en concentraciones entre 0,028 mg.L<sup>-1</sup> y 0,603 mg.L<sup>-1</sup>. El método analítico fue desarrollado, optimizado y validado con éxito y permitió la correcta cuantificación del compuesto DEHA en aguas superficiales del lago Ypacarai.

**Palabras clave:** *aguas superficiales, di(2-etilhexil) adipato, diseño experimental multivariante, microextracción líquido-líquido dispersiva.*

**Abstract:** The Ypacarai Lake is a valuable water resource of Paraguay, it is the largest lake in the country and is known internationally through the music and tourism. The great demographic growth and anthropogenic activities developed in its basin have caused its contamination and environmental degradation in recent years. The objective of this work was to develop and validate a method for the determination of di(2-ethylhexyl) adipate (DEHA) in its surface waters. The liquid-liquid dispersive microextraction technique (DLLME) optimized by means of a multivariate experimental design was used within the analytical methodology. The validation of the analytical method was carried out an evaluation of each of the characteristics of a performance following the guidelines of the Eurachem 2014 guide. The developed, optimized and validated methodology also applies to the determination of DEHA in the waters of Ypacarai Lake. The limit of detection LOD and limit of quantification LOQ were 0.004 mg.L<sup>-1</sup> and 0.014 mg.L<sup>-1</sup> respectively. The precision of the method evaluated by repeatability and intermediate precision was 2.37 % and 3.78 % and 87.14 % of recovery at LOQ level and 97.62 % at 0.3 mg.L<sup>-1</sup>. The results include the presence of this contaminant in them between 0.028 mg.L<sup>-1</sup> and 0.603 mg.L<sup>-1</sup>. The analytical method was successfully developed, optimized and validated and it enabled the correct quantification of the DEHA compound in the surface waters of Ypacarai Lake.

**Key words:** *surface waters, di(2-ethylhexyl) adipate, multivariate experimental design, dispersive liquid-liquid microextraction.*

### Introducción

El lago Ypacarai se encuentra situado al Este de Asunción, entre los departamentos Central y Cordillera, cuenta con una superficie de 60 km<sup>2</sup> apro-

ximadamente y su profundidad media es de 1,72 m. Es un lugar importante desde el punto de vista cultural porque ofrece bellos paisajes y es conocido a través de la música. Posee un alto valor ecológico, una rica biodiversidad, sobre todo de peces (López

Recibido: 24/06/2020    Aceptado: 21/09/2020



Moreira. et al., 2018).

Sus principales tributarios son los arroyos Yukyry y Pirayú, que provienen de zonas densamente pobladas por lo que se encuentran expuestos a la contaminación por vertidos de aguas residuales domésticas, efluentes industriales y lixiviados agrícolas entre otros.

La liberación de compuestos orgánicos y sus productos de degradación en las aguas residuales pueden tener efectos tóxicos, cancerígenos, mutagénicos y/o disruptores endócrinos (Barnabé et al., 2008). Las mismas generalmente van a parar a los cauces hídricos esparciendo así los contaminantes a lugares donde no deberían estar (Fatecha et al., 2016).

Son considerados contaminantes emergentes aquellos compuestos de origen y naturaleza química distinta que no han sido incluidos en las regulaciones de calidad del agua existentes, no se han estudiado anteriormente y se consideran amenazas potenciales para los ecosistemas ambientales, la salud y la seguridad humanas (Gil et al., 2012). Se pueden clasificar en diferentes grupos de compuestos químicos como: pesticidas, surfactantes, plastificantes y aditivos industriales, aditivos para combustibles, drogas farmacéuticas, productos de cuidado personal, hormonas y esteroides entre otros, incluyendo sus productos de degradación (Farré, & Barceló, 2008).

Los ésteres del ácido ftálico, junto con DEHA son compuestos químicos que se utilizan ampliamente en la industria de los plásticos, ya que mejoran la suavidad y la flexibilidad de estos (Farajzadeh & Khoshmaram, 2015). DEHA al igual que otros plastificantes son utilizados en muchos productos de plástico como los ésteres de celulosa y los copolímeros de cloruro de vinilo (PVC) para hacerlos más flexibles y poder utilizarlos por ejemplo como embalaje de alimentos entre otros (Zhou et al., 2013). Razón por la que DEHA es comúnmente detectado en alimentos con alto contenido de lípidos y con envolturas de plástico aditivadas con el mismo.

En estudios rutinarios para el análisis de pesticidas por cromatografía gaseosa acoplada espectrometría de masas, se detectó la presencia del

compuesto DEHA en las aguas superficiales y en base a la escasa bibliografía científica disponible al respecto, surge la necesidad de abordar el tema de manera científica.

En el presente trabajo se plantea la aplicación de la técnica de microextracción líquido-líquido dispersiva (dispersive liquid-liquid microextraction, DLLME) la que fue optimizada mediante un diseño experimental multivariante tipo Doehlert de 3 variables.

El método analítico se validó mediante la evaluación de sus características de desempeño siguiendo los lineamientos de la guía Eurachem 2014 (Magnusson & Örnemark 2014), con el objetivo de obtener información certera y confiable sobre los niveles presentes del compuesto en sus aguas.

### **Materiales y métodos**

Los reactivos, solventes y estándares utilizados fueron de grado analítico de pureza entre el 99,0 % y 99,9 %. Los materiales de laboratorio y los equipos e instrumentales fueron provistos por el Instituto Nacional de Tecnología, Normalización y Metrología y la Facultad de Ciencias Exactas y Naturales de la Universidad Nacional de Asunción. Se realizaron análisis preliminares para la identificación de los posibles contaminantes orgánicos hidrofóbicos del lago Ypacaraí; para lo cual se realizó una extracción y posterior identificación del analito se realizó mediante extracción líquido-líquido (liquid-liquid extraction, LLE) utilizando diclorometano como disolvente extractante, según la norma EPA 606.

El extracto fue concentrado utilizando un evaporador rotatorio y retomado a un volumen de 2 mL con acetona. El extracto concentrado fue inyectado en un equipo de cromatografía gaseosa acoplado a un espectrómetro de masas (GC-MS) de la marca Shimadzu modelo QP2010 plus, con inyector automático.

La identificación de la molécula fue realizada mediante la comparación del espectro de masa obtenido con la base de datos de la biblioteca de espectros de masa NIST 08. Posteriormente se procedió a realizar una comparación de los tiempos de

retención con un estándar de di(2-etilhexil) adipato en un equipo de cromatografía gaseosa con detector de ionización a la llama (FID).

Para la cuantificación del compuesto DEHA, se aplicó la técnica de microextracción líquido-líquido dispersiva DLMEE. La cual consiste en un sistema ternario de fases líquidas en la que la muestra constituye la fase acuosa, mientras que los otros disolventes actúan como agente dispersante (sustancia polaridad suficiente para disolverse en agua) y un agente extractante (sustancia apolar de densidad mayor al de agua) (Rezaee et al., 2006) que extrae el analito de interés, el cual deberá ser suficientemente soluble en dicho disolvente.

El agente dispersante produce una disminución de la tensión superficial del extractante y de esa manera permite que la mezcla forme una emulsión al ser inyectada dentro de la muestra, esto favorece la formación de una superficie de contacto grande entre el agente extractante y la matriz de análisis, permitiendo la transferencia de los analitos a la fase orgánica (Farajzadeh, Bahram, & Jönsson, 2007), la cual es recuperada mediante la centrifugación de la muestra.

La combinación de disolventes extractante y dispersante pudo ser evaluada mediante la aplicación de un diseño experimental univariante, cuyos resultados fueron sometidos a un tratamiento estadístico de análisis de la varianza y la prueba de significancia de Tukey. Los disolventes evaluados fueron: tetracloruro de carbono, cloroformo y diclorometano como agentes extractantes, mientras que los agentes dispersantes fueron etanol, acetona y acetonitrilo.

La optimización de la DLLME se realizó mediante un diseño experimental del tipo Doehlert de 3 variables. Se evaluó el efecto de la fuerza iónica, mediante la adición de cloruro de sodio a la muestra en cantidades que van desde 0 % 20 % en. Otra variable estudiada fue el volumen de mezcla extractante añadido a la muestra, el cual fue aplicado en el intervalo de 1,00 a 1,50 mL y por último se evaluó el efecto de la proporción del disolvente extractante-dispersante en la mezcla en el intervalo de 10:90 a 25:75.

Con la técnica de DLMEE optimizada se procedió a validar el método analítico por cromatografía gaseosa con detector FID. Se evaluaron las características de desempeño del método analítico según el procedimiento descrito en guía Eurachem 2014.

Con la técnica de extracción y método analítico validado, se procedió a cuantificar el compuesto en muestras tomadas del lago Ypacaraí en 3 campañas de muestreo (abril, agosto y noviembre del 2018).

### Metodología analítica aplicada

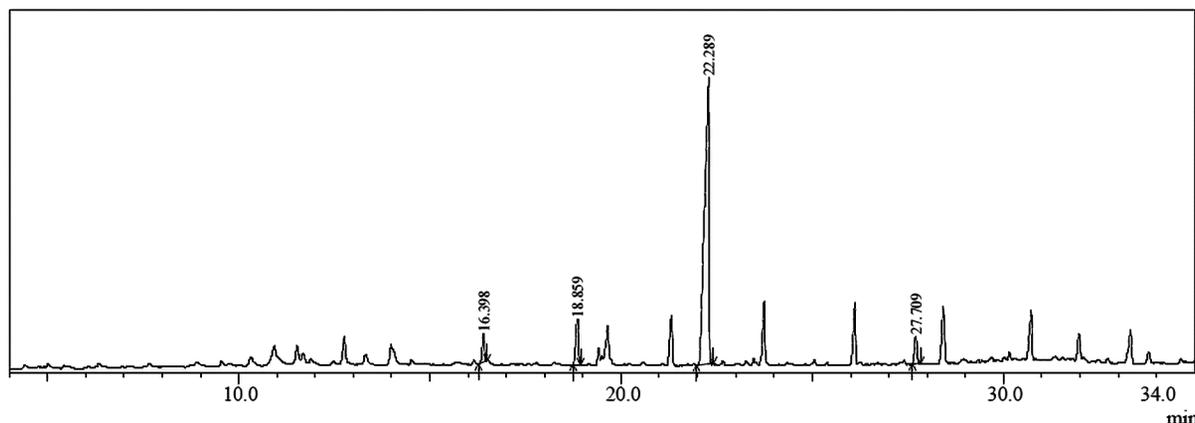
La técnica de extracción del analito consistió en colocar una alícuota de 50 mL de muestra en un tubo de centrifugación de fondo cónico, a la cual se le inyectó de manera rápida un volumen de la mezcla extractante-dispersante. El tubo se colocó en un agitador mecánico y se procedió a agitación mecánica por 10 min a 150 rpm. Luego de ese período, el tubo se llevó a centrifugación a 3500 rpm por 10 minutos. Posteriormente, el líquido extractante sedimentado en el cono del tubo se retomó utilizando una micro jeringa de vidrio de 100  $\mu$ L.

Se midió el volumen total sedimentado y luego una alícuota de 100  $\mu$ L se colocó en un inserto de vidrio de 250  $\mu$ L de capacidad dentro de un vial de 1,5 mL de capacidad para su análisis en el cromatógrafo Agilent (GC-FID).

Condiciones de análisis: columna HP-INNO-



**Figura 1.** Distribución geográfica de los puntos de muestreo del lago Ypacaraí. Fuente Google maps.



**Figura 2.** Cromatograma de la muestra analizada para estudiar la presencia de compuestos orgánicos hidrofóbicos en las aguas del Lago Ypacarai. Fuente GC-MS Solution Workstation versión 2.5 de gestión y tratamiento de los datos obtenidos del GC-MS Shimadzu.

Wax de polietilenglicol como fase estacionaria, de 30 m de longitud por 0,25 mm de diámetro interno y 0,25 micras de filme. Gas carrier nitrógeno de 99,9 % de pureza. La temperatura del puerto inyector a 250 °C, detector a 300 °C, la temperatura inicial del horno a 200 °C y una rampa de 5 °C/min hasta 260 °C, en donde se mantuvo por 2 minutos. 14 minutos de tiempo total de corrida y 2 µL de volumen de inyección en modo “Splitless”.

Los puntos de toma de muestra se observan en

la Figura 1.

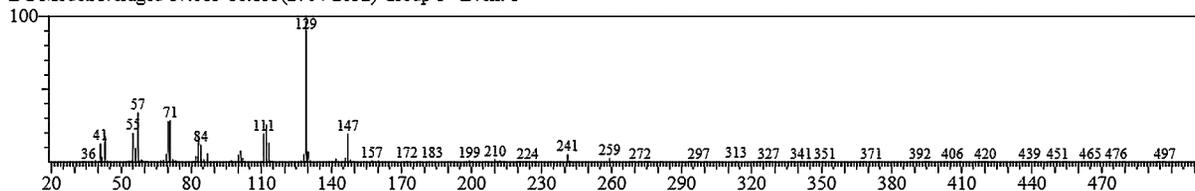
### Resultados Y Discusión

El cromatograma de la Figura 2, obtenido de los análisis realizados para el estudio de contaminantes orgánicos hidrofóbicos del lago, muestra varios picos que en su mayoría corresponde a hidrocarburos de cadena larga (entre 18 a 36 átomos de carbono). Sin embargo se observa un pico de mayor altura y área cuyo espectro de masas de la Figura 3, muestra una similitud del 97% con el espectro de masa del

#### Library Search

<< Target >>

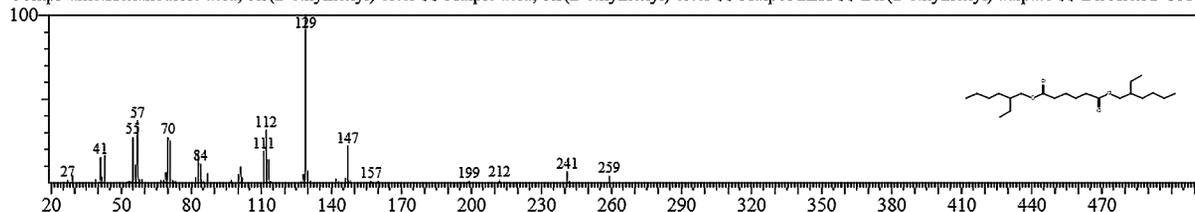
Line#:1 R.Time:22.290(Scan#:3659) MassPeaks:392  
RawMode:Averaged 21.950-22.380(3591-3677) BasePeak:129.10(10000)  
BG Mode:Averaged 17.815-18.155(2764-2832) Group 1 - Event 1



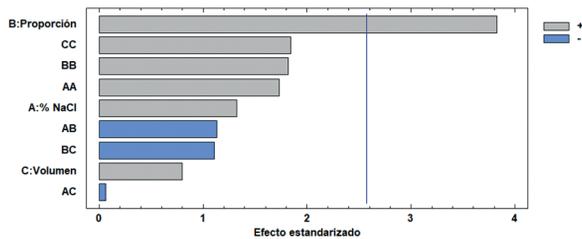
Hit#:1 Entry:155684 Library:NIST08.LIB

SI:97 Formula:C22H42O4 CAS:103-23-1 MolWeight:370 RetIndex:2414

CompName:Hexanedioic acid, bis(2-ethylhexyl) ester \$\$ Adipic acid, bis(2-ethylhexyl) ester \$\$ Adipol 2EH \$\$ Bis(2-ethylhexyl) adipate \$\$ Bisoflex DOA



**Figura 3.** Espectro de masa de DEHA y espectro de masa de la muestra. Fuente Base de datos de la biblioteca de espectros de masa NIST 08.



**Figura 4.** Superficie de respuesta de la recuperación del analito como función de diferentes factores. **A)** Superficie de respuesta de la recuperación del analito como función del % NaCl y la Proporción de extractante – dispersante. **B)** Superficie de respuesta de la recuperación del analito como función del volumen y la Proporción de extractante – dispersante. (Fuente: Statgraphic Centurion XVI).

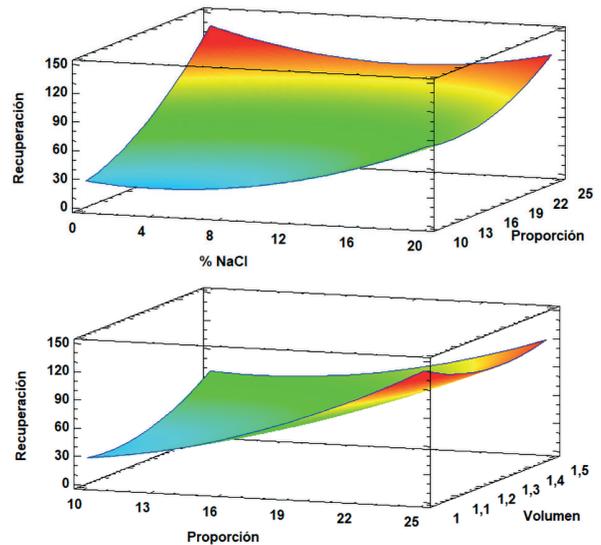
di(2-etilhexil) adipato obtenido de la base de datos de la biblioteca de espectros de masa NIST 08.

La presencia del ion “target” o cuantificador  $m/z = 129$  y los iones cualificadores  $m/z = 112$  y  $m/z = 147$  coinciden con el espectro obtenido por Lo Turco et al. (2015) y Aragón et al. (2012). Por otro lado, el tiempo de retención (RT) del pico del analito objetivo coincide totalmente con el RT del pico del estándar de di(2-etilhexil) adipato utilizado como material de referencia.

La técnica DLLME aplicada en la extracción del compuesto DEHA, fue optimizada mediante la aplicación de un diseño experimental multivariante tipo Doehlert en el que se evaluaron las variables fuerza iónica, volumen y proporción de mezcla extractante dispersante. El tetracloruro de carbono y la acetona fueron seleccionados como disolventes extractante y dispersante respectivamente mediante un estudio previo tipo univariante en el cual se evaluó la recuperación obtenida del analito como factor respuesta y cuyos resultados muestran que la combinación del disolvente tetracloruro de carbono (extractante) y acetona (dispersante), difieren significativamente ( $p=0,05$ ) de las demás combinaciones y con las que se obtuvieron recuperaciones entre el 87 % y 93 %.

El gráfico de Pareto obtenido (Figura 4) muestra que la variable proporción de disolventes extractante-dispersante tiene un efecto significativo y positivo en la recuperación del analito.

Con los resultados de la recuperación obtenida



**Figura 5.** Diagrama de Pareto de los efectos de la ampliación del diseño Doehlert de 3 variables. (Fuente: Statgraphic Centurion XVI).

en los 15 experimentos, se obtuvo un gráfico de superficie de respuesta (Figura 5) en donde se aprecia cuáles son las condiciones óptimas para la extracción del analito considerando las variables estudiadas.

Los resultados obtenidos de la optimización de método DLLME son interesantes porque en comparación con otros métodos de extracción, utiliza pequeñas cantidades de solventes, es una técnica rápida, sencilla, amigable con el medioambiente, eficaz y sobre todo de bajo costo. La misma técnica puede ser aplicada en la determinación de otros compuestos en matrices acuosas como los compuestos organoclorados u organofosforados.

La Tabla 1 muestra los valores obtenidos en la evaluación de las características de desempeño durante la validación del método analítico.

El método analítico validado se aplicó correctamente a las muestras del lago y permitió la cuantificación de DEHA de manera válida y certera. Los resultados obtenidos se observan en la Figura 6.

El valor máximo tolerable para agua potable según la Norma de agua potable y consejo de salud de la Agencia de Protección Ambiental de Estados Unidos (EPA, 2018) es de  $0,4 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ , como se

**Tabla 1.** Resultados obtenidos para los parámetros de validación de los métodos de análisis de DEHA en agua superficial.

Parámetros de validación	Valores obtenidos	Comentarios
<b>Selectividad</b>	Selectivo	La selectividad se comprobó mediante la comparación del método propuesto con un método de referencia basado en la norma EPA 606 “Método para determinación de ésteres de ftalatos y de adipatos en agua potable”
<b>LOD</b>	0,004 mg.L <sup>-1</sup>	Estimado a partir del cálculo de 3 veces y 10 veces respectivamente de la desviación estándar (n=6) obtenida del análisis de una muestra de concentración 0,020 mg.L <sup>-1</sup> (mínima concentración con la que se obtuvo señal instrumental)
<b>LOQ</b>	0,014 mg.L <sup>-1</sup>	
<b>Intervalo de trabajo</b>	0,020 – 0,5 mg.L <sup>-1</sup>	Se utilizaron 5 niveles de concentración del analito preparados en la matriz de análisis
<b>Linealidad</b>	R = 0,998	Obtenido mediante regresión lineal de la curva en matriz (n=3)
<b>Sensibilidad</b>	0,180773	Pendiente de la curva de calibración
<b>Veracidad</b>	16,86 %	Estimada mediante el error relativo de la recuperación obtenida a la concentración del LOQ
<b>Precisión</b>	2,37 %	Repetibilidad de los resultados estimada mediante ANOVA
	3,78 %	Precisión intermedia obtenida mediante ANOVA

puede observar en la Figura 6, el punto 5 del primer muestreo supera este límite, los demás puntos de esta y las siguientes campañas se encuentran dentro de lo tolerable según esta norma, lo que hace suponer que el lago pudo haber purgado o diluido el contaminante en el transcurso del tiempo.

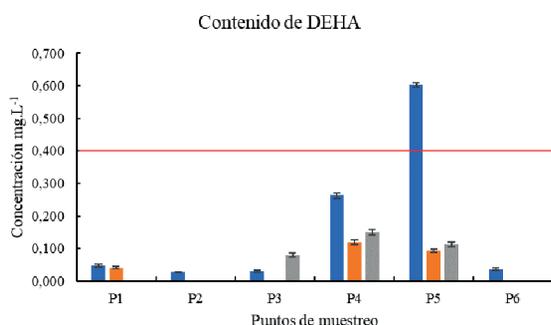
No se han encontrado estudios similares sobre la presencia de DEHA en aguas superficiales en países de la región, sin embargo Barnabé et al. (2008) han

detectado 0,147 mg.L<sup>-1</sup> de DEHA en aguas efluentes de una planta de tratamiento en Montreal, Canadá y 0,014 mg.L<sup>-1</sup> de DEHA en las aguas del río Saint Lawrence.

Paralelamente dentro del mismo estudio, han determinado además 0,0023 mg.L<sup>-1</sup>; 0,0240 mg.L<sup>-1</sup> y 0,0148 mg.L<sup>-1</sup> de 2-etilhexanol, 2-etilhexanal y ácido 2-etilhexanoico respectivamente en el efluente, mientras que en las aguas del río Saint Lawrence, han determinado 0,0085 mg.L<sup>-1</sup> de 2-etilhexanol y 0,0032 mg.L<sup>-1</sup> de ácido 2-etilhexanoico, que son los productos de degradación de DEHA.

Por su parte Aragón et al. (2012) estudiaron la presencia de DEHA en el material particulado del aire del puerto de Tarragona y determinaron valores de 0,36 ng.m<sup>-3</sup> y 1,08 de ng.m<sup>-3</sup> de DEHA.

Cabe resaltar que Han & Liu (2018) han determinado 0,63 mg.g<sup>-1</sup> de DEHA en krill antártico liofilizado y 2,16 mg.g<sup>-1</sup> de DEHA en aceite de krill antártico. Concluyen que DEHA puede presentar una amenaza para la supervivencia y reproducción del krill antártico, que a su vez es un importante eslabón en la cadena alimentaria en el océano.



**Figura 6.** Contenido de DEHA en aguas superficiales del Lago Ypacarai correspondiente a los 6 puntos de las 3 campañas de muestreo. La línea roja marca el límite máximo tolerable según EPA. **Azul)** primera campaña de muestreo. **Naranja)** segunda campaña. **Gris)** muestras de la tercera campaña.

### Conclusiones

A partir de los resultados de la optimización de método DLLME, se desarrolló el método analítico aplicable a la determinación del compuesto di(2-ethylhexil) adipato en aguas superficiales mediante cromatografía gaseosa con detector de ionización a la llama (GC-FID).

El método analítico propuesto fue validado mediante el análisis estadístico de los resultados de los ensayos realizados en muestras controladas que han posibilitado el estudio de cada una de las características de desempeño del método, como: la selectividad, la linealidad, la sensibilidad, los límites de detección y cuantificación, la precisión y la veracidad.

El método desarrollado y validado posibilitó la correcta cuantificación del compuesto di(2-ethylhexil) adipato en aguas superficiales del lago Ypacaraí.

Hasta ahora, DEHA no ha sido estudiado en aguas superficiales de Paraguay, este hecho hace que este trabajo sea de interés sobre todo por su aplicación a un caso hídrico muy importante para el país. Se considera al compuesto DEHA como contaminante del lago por ser un aditivo en la industria del plástico y no es un componente natural de los cauces hídricos.

Con la información obtenida de los resultados de los análisis aplicados a las muestras de aguas superficiales del Lago Ypacaraí se concluye que existe una contaminación actual de sus aguas con el compuesto di(2-ethylhexil) adipato, dicha información podrá ser utilizada para futuras investigaciones.

### Agradecimientos

A la Facultad de Ciencias Exactas y Naturales de la Universidad Nacional de Asunción FACEN –UNA y al Instituto Nacional de Tecnología, Normalización y Metrología –INTN por la disposición de los recursos para llevar a cabo este trabajo.

### Literatura Citada

- Aragón, M., Marcé, R.M., & Borrull, F. (2012). Determination of phthalates and organophosphate esters in particulated material from harbour air samples by pressurised liquid extraction and gas chromatography–mass spectrometry. *Talanta*, 101: 473–478.
- Barnabé, S., Beauchesne, I., Cooper, D.G., & Nicell, J.A. (2008). Plasticizers and their degradation products in the process streams of a large urban physicochemical sewage treatment plant. *Water Research*, 42(1), 153–162.
- Farajzadeh, M.A., Bahram, M., & Jönsson, J.Å. (2007). Dispersive liquid–liquid microextraction followed by high-performance liquid chromatography–diode array detection as an efficient and sensitive technique for determination of antioxidants. *Analytica Chimica Acta*, 591(1): 69–79.
- Farajzadeh, M. A., & Khoshmaram, L. (2015). Development of dispersive liquid–liquid microextraction technique using ternary solvents mixture followed by heating for the rapid and sensitive analysis of phthalate esters and di(2-ethylhexyl) adipate. *Journal of Chromatography A*, 1379: 24–33.
- Farré, & Barceló, D. (2008). Fate and toxicity of emerging pollutants, their metabolites and transformation products in the aquatic environment. *Trends in Analytical Chemistry*, 27(11): 991–1007.
- Fatecha, D.A., Rasche, J.W., Cabral, N., Ojeda, J.G., Coppo, J.C., Alves Neto, A.J., Lorezetti, E., Watanake, C.K.H., Rissato, B.B. & Belmonte, C. (2016). Phosphorus fractionation in sediments of the Ypacaraí lake basin. *African Journal of Agricultural Research*, 11(35): 3360–3365.
- Gil, M.J., Soto, A.M., Usma, J.I., & Gutiérrez, O.D. (2012). Contaminantes emergentes en aguas, efectos y posibles tratamientos. *Producción + Limpia*, 7(2): 52–73.
- Han, X., & Liu, D. (2018). Di(2-ethylhexyl) adipate (DEHA) detection in Antarctic krill (*Euphasia superba* Dana). *Polar Research*, 37(1)1457395: 1–8.
- Lo Turco, V., Di Bella, G., Potortì, A. G., Fede, M. R., & Dugo, G. (2015). Determination of plasticizer residues in tea by solid phase

- extraction-gas chromatography-mass spectrometry. *European Food Research and Technology*, 240(2): 451–458.
- López Moreira., G.A., Hinegk, L., Salvadore, A., Zolezzi, G., Hölker, F., Monte Domecq, R.A., Bocci, M., Carrer, S., De Nat, L., Escribá, C., Benítez, G.A., Ávalos, C.R., Peralta, I., Insaurralde, M., Mereles, F., Sekatcheff, J.M., Wehrle, A., Facetti-Masulli, J.F., Facetti, J.F. & Toffolon, M. (2018). Eutrophication, research and management history of the shallow Ypacaraí lake (Paraguay). *Sustainability*, 10(7)2426: 1-32.
- Magnusson, B. & Örnemark, U. [eds.]. (2014). *Eurachem guide: The Fitness for Purpose of Analytical Methods: A Laboratory Guide to Method Validation and Related Topics*. 2<sup>nd</sup> ed. Middlesex: Eurachem Method Validation Working Group. 62 pp.
- Rezaee, M., Assadi, Y., Milani Hosseini, M.R., Aghaee, E., Ahmadi, F., & Berijani, S. (2006). Determination of organic compounds in water using dispersive liquid–liquid microextraction. *Journal of Chromatography A*, 1116(1): 1–9.
- EPA. (1995). EPA 606 Methods for the Determination of Organic Compounds in Drinking Water - Supplement III (EPA/600/R-95-131). Washington: United States Environmental Protection Agency. 584 pp.
- EPA. (2018) Drinking Water Standards and Health Advisorie tables. 2018 ed. Washington: United States Environmental Protection Agency. viii + 12 pp
- United Nations Environment Programme [UNEP]. (2000). Bis(2-ethylhexyl)adipate - SIDS Initial Assessment Report For SIAM 10. Nairobi: UNEP Publications. 78 pp.
- Zhou, S.N., Moody, R.P., Aikawa, B., Yip, A., Wang, B., & Zhu, J. (2013). In Vitro Dermal Absorption of Di(2-ethylhexyl) adipate (DEHA) in a roll-on deodorant using human skin. *Journal of Toxicology and Environmental Health, Part A*, 76(3): 157–166.