

## COMPOSTOS ORGÂNICOS E INORGÂNICOS CONTENDO SELÊNIO: REVISÃO DE MÉTODOS ANALÍTICOS E PERSPECTIVAS PARA ANÁLISES QUÍMICAS

Fernanda C. O. L. Martins<sup>a</sup>, Diego L. Franco<sup>a</sup>, Rodrigo A. A. Muñoz<sup>b</sup> e Djenaine De Souza<sup>a,\*</sup>

<sup>a</sup>Laboratório de Eletroanalítica Aplicada à Biotecnologia e à Engenharia de Alimentos, Universidade Federal de Uberlândia, Campus de Patos de Minas, Av. Getúlio Vargas, 230, Centro, 38700-126 Patos de Minas – MG, Brasil

<sup>b</sup>Instituto de Química, Universidade Federal de Uberlândia, Av. João Naves de Ávila, 2121 - Bairro Santa Mônica, 38400-902 Uberlândia – MG, Brasil

Recebido em 13/03/2017; aceito em 21/06/2017; publicado na web em 13/11/2017

ORGANIC AND INORGANIC COMPOUNDS CONTAINING SELENIUM: ANALYTICAL METHODS REVIEW AND CHEMICAL ANALYSIS PERSPECTIVES. This article critically reviews the spectrometric, chromatographic and electroanalytical methods applied for the identification and quantification of organic and inorganic compounds containing Se and their applications in food, biological and natural water samples. The main characteristics, advantages and disadvantages of each analytical method are presented, and special attention is paid to sample preparation strategies prior to identification and quantification. Perspectives of research on new analytical procedures with improved speed, sensitivity, selectivity, accuracy, and mainly environmentally friendly, are also reported.

Keywords: selenium; analytical determination; spectrometry; chromatography; electroanalysis; speciation.

### CONSIDERAÇÕES GERAIS

A magnífica máquina humana necessita de diversos nutrientes, os quais são o combustível para a manutenção do seu perfeito funcionamento. Dependendo das quantidades necessárias, estes nutrientes são classificados como macronutrientes (carboidratos, proteínas, lipídios e fibras) e micronutrientes (vitaminas e minerais). Estes compostos apresentam funções específicas e, conseqüentemente, diferentes concentrações ideais para o desempenho de suas funções metabólicas. A ingestão diária de nutrientes dependerá da composição química da dieta alimentar.<sup>1</sup>

Dentre os principais micronutrientes destacam-se ferro, zinco, cobre, selênio, cromo, iodo, molibdênio, manganês, silício, níquel, boro, vanádio, flúor, arsênio, alumínio, lítio e estanho, seja em suas formas orgânicas ou inorgânicas. Estes compostos desempenham suas respectivas atividades metabólicas quando presentes em concentrações abaixo de microgramas por grama ( $\mu\text{g g}^{-1}$ ). Entretanto, acima destas concentrações podem apresentar toxicidade ao organismo humano.<sup>1</sup>

Selênio, apresentado com a sigla Se, é um micronutriente essencial para a dieta humana, em função das suas propriedades antioxidantes, auxiliando no retardamento do envelhecimento, no tratamento de doenças cardiovasculares e neoplasias, distrofia muscular, esclerose múltipla, osteoporose, reprodutividade, e desordem muscular.<sup>2,3</sup> Alguns estudos indicam sua importância no metabolismo e funcionamento da tireóide e sua atuação no metabolismo dos ácidos graxos, juntamente com a vitamina E ( $\alpha$ -tocoferol).<sup>4,5</sup> Assim, o Conselho Americano de Alimentação e Nutrição (*Food and Nutrition Board*, EUA),<sup>6</sup> recomenda a ingestão diária de 15 a 20  $\mu\text{g}$  por dia, de 55  $\mu\text{g}$  por dia e 70  $\mu\text{g}$  por dia, para crianças, mulheres lactantes e outros adultos, respectivamente. Entretanto, o limite máximo de ingestão diário para uma pessoa adulta não deve ultrapassar 400  $\mu\text{g}$ .

A diferença entre a concentração essencial de Se, a deficiência ou a toxicidade é muito pequena. As concentrações ingeridas são

fortemente dependentes do nível de concentração em alimentos e na quantidade de alimento ingerido.<sup>7</sup> O consumo diário abaixo de 0,1  $\mu\text{g}$  de Se por grama de alimento ( $0,1 \mu\text{g g}^{-1}$ ) resulta em problemas de saúde, tais como necrose e degeneração do fígado, dos rins, do coração e do pâncreas, além de aumentar o risco de alguns tipos de câncer. O consumo acima de 1  $\mu\text{g g}^{-1}$  resultará na toxicidade para o organismo, promovendo queda de cabelo, unhas quebradiças, irritação na pele e nos olhos.<sup>8,9</sup>

Em função da sua importância nutricional, adubação agrícola com compostos ricos em Se é uma maneira eficaz de reduzir as deficiências alimentares e melhorar a qualidade da saúde.<sup>10</sup> As diferenças geográficas combinadas com as condições ambientais e práticas de cultivo influenciam na biodisponibilidade das diferentes formas de Se nos solos, alterando, assim, suas concentrações em alimentos e águas naturais e, conseqüentemente, influenciando na quantidade ingerida na dieta alimentar.<sup>11,12</sup>

A origem natural do Se é a liberação de gases vulcânicos, aerossóis marinhos e a combustão do carvão.<sup>13</sup> Algumas práticas como mineração, processamento de metais e carvão, adubação agrícola e uso de lodo ativo na adubação agrícola podem promover um aumento na biodisponibilidade de Se no meio ambiente. Além disso, o emprego de Se na área farmacêutica, higiene pessoal, produção de vidros, cerâmicas, tintas, bem como em produção de produtos eletrônicos e fotocópias têm promovido um aumento na quantidade de Se no meio ambiente.<sup>14</sup> Desta maneira, a Organização Mundial da Saúde e o Conselho Nacional de Meio Ambiente definem limites máximos para a presença de Se em águas para consumo público inferior a 10  $\mu\text{g L}^{-1}$ .<sup>15,16</sup>

Quimicamente, o Se é encontrado na sua forma orgânica como selenoaminoácidos, (selenometionina ou selenocisteína, estruturas mostradas na Figura 1), e também como derivados metilados.<sup>17</sup> Em sua forma inorgânica, ele é encontrado em diversos estados de oxidação (-2, 0, +4 e +6), mas apenas selenatos [Se(VI)] e selenitos [Se(IV)] apresentam solubilidade em água e fazem parte dos processos metabólicos em humanos. Os compostos de Se (IV) apresentam toxicidade aproximadamente 10 vezes maior que os compostos de Se (VI), indicando a importância da especiação química.<sup>18</sup>

\*e-mail: djenaine@ufu.br

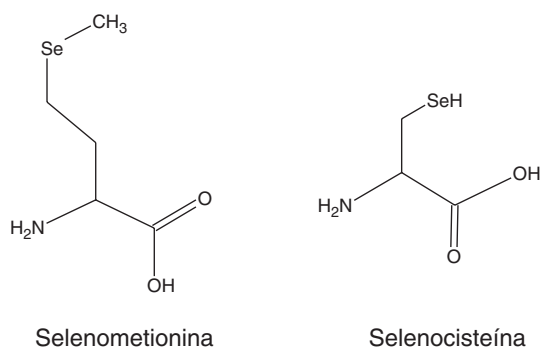


Figura 1. Estruturas moleculares das principais formas de Se

## METODOLOGIAS EMPREGADAS NA DETERMINAÇÃO DE SELÊNIO

As diferenças observadas entre os níveis nutricionais e níveis de toxicidade de Se mostram a necessidade do desenvolvimento de metodologias eficientes para identificação e quantificação de Se, em amostras de alimentos, amostras naturais, suplementos alimentares e amostras biológicas.<sup>14,19</sup> Neste contexto, têm sido empregadas técnicas espectroscópicas,<sup>20</sup> técnicas cromatográficas<sup>21</sup> e técnicas eletroanalíticas.<sup>22</sup>

Um detalhado levantamento bibliográfico mostrou que até 1970 houve a predominância no uso de técnicas eletroanalíticas, principalmente em função da simplicidade analítica e da possibilidade de especiação química. Até este período as técnicas eletroanalíticas empregavam eletrodos de mercúrio como sensores nas análises químicas. Entretanto, com o advento de uso de uma química limpa, ou química verde, iniciou-se uma intensa política de substituição de mercúrio por outros materiais, promovendo a busca por materiais alternativos, e assim a aplicação de diferentes materiais como dispositivos analíticos. Aliados à elevada toxicidade do mercúrio, ao intenso desenvolvimento da instrumentação analítica e dos métodos de preparação de amostras, as técnicas espectroscópicas e as técnicas cromatográficas começaram a intensificar a sua aplicabilidade.

A Figura 2 apresenta a relação aproximada do número de publicações científicas abordando a determinação analítica de compostos contendo Se na última década, considerando-se as três classes de métodos analíticos citados anteriormente.

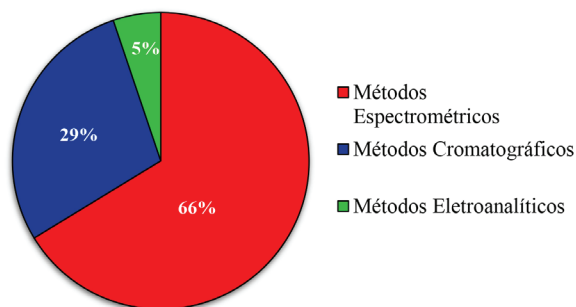


Figura 2. Determinação de Se empregando-se diferentes técnicas analíticas, considerando-se a última década (2006-2016)

### Métodos espectrométricos

A espectrometria atômica e a espectrometria molecular são intensamente empregadas para a identificação e quantificação de Se. De maneira geral, estas técnicas envolvem a medida da radiação eletromagnética absorvida (técnicas de absorção) ou emitida (técnicas de emissão) por espécies químicas após a incidência de energia

(radiante, elétrica, calor ou química). A intensidade de radiação eletromagnética é empregada na quantificação das espécies químicas de interesse, enquanto a identificação pode ser realizada pelo valor do comprimento de onda no qual ocorre o máximo de absorção ou de emissão da radiação eletromagnética.<sup>23,24</sup>

Cada uma das técnicas espectroscópicas apresentam características específicas, proporcionando diferenças significativas na precisão, exatidão, sensibilidade, seletividade e também aplicabilidade em diferentes tipos de amostras, tais como águas naturais, solos e alimentos. Desta maneira, pôde-se observar a aplicação de diferentes técnicas espectroscópicas para identificação e quantificação das diferentes formas de Se, como apresentado na Figura 3.

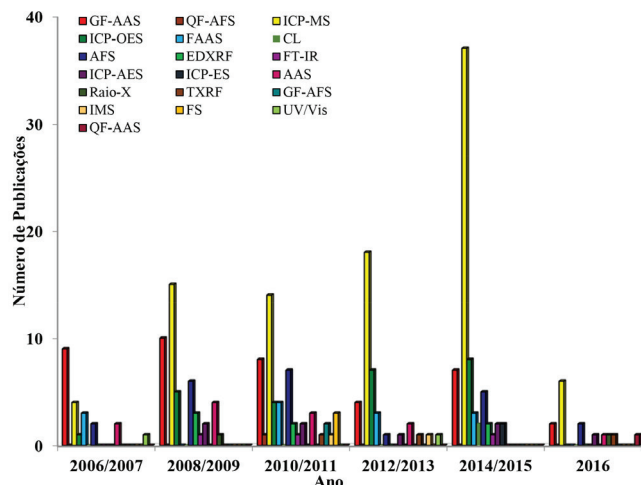


Figura 3. Evolução nas publicações científicas com quantificação de Se empregando-se técnicas espectroscópicas, dos anos 2006 a 2016

A Espectroscopia Molecular com Absorção de Radiação Ultravioleta/Visível (UV/Vis) é utilizada para a detecção de diferentes tipos de compostos orgânicos e inorgânicos. Entretanto, para compostos que possuam Se na sua estrutura química, a absorção de radiação é pouco sensível, necessitando-se, assim, de procedimentos químicos que promovam eficiência analítica e seletividade. Estes procedimentos envolvem reações com formação de complexos, ou reações de oxidação/redução entre reagentes químicos específicos e compostos contendo Se, como realizado por Wen *et. al.*<sup>25</sup> e Shabani, Dadfarnia, Nozohor,<sup>26</sup> respectivamente. Os produtos das reações químicas específicas apresentam absorção da radiação eletromagnética, promovendo melhoria na sensibilidade e seletividade analítica em compostos químicos contendo Se.

A Quimiluminescência (CL, do inglês *Chemiluminescence*) consiste na radiação eletromagnética liberada a partir de uma reação química específica, a qual pode apresentar duração variada e diferentes comprimentos de onda para a emissão de luz. Assim, íons metálicos, ânions e algumas biomoléculas, em diversas amostras podem emitir luz e desta maneira serem quantificados. Ezoe *et. al.*<sup>27</sup> empregaram a CL, originada a partir da reação química entre o Se vaporizado ( $H_2Se$ ) com ozônio, para a quantificação do Se presente em amostras de resíduos industriais.

Na Espectrometria de Absorção Atômica (AAS) ou na Espectrometria de Emissão Atômica (AES), nas quais a intensidade de radiação eletromagnética absorvida ou emitida é relacionada à concentração, a determinação de Se e de outras espécies químicas necessita de uma prévia atomização das amostras para geração de átomos e íons gasosos. A escolha do atomizador (eletrotérmico, plasma ou chama) dependerá do limite de detecção desejável e do volume de amostra e é fator fundamental para o sucesso da análise espectroscópica.<sup>28</sup>

Os atomizadores eletrotérmicos são fornos tubulares e aquecidos em temperaturas de 300 °C a 3000 °C, que permitem a completa conversão atômica. O Forno de Grafite (GF, do inglês *Graphite Furnace*) e o Tubo de Quartzo (QF, do inglês *Quartz Furnace*), têm sido utilizados para a análise de elementos que possuem baixa volatilidade em sua forma atômica, já que o hidreto produzido é mais volátil. Com o uso destes atomizadores, é necessário o uso de uma fonte adicional de energia (lâmpada de cátodo oco) para promover a absorção da radiação. Etapas prévias de digestão das amostras são necessárias para a completa remoção dos componentes orgânicos e esta etapa é fundamental na sensibilidade e seletividade da análise química. Desta maneira, Rybínová *et al.*<sup>29</sup> utilizaram o QF para a produção de hidretos, os quais aceleraram os átomos livres e isolados de Se, para a detecção em amostras de águas naturais. Assim, o Se(IV) foi convertido em uma substância volátil, e posteriormente quantificado por AAS, com uma melhoria significativa na sensibilidade.

Os atomizadores de chama utilizam uma mistura de combustíveis e oxidantes para a atomização das amostras, permitindo variações de temperaturas de 1700 °C até 3200 °C, com baixo custo de manutenção e simplicidade de operação. Eles são empregados na Espectroscopia de Absorção Atômica em Chama (FAAS, do inglês *Flame Atomic Absorption Spectrometry*),<sup>30</sup> entretanto, são necessárias etapas prévias de extração com solvente, removendo interferentes que podem alterar os resultados da análise química, as quais nem sempre são eficientes para análises de traços. Assim, é fundamental a utilização de etapas de digestão de amostras, que são procedimentos químicos para conversão completa de substâncias nos seus constituintes mais simples (CO<sub>2</sub>, água e sais inorgânicos). Os métodos clássicos de digestão empregam o aquecimento das amostras utilizando-se ácidos fortes ou agentes oxidantes, em recipientes abertos.<sup>25</sup>

Os métodos modernos de digestão combinam a digestão ácida com a radiação de micro-ondas, no procedimento de digestão assistida por micro-ondas (MWAD, do inglês *Microwave-Assisted Digestion*), realizada em recipientes fechados apropriados.<sup>31</sup> A MWAD promove melhoria na sensibilidade analítica, entretanto, são necessárias condições adequadas na liberação de gases produzidos, proporcionando segurança operacional e qualidade analítica.

O Plasma Indutivamente Acoplado (ICP, do inglês *Inductively Coupled Plasma*) é empregado como uma fonte de átomos e de íons, com excelente sensibilidade analítica e mínimo efeito de interferentes. O ICP é um ambiente altamente energético que promove a completa atomização da amostra, ionização, excitação e também emissão da radiação eletromagnética. A quantificação dos íons formados no plasma é avaliada por Espectrometria de Massa Atômica (ICP-MS, do inglês *Mass Spectrometry*), enquanto a quantificação da intensidade de radiação emitida por átomos ou íons excitados é avaliada em Espectrometria de Emissão Óptica (OES, do inglês *Optic Emission Spectrometry*). Como a temperatura do ICP é muito alta (8.000 °C a 10.000 °C), é necessário um isolamento térmico eficiente e um sistema de nebulização de amostras, que irá promover a conversão da amostra em gotículas finas denominadas aerossol. A manutenção do ICP apresenta custo elevado em função da quantidade de energia necessária para a permanência de altas temperaturas e o funcionamento ininterrupto do equipamento.<sup>32</sup>

A MS é um sistema de detecção empregado juntamente com o ICP, o qual permite a identificação e quantificação de quase todos os metais da tabela periódica, com excelente seletividade e sensibilidade. Os íons produzidos no ICP separados empregando-se os sistemas de analisadores os quais podem ser: quadrupolar, tempo de voo, ou armadilha de íons. Desta maneira, ocorre a separação dos íons em função da razão de carga/massa ( $m/z$ ) que são quantificadas em função de suas respectivas abundâncias relativas.<sup>33</sup>

A energia do plasma é suficiente para também promover a

excitação dos átomos e íons e, conseqüentemente, a emissão de luz, a qual pode ser quantificada por OES. Escudero *et al.*<sup>34</sup> utilizaram a ICP-OES para a especiação das formas inorgânicas de Se e quantificação de suas respectivas formas em amostras de vinhos, águas naturais, refrigerantes e chás.

Neste contexto, Zhang *et al.*<sup>35</sup> determinaram simultaneamente Se, As, Bi e Te em amostras de folhas de chás submetidas à digestão com HCl concentrado e 30% de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, a 125 °C por 5 horas. Após a digestão, foi empregado um GF na atomização do Se e demais metais, e a análise química foi realizada por Espectroscopia de Fluorescência Atômica (AFS, do inglês *Atomic Fluorescence Spectroscopy*). Análises de rotina e a detecção simultânea destes metais foram possíveis em função da eficiência da digestão ácida e o emprego de lâmpadas multielementares como fonte de energia para a emissão da radiação eletromagnética.<sup>36</sup> Já Ohki *et al.*<sup>37</sup> utilizaram a mistura de HNO<sub>3</sub> e H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> na digestão ácida de selenoproteínas em alimentos. Inicialmente, a proporção entre os reagentes, o efeito da temperatura e da pressão no procedimento de digestão ácida foram avaliados para a melhoria da eficiência de digestão e a posterior quantificação por ICP-MS.

Schneider *et al.*<sup>38</sup> empregaram a MWAD para tratar as amostras de solo em meio ácido visando quantificar o teor de Se total, Se (IV) após extração em meio alcalino assistida por ultrassom e Se (VI) por diferença entre o teor total e o obtido para Se (IV). A quantificação das espécies de Se foi feita por geração de hidreto e posterior análise por GF AAS. Guo *et al.*<sup>39</sup> utilizaram MWAD com a mistura de HNO<sub>3</sub> e HClO<sub>4</sub> para a preparação de amostras de atum, cavalinha, vieiras, frango, carne e algas marinhas. A detecção foi realizada empregando-se ICP-MS. Neste trabalho a MWAD e o ICP-MS promoveram melhoria considerável na sensibilidade analítica.

A Espectrometria de Fluorescência de Energia Dispersiva de Raio X (EDXRF, do inglês *Energy Dispersive X-Ray Fluorescence*) e a Espectrometria de Fluorescência com Reflexão Total de Raio X (TXRF, do inglês *Total Reflection X-ray Fluorescence Spectrometry*) são técnicas que envolvem a detecção de Raio-X emitidos pelo elemento químico de interesse, após a sua excitação por radiação do tipo gama, por um feixe de Raio-X ou por partículas carregadas, os quais ao serem incididos interagem com a amostra, provocando absorção, emissão e espalhamento de radiação eletromagnética. A vantagem no uso destas técnicas é a possibilidade de análises diretamente nas amostras, sem a necessidade de etapas de digestão ácida.<sup>28,32</sup>

A Tabela 1 apresenta uma breve revisão de trabalhos que apresentam a quantificação de Se empregando métodos espectrométricos e variados processos de atomização para diferentes tipos de amostras.

## Métodos cromatográficos

Na última década as técnicas cromatográficas têm sido amplamente empregadas na separação de compostos químicos contendo Se, como apresentado na Figura 4. De maneira geral, os trabalhos publicados apresentam o uso de técnicas cromatográficas com o objetivo de promover a separação de compostos orgânicos e inorgânicos contendo Se, para posteriormente realizar a quantificação empregando-se uma técnica espectrométrica (descritas no item anterior) como método de detecção. Estes sistemas são denominados técnicas hífenadas e promovem adequada separação, identificação e quantificação de espécies químicas, incluindo compostos contendo Se.

As técnicas cromatográficas envolvem a separação de componentes químicos ou remoção de interferentes numa análise química, os quais podem atenuar ou aumentar o sinal analítico. Elas estão relacionadas a mecanismos físico-químicos de interação de espécies químicas entre uma fase móvel (líquido, gás ou fluido supercrítico) e uma fase estacionária (sólida ou líquida).<sup>40</sup> Estas interações envolvem

**Tabela 1.** Determinação espectrométrica de compostos contendo Se

Detecção	Atomização	Amostras	LD	Ref.
MS	ICP	Folhas de vegetais (maçã, espinafre, tomate), fígado bovino, tecido de mexilhão, farinhas (trigo e arroz)	4 - 10 ng g <sup>-1</sup>	36
MS	ICP	Atum, cavalinha, vieiras, carne de frango e algas marinhas	0,01 µg g <sup>-1</sup>	33
AAS	GF	Solos	6 µg L <sup>-1</sup>	35
AAS	QF	Águas naturais	40 ng L <sup>-1</sup>	26
UV/Vis	NR	Amostras artificiais	0,40 ng mL <sup>-1</sup>	66
AAS	GF	Soro de soja e suco de soja	3,83 - 2,62 ng mL <sup>-1</sup>	67
AFS	NR	NR	9,38 n mol L <sup>-1</sup>	68
UV/Vis	NR	Águas naturais e comprimidos	16µg L <sup>-1</sup>	38
OES	ICP	Comprimidos e suplementos dietéticos	3,2 ng mL <sup>-1</sup>	69
AAS	QF	NR	0,15 ng mL <sup>-1</sup>	70
OES	ICP	Levedura de cerveja, cerveja	0,8 ng mL <sup>-1</sup>	71
TXRF	NR	Solos e de águas pluviais	0,1 µg L <sup>-1</sup>	72
AAS	NR	Músculo e fígado de Cação	0,09 µg g <sup>-1</sup> - 0,12 ng g <sup>-1</sup>	73
AAS	GF	Chá, refrigerante, água mineral, ovo, maçã, laranja, vinho tinto, cerveja, leite de vaca, suco misto de frutas, tâmara, mel	12 ng L <sup>-1</sup>	74
OES	ICP	Água, refrigerante sabor cola, bebida energética, chá preto, chá verde, chá vermelho, extrato de erva-mate, vinho tinto, vinho branco	0,03 µg L <sup>-1</sup>	29
OES e MS	ICP	Fórmulas infantis de leite em pó	0,06 - 5,89 µg kg <sup>-1</sup>	75
FAAS	QF	Peixe, frango, ovos, leite e derivados, macarrão, arroz, cereais e derivados, farinha de trigo, carne	2,0 - 7,0 µg Kg <sup>-1</sup>	76
AAS	GF	Tomate, couve- flor, alface, batata, limão, banana, laranja, maçã, vagens, pimenta, rabanete	0,08 ng mL <sup>-1</sup>	77
AFS	QF	Folhas de chá	6,8 ng g <sup>-1</sup>	31
AAS	GF	Cerveja, leite, vinho tinto, suco de frutos, maçã, laranja, uva, ovo, tâmara, mel	12ng L <sup>-1</sup>	78
AAS	GF	Água de coco, leites (coco, soja e vaca), tomate, manga e uva e águas naturais	0,35µg L <sup>-1</sup> - 0,7 µg L <sup>-1</sup>	79
AAS	GF	Plantas medicinais	10 µg L <sup>-1</sup>	80
OES	ICP	Águas naturais	2,02 µg L <sup>-1</sup>	81
MS	ICP	Carvão, cinzas e absorventes utilizados para a limpeza dos gases de combustão a ar	NR	82
AFS	QF	Ervas medicinais chinesas, folhas de pêssego, farinha de arroz, folhas de chá	0,12 µg L <sup>-1</sup>	83
IMS	NR	Sangue humano e águas naturais	12 ng mL <sup>-1</sup>	84
EDXRF	NR	Águas naturais, água sintética do mar, água de torneira	0,032 ng mL <sup>-1</sup>	85
AFS	QF	Cabelo humano, chá, álamo (folhas, arbustos e galhos)	0,03 ng mL <sup>-1</sup>	86
AAS	QF	Águas naturais e solo	10,6 ng mL <sup>-1</sup>	87
AAS	GF	Águas naturais e alho	15 ng L <sup>-1</sup>	88
QL	NR	Águas residuais em usinas de energia térmica	8,0 µg L <sup>-1</sup>	39
AAS	GF	Alho e cebola	0,5 µg L <sup>-1</sup> - 1,3 µg L <sup>-1</sup>	89

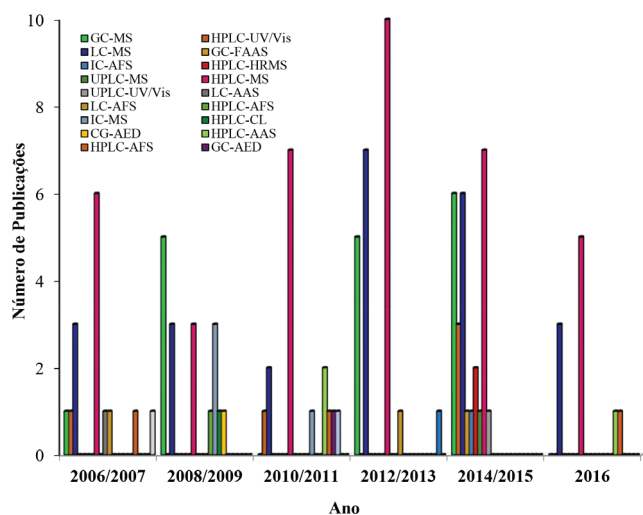
LD = Limite de detecção; Ref. = referência; MS = Espectrometria de Massas Atômicas; ICP = Plasma Acochado Indutivamente; AAS = Espectrometria de Absorção Atômica; GF = Forno de Grafite; QF = Forno de Quartzo; NR = Não reportado; UV/Vis = Espectroscopia de Absorção Molecular na Região do Ultravioleta/Visível; AFS = Espectrometria de Fluorescência Atômica; OES = Espectrometria de Emissão Óptica; TXRF = Espectroscopia de Fluorescência com Reflexão Total de Raio X (do inglês Total Reflection X-ray Fluorescence Spectrometry); FAAS = Espectroscopia de Absorção Atômica por Chama; AES = Espectrometria de Emissão Atômica; IMS = Espectrometria de Mobilidade Iônica (do inglês Ion Mobility Spectroscopy); EDXRF = Espectroscopia de Fluorescência de Energia Dispersiva de Raio X (do inglês Energy Dispersive X-Ray Fluorescence); CL = Quimiluminescência.

processos de adsorção, partição, exclusão, troca iônica ou afinidade, as quais estão diretamente relacionadas às diferenças de polaridade, pois algumas espécies possuem maior interação com a fase móvel, e outras com a fase estacionária, promovendo diferenças de mobilidade e consequentemente, a separação analítica. A escolha adequada da fase móvel e da fase estacionária é responsável por curtos tempos de retenção e boa resolução entre os picos cromatográficos. Após a coluna cromatográfica, o emprego de detectores permite a identificação e quantificação das espécies químicas.

A Cromatografia Líquida (LC, do inglês *Liquid Chromatography*), a Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (HPLC, do inglês *High Performance Liquid Chromatography*), a Cromatografia Gasosa (GC, do inglês *Gas Chromatography*) e a Cromatografia de Íons (IC, do inglês *Ion Chromatography*) são empregadas na separação,

identificação e quantificação de espécies químicas contendo Se em diferentes tipos de amostras.<sup>41-43</sup>

Na LC são empregados solventes orgânicos de diferentes polaridades, soluções tampão, ou misturas de soluções aquosas ou orgânicas, com eluição por gravidade. A escolha adequada do eluente e da fase estacionária proporcionam melhor separação. Assim, Bryszewska e Mage<sup>44</sup> utilizaram a mistura de metanol, solução tampão e surfactantes, com uma coluna cromatográfica C<sub>18</sub> para a separação de selenocisteína, selenometionina, metil-selenocisteína, selenato, selenito e óxido de selênio em amostras de peixes, mariscos e planctos. Inicialmente, as amostras foram submetidas ao processo de MWAD e extração com hidrólise enzimática. Com o emprego da LC foi possível a diferenciação das diferentes formas de Se, e o ICP-MS possibilitou a quantificação de Se total.



**Figura 4.** Evolução nas publicações científicas com quantificação de Se empregando-se técnicas cromatográficas, dos anos 2006 a 2016

A IC é um tipo de LC empregada para separação e detecção de compostos iônicos ou ionizáveis, de baixo peso molecular, que emprega fase móvel e fase estacionária composta por substâncias trocadoras de íons. A separação é dependente da afinidade eletrostática entre o analito e substâncias trocadoras de íons, podendo ser controladas variando-se o pH e a força iônica do meio. A detecção é realizada por medidas da condutividade dos íons, e por isto a rapidez e sensibilidade proporcionadas por este tipo de separação<sup>45</sup> possibilita o acoplamento a um ICP-MS (LC-ICP-MS). Desta maneira, Reyes *et al.*<sup>46</sup> empregaram a IC na separação de compostos contendo As e Se em peixes, os quais foram inicialmente submetidos à Extração Enzimática Assistida por Micro-ondas (MAEE, do inglês *Microwave-assisted Enzymatic Extraction*), que possibilitou a extração simultânea destes compostos empregando-se a combinação de enzimas específicas em recipiente fechado e com a aplicação de radiação de micro-ondas. Após a

separação, as espécies de As e Se foram quantificadas por ICP-MS.

A substituição do efeito da gravidade por um sistema de bombeamento de solventes permite o emprego de diversas velocidades de vazão da fase móvel e também a eluição por gradiente, melhorando a separação, que é o fator fundamental para o emprego da HPLC e da Cromatografia Líquida de Ultra Alta Eficiência (UPLC, do inglês *Ultra Performance Liquid Chromatography*). Além disso, o emprego de detectores específicos permite uma excelente quantificação de substâncias, em concentrações na ordem de microgramas por litro (partes por bilhão) ou nanogramas por litro (partes por trilhão), minimizando o tempo da separação analítica e principalmente o consumo de solventes orgânicos.<sup>40</sup> Para análise de Se e outros metalóides, os detectores mais empregados são os espectrométricos ICP-MS e AAS acoplados a GF ou QF. Assim, Niedzielski *et al.*<sup>47</sup> realizaram a separação de todas as formas de Se presente em amostras de suplementos alimentares empregando HPLC. As amostras inicialmente foram submetidas ao processo de digestão ácida e, posterior à separação por HPLC, ocorreu a atomização em GF e a detecção de Se por AAS.

A GC é utilizada na separação de compostos voláteis e termicamente estáveis, em intervalos de temperaturas que variam de ambiente até cerca de 350 °C. Apresenta excelente resolução e permite a determinação simultânea de várias substâncias químicas. Dependendo do detector utilizado é possível a quantificação na faixa de partes por trilhão empregando-se pequenas quantidades de amostras. Compostos não voláteis podem ser separados e identificados após reações químicas específicas que promovem a conversão para compostos voláteis e termicamente estáveis, as reações de derivatização. Para compostos contendo Se, estas reações envolvem a metilação dos compostos e posterior aplicação da GC, como reportado por Vriens *et al.*,<sup>48</sup> em que a derivatização produziu dimetilseleneto ( $\text{H}_3\text{C-Se-CH}_3$ ) e dimetilsulfureto ( $\text{H}_3\text{C-S-CH}_3$ ), os quais foram separados e identificados por MS.

Cada tipo de composto químico contendo Se requer uma metodologia específica no processo de separação, proporcionando assim diferentes metodologias de separação e posterior detecção. Assim, a Tabela 2 apresenta algumas metodologias desenvolvidas para separação e identificação de Se em diferentes tipos de amostras.

**Tabela 2.** Separação cromatográfica de compostos contendo Se

Separação/Detecção	Condições cromatográficas	Amostra	LD	Ref.
IC/CD	Pré concentração com nanopartículas de $\text{TiO}_2$ , eluição com mistura de NaOH e $\text{NaCO}_3$ como eluentes	Água da torneira, chá verde, suco de frutas, bebidas energéticas	0,4 - 0,8 $\mu\text{g L}^{-1}$	90
HPLC/ICP-MS	$\text{C}_{18}$ (fase reversa), gradiente de eluição com pentanossulfonato de sódio, ácido cítrico e metanol	Farinha de trigo e suplementos alimentares	0,04 - 0,07 $\mu\text{g L}^{-1}$	91
HPLC/AFS	Reação de formação de complexos fluorescentes com formas orgânicas de Se, eluição com solução tampão metanol e tetra-hidrofurano	Plantas e chá verde	0,2 nmol $\text{L}^{-1}$	92
HPLC/ICP-MS	Hidrólise enzimática, $\text{C}_{18}$ , eluição com acetonitrila e ácido fórmico	Soja	0,25 - 0,5 $\mu\text{g L}^{-1}$	93
IC/ICP-MS	Eluição com carbonato de amônio e metanol	Urina	0,01 - 0,02 ng $\text{mL}^{-1}$	94
LC/ICP-MS	Coluna de troca iônica, eluição isocrática com acetato de amônio, ácido malônico, acetonitrila e metanol	Urina	0,1 - 5,6 $\mu\text{g L}^{-1}$	95
IC/ICP-MS	Digestão assistida por fotocatalise com nano $\text{TiO}_2$ , separação com troca iônica	Extratos de suplementos	3,9 - 8,3 ng $\text{L}^{-1}$	96
GC/MS	Microextração em fase líquida, pré concentração de compostos orgânicos voláteis	Leite, leite em pó, iogurte, cerveja, maçã e sucos de uva, urina	57 - 65 ng $\text{L}^{-1}$	97
LC/AFS	Duas separações sequenciais empregando fase reversa e troca de íons com eluição por gradiente com tampão fosfato e água	Suplementos, fórmulas infantis	0,35 - 1,7 ng $\text{mL}^{-1}$	98
GC/MS	Derivatização por hidrólise assistida por radiação de micro-ondas	Leveduras enriquecidas	0,009 - 0,2 nmol $\text{L}^{-1}$	99
GG/MS	Microextração em fase sólida, monitoramento seletivo de íons	Batata	0,143 - 0,210 $\mu\text{g Kg}^{-1}$	100
HPLC/ICP-MS	Separação em fase reversa usando carbono grafite poroso	Levedura	NR	101
IC/FAFS	Eluição por gradiente usando: a) água; b) NaOH e c) acetato de sódio	Urina humana e suplementos	1-5 $\mu\text{g L}^{-1}$	102

**Tabela 2.** Separação cromatográfica de compostos contendo Se (cont.)

Separação/Detecção	Condições cromatográficas	Amostra	LD	Ref.
LC/UV-Vis	Eluição por gradiente com a) ácido cítrico, ajustado com hidróxido de amônio; b) acetato de amônio	Plantas cultivadas	NR	103
IC/ICP-MS	Eluição por gradiente com: a) citrato de amônia e b) metanol	Leite em pó e farinha de arroz	0,01 - 0,03 ng mL <sup>-1</sup>	104
HPLC/AFS	Eluição com KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> e K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	Material particulado atmosférico	0,01 - 0,02 ng m <sup>-3</sup>	105
HPLC/ICP-MS	Eluição com: a) NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> e ácido cítrico e b) metanol	Agrião	80 - 180 ng kg <sup>-1</sup>	106
HPLC/ICP-MS	Eluição isocrática com mercaptoetanol em acetato de amônio	Água, leite de vaca, urina, suplementos alimentares e fórmulas alimentares, sangue, cosméticos líquidos, solo	110 - 230 ng L <sup>-1</sup>	107
HPLC/ICP-MS	Eluição com solução tampão carbonato	Águas naturais	0,0039 - 0,0049 µg L <sup>-1</sup>	108
HPLC/ICP-MS	Eluição com bicarbonato de sódio e acetonitrila com 20% de amoníaco	Levedura	0,14 - 0,37 µg L <sup>-1</sup>	109
GC/NIR	Solução tampão acetato com detecção em 440 nm	Água, lodo residual, água de turfa	4 - 47 ng L <sup>-1</sup>	48
GC/ICP-MS	Micro extração em fase sólida com carboxi polimetilsiloxano	Urina normal	0,13 e 0,26 ng L <sup>-1</sup>	110
IC/ICP-MS	Eluição por gradiente usando: a) Tampão fosfato e metanol e b) NH <sub>4</sub> NO <sub>3</sub> e 2% de metanol	Peixes	0,7 µg L <sup>-1</sup>	46
LC/UV-Vis	Surfactantes com modificadores orgânicos (butânicos)	Comprimidos multi- vitamínicos, xaropes, e pré- misturas para animais	0,1 e 0,3 µg mL <sup>-1</sup>	111
LC/ICP-MS	Eluição por gradiente usando: a) CH <sub>3</sub> COONH <sub>4</sub> aquoso e b) CH <sub>3</sub> OH	Suplementos de dieta	0,1 - 3,5 µg L <sup>-1</sup>	112
HPLC/ICP-MS	Coluna em fase reversa e eluição com metanol	Fígado humano, soro humano, urina humana, extractos citossólicos.	0,1 - 1,5 µg L <sup>-1</sup>	113
HPLC/ICP-MS	Coluna em fase reversa e eluição por gradiente usando: a) 0,3 % metanol e 0,1 % de anidrido heptafluorbutírico e b) 2 % de metanol com 0,1 % de anidrido heptafluorbutírico	Arroz	0,05 µg L <sup>-1</sup>	114
HPLC/ICP-MS	PRP- X100/ Pré-coluna PRP-X100/ ácido cítrico, 20% de NH <sub>3</sub> H <sub>2</sub> O.	Fármacos da medicina chinesa	0,033 - 0,30 ng mL <sup>-1</sup>	115
HLPC/MS	Eluição por gradiente com: a) amônia, ácido fórmico e piridina e b) ácido fórmico, malonato de amônia e metanol	Urina	0,25 ng mL <sup>-1</sup>	116
IC/ICP-MS	Eluição por gradiente com: a) Tris - HAc , pH 8,0 e b) Tris - HAc com acetato de amônio	Fluído cerebrospinal de ovelhas	2 µg L <sup>-1</sup>	117
LC/ICP-MS	Eluição por gradiente com: a) hidróxido de tetrabutilamônio e metanol com b) (NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> com metanol	Peixe	0,30 - 0,72 ng mL <sup>-1</sup>	44
HPLC/AAS-GF	Eluição isocrática com Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> e KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	Suplementos alimentares	NR	47
GC/AED	Microextração em fase sólida com coluna em fase reversa e eluição com gás hélio	Cerveja, cerveja sem álcool, vinho, uísque, anisette, vermute,	40 - 150 ng L <sup>-1</sup>	4
HPLC/ICP-MS	Coluna com exclusão de tamanho e coluna com fase reversa. Eluição isocrática com acetato de amônia e 5% de metanol	Proteínas contendo Se	8 - 40 ng mL <sup>-1</sup>	118
GC-FID	Microextração assistida por radiação de microndas e posterior derivatização de Se <sub>44</sub>	Águas naturais	0,05 - 0,11 ng mL <sup>-1</sup>	119

LD = Limite de detecção; Ref. = referência; IC = Cromatografia de íons; CD = Detector de condutividade (do inglês Conductivity Detection); HPLC= Cromatografia líquida de alta eficiência; ICP-MS = Espectrometria de Massas Atômicas com Plasma Acoplado Indutivamente; LC = Cromatografia Líquida; GC = Cromatografia Gasosa; FAFS= Espectroscopia de Emissão Atômica com Chama; UV/Vis = Espectroscopia de Absorção Molecular na Região do Ultravioleta/Visível; NR= Não Reportado; AFS =Espectrometria de Fluorescência Atômica; DRC=(do inglês, ); AAS = Espectrometria de Absorção Atômica; AED = Detecção de Emissão Atômica (do inglês Atomic Emission Detection); SEC = (do inglês Size Exclusion Chromatography); FID = Detector de Ionização de Chama (do inglês Flame Ionization Detection).

## Métodos eletroanalíticos

Desde a década de 1950, as técnicas eletroanalíticas têm se tornado uma excelente alternativa para a identificação e quantificação de compostos químicos em amostras de interesse ambiental, industrial e bioquímico.<sup>49,50</sup> Estas técnicas envolvem medidas de propriedades elétricas, as quais são relacionadas à identidade e quantidade da substância de interesse. Para a detecção de Se as técnicas mais utilizadas envolvem a aplicação adequada de uma diferença de potencial elétrico e medidas de correntes elétricas originadas a partir de reações de transferência de elétrons (reações redox), as técnicas voltamétricas. Estas técnicas apresentam baixo custo, simplicidade operacional,

sensibilidade, e ainda permitem a diferenciação dos vários estados de oxidação de Se.<sup>51</sup>

De maneira geral, nestas técnicas a sensibilidade analítica está diretamente relacionada ao modo de aplicação do potencial elétrico. A Voltametria de Pulso Normal (NPV, do inglês *Normal Pulse Voltammetry*), Voltametria de Pulso Diferencial (DPV, do inglês *Differential Pulse Voltammetry*) e Voltametria de Onda Quadrada (SWV, do inglês *Square Wave Voltammetry*) são as técnicas que envolvem a aplicação de pulsos de potencial, e as informações, qualitativas e quantitativas, são relacionadas às reações de oxidação/redução que ocorrem na interface entre um condutor elétrico (eletrodo de trabalho) e o condutor iônico (solução contendo a espécie de interesse).<sup>23,50,52</sup> Como

os sinais obtidos dependem de reações na interface eletrodo/solução, as mudanças na interface alteram significativamente os sinais analíticos, promovendo alterações na sensibilidade e seletividade analítica. A escolha do eletrodo de trabalho depende de dois fatores fundamentais: o comportamento redox do analito de interesse e os sinais de corrente obtidos no intervalo de potencial para a análise química.<sup>22</sup>

Na escolha do material para construção do eletrodo de trabalho é importante observar o intervalo de potencial de cada eletrodo, o qual é diretamente relacionado ao sobrepotencial de evolução de hidrogênio, onde se inicia a decomposição da água, que é dependente do solvente e do pH do meio. Também deve ser considerada a geometria do eletrodo, a condutividade elétrica, a reprodutibilidade da superfície, as propriedades mecânicas, o custo de fabricação, a disponibilidade e a toxicidade. Assim, uma grande variedade de materiais pode ser empregada tais como: mercúrio, metais nobres (platina e ouro), diferentes formas de carbono, e eletrodos quimicamente modificados.<sup>22</sup>

Para compostos contendo Se, até o ano 2000 havia a predominância no uso do eletrodo gotejante de mercúrio (HMDE, do inglês *Hanging Mercury Dropping Electrode*), isto por que o Se (IV) e Se (VI) podem ser acumulados sobre mercúrio produzindo HgSe, que é posteriormente redissolvido, produzindo uma corrente elétrica diretamente proporcional à concentração de Se. O uso do HMDE produz resultados analíticos com excelente sensibilidade e reprodutibilidade em função da constante renovação da gota de mercúrio em cada uma das análises efetuadas. Piech e Kubiak<sup>53</sup> utilizaram um HMDE modificado com cobre para a determinação de Se em amostras de águas naturais, cogumelos e fígado bovino, as quais foram previamente tratadas empregando-se MWAD. A detecção foi realizada empregando-se a CSV com DPV. A utilização de cobre possibilitou a formação específica de compostos intermetálicos contendo Se, Cu e Hg, promovendo, assim, excelente sensibilidade analítica e limite de detecção na faixa de partes por bilhão (ppb).

Apesar da excelente sensibilidade e estabilidade no sinal obtido com o uso do HMDE, as análises químicas resultam na geração

de uma grande quantidade de resíduos tóxicos de mercúrio. Desta maneira, pode-se observar que na última década o HMDE começou a ser substituído por outros materiais menos tóxicos, tais como eletrodos metálicos construídos a partir de metais nobres (platina, ouro, prata e diamante dopado com boro) e eletrodos quimicamente modificados<sup>54-57</sup> (com polímeros, aminoácidos, enzimas, nanopartículas metálicas, filmes de mercúrio, filmes de bismuto, dentre outros), como pode ser observado na Figura 5 e na Tabela 3.

Beni, Collins e Arrigan<sup>58</sup> utilizaram eletrodo de ouro e platina para a quantificação de Se (IV), com a comparação analítica em ambas as superfícies metálicas. O uso de um eletrodo anelar de Ag para a quantificação Se (IV) foi demonstrado por Bás, Jedlińska e Węgiel<sup>59</sup> para análise de águas naturais com limite de detecção de 0,15  $\mu\text{g L}^{-1}$ .

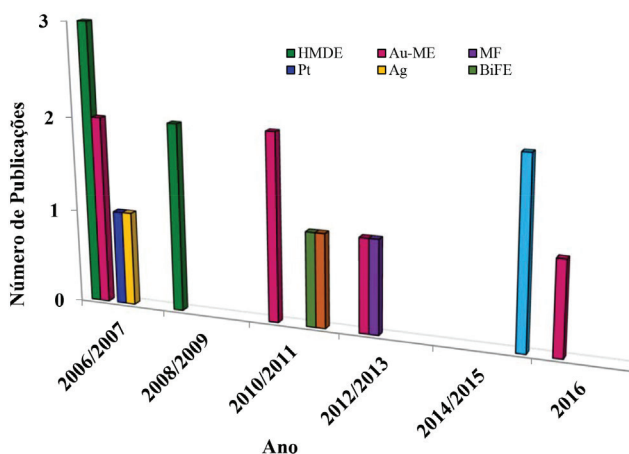


Figura 5. Evolução nas publicações científicas com quantificação de Se empregando-se técnicas eletroanalíticas com diferentes superfícies eletrodoicas, dos anos 2006 a 2016

Tabela 3. Determinação eletroanalítica de compostos contendo Se empregando-se diferentes superfícies eletrodoicas

Técnica	Eletrodo / Condições	Amostra / Preparação	LD	Ref.
DPCSV	HMDE / 0,1 mol L <sup>-1</sup> HCl	Leite / digestão ácida	21,5 - 69,4 $\mu\text{g L}^{-1}$	120
DPASV	AuE / 1,0 mol L <sup>-1</sup> H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	Águas naturais	85 ng L <sup>-1</sup>	121
DPCSV	HMDE / 1,0 mol L <sup>-1</sup> HCl	Peixes / digestão ácida assistida por microndas	NR	122
CSV	HMDE / 0,3 mol L <sup>-1</sup> HCl + 75 $\mu\text{g L}^{-1}$ de Rh <sup>+3</sup>	Águas naturais / formação de complexos Cl-Rh-SeH	2,4 x 10 <sup>-12</sup> mol L <sup>-1</sup>	123
CSV	HMDE / 0,1 mol L <sup>-1</sup> HCl	Alho / digestão ácida	365 - 485 ng g <sup>-1</sup>	124
ASV	GC-BiFE / Tampão Acetato (pH 2,9)	Cabelo humano e comprimidos / formação de complexo de Se com ácido benzenosulfônico p-aminoben-zóico	0,1 $\mu\text{g L}^{-1}$	125
CSV	HMDE modificado com Cu / 0,1 mol L <sup>-1</sup> HCl	Águas naturais, neve e cogumelo / digestão ácida	2,5 x 10 <sup>-8</sup> mol L <sup>-1</sup>	126
SWASV	GCE modificado com AuNPs / 0,1 mol L <sup>-1</sup> H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	Águas naturais / sem pré tratamento das amostras	0,64 $\mu\text{g L}^{-1}$	60
CSV	AgNPs / 1,0 mol L <sup>-1</sup> HCl + 1,0 mol L <sup>-1</sup> HNO <sub>3</sub>	Amostras de águas naturais / sem pré tratamento das amostras	0,15 $\mu\text{g L}^{-1}$	59
SWASV	GCE com AuNPs / 1,0 mol L <sup>-1</sup> de HClO <sub>4</sub>	Água do mar / sem pré tratamento das amostras	0,120 $\mu\text{g L}^{-1}$	62
ASV	GCFAuE / HCl e HNO <sub>3</sub>	Águas naturais / pré concentração com eletroanalítica e quantificação por FAAS	0,01 $\mu\text{g L}^{-1}$	127
DPCSV	HMDE / 1,0 mol L <sup>-1</sup> HNO <sub>3</sub>	Arroz / digestão ácida	20,1 - 45,3 $\mu\text{g L}^{-1}$	128
CSV	HMDE / 1,0 mol L <sup>-1</sup> tampão fosfato	Leite e derivados / digestão ácida	1,11 - 499,0 $\mu\text{g Kg}^{-1}$	129
DPCSV	HMDE / 1,0 mol L <sup>-1</sup> HNO <sub>3</sub>	Batatas / digestão ácida	0,4 - 116 ng L <sup>-1</sup>	130
CPS	GCMFE / 1,0 mol L <sup>-1</sup> HNO <sub>3</sub>	Biscoitos e massas / sistema automatizado para digestão de amostras com radiação por microndas	0,04 $\mu\text{g L}^{-1}$	131
DPCSV	HMDE / 0,1 mol L <sup>-1</sup> HNO <sub>3</sub>	Comprimidos / sistema automatizado para digestão de amostras com radiação por microndas	NR	132
DPCSV	GCMFE / 0,1 mol L <sup>-1</sup> HCl, 1,0 mol L <sup>-1</sup> CuCl <sub>2</sub> e 0,02 mol L <sup>-1</sup> KSCN	Cabelo humano / digestão ácida	0,11 $\mu\text{g L}^{-1}$	133
EQCM	Cristal piezoelétrico de Au / 0,01 mol L <sup>-1</sup> de HClO <sub>4</sub>	Selênio derivado de carotenóides	NR	134

**Tabela 3.** Determinação eletroanalítica de compostos contendo Se empregando-se diferentes superfícies eletródicas (cont.)

Técnica	Eletrodo / Condições	Amostra / Preparação	LD	Ref.
DPCSV	HMDE / 1,0 mol L <sup>-1</sup> HCl (análise de Se <sup>+</sup> e selenocisteína) e LiClO <sub>4</sub> em meio de diclorometano (análise de dimetilseleneto)	Solo / digestão ácida seguida de extração com CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub>	0,12 ng mL <sup>-1</sup>	135
CPS	GCMFE / 3,0 mol L <sup>-1</sup> HCl	Tecidos de peixe, rim de cavalo, dieta humana mista, e água de rio / digestão ácida com radiação ultravioleta	0,01 - 1,3 µg L <sup>-1</sup>	136
DPCSV	HMDE / 0,1 mol L <sup>-1</sup> HCl	Fígado bovino e de peixe / digestão ácida	0,1 µg L <sup>-1</sup>	137
CSV	HMDE / 0,1 mol L <sup>-1</sup> HCl	Biológicas / formação de complexo de Se com diamino-benzidina	0,8 ng mL <sup>-1</sup>	138
CSV	HMDE / 1,0 mol L <sup>-1</sup> HCl	Águas naturais / digestão ácida com radiação ultravioleta	5 ng L <sup>-1</sup>	139
CSV	GCFAuE / 0,01 mol L <sup>-1</sup> HNO <sub>3</sub>	Solução eletrolítica de Cobre / sem preparação de amostra	0,1 µg g <sup>-1</sup>	140
DPCSV	HMDE / 1,0 mol L <sup>-1</sup> HCl	Águas / formação de complexo de Se com diamino-benzidina	0,010 µg L <sup>-1</sup>	141
DPCSV	HMDE / 0,1 mol L <sup>-1</sup> HNO <sub>3</sub>	Água do mar / fotólise de Se <sup>+6</sup> para Se <sup>+4</sup>	2 µg L <sup>-1</sup>	142
ASV	AuE / 1,5 mol L <sup>-1</sup> de H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> e 0,3 mol L <sup>-1</sup> de Na <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	Águas naturais / redução química de Se <sup>+6</sup> para Se <sup>+4</sup>	NR	143
CPS	GCFAuE / 1,0 mol L <sup>-1</sup> HClO <sub>4</sub>	Águas naturais / digestão ácida com radiação ultravioleta	15 ng L <sup>-1</sup>	144
DPCSV	HMDE / 0,1 mol L <sup>-1</sup> HNO <sub>3</sub>	Matrizes geológicas / digestão assistida por microondas seguida por eluição em resina de troca iônica	0,096 - 9,4 mg Kg <sup>-1</sup>	145
DPCSV	HMDE / 0,1 mol L <sup>-1</sup> (NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	Águas naturais / adição de EDTA para remover outros metais	20 ng L <sup>-1</sup>	146
DPP	SMDE / 0,1 mol L <sup>-1</sup> HClO <sub>4</sub> + 0,1 mol L <sup>-1</sup> de catecol	Águas naturais / reação de complexação com o catecol	115 µg L <sup>-1</sup>	147
DPCSV	HMDE / 0,5 mol L <sup>-1</sup> (NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> + 0,004 mol L <sup>-1</sup> EDTA, + 1,0 mg L <sup>-1</sup> CuCl <sub>2</sub> + 0,1 mol L <sup>-1</sup> H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	NR / formação de Cu <sub>2</sub> Se	0,25 ng L <sup>-1</sup>	148

DPCSV = Voltametria de Pulso Diferencial com Redissolução Catódica (do inglês Differential Pulse Cathodic Stripping Voltammetry); HMDE = Eletrodo de gota suspensa de mercúrio (do inglês Hanging Mercury Dropping Electrode); CSV = Voltametria de Redissolução Catódica (do inglês Cathodic Stripping Voltammetry); ASV = Voltametria de Redissolução Anódica (do inglês Anodic Stripping Voltammetry); GC-BiFE = Eletrodo de Carbono Vítreo com Filme de Bismuto (do inglês Glassy Carbon modified by Bismuth Film Electrode); SWVSV = Voltametria de Onda Quadrada com Redissolução Anódica (do inglês Square Wave Anodic voltammetry); GCE = Eletrodo de Carbono Vítreo (do inglês Glassy Carbon Electrode); AuNPs = Nanopartículas de Ouro (do inglês Gold Nanoparticles); AgNPs = Nanopartículas de Prata (do inglês Silver Nanoparticles); GCFAuE = Eletrodo de Carbono Vítreo com Filme de Ouro (do inglês Glassy Carbon modified by Gold Film Electrode); FAAS = Espectroscopia de Absorção Atômica por Chama; CPS = Redissolução Cronopotenciométrica (do inglês Chronopotentiometric Stripping); GCMFE = Eletrodo de Carbono Vítreo com Filme de Mercúrio (do inglês Glassy Carbon modified by Mercury Film Electrode); EQCM = Microbalança Eletroquímica de Cristal de quartzo (do inglês Electrochemical Quartz Crystal Microbalance); AuE = Eletrodo de Ouro (do inglês Gold Electrode); DPP = Polarografia de Pulso Diferencial (do inglês Differential Pulse Polarography); SMDE = eletrodo de mercúrio de gota estática (do inglês Static Drop Mercury Electrode).

Eletrodos quimicamente modificados proporcionam melhoria no sinal analítico e/ou diminuição nos valores de potencial de redução e ou oxidação dos compostos de interesse. Neste contexto, Idris, Mabuba e Arotiba<sup>60</sup> utilizaram o eletrodo de carbono vítreo modificado com nanopartículas de ouro aliado à técnica de SWV para a quantificação de Se em águas naturais. Segura *et. al.*<sup>61</sup> empregou nanopartículas de prata, possibilitando a determinação de Se em águas naturais com limite de detecção inferior a 0,64 µg L<sup>-1</sup>, empregando a Voltametria de Redissolução Anódica (ASV) ou Catódica (CSV), mostrando que a modificação com nanopartículas promove melhoria significativa no sinal analítico e nos valores de limite de detecção. A determinação de seleno-cistina em eletrodos de ouro modificados com filme de selênio foi demonstrada por Walker *et. al.*<sup>62</sup> mostrando que é possível investigar o par redox selenocistina/selenocisteína em condições fisiológicas.

Além da alta detectabilidade oferecida pelos métodos eletroquímicos de redissolução que possuem uma etapa prévia de pré-concentração *in situ* (na solução eletrolítica em que é feita a medida eletroquímica), a detecção seletiva de diferentes espécies de Se, sem a necessidade de qualquer separação prévia, é uma clara vantagem dos métodos eletroanalíticos de análise.

## CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS

O desenvolvimento de métodos analíticos para identificação e quantificação de compostos químicos contendo Se apresenta grande importância científica, em função das propriedades nutricionais, funções metabólicas e dosagens essenciais. De maneira geral, a utilização de técnicas espectrométricas e cromatográficas necessita de etapas prévias de processamento, digestão e purificação das amostras, proporcionando elevado custo, aumento no tempo necessário para aquisição dos dados analíticos e principalmente, erros associados à preparação e manipulação das amostras. Assim, torna-se fundamental o desenvolvimento de metodologias que minimizem as etapas de preparação de amostras. O desenvolvimento de instrumentação que automatize a manipulação de amostras, diminuindo os erros experimentais é uma alternativa para a aplicação de métodos espectroscópicos e cromatográficos para a determinação de Se em amostras complexas, tais como solos, alimentos e fluidos biológicos.

O desenvolvimento de fontes de emissão de radiação eletromagnética (lâmpadas de cátodo oco) com melhor reprodutibilidade na intensidade de emissão é uma necessidade para a ampliação da aplicabilidade da AFS. Além disso, a aplicação de laser na excitação de Se, o qual apresenta excelente sensibilidade, ainda apresenta alto



custo da instrumentação e dificuldade na obtenção de lasers específicos de alta potência.

Já a utilização das técnicas eletroanalíticas permite a minimização na manipulação e tratamento das amostras, reduzindo o tempo, o custo e os erros associados à manipulação das amostras. Entretanto, na maioria dos casos, a aplicação destas técnicas envolve o uso de HMDE, que produz resíduos de mercúrio. O emprego de eletrodos sólidos, como prata, ouro e platina, além de eletrodos quimicamente modificados, vem sendo investigado em substituição aos eletrodos de mercúrio.

Aliar as vantagens associadas ao uso de técnicas eletroanalíticas (rapidez, sensibilidade e robustez) com as vantagens do emprego de HMDE (reprodutibilidade da superfície eletródica) pode permitir a identificação e quantificação de compostos orgânicos contendo Se e outros metalóides em amostras de interesse ambiental, industrial e biológico. Neste contexto, o uso de Eletrodos Sólidos de Amálgama (SAE, do inglês *solid amalgam electrode*) são promissores no desenvolvimento de procedimentos para detecção e quantificação de compostos orgânicos e inorgânicos.<sup>63,64</sup> Estes eletrodos podem ser construídos empregando-se diferentes proporções entre mercúrio e outros metais tais como cobre, prata, platina, ouro, bismuto, irídio ou cádmio e apresentam alta estabilidade mecânica, longa durabilidade e podem ter a superfície tratada eletroquimicamente, promovendo assim uma excelente reprodutibilidade nos sinais analíticos.<sup>65</sup> O emprego de SAE juntamente com DPV ou SWV se mostra como uma excelente alternativa para o desenvolvimento de metodologias para identificação e quantificação de Se.

## AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem o apoio financeiro da FAPEMIG (processos APQ 01938-11, APQ 02052-12, APQ 02528-14, APQ 00711-14), do CNPq (308174/2013-5 e 460799/2014-2), da PROPP-UFU e da Rede Mineira de Química (RQ-MG).

## REFERÊNCIAS

- Neto, F. A.; *Nutrição clínica*, 1a ed., Guanabara Koogan: Rio de Janeiro, 2012.
- Panigati, M.; Falciola, L.; Mussini, P.; Beretta, G.; Facino, R. M.; *Food Chem.* **2007**, *105*, 1091.
- Himoto, T.; Yoneyama, H.; Kurokohchi, K.; Inukai, M.; Masugata, H.; Goda, F.; Haba, R.; Watababe, S.; Kubota, S.; Senda, S.; Masaki, T.; *Nutr. Res.* **2011**, *31*, 829.
- Campillo, N.; Peñalver, R.; López-García, I.; Hernández-Córdoba, M.; *J. Chromatogr. A.* **2009**, *1216*, 6735.
- Organização Mundial da Saúde; *Elementos traço na nutrição e saúde humanas*, 1a ed., São Paulo, Brasil, 1998.
- Food and Nutrition Board, Institute of Medicine, *Dietary reference intakes from vitamin C, vitamin E, selenium and carcinoids*, National Academic Press: New York, 2000.
- National Research Council, *Recommended Dietary Allowances*, 10th ed., National Academy Press: Washington, 2000.
- Zingaro, A. R.; Cooper, C. W.; *Selenium. In The toxicology of selenium and its compounds*, 1st ed., Van Nostrand Reinhold Company/Litton Educational Publishing: New York, 1974.
- Nascimento, P. C.; Jost, C. L.; De Carvalho, L. M.; Bohrer, D.; Koschinsky, A.; *Anal. Chim. Acta* **2009**, *648*, 162.
- Mattila, P.; Konko, K.; Euro, M.; Pihlaja, J. M.; Astola, J.; Vahteristo, L.; Hietaniemi, V.; Kumpulainen, J.; Valtonen, M.; Piironen, V.; *Food Chem.* **2001**, *49*, 2343.
- Kelly, S.; Baxter, M.; Chapman, S.; Rhodes, C.; Dennis, J.; Brereton, P.; *Eur. Food Res. Technol.* **2002**, *214*, 72.
- Gupta, U. G.; Gupta, S. C.; Gupta, M. D.; *Commun. Soil Sci. Plan.* **2000**, *31*, 11.
- Latorre, C. H.; García, J. B.; Martín, S. G.; Crecente, R. M. P.; *Anal. Chim. Acta* **2013**, *804*, 37.
- Tan, L. C.; Nancharaiyah, Y. V.; van Hullebusch, E. D.; Lens, P. N. L.; *Biotechnol. Adv.* **2016**, *34*, 886.
- Awual, M. R.; Yaita, T.; Suzuki, S.; Shiwaku, H.; *J. Hazard. Mater.* **2015**, *291*, 111.
- Resolução CONAMA nº357, *Classificação de águas, doces, salobras e salinas do Território Nacional*, Brasil, 2005.
- Suzuki, K. T.; *J. Health Sci.* **2005**, *51*, 107.
- Akrampour, R.; Hemati, M.; Fattahi, N.; Pirsaeheb, M.; Ahmadi-Jouibari, T.; *J. Pharm. Biomed. Anal.* **2017**, *140*, 155.
- Lemy, D.; Finger, S. E.; Nelson, M. K.; *Environ. Toxicol. Chem.* **1993**, *12*, 2265.
- Falandysz, J.; *Food Chem.* **2013**, *138*, 242.
- Jagtap, R.; Maher, W.; *Microchem. J.* **2016**, *124*, 422.
- Wang, J.; *Analytical Electrochemistry*, 2nd ed., John Wiley & Sons: New York, 2001.
- Harris, D. C.; *Explorando a Química Analítica*, 4a ed., LTC: Rio de Janeiro, 2011.
- Silverstein, R. M.; Bassler, G. C.; Kiemle, D. J.; *Spectrometric identification of organic compounds*, 7th ed., John Wiley & Sons: New York, 2005.
- Wen, X.; Zhang, Y.; Li, C.; Fang, X.; Zhang, X.; *Spectrochim. Acta, Part A* **2014**, *123*, 200.
- Shabani, A. M. H.; Dadfarnia, S.; Nozohor, M.; *Spectrochim. Acta, Part A* **2013**, *116*, 1.
- Ezoe, K.; Ohyama, S.; Hashem, A.; Ohira, S.; Toda, K.; *Talanta* **2016**, *148*, 609.
- Pavia, D. L.; Lampman, G. M.; Kriz, G. S.; *Introduction to Spectroscopy*, 3rd ed., Thomson Learning: Washington, 2001.
- Rybínová, M.; Červený, V.; Hraníček, J.; Rychlovský, P.; *Microchem. J.* **2016**, *124*, 584.
- Broekaert, J. A. C.; *Analytical Spectrometry with Flames and Plasmas*, Wiley-VCH: New York, 2002.
- Wang, N.; Wang, P.; *Chem. Eng. J.* **2016**, *283*, 193.
- Ebdon, L.; Fisher, A.; Hill, S. J. In *An introduction to analytical atomic Spectrometry*, Evans, E. H., eds.; John Wiley & Sons: New York, 1998.
- de Souza, J. R.; da Silva, L.; da Rocha, M. S.; Saint-Pierre, T. D.; *Food Anal. Met.* **2017**, doi: 10.1007/s12161-017-0861-y.
- Escudero, L. A.; Pacheco, P. H.; Gasquez, J. A.; Salonia, J. A.; *Food Chem.* **2015**, *169*, 73.
- Zhang, N.; Fu, N.; Fang, Z.; Feng, Y.; Ke, L.; *Food Chem.* **2011**, *124*, 1185.
- Bruttel, P. A.; Schäfer, J.; *Sample Preparation Techniques in Voltammetric Trace Analysis*, 1st ed.; Metrohm AG, Herisau: Switzerland, 1992.
- Ohki, A.; Nakajima, T.; Hirakawa, S.; Hayashi, K.; Takanashi, H.; *Microchem. J.* **2016**, *124*, 693.
- Schneider, M.; Pereira, E. R.; Castilho, I. N. B.; Carasek, E.; Welz, B.; Martens, I. B. G.; *Microchem. J.* **2016**, *125*, 50.
- Guo, W.; Hu, S.; Wang, Y.; Zhang, L.; Hu, Z.; Zhang, J.; *Microchem. J.* **2013**, *108*, 106.
- Colins, C. H.; Braga, G. L.; Bonato, P. S.; *Fundamentos de Cromatografia*, 1a ed., Unicamp: Brasil, 2006.
- Braithwaite, A.; Smith, F. J.; *Chromatographic Methods*, 5th ed., Blackie: Londres, 1996.
- Sewill, P.; Clarke, C.; *Chromatographic Separations*, Wiley: Nova York, 1988.
- Jonsson, J. A.; *Chromatographic Theory and Basic Principles*, Marcel Dekker: Nova York, 1987.
- Bryszewska, M. A.; Mage, A.; *J. Trace Elem. Med. Biol.* **2015**, *29*, 91.

45. Eith, C.; Kolb, M.; Seubert, A.; *Práticas em Cromatografia de íons - uma introdução*, 2 th ed., Metrohm: São Paulo, 2006.
46. Reyes, L. H.; Mar, J. L. G.; Rahman, G. M. M.; Seybert, B.; Fahrenholz, T.; Kingston, H. M. S.; *Talanta* **2009**, *78*, 983.
47. Niedzielski, P.; Rudnicka, M.; Wachelka, M.; Kozak, L.; Rzany, M.; Wozniak, M.; Kaskow, Z.; *Food Chem.* **2016**, *190*, 454.
48. Vriens, B.; Mathis, M.; Lenny H. E. Winkel, L. H. E.; Berg, M.; *J. Chromatogr. A* **2015**, *1407*, 11.
49. Bond, A. M.; Compton, R. G.; Fiedler, D. A.; Inzelt, G.; Kahlert, H.; Komorsky-Lovric' Š.; Lohse, H.; Lovric', M.; Maeken, F.; Neudeck, A.; Retter, U.; Scholz, F.; Stojet, Z. In *Electroanalytical Methods*, Scholz, F., ed.; 2th ed., Springer: New York, 2009.
50. De Souza, D.; Machado, S. A. S.; Avaca, L. A.; *Quim. Nova* **2003**, *26*, 81.
51. Dahmen, E. A. M. F.; *Electroanalysis: Theory and applications in aqueous and non-aqueous media and in automatic chemical control*, Elsevier: Amsterdam, 1986.
52. Mirčeski, V.; Komorsky-Lovrić, Š.; Lovrić, M. In *Square-Wave Voltammetry. Theory and Application*, Scholz, F. eds., Springer: New York, 2007.
53. Piech, R.; Kubiak, W. W.; *Electrochem. Acta* **2007**, *53*, 584.
54. Sajid, M.; Nazal, M. K.; Mansha, M.; Alsharaa, A.; Jillani, S. M. S.; Basheer, C.; *Trends Anal. Chem.* **2016**, *76*, 15.
55. Šebková, S.; Navrátil, T.; Kopanica, M.; *Anal. Lett.* **2005**, *38*, 1747.
56. Fagan-Murphy, A.; Allen, M. C.; Patel, B. A.; *Electrochim. Acta* **2015**, *152*, 249.
57. Zima, J.; Švancara, I.; Bareka, J.; Vytřas, K.; *Crit. Rev. Anal. Chem.* **2009**, *39*, 204.
58. Beni, V.; Collins, G.; Arrigan, D. W. M.; *Anal. Chim. Acta* **2011**, *699*, 127.
59. Baš, B.; Jedlińska, K.; Węgiel, K.; *Electrochem. Commun.* **2014**, *49*, 79.
60. Idris, A. O.; Mabuba, N.; Arotiba, O. A.; *J. Electroanal. Chem.* **2015**, *758*, 7.
61. Secura, R.; Pizarro, J.; Díaz, K.; Placencio, A.; Godoy, F.; Pino, E.; Recio F.; *Sens. Actuators, B* **2015**, *220*, 263.
62. Walker, L. M.; Karnaukh, E. A.; Dewan, F.; Buzzeo, M. C.; *Electrochem. Commun.* **2016**, *69*, 28.
63. Yosypchuk, B.; Novotný, L.; *Crit. Rev. Anal. Chem.* **2002**, *32*, 141.
64. Yosypchuk, B.; Barek, J.; *Crit. Rev. Anal. Chem.* **2009**, *39*, 189.
65. De Souza, D.; Melo, L. C.; Correia, A. N.; Lima-Neto, P.; Fatibello-Filho, O.; Mascaro, L. H.; *Quim. Nova* **2011**, *34*, 3.
66. Khajehsharifi, H.; Mousavi, M. F.; Ghasemi, J.; Shamsipur, M.; *Anal. Chim. Acta* **2004**, *512*, 369.
67. Yan, L.; Deng, B.; Shen, C.; Long, C.; Deng, Q.; Tao, C.; *J. Chromatogr. A* **2015**, *1395*, 173.
68. Song, C.; Fei, Q.; Shan, H.; Feng, G.; Cui, M.; Liu, Y.; Huan, Y.; *Spectrochim. Acta, Part A* **2013**, *116*, 497.
69. Tyburska, A.; Jankowski, K.; *J. Pharm. Biomed. Anal.* **2013**, *74*, 268.
70. Duben, O.; Boušek, J.; Dědina, J.; Kratzer, J.; *Spectrochim. Acta, Part B* **2015**, *111*, 57.
71. Tyburska, A.; Jankowski, K.; Rodzik, A.; *Spectrochim. Acta, Part B* **2011**, *66*, 517.
72. Marguí, E.; Floor, G. H.; Hidalgo, M.; Kregsamer, P.; Roman-Ross, G.; Strelí, C.; Queralt, I.; *Spectrochim. Acta, Part B* **2010**, *65*, 1002.
73. Nunes, D. L.; dos Santos, E. P.; Barin, J. S.; Mortari, S. R.; Dressler, V. L.; Flores, E. M. de M.; *Spectrochim. Acta, Part B* **2005**, *60*, 731.
74. Tuzen, M.; Pekiner, O. Z.; *Food Chem.* **2015**, *188*, 619.
75. Khan, N.; Jeong, I. S.; Hwang, I. M.; Kim, J. S.; Choi, S. H.; Nho, E. Y.; Choi, J. Y.; Kwak, B.; Ahn, J.; Yoon, T.; Kim, K. S.; *Food Chem.* **2013**, *141*, 3566.
76. Sigríst, M.; Brusa, L.; Campagnoli, D.; Beldoménico, H.; *Food Chem.* **2012**, *134*, 1932.
77. Shrivasa, K.; Patel, D. K.; *Food Chem.* **2011**, *124*, 1673.
78. Tuzen, M.; Pekiner, O. Z.; *Food Chem.* **2015**, *188*, 619.
79. Oliveira, A. P.; Neto, J. A. G.; Nóbrega, J. A.; Correia, P. R. M.; Oliveira, P. V.; *Food Chem.* **2005**, *93*, 355.
80. Kolachi, N. F.; Kazi, T. G.; Afridi, H. I.; Khan, S.; Wadhwa, S. K.; Shah, A. Q.; Shah, F.; Baig, J. A.; Sirajuddin; *Food Chem. Toxicol.* **2010**, *48*, 3327.
81. Awual, R.; Hasan, M.; Khaleque, A.; *Sens. Actuators, B* **2015**, *209*, 194.
82. Díaz-Somoano, M.; López-Antón, M. A.; Martínez-Tarazona, M. R.; *Fuel* **2004**, *83*, 231.
83. Liu, Z.; Sun, H.; Shen, S.; Li, L.; Shi, H.; *Anal. Chim. Acta* **2005**, *550*, 151.
84. Shahdousti, P.; Alizadeh, N.; *Anal. Chim. Acta* **2011**, *684*, 67.
85. Kocot, K.; Leardi, R.; Walczak, B.; Sitko, R.; *Talanta* **2015**, *134*, 360.
86. Li, Z.; Guo, Y.; *Talanta* **2005**, *65*, 1318.
87. Maleki, N.; Safavi, A.; Doroodmand M. M.; *Talanta* **2005**, *66*, 858.
88. Martínis, E. M.; Escudero, L. B.; Berton, P.; Monasterio, R. P.; Filipini, M. F.; Wuilloud, R. G.; *Talanta* **2011**, *85*, 2182.
89. Izgi, B.; Gucer, S.; Jaćimović, R.; *Food Chem.* **2006**, *99*, 630.
90. Xu, S.; Zheng, M.; Zhang, X.; Zhang, J.; Lee, Y.; *Microchem. J.* **2012**, *101*, 70.
91. Hsieh, Y.; Jiang, S.; *Microchem. J.* **2013**, *110*, 1.
92. Zhang, H.; Gao, P.; Guo, X.; Wang, H.; *Microchem. J.* **2013**, *110*, 192.
93. Tie, M.; Li, B.; Zhuang, X.; Han, J.; Liu, L.; Hu, Y.; Li, Y.; *Microchem. J.* **2015**, *123*, 70.
94. Wang, R.; Hsu, Y.; Chang, L.; Jiang, S.; *Anal. Chim. Acta* **2007**, *590*, 239.
95. Lu, Y.; Rimpler, A.; Francesconi, K. A.; Pergantis, S. A.; *Anal. Chim. Acta* **2012**, *731*, 49.
96. Tsai, Y.; Lin, C.; Hsu, I.; Sun, Y. *Anal. Chim. Acta* **2014**, *806*, 165.
97. Ghasemi, E.; Sillanpää, M.; Najafi, N. M.; *J. Chromatogr. A* **2011**, *1218*, 380.
98. Viñas, P.; López-García, I.; Merino-Meroño, B.; Campillo, N.; Hernández-Córdoba, M.; *Anal. Chim. Acta* **2005**, *535*, 49.
99. Zhang, X.; Yang, L.; Mester, Z.; *Anal. Chim. Acta* **2012**, *744*, 54.
100. Gionfriddo, E.; Naccarato, A.; Sindona, G.; Tagarelli, A.; *Anal. Chim. Acta* **2012**, *747*, 58.
101. Arnaudguilhem, C.; Bierla, K.; Ouerdane, L.; Preud'homme, H.; Yiannikouris, A.; Lobinski, R.; *Anal. Chim. Acta* **2012**, *757*, 26.
102. Liang, L.; Mo, S.; Zhang, P.; Cai, Y.; Mou, S.; Jiang, G.; Wen, M.; *J. Chromatogr. A* **2006**, *1118*, 139.
103. Pedrero, Z.; Encinar, J. R.; Madrid, Y.; Cámara, C.; *J. Chromatogr. A* **2007**, *1139*, 247.
104. Kuo, C.; Jiang, S.; *J. Chromatogr. A* **2008**, *1181*, 60.
105. Moscoso-Pérez, C.; Moreda-Piñeiro, J.; López-Mahía, P.; Muniategui-Lorenzo, S.; Fernández-Fernández, E.; Prada-Rodríguez, D.; *J. Chromatogr. A* **2008**, *1215*, 15.
106. Peachey, E.; Cook, K.; Castles, A.; Hopley, C.; Goenaga-Infante, H.; *J. Chromatogr. A* **2009**, *1216*, 7001.
107. Moreno, F.; García-Barrera, T.; Gómez-Ariza, J. L.; *J. Chromatogr. A* **2013**, *1300*, 43.
108. Shih, T.; Hsu, I.; Wu, J.; Lin, C.; Sun, Y.; *J. Chromatogr. A* **2013**, *1304*, 101.
109. Zhang, Q.; Yang, G.; *J. Chromatogr. A* **2014**, *1325*, 83.
110. Bueno, M.; Pannier, F.; *Talanta* **2009**, *78*, 759.
111. Kulikov, A. U.; *J. Pharm. Biomed. Anal.* **2007**, *43*, 1283.
112. Zembrzuska, J.; Matusiewicz, H.; Polkowska-Motrenko, H.; Chajduk, E.; *Food Chem.* **2014**, *142*, 178.
113. Yu, H.; Chen, C.; Gao, Y.; Li, B.; Chai, Z.; *Chin. J. Anal. Chem.* **2006**, *34*, 749.
114. Tao, Z.; Yu-Xi, G.; Bai, L.; Yu-Feng, L.; Chun-Ying, C.; Gang, W.; *Chin. J. Anal. Chem.* **2008**, *36*, 206.
115. Yu-Pin, C.; Li-Zhen, Y.; Hong-Li, H.; Bi-Yang, D.; *Chin. J. Anal. Chem.* **2015**, *43*, 1329.

116. Kokarnig, S.; Tsirigotaki, A.; Wiesenhofer, T.; Lackner, V.; Francesconi, K. A.; Pergantis, S. A.; Kuehnelt, D.; *J. Trace Elem. Med. Biol.* **2015**, *29*, 83.
117. Humann-Ziehank, E.; Ganter, M.; Michalke, B.; *J. Trace Elem. Med. Biol.* **2016**, *33*, 14.
118. Chitta, K. R.; Landero-Figueroa, J. A.; Kodali, P.; Caruso, J.; A.; Merino E. J.; *Talanta* **2013**, *114*, 25.
119. Najafi, N. M.; Tavakoli, H.; Abdollahzadeh, Y.; Alizadeh, R.; *Anal. Chim. Acta* **2012**, *714*, 82.
120. nam, R.; Somer, G.; *Food Chem.* **2000**, *69*, 345.
121. Ochab, M.; G ca, I.; Korolczuk, M.; *Talanta* **2017**, *165*, 364.
122. Lambert, D. F.; Turoczy, N. J.; *Anal. Chim. Acta* **2000**, *408*, 97.
123. Lange, B.; Van Den Berg, C. M. G.; *Anal. Chim. Acta* **2000**, *418*, 33.
124. Inam, R.; Somer, G.; *Food Chem.* **1999**, *66*, 381.
125. Zhang, Q.; Li, X.; Shi, H.; Hongzhou, Y. Z.; *Electrochim. Acta* **2010**, *55*, 4717.
126. Piech, R.; Kubiak, W. W.; *Electrochim. Acta* **2007**, *53*, 584.
127. Cacho, F.; Jankuv, L.; Lauko, L.; Kroliak, M.; Manova, A.; Beinrohr, E.; *Talanta* **2013**, *116*, 195.
128. Panigati, M.; Falciola, L.; Mussini, P.; Beretta, G.; Facino, R. M.; *Food Chem.* **2007**, *105*, 1091.
129. Shahbazi, Y.; Ahmadi, F.; Fakhari, F.; *Food Chem.* **2016**, *192*, 1060.
130. Ferri, T.; Favero, G.; Frascioni, M.; *Microchem. J.* **2007**, *85*, 222.
131. Švarc-Gajić, J.; Stojanović, Z.; *Talanta* **2013**, *115*, 474.
132. Stoica, A.; Babaua, G.; Iorgulescu, E.; Marinescu, D.; Baiulescu, G.; *J. Pharm. Biomed. Anal.* **2002**, *30*, 1425.
133. Wang, Y.; Liu, Z.; Yao, G.; Zhu, P.; Hu, X.; Yang, C.; Xu, Q.; *Anal. Chim. Acta* **2009**, *649*, 75.
134. Foss, B.; Ion, A.; Partali, V.; Sliwka, H.; Banica, F.; *J. Electroanal. Chem.* **2006**, *593*, 15.
135. Ochsenkühn-Petropoulou, M.; Tsopelas, F.; *Anal. Chim. Acta* **2002**, *467*, 167.
136. Adeloju, S. B.; Young T. M.; *Anal. Chim. Acta* **1994**, *296*, 69.
137. Adeloju, S. B.; Bond, A. M.; Hughes, H. C.; *Anal. Chim. Acta* **1983**, *148*, 59.
138. Stará, V.; Kopanica, M.; *Anal. Chim. Acta* **1988**, *208*, 231.
139. Elleouet, C.; Quentel, F.; Madec, C.; *Water Res.* **1996**, *30*, 909.
140. Hamilton, T. W.; Ellis, J.; Florence, T. M.; *Anal. Chim. Acta* **1979**, *110*, 87.
141. Breyer, P.; Gilbert, B. P.; *Anal. Chim. Acta* **1987**, *201*, 33.
142. Batley, G. E.; *Anal. Chim. Acta* **1986**, *187*, 109.
143. Bryce, D. W.; Izquierdo, A.; De Castro, M. D. L.; *Anal. Chim. Acta* **1995**, *308*, 96.
144. Gil, E. P.; Ostapczuk, P.; *Anal. Chim. Acta* **1994**, *293*, 55.
145. Ferri, T.; Rossi, S.; Sangiorgio, P.; *Anal. Chim. Acta* **1998**, *361*, 113.
146. Baltensperger, U.; Hertz, J.; *Anal. Chim. Acta* **1985**, *172*, 49.
147. McCrory-Joy, C.; Rosamilia, J. M.; *Anal. Chim. Acta* **1982**, *142*, 231.
148. Esteban, M.; Ariño, C.; Ruisánchez, I.; Larrechi, M. S.; Rius, F. X.; *Anal. Chim. Acta* **1993**, *284*, 435.