

UNIVERSIDAD DE CHILE - FACULTAD DE CIENCIAS ESCUELA DE CIENCIAS  
AMBIENTALES Y BIOTECNOLOGÍA



**“Desarrollo de una metodología electroanalítica para la  
determinación de Se(IV) utilizando un electrodo película de  
bismuto, libre de mercurio”.**

Seminario de Título entregado a la Universidad de Chile en cumplimiento parcial de  
los requisitos para optar al Título de Química Ambiental

**Diego Ignacio Escobar Olivos**

Director de Tesis: Carlos Roberto Rojas Romo

Julio 2023

Santiago, Chile



## INFORME DE APROBACIÓN SEMINARIO DE TÍTULO

Se informa a la Escuela de Ciencias Ambientales y Biotecnología de la Facultad de Ciencias, de la Universidad de Chile que el Seminario de Título, presentado por el Sr. Diego Ignacio Escobar Olivos

### **Desarrollo de una metodología electroanalítica para la determinación de Se(IV) utilizando un electrodo película de bismuto, libre de mercurio”.**

Ha sido aprobado por la Comisión de Evaluación, en cumplimiento parcial de los requisitos para optar al Título de Química Ambiental

Director Seminario de Título: Carlos Roberto Rojas Romo

Comisión Revisora y Evaluadora

Presidente Comisión: Dr. Paul Jara Vergara

Evaluador: Dr. Richard Toro Araya

Santiago de Chile, Julio 2023

## Bibliografía

Mi nombre es Diego Ignacio Escobar Olivos. Nací el 17 de febrero de 1999 en Santiago de Chile. El mayor de tres hermanos, Miguel y Javiera Escobar Olivos, mis padres son Miguel Patricio Escobar Vera y Bárbara Alejandra Olivos Lallave. Viví en la comuna de Pirque hasta el año 2011 donde mis primeros años de estudio fueron en el colegio Lo Arcaya y luego en el Liceo el Llano. Luego nos cambiamos a Puente Alto donde vivo actualmente, seguí estudiando en el colegio Mirador donde cursé desde 7° básico a 4° medio hasta el año 2016. Entré a estudiar en el año 2018 Química Ambiental en la Universidad de Chile gracias al gran apoyo y esfuerzo de mis padres. Ese año también conocí a mi polola Francisca, que hasta el día de hoy ha sido un pilar para mí, por su constante cariño y apoyo incondicional.

En esta etapa, fueron cinco años de estudio, desafíos y logré conocer maravillosas personas que me han apoyado en este proceso. Aprendí, lloré, reí y a pesar de las dificultades logré llegar a este punto en el que puedo decir que las recompensas fueron mayores que las pérdidas.

## Dedicatoria

Este seminario de título está dedicado principalmente a padres, que gracias a su ayuda y perseverancia me han ayudado a ser quien soy, gracias a su apoyo y confianza en mí.

*“No hay un ingrediente secreto,  
Para hacer algo especial,  
Solo tienes que creer que es especial”*

**Po, Kung Fu Panda**

## Agradecimientos

A lo largo de estos años de universidad, han sido muchas las personas que me han brindado apoyo y ayuda para lograr llegar a esta etapa de mi vida.

En primer lugar, quiero agradecer a mis padres, que desde el inicio depositaron su confianza, cariño y fuerzas en mí. Me han dado todo lo necesario para estudiar y cumplir este sueño, gracias por el apoyo, preocupación y su constante ayuda a lo largo de estos años, sin ellos, dudo poder haber llegado a este punto, y siempre me dieron una mano cuando no sabía o tenía dificultades. De igual manera, agradecer también a mis hermanos, que siempre estuvieron atentos y en cómo ayudar, aunque sea sacándome una sonrisa en un mal día.

En segundo lugar, agradecer a mi familia en general, a pesar de no siempre estar o saber de nosotros, sabemos que estamos, para cualquier victoria o derrota, además de siempre preguntar cuando nos vemos de cómo va todo en la vida y la universidad.

Sin duda, agradecer a mi polola, Francisca Jeria, que desde que nos conocimos, fuiste un pilar para mí, sobre todo en momentos de tristeza y estrés producto de la universidad, gracias por la compañía, las risas y los buenos momentos que llevamos, por la confianza y el apoyo día a día.

Agradecer a mi profesor director de este seminario, Carlos Rojas, por recibirme desde el primer momento con las puertas abiertas a su laboratorio, por darme el apoyo y tiempo al tener dificultades o no entender ciertos estudios de este proyecto. Quiero destacar su gran paciencia, su característico lenguaje no verbal, siempre estuvo para resolver cualquier duda, desde la más compleja a la más simple de ellas. Muchas gracias por sus consejos, apoyo y enseñanza en el desarrollo de este seminario.

Quiero agradecer a mis compañeros de laboratorio, que me recibieron de brazos abiertos desde el primer día, gracias por las risas, las conversaciones, ánimos y las famosas celebraciones de cumpleaños.

## Índice de contenido

Índice de Tablas .....	xi
Índice de Figuras .....	xii
Resumen .....	1
Abstract.....	2
Introducción.....	3
Hipótesis .....	12
Objetivo general: .....	12
Objetivos específicos:.....	12
Materiales y métodos.....	13
Instrumentación .....	13
Reactivos y disoluciones .....	13
Métodos .....	15
Lavado del material. ....	15
Preparación del electrodo de carbón vítreo modificado con una película de bismuto ex situ. .....	15
Medidas voltamperométricas de Se(IV).....	15
Validación de la metodología.....	16
Pretratamiento de muestras.....	17
Análisis de muestras reales.....	17
Resultados.....	18

Estudio de las condiciones óptimas para la formación de la película de bismuto.....	18
Potencial de depósito .....	18
Concentración de Bi(III).....	19
Tiempo de depósito de Bi(III) .....	21
Estudio de las condiciones óptimas para la preconcentración de Se(IV) .....	23
Efecto del pH y concentración del electrolito de soporte.....	23
Potencial y tiempo de preconcentración de Se(IV). .....	25
Limpieza del electrodo en la celda electroquímica. ....	27
Selectividad. ....	29
Agentes enmascarantes.....	29
Aniones interferentes.....	30
Iones metálicos .....	31
Disminución de la interferencia de Cu(II).....	33
Figuras de mérito.....	36
Validación de la metodología y análisis de muestras reales.....	39
Muestras reales. ....	40
Conclusiones.....	42
Bibliografía.....	43
Anexo .....	52



## Índice de Tablas

Tabla 1: Isótopos naturales de selenio.....	3
Tabla 2: Resumen de metodologías reportadas desde el 2015 para la determinación de Se en medio acuoso. ....	7
Tabla 3: Metodologías electroanalíticas para la determinación de Se en medio acuoso.....	10
Tabla 4: Variación de la respuesta analítica de Se(IV) para 10 mediciones consecutivas aplicando distintos potenciales de limpieza. ....	27
Tabla 5: Efecto del tiempo de limpieza sobre de la intensidad de corriente. Fueron utilizadas las condiciones optimizadas de depósito y para la preconcentración de Se(IV) (Figura 6) y un potencial de limpieza de -0,9 V.....	28
Tabla 6: Efecto de la concentración de agentes enmascarantes sobre la respuesta de Se(IV) .....	30
Tabla 7: Efecto de aniones sobre la señal de Se(IV) .....	30
Tabla 8: Efecto de diferentes iones metálicos sobre la respuesta de Se(IV) bajo condiciones óptimas de depósito y preconcentración de Se(IV) en presencia de agentes enmascarantes.....	31
Tabla 9: Efecto del porcentaje de AcN en la señal de Se(IV). ....	34
Tabla 10: Concentración promedio de Se(IV) utilizando materiales de referencia .....	39
Tabla 11. Composición de los materiales de referencia para algunos iones seleccionados. ....	40
Tabla 12: Resultados de los análisis de muestras reales dopadas y agua mineral fortificada. ....	40

## Índice de Figuras

Figura 1: Efecto del potencial de depósito de Bi(III) sobre la respuesta analítica de Se(IV). Condiciones para la formación de BiFE: 100 mg L <sup>-1</sup> Bi(III), pH 4,5, t <sub>dep</sub> 300 s. Condiciones de preconcentración: 50 mmol L <sup>-1</sup> HClO <sub>4</sub> , E <sub>acum</sub> -0,5 V y t <sub>acum</sub> 60s, 20 μg L <sup>-1</sup> Se(IV). ....	19
Figura 2: Efecto de la concentración de Bi(III) sobre la respuesta analítica de Se(IV) aplicando un tiempo de depósito de 150 s. Condiciones para la formación de BiFE: E <sub>dep</sub> -0,8V, pH 4,5. Condiciones de preconcentración como en Figura 1. ....	20
Figura 3: Efecto de la concentración de Bi(III) sobre la respuesta analítica de Se(IV) aplicando un tiempo de depósito de 300 s. Condiciones para la formación de BiFE: E <sub>dep</sub> -0,8V, pH 4,5. Condiciones de preconcentración como en Figura 1. ....	20
Figura 4: Efecto de la concentración de Bi(III) sobre la respuesta analítica de Se(IV) aplicando un tiempo de depósito de 600 s. Condiciones para la formación de BiFE: E <sub>dep</sub> -0,8V, pH 4,5. Condiciones de preconcentración como en Figura 1. ....	21
Figura 5: Curva de calibrado de Se(IV) variando el tiempo de depósito: A: 150s , B: 300s y C: 600 s . Fueron utilizadas las mismas condiciones de depósito y preconcentración de Se(IV) que en la Figura 1. ....	22
Figura 6: Efecto del pH sobre la respuesta analítica de Se(IV). Condiciones para la formación de BiFE: pH 4,5, E <sub>dep</sub> -0,8V y t <sub>dep</sub> 300 s. Condiciones de preconcentración de Se(IV): 50 mmol L <sup>-1</sup> BR, E <sub>prec</sub> -0,5 V y t <sub>prec</sub> 60s, 20 μg L <sup>-1</sup> de Se(IV). ....	23
Figura 7: Efecto de diferentes ácidos como electrolito soporte en la respuesta analítica de Se(IV). A: HClO <sub>4</sub> , H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> , H <sub>3</sub> PO <sub>4</sub> ; B: HCl, HNO <sub>3</sub> , H <sub>3</sub> CCOOH. Condiciones como en Figura 6. ....	24
Figura 8: Curvas de calibrado de Se(IV) en presencia de diferentes concentraciones de H <sub>3</sub> PO <sub>4</sub> y HClO <sub>4</sub> . A: 12 mmol L <sup>-1</sup> , B: 20 mmol L <sup>-1</sup> y C: 50 mmol L <sup>-1</sup> de ácido. Condiciones como en Figura 6. ....	25

Figura 9: Efecto del potencial de preconcentración en la respuesta analítica de Se(IV) (A) Voltamperogramas obtenidos aplicando distintos potenciales de preconcentración. (B) Efecto de la variación del potencial de preconcentración sobre la intensidad de corriente de reducción. Condiciones como en Figura 6. ....	26
Figura 10: Efecto del tiempo de preconcentración sobre la respuesta analítica de Se(IV). (A) Voltamperogramas obtenidos aplicando distintos tiempos de preconcentración (B) Efecto de la variación del tiempo de preconcentración sobre la intensidad de corriente de reducción. Condiciones como en Figura 6. ....	27
Figura 11: Curvas de calibrado de Se(IV) utilizando las técnicas de barrido (A) onda cuadrada y (B) diferencial de pulso. Condiciones como en la Figura 6. ....	35
Figura 12: Comparación entre el efecto del Cu(II) sobre la señal de Se(IV) en presencia (A) y ausencia (B) de acetonitrilo en una relación 1:1 de AcN:disolución acuosa. Condiciones como Figura 6. ....	36
Figura 13: (A) Voltamperogramas de diferencial de pulso (B) Curva de calibrado de 1,0; hasta 48 $\mu\text{g L}^{-1}$ de Se(IV) en condiciones optimizadas de depósito y preconcentración de Se(IV). ....	38
Figura 14: Voltamperogramas de onda cuadrada de 1,0; hasta 48 $\mu\text{g L}^{-1}$ de Se(IV) en condiciones optimizadas de depósito y preconcentración de Se(IV). ....	38

## Resumen

Este trabajo se enfoca en el desarrollo de un método electroanalítico que permita la detección y cuantificación de selenio (IV) mediante voltamperometría de stripping catódico (CSV) utilizando un electrodo de carbono vitreo modificado con una película de bismuto (BiFE) *ex-situ* libre de mercurio. Se optimizaron los diferentes parámetros experimentales para la obtención de un método sensible, selectivo y reproducible. Los parámetros experimentales optimizados para la formación de la película fueron: tampón ácido acético/acetato pH 4,5, potencial y tiempo de depósito -0,8 V y 300 segundos respectivamente, concentración de Bi(III) 100 mg L<sup>-1</sup>. Las mejores condiciones para la medición de Se(IV) fueron: 50 mmol L<sup>-1</sup> de HClO<sub>4</sub>, pH ≤ 2,9, potencial y tiempo de preconcentración de Se(IV) -0,5 V y 60 segundos respectivamente, potencial y tiempo de limpieza -0,9 V y 3 segundos respectivamente

Los límites de detección y cuantificación obtenidos fueron: LD: 0,143 μg L<sup>-1</sup> y LQ: 0,435 μg L<sup>-1</sup> de Se(IV) en ausencia de AcN y en presencia de AcN se obtuvo, LD: 0,428 μg L<sup>-1</sup> y LQ: 1,297 μg L<sup>-1</sup> de Se(IV). Se estudió la posible interferencia de tres aniones comunes presentes en muestras de agua, tres agentes enmascarantes y 34 iones metálicos. Cu(II) fue el mayor interferente, se logró disminuir la interferencia de Cu(II) mediante la adición de AcN al 50% en la celda electroquímica. Este método fue validado utilizando dos materiales de referencia certificados (TM-28,4 y TDMA-62,2) y fue aplicado en cuatro muestras reales (agua mineral comercial fortificada en selenio, agua de pozo de la zona de Batuco (Padre Hurtado), agua del río Loa (Calama) y agua potable del laboratorio. Este trabajo presenta un método alternativo para la determinación de Se(IV) de forma rápida, sencilla y económica, con la ventaja de poder eliminar el uso de mercurio en el electrodo de trabajo.

## **Abstract**

This work focuses on the development of an electroanalytical method that allows the detection and quantification of selenium (IV) by means of cathodic stripping voltammetry (CSV) using a glassy carbon electrode modified with an ex-situ bismuth film (BiFE) free of mercury. The different experimental parameters were optimized to obtain a sensitive, selective, and reproducible method. The optimized experimental parameters for the formation of the film were: acetic acid/acetate buffer pH 4.5, potential and deposition time -0.8 V and 300 seconds respectively, Bi(III) concentration 100 mg L<sup>-1</sup>. The best conditions for Se(IV) measurement were: 50 mmol L<sup>-1</sup> of HClO<sub>4</sub>, pH ≤ 2.9, potential and Se(IV) preconcentration time -0.5 V and 60 seconds respectively, potential and time cleaning -0.9 V and 3 seconds respectively. The detection and quantification limits obtained were: LD: 0.143 μg L<sup>-1</sup> and LQ: 0.435 μg L<sup>-1</sup> of Se(IV) in the absence of AcN and in the presence of AcN, LD: 0.428 μg L<sup>-1</sup> and LQ was obtained: 1.297 μg L<sup>-1</sup> of Se(IV). The possible interference of three common anions presents in water samples, three masking agents and 34 metal ions were studied. Cu(II) was the major interferent, it was possible to reduce the interference of Cu(II) by adding 50% AcN in the electrochemical cell. This method was validated using two certified reference materials (TM-28.4 and TDMA-62.2) and was applied to four real samples (selenium-fortified commercial mineral water, well water from the Batuco area (Padre Hurtado), from the Loa River (Calama) and drinking water from the laboratory. This work presents an alternative method for the determination of Se(IV) in a fast, simple, and economic way, with the advantage of being able to eliminate the use of mercury in the working electrode.

## Introducción

El selenio es un elemento químico que pertenece al grupo 16 de la tabla periódica, con un número atómico 34 y masa atómica de  $78,96 \text{ g mol}^{-1}$ . Es un elemento no metálico y su estado habitual en la naturaleza, en estado elemental, es sólido de aspecto gris metálico, se pueden encontrar 6 formas isotópicas no radioactivas en el medio ambiente, las que se pueden observar en la Tabla 1 junto a sus abundancias relativas (ATSDR,2003).

Tabla 1: Isótopos naturales de selenio

Isotopo	<sup>74</sup> Se	<sup>76</sup> Se	<sup>77</sup> Se	<sup>78</sup> Se	<sup>80</sup> Se	<sup>82</sup> Se
Abundancia (%)	0,87	9,02	7,58	23,52	49,82	9,19

Debido a su configuración electrónica externa ( $3d^{10}4s^24p^4$ ), este elemento posee 4 estados de oxidación: seleniuro Se(-II), selenio Se (0), selenito Se (IV) y selenato Se(VI), los cuales permiten la formación de sales insolubles, compuestos organometálicos, haluros, óxidos, ácidos y especies orgánicas. Dentro de las propiedades redox de las distintas especies de Se, el seleniuro Se(-II) es un reductor fuerte, el Se(0) es poco reductor, sobre todo en medio ácido, por lo que necesita la acción de oxidantes fuertes. El selenito Se(IV) se reduce fácilmente a selenio elemental, en medio ácido fuerte, por la acción de reductores como dióxido de azufre, cloruro de estaño (II), yoduro potásico o ácido ascórbico. El selenato Se(VI) es termodinámicamente oxidante y su reducción está favorecida cinéticamente (Quijano,1999).

En la naturaleza, se encuentra en bajas concentraciones, tanto en la corteza terrestre, el agua y la atmósfera. Por ello, su sobreabundancia o agotamiento genera desequilibrio en el ecosistema provocando problemas biológicos y ecológicos. La distribución de Se en el medio ambiente es heterogénea, y en sus diferentes estados de oxidación. Según la Organización Mundial de la Salud, los niveles de selenio en aguas subterráneas y superficiales oscilan entre  $0,06$  y  $400 \mu\text{g L}^{-1}$ , llegando

a superar los  $6000 \mu\text{g L}^{-1}$  en aguas subterráneas (Cannon, 1964), estas concentraciones dependen de la solubilidad y pH, predominando los estados IV y VI. (Glover y col., 1979). En el aire se encuentra en concentraciones dentro del rango promedio de  $0,01\text{-}30 \text{ ng m}^{-3}$  dependiendo de la ubicación, alcanzando valores mayores en áreas urbanas e industriales (Merian y Fishbein, 1991). Una pequeña fracción de selenio se puede presentar en estado gas, sin embargo, la mayor parte se encuentra formando parte del material particulado. El selenio se emite de modo natural a la atmósfera en forma de alquilseleniuros volátiles, selenio elemental y dióxido de selenio. En suelos se distribuye de forma heterogénea, varía entre  $0,1 \mu\text{g g}^{-1}$  en zonas deficientes como Nueva Zelanda, China o Finlandia y hasta  $80 \mu\text{g g}^{-1}$  en suelos peligrosos como Irlanda o Estados Unidos (Raptis y col, 1983). El Se se encuentra en suelos ácidos y reductores como seleniuro, a pH neutros aparece como selenito férrico, de muy baja solubilidad y por consiguiente de baja disponibilidad. En suelos alcalinos y oxidantes se presenta como selenato soluble que es fácilmente absorbido por plantas (NAS, 1976). En plantas, se presenta en formas orgánicas, donde predomina la selenometionina. El mecanismo de integración en plantas consiste en la previa absorción de selenatos del suelo, se reduce a selenito incorporándose a la cisteína, reemplazando al azufre y posterior metabolización a metionina. (Dauchy y col, 1994).

Con el tiempo, se ha demostrado que este elemento, es un nutriente esencial para distintos seres vivos. Sin embargo, también puede llegar a tener efectos tóxicos dependiendo de la concentración a la que se encuentre. En animales, posee un rango estrecho entre deficiencia dietética cuando existe una ingesta  $<40 \mu\text{g día}^{-1}$  a ser tóxico en niveles  $>400 \mu\text{g día}^{-1}$  (WHO, 1996).

La deficiencia de selenio impacta a diferentes sistemas y órganos dependientes del selenio, que principalmente están ligados a selenoproteínas o enzimas específicas como la glutatión peroxidasa (GSH-Px), cuyo rol fisiológico principal, es antioxidante, disminuyendo las especies de oxígeno y nitrógeno reactivas, de este modo disminuye el daño oxidativo de membranas celulares (Reddy y

col, 1988). La tiorredoxina reductasa, distribuida en los tejidos, se encarga principalmente de la regulación de procesos redox intracelulares y actúa en mecanismos de reparación de la síntesis de ADN (Bjornstedt y col, 1997). La selenoproteína P (Sel-P), es la más abundante en la sangre y plasma, su función es antioxidante y transportadora, además de ser utilizada como marcador biológico de déficit de selenio en el cuerpo. (Arthur & Breckett, 1994). Asimismo, se han descrito alrededor de 50 selenoproteínas y enzimas cuyo rol es fundamental para el correcto funcionamiento del cuerpo humano y animal. (Hernandez & Rios, 2009).

Debido a esto, su carencia desencadena una serie de problemas asociados a diferentes sistemas de órganos, (Levander, 1987):

- Problemas con la actividad hepática.
- Hipotiroidismo.
- Agrandamiento de la glándula tiroidea.
- Reducción de la actividad y vida media de células de defensa como leucocitos (neutrófilos, macrófagos y linfocitos) y polimorfonucleares.
- Reducción en la fertilidad de los machos.
- Enfermedad del musculo blanco o distrofia muscular nutricional (NMD).

Por otra parte, el exceso de este nutriente puede generar toxicidad en animales y plantas, principalmente se presenta en regiones donde su disponibilidad en suelos está en exceso. Se determinó que a partir de 3 mg kg<sup>-1</sup> de peso corporal, ocurren cuadros de toxicidad aguda, presentando síntomas como trastornos motrices, ataxia, diarrea oscura, hipertermia, pulso débil y rápido, dificultad respiratoria, dolor abdominal, meteorismo. (Morrow, 1982, James y col., 1992).

No existe un tratamiento específico para casos de intoxicación aguda de este elemento, por lo que aquellos organismos afectados mueren incluso antes de establecer el diagnóstico. Por otra parte, la intoxicación crónica por Se, ocurre cuando animales o personas consumen cantidades entre 5 a 20



mg L<sup>-1</sup> por un prolongado tiempo de vida. (Goehring y col., 1984). En estos casos, los síntomas comunes se presentan como parálisis de la lengua, respiración laboriosa y rápida, exceso de saliva, baja temperatura corporal (hipotermia), emaciación, anemia, alopecia y deformación de estructuras córneas, uñas y cuernos en animales (Ekermans & Schneider, 1982). Aún se desconocen los mecanismos bioquímicos de la selenosis (exposición excesiva a selenio), la principal hipótesis establece que el selenio ejerce un efecto tóxico mediante la inhibición enzimática oxido-reducción en los organismos. Los principales efectos de exceso de selenio son:

- Degeneración de los nervios
- Osteoporosis
- Cistoadenoma de garganta
- Enfermedad de Lou Gehrin (ALS)
- Herpes zoster
- Alopecia
- Uñas anormales
- Cáncer
- Muerte

Debido a esto, la OMS estableció un nivel máximo de selenio en agua potable de 0,01mg L<sup>-1</sup> (OMS, 2013) el cual también fue establecido en la norma chilena para agua de consumo humano (Ministerio de salud, 2007). Por su parte, la Agencia de Protección del Medio Ambiente de Estados Unidos, establece una concentración máxima de selenio en agua de consumo de 0,05 mg L<sup>-1</sup> (EPA, 2009). Por otro lado, se ha determinado que una dosis saludable de selenio debe bordear los 60-75 µg día<sup>-1</sup>. La principal fuente de este elemento en los humanos son las carnes rojas, en particular el cerdo (0,50 µg g<sup>-1</sup>), que posee casi el doble que el vacuno (0,28 µg g<sup>-1</sup>), pollo (0,24 µg g<sup>-1</sup>) en igualdad de condiciones. Otra fuente importante es el atún, con un promedio de 0,80 µg g<sup>-1</sup>,

(Holben, 1999). Otros alimentos como la leche y sus derivados, granos y cereales proporcionan cantidades medias a bajas de este elemento (grano de trigo 35,5  $\mu\text{g kg}^{-1}$ , harina 32,2  $\mu\text{g kg}^{-1}$ , macarrones 19,4  $\mu\text{g kg}^{-1}$ , fideos 29,5  $\mu\text{g kg}^{-1}$ ) frutas y verduras casi no aportan selenio a la ingesta diaria (Diaz y col, 1996).

Debido a estas variaciones anteriormente expuestas y normas establecidas, es necesario mantener métodos efectivos que permitan detectar y cuantificar selenio desde niveles traza, así como niveles tóxicos. Existen diversos métodos de cuantificación de selenio, como la espectroscopía de absorción atómica, espectrofotometría UV-Vis, espectrometría de emisión con plasma acoplado inductivamente con detección óptica (ICP-OES) y espectrometría de masas con plasma acoplado inductivamente (ICP-MS) (Pooja, 2017).

Tabla 2: Resumen de metodologías reportadas desde el 2015 para la determinación de Se en medio acuoso.

metodología	Analito	modificación	Rango de linealidad ( $\mu\text{g/L}$ )	Límite de detección ( $\text{ng/L}$ )	Referencia
HPLC/ICP-MS	Se/As	-	2,5-400	340-860(As) 940-1520(Se)	Fang, 2015
Espectrofotometría	Se(IV)	HNA-OAP	20-7000	1000	Ahmed, 2015
Espectrofotometría UV-VIS	Se(IV)	DAHMP	20-1500	6060	Ulusoy, 2015
SFODME-ETAAS	Se(IV)/(VI)	PTC	0,6-24	190	Citak, 2017
HG AFS	Se(IV)	-	-	0,13	Dos santos, 2016
HPLC-HG-MP-AES	SeMet/ Se(IV)	-	-	59(Se) 520000(SeMet)	Barrientos, 2016
Cromatografía iónica/ICP-MS	SeMet	-	-	5,0	LeBlanc, 2016
ICP-MS	SeMet/ MeSeCys/ SeGal	-	5,0-50	5,0	Flouda, 2016
Espectrofotometría UV-VIS	Se(IV)	-	-	100	Bizerea, 2017
IR	Se(IV)	MGU	2,0-100	1000	Sen, 2017
ICP-MS	Se Organico	-	-	70	Wiesenhofer, 2017
AAS	Se(IV)	-	0,1-1,0	3000	Kanchi, 2017
CDQ	Se(VI)	-	-	0,1	Devi, 2017
Fluorimetría	Se(IV)	CAS	84-6000	27	Santarossa, 2017
UALPME	Se(IV)	DES	-	4,61	Panhwar, 2017
ICP-MS	Se(IV)	IC	-	10	Donner, 2018
Espectrofotometría UV-VIS	Se(IV)	AOP	-	$2 \times 10^6$	Mohapatra, 2019
ICP-MS	Se(IV)	MIC	-	200	Rondan, 2019
GF-AAS	Se(IV)	PVG	-	65	Potes, 2019
AFS	Se(IV)	-	0,1-200	6	Huang, 2020

SQT- FAAS /DSPE	Se(IV)	Zr-NP	25-100	5,3 x10 <sup>3</sup>	Karlindag, 2020
GF-AAS	Se(IV)		-	1,3 x10 <sup>3</sup>	Akbaba.2022

AAS: espectroscopia de absorción atómica, AFS: espectrofotometría de fluorescencia atómica, AOP: procesos de oxidación avanzada, CAS: colorante orgánico Chrome azurool S, CDQ: puntos cuánticos de carbono, CME: microextracción capilar monolítica DAHMP: 4,5-diamino-6-hidroxi-2-mercaptopirimidina, DES: Disolvente eutéctico profundo, DLLME: microextracción líquido-líquido dispersiva, DSPE: extracción en fase sólida dispersiva, ETAAS: espectrométrica de absorción atómica electrotérmica, FLD: detector de fluorescencia HPLC GF-AAS: espectrometría de absorción atómica en horno de grafito, ICP-MS: espectrometría de masas de plasma acoplado inductivamente, IC: cromatógrafo iónico, IR: espectroscopia infrarroja, HG AFS: espectrometría de fluorescencia atómica de generación de hidruros, HPLC: cromatografía líquida de alto rendimiento, HPLC-HG-MP-AES: espectrometría de emisión atómica de plasma de nitrógeno inducida por microondas, HNA-OAP: 2-hidroxi-1-naftaldehído-ortoaminofenol, MDMSPE: extracción en fase microsólida dispersiva magnética, MGU: Microextracción en gata única; MeSeCys: Selenocisteína; PTC: 1-feniltiosemicarbazida, PVG: generación de vapor fotoquímico, MIC: combustión inducida por microondas, SeCN: selenocianato, SeCys2: selenocistina, SeMet: selenometionina, SeGal: selenosugar Selenoseleno-N-acetilgalactosamina, SFODME: gota orgánica flotante solidificada, SQT- FAAS: espectrofotometría de absorción atómica con llama de tubo de cuarzo ranurado, UALPME: microextracción en fase líquida asistida por ultrasonido, Zr-NP: nanopartículas de circonio.

La técnica más sensible y eficiente para la determinación de Se es la espectrometría de masas con plasma acoplado inductivamente (ICP-MS). Sin embargo, el equipamiento, mantención e insumos de esta técnica presenta un alto costo. Tanto para ICP-OES como ICP-MS los costos de operación son altos debido al consumo de argón para generar el plasma. Como una alternativa de menor costo y con una alta sensibilidad, se encuentran las técnicas electroanalíticas. Específicamente, las técnicas de stripping que son especialmente sensibles, las cuales constan de dos etapas: preconcentración y barrido. A través de la primera etapa, el analito es preconcentrado o acumulado en la superficie del electrodo para su posterior oxidación o reducción en la segunda etapa, barrido. La respuesta analítica corresponde a una intensidad de corriente generada por el proceso redox en la superficie del electrodo. Esta señal es proporcional a la concentración de analito en la disolución. En electroanálisis, los electrodos más utilizados en términos generales son los a base de carbono (carbono vítreo, pasta de carbón y grafito), metálicos (oro, platino, plata) y mercurio en sus distintas formas (gota colgante, película y amalgama). Los electrodos de carbono requieren procesos de modificación para favorecer la acumulación de las especies electroactivas, dentro de los modificantes se encuentran películas metálicas, polímeros, agentes complejantes, nanomateriales, entre otros (Wei, 2020) (Idris, 2015). Dentro de los electrodos metálicos, el electrodo de oro ha

sido utilizado ampliamente en técnicas electroanalíticas para la determinación de Se(IV), la ventana electroquímica es más amplia en la zona de oxidación y es altamente estable. Sin embargo, presenta un costo alto, lo cual limita su aplicabilidad. Para el caso del electrodo de mercurio también ha sido recurrente su uso, el electrodo de gota colgante de mercurio permite generar un nuevo electrodo para cada medida, lo cual aumenta la repetibilidad y reproducibilidad (Aydin, 2017) (Pooja, 2017). El electrodo de película de mercurio se presentó como una alternativa para reducir el consumo de mercurio líquido por su toxicidad. Durante los últimos años, el uso de mercurio en todas sus formas ha sido rechazado por su toxicidad (Pooja, 2017). Por esta razón, se ha generado un amplio desarrollo de películas metálicas de distintos metales para reemplazar al mercurio, tales como: bismuto, antimonio, plomo, telurio, cobre, entre otros (El-Egamy 2006) (Korolczuk y col, 2009). La película de bismuto ha demostrado ser una de las alternativas con propiedades más similares al mercurio y con una toxicidad muy baja (Švancara, 2010) (Wang, 2005). Se ha estudiado la modificación de este tipo de electrodos u otros con distintos materiales para aumentar la sensibilidad de las metodologías desarrolladas. Los procesos de modificación muchas veces requieren procesos largos de preparación, condiciones específicas y/o la reproducibilidad puede ser una de las mayores complicaciones (Pooja, 2017). Por esta razón, la utilización de electrodos de película sin modificar o que la modificación puede ser realizada durante el proceso de medida aumenta la aplicabilidad de la metodología por su mayor simplicidad, rapidez y mejor reproducibilidad.

A continuación, se presentan las metodologías electroanalíticas reportadas para la detección y cuantificación de selenio desde el año 2015.

Tabla 3: Metodologías electroanalíticas para la determinación de Se en medio acuoso.

Electrodo	Analito	Ligando o modificación	Especie electroactiva	Técnica	Rango de linealidad (µg/L)	Límite de detección (ng/L)	Tiempo de Preconcentración Se(IV) (s)	Ref.
BMFE	Se(IV)	-	Bi <sub>2</sub> Se <sub>3</sub>	AdSV	0,25-50	70	400	Sharifian, 2015
AuNPs	Se(IV)	-		SWASV	10-50	120	120	Segura,2015
AuNP - GCE	Se(IV)	-	H <sub>2</sub> SeO <sub>3</sub>	SWASV	1–50000	640	60	Idris, 2015
rGO-GCE	Se(IV)	-	NR	SWASV	10–50000	850	240	Idris, 2017
Au-GCE	Se(IV)	-	H <sub>2</sub> SeO <sub>3</sub>	ASV	0,39-7,89	67	180	Ochab, 2017
AuNP - GCE	Se(IV)	-	-	SWASV SWV	0,01-12	220	30	Idris, 2017
AuNP-C	Se(IV)			SWASV	--	1000	60	Shiba, 2019
HMDE	Se(IV)	ADTTP	Cu <sub>2</sub> Se	CSV	0,21- 40	65	45	Merino, 2019
GCE-NG	Se(IV)			SWASV	3-120	92	50	Fakude,2019
AuNDs P-rGO	Se(IV)	-	SeO <sub>2</sub>	ASV	0,24-24	71	350	Wei, 2020
AuNPs-PCE	Se(IV)		As <sub>2</sub> Se <sub>3</sub>	SWASV	NR-150	900	180	Lu, 2020
AuNCs-FG GCE	Se(IV)	-	SeO <sub>2</sub>	SWASV	2-5000	270	240	Tan, 2020
f -AgSAE	Se(IV)	-	H <sub>2</sub> SeO <sub>3</sub>	SWCASV	8,0-630	80	45	Martins, 2021
AuHDs-GCE	Se(IV)		H <sub>2</sub> SeO <sub>3</sub>	SWASV	200-1600	10000	0	Wang 2016

ADTTP: ligando dietilditiofosfato de amonio; ASV: voltamperometría de redisolución anódica; AuHD: electrodo carbono vitreo modificado con nanoestructura dendrítica de oro jerárquica; AuNCs/FG: electrodo carbono vitreo modificado con nanocompuesto de grafeno fluorado/nanojaulas de oro; AuNDs/P-rGO: electrodo de carbono vitreo modificado con nanodendritas de oro reducido con oxido de grafeno; AuNPs: Electrodo modificado con nanopartículas de oro; BMFE: electrodo de película fina de Bi/Hg;; CV: voltamperometría cíclica; CVS: voltamperometría stripping catódico; DPASV: voltametría de redisolución anódica de impulsos diferenciales; DPCSV: voltametría de redisolución catódica de pulso diferencial; f -AgSAE: electrodo de amalgama sólido de plata modificado con película de mercurio; GCE: electrodo de carbono vítreo; Hg/Au: electrodo de mercurio modificado con oro; Hg/GCE: electrodo modificado con mercurio; HMDE: electrodo colgante de gota de mercurio; Mo/glass: Electrodo de fusión de vidrio de molibdeno; NG: electrodo modificado con grafeno dopado con nitrógeno; NR: no reportado; P-AAQ: poli(1-aminoantraquinona); PAuE: electrodo de oro policristalino; RDE: Electrodo de disco rotatorio; rGO: electrodo modificado con oxido de grafeno; SeCyst: Modificación con selenocistina en electrodo de carbono serigrafado; SPCNFE: electrodo serigrafado de nanofibras de carbono; SWASV: voltamperometría anódica de stripping de onda cuadrada; SWCASV: voltamperometría de redisolución por adsorción catódica de onda cuadrada; SWV: voltametría de onda cuadrada.

Como se observa en la Tabla 3, existen diversas metodologías reportadas para la detección y cuantificación de selenio. Sin embargo, la mayor parte de estas se basan en el uso de electrodos de oro o modificados con materiales de oro. Lo cual implica un encarecimiento de la metodología. Por otro lado, la utilización de electrodos de mercurio, implican un grave riesgo tanto para la salud humana como para el medio ambiente debido a su alta toxicidad a bajas concentraciones y difícil eliminación o remoción. (Laurenti,2016). En este sentido, este proyecto propone reemplazar el uso de estos dos tipos de electrodos (Au y Hg) por un electrodo de Bi como una alternativa a estas metodologías de alto costo o que poseen toxicidad. El uso de un electrodo a base de bismuto fue

reportado por Sharifian y col. Sin embargo, observaron la formación de una señal ancha que impide la cuantificación de Se por efecto del electrolito soporte (HCl). Para eliminar este efecto, prepararon una película de Bi-Hg, logrando generar una señal de reducción de Se(IV) bien resuelta. No obstante, la utilización de mercurio disminuye la aplicabilidad de la metodología a pesar de la mejoría en la resolución de la señal. Es por esto, que, el desarrollo de nuevas metodologías que permitan determinar selenio en muestras acuosas sigue siendo una necesidad, considerando que estas nuevas alternativas sean sensibles, simples, rápidas y amigables con el medio ambiente.

## **Hipótesis**

El desarrollo de una metodología electroanalítica simple, rápida y sensible para la determinación de Se (IV) será posible utilizando un electrodo de película de bismuto y la voltamperometría de *stripping* catódico. La combinación de las propiedades electroquímicas del electrodo de bismuto similares al electrodo de mercurio y la preconcentración del analito permitirá alcanzar una mayor sensibilidad y generar un menor impacto medioambiental. Con ello, lograr la eliminación de mercurio en la determinación de selenio(IV) mediante técnicas electroanalíticas.

## **Objetivo general:**

Desarrollar una metodología electroanalítica que permita la cuantificación de Se(IV), a través de la modificación de un electrodo de carbono vítreo con película de bismuto formada *ex -situ* utilizando la técnica voltamperometría de *stripping* catódico.

## **Objetivos específicos:**

1. Estudiar las condiciones experimentales para la determinación de Se(IV) que permitan generar la respuesta voltamperométrica más sensible, tales como: pH, composición del electrolito soporte, potencial y tiempo de acumulación.
2. Evaluar el efecto de posibles interferentes como iones metálicos y aniones inorgánicos y agentes enmascarantes.
3. Caracterizar la metodología en base a parámetros de analíticos determinados bajo condiciones experimentales optimizadas.
4. Comparar la calidad analítica del método desarrollado con otras metodologías previamente reportadas.
5. Evaluar la exactitud y aplicabilidad de la metodología utilizando materiales de referencia certificados y muestras de agua reales.

## **Materiales y métodos**

### **Instrumentación**

Los voltamperogramas se generaron utilizando un potenciostato Metrohm, Autolab modelo PGSTAT204, en combinación con *Dosing interface* modelo 846. La agitación en la celda electroquímica se controló con un agitador magnético Metrohm modelo 801. Se utilizó un electrodo de carbono vitreo 1,6 mm serie A-012298 proveniente de BioLogic, un electrodo de alambre de platino serie CHI102, un electrodo de referencia Ag/AgCl serie 012167 en solución NaCl 3 mol L<sup>-1</sup>, provenientes de CH Instrument.

El pH se midió con un pHmetro Thermo Cientific Orion modelo Star A111. La medición de masas se realizó con una balanza RADWAG modelo AS 220.R2 Plus. Se utilizó un baño de ultrasonido Bransonic modelo CPX3800H-E, para facilitar la solubilización de solutos durante la preparación de disoluciones. Se utilizó un digestor UV Metrohm modelo 705 para digerir las muestras acuosas.

### **Reactivos y disoluciones**

Todas las disoluciones se prepararon ajustando la concentración a un nivel adecuado mediante dilución con agua ultrapurificada grado LC-MS Merck. La disolución estándar de Se(IV) 1 mg L<sup>-1</sup> se obtuvo de una solución patrón de Se(IV) de concentración 1 g L<sup>-1</sup> conservada en HNO<sub>3</sub> 0,5 mol L<sup>-1</sup>, Merck.

La disolución de Bi(III) 100 mg L<sup>-1</sup> en un medio tamponado pH 4,5 se preparó a partir de acetato de sodio anhidro CAS-NO:127-09-3, ácido nítrico 2 mol L<sup>-1</sup> y una disolución patrón de Bi(III) 1 g L<sup>-1</sup> en HNO<sub>3</sub> 0,5 mol L<sup>-1</sup>, Merck. Se pesaron 4,100 g de acetato de sodio, fueron transferidos a un vaso precipitado de 100 mL. El sólido fue disuelto en 80 mL de agua desionizada en un baño de ultrasonido. Luego, se agregaron 10 mL de disolución patrón de Bi(III) 1 g L<sup>-1</sup>. La mezcla se ajustó a pH 4,5 con ácido nítrico de concentración 2 mol L<sup>-1</sup> y se aforó a 100 mL. Para la remoción de



oxígeno disuelto, la disolución de Bi(III) 100 mg L<sup>-1</sup> se burbujeó por 5 minutos con nitrógeno extra puro, Indura.

El estudio del efecto del electrolito soporte se realizó a partir de la dilución de diferentes ácidos: HCl 30%, HNO<sub>3</sub> 65%, H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 96%, CH<sub>3</sub>COOH 100%, HClO<sub>4</sub> 71% y H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> a una concentración de 2,0 mol L<sup>-1</sup>.

El estudio de interferencias se llevó a cabo utilizando disoluciones patrón de 1 g L<sup>-1</sup> Ag(I), Al(III), As(V), Ba(II), Be(II), Bi(III), Ca(II), Cd(II), Co(II), CrO<sub>4</sub><sup>2-</sup>, Cs(I), Cu(II), Fe(III), Ga(III), Ge(IV), Hg(II), K(I), Li(I), Mg(II), Mn(II), Mo(VI), Ni(II), Pb(II), Pt(IV), Ru(III), Sb(III), Sc(III), Sn(IV), Te(VI), Ti(I), V(V), W(VI), Zn(II) y Zr(IV), Merck.

El estudio de aniones y enmascarantes se realizó a partir de disoluciones preparadas el día del estudio de NaNO<sub>3</sub>, NaCl y Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> de concentración 100,0 mmol L<sup>-1</sup> y NaF, EDTA, CDTA de concentración 10,0 mmol L<sup>-1</sup>, Merck.

La validación de la metodología se realizó utilizando materiales de referencia certificados: TM-28,4 y TMDA- 62,2, Medio ambiente y Cambio Climático, Canadá.

En muestras reales se utilizaron agua de pozo de Batuco (Padre Hurtado), agua rio Loa (Calama) agua mineral comercial fortificada en selenio (marca Hunza) y agua potable.

## **Métodos**

### Lavado del material.

El material de vidrio fue lavado siguiendo el siguiente protocolo: lavado con agua potable, lavado dos veces con agua desionizada para luego ser sumergido en  $\text{HNO}_3$   $2 \text{ mol L}^{-1}$  a lo menos durante 1 hora. Posteriormente, se retiró de la disolución ácido y se lavó con agua desionizada dos veces y dos veces con agua MiliQ. El material volumétrico se dejaba escurrir y secar a temperatura ambiente. El resto del material fue secado a  $40 \text{ }^\circ\text{C}$  en estufa.

### Preparación del electrodo de carbón vítreo modificado con una película de bismuto ex situ.

Al inicio de cada preparación del electrodo de carbón vítreo modificado, este fue pulido durante 60 s utilizando una suspensión de alúmina  $0,3 \text{ } \mu\text{m}$ , seguido de una suspensión de alúmina  $0,05 \text{ } \mu\text{m}$ . Entre cada proceso de limpieza, el electrodo fue lavado con abundante agua MiliQ. Mientras se realizaba el pulido del electrodo de trabajo,  $10,0 \text{ mL}$  de una disolución de  $\text{Bi(III)}$   $100,0 \text{ mg L}^{-1}$  en tampón ácido acético/ acetato  $0,5 \text{ mol L}^{-1}$  (pH 4,5) fue burbujeada con  $\text{N}_2$  durante 5 minutos. La modificación del electrodo de carbón vítreo se realizó utilizando un montaje a 3 electrodos: un electrodo de carbón vítreo ( $1,6 \text{ mm}$ ) como electrodo de trabajo, un alambre de platino como electrodo auxiliar y un electrodo de referencia  $\text{Ag/AgCl/ NaCl}$   $3 \text{ mol L}^{-1}$ . Los tres electrodos son sumergidos en la disolución de  $\text{Bi(III)}$  y fue aplicado un potencial de  $-0,8 \text{ V}$  durante 300 s con agitación constante. Finalizado el proceso de depósito de  $\text{Bi(III)}$ , la agitación fue detenida y luego de 10 s se realizó un barrido de potencial desde  $-0,8$  a  $-0,9 \text{ V}$  utilizando voltamperometría diferencial de pulso. Finalmente, los tres electrodos fueron lavados cuidadosamente con agua MiliQ y transferidos a una nueva celda con la disolución de medida.

### Medidas voltamperométricas de Se(IV)

Las mediciones electroquímicas para la optimización de condiciones como para la determinación de  $\text{Se(IV)}$  se realizaron utilizando un volumen total de  $10,0 \text{ mL}$  a  $25 \text{ }^\circ\text{C}$ . Una alícuota de ácido

perclórico  $2,0 \text{ mol L}^{-1}$  fue adicionada a la celda electroquímica y agua ultrapurificada grado LC-MS hasta completar  $10,0 \text{ mL}$ . Sobre esta disolución base fueron adicionadas alícuotas de otras disoluciones como de disolución estándar de Se(IV)  $1 \text{ mg L}^{-1}$  para la optimización de las condiciones experimentales como construcción de curvas de calibrado. La técnica utilizada fue voltamperometría diferencial de pulso de *stripping* catódico. Durante  $60 \text{ s}$  fue aplicado un potencial de  $-0,5 \text{ V}$  (acumulación de Se(IV)), luego la agitación se detuvo por  $10 \text{ s}$  y se realizó un barrido de potencial desde  $-0,5$  a  $-0,95 \text{ V}$  utilizando la técnica diferencial de pulso con los siguientes parámetros: potencial de escalón:  $-4 \text{ mV}$ , amplitud de modulación  $50 \text{ mV}$ , tiempo de modulación  $25 \text{ ms}$  y tiempo de intervalo  $50 \text{ ms}$ . Luego de cada medida, se realizó una etapa de limpieza del electrodo aplicando un potencial de  $-0,9 \text{ V}$  durante  $3 \text{ s}$  con agitación. Cada medida fue realizada por triplicado.

#### Validación de la metodología.

La validación de la metodología se realizó utilizando dos materiales de referencia certificados, TM-28,4 y TMDA-62,2. A la celda electroquímica se adicionaron  $4,75 \text{ mL}$  de acetonitrilo y  $250 \mu\text{L}$  de  $\text{HClO}_4$   $2 \text{ mol L}^{-1}$  y  $4,75$  (TM-28,4) o  $0,5$  (TMDA-62,2)  $\text{mL}$  de material de referencia certificado y se completó con agua ultrapurificada grado LC-MS hasta completar  $10,0 \text{ mL}$ . En esta disolución fueron sumergidos los electrodos y se realizó la determinación de Se(IV) aplicando un potencial de  $-0,5 \text{ V}$  durante  $120 \text{ s}$  con agitación constante. Luego, se detuvo la agitación y pasados  $10 \text{ s}$ , se realizó un barrido de potencial desde  $-0,5$  a  $-0,95 \text{ V}$ . Del voltamperogramas obtenido fue medida la altura de pico de la señal reducción correspondiente al seleniuro de bismuto. Para reducir el efecto de la matriz fue utilizado el método de la adición de estándar.

### Pretratamiento de muestras.

En un tubo de ensayo de cuarzo se adicionaron 10,0 mL de muestra y 1,0 mL de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 30%. La mezcla fue digestada durante 60 min a 96-98 °C en dos ciclos. Al finalizar el primer ciclo, fue adicionada un segunda alícuota de 1,0 mL de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 30%.

### Análisis de muestras reales.

El análisis de muestras reales se utilizó agua de pozo (Padre Hurtado), agua de rio Loa (Calama), agua mineral fortificada en selenio y agua potable luego de ser digestadas. A la celda electroquímica se adicionaron 4,75 mL de acetonitrilo, 250 µL de HClO<sub>4</sub> 2 mol L<sup>-1</sup> y 5,0 mL de las diferentes muestras y se completó con agua ultrapurificada grado LC-MS hasta completar 10,0 mL. En esta disolución fueron sumergidos los electrodos y se realizó la determinación de Se(IV) aplicando un potencial de -0,5 V durante 120 s con agitación constante. Luego, se detuvo la agitación y pasados 10 s, se realizó un barrido de potencial desde -0,5 a -0,95 V. Del voltamperograma obtenido fue medida la altura de pico de la señal reducción correspondiente al seleniuro de bismuto. Para reducir el efecto de la matriz fue utilizado el método de la adición de estándar.

## **Resultados**

### **Estudio de las condiciones óptimas para la formación de la película de bismuto.**

Para comenzar este seminario, fue utilizado el procedimiento descrito para la formación de una película de bismuto reportado previamente (Carlos R y col.2019). En dicho reporte, las condiciones optimizadas fueron: tampón ácido acético/ acetato 0,5 mol L<sup>-1</sup> (pH 4,5), 150 mg L<sup>-1</sup> de Bi(III) aplicando un potencial y tiempo de depósito de -0,8 V y 300 s, respectivamente.

Se estudiaron condiciones preliminares para la generación de la señal de reducción de Se(IV) que permitiera obtener una señal reproducible y con una buena relación entre simetría de la señal y la intensidad de respuesta analítica. Las condiciones preliminares obtenidas fueron: 50 mmol L<sup>-1</sup> de HClO<sub>4</sub>, potencial y tiempo de depósito de -0,5 V y 60 s, respectivamente. Para estos estudios se utilizó una concentración de 20 µg L<sup>-1</sup> de Se(IV). Bajo estas condiciones se realizó la optimización de las condiciones experimentales para la formación de la película de Bi. Fueron estudiados los siguientes parámetros experimentales: potencial de depósito, concentración de Bi(III) y tiempo de depósito.

Para la formación de la película de Bi(III), se necesitó la preparación de una disolución acida, para prevenir la hidrólisis de Bi(III). El cual a pH neutro o alcalino precipita, es por ello, que fue utilizado un tampón de ácido acético/ acetato (pH 4,5)

#### Potencial de depósito

Se estudió el efecto del potencial de depósito para la formación de la película de bismuto utilizando como parámetros de comparación la intensidad de corriente de pico y la repetibilidad de un set de 10 mediciones consecutivas expresada como la desviación estándar relativa porcentual. El rango de potencial de depósito estudiado fue entre -1,0 y -0,4 V

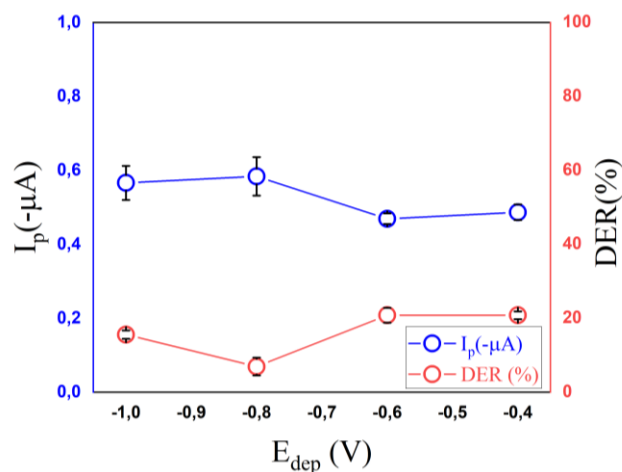


Figura 1: Efecto del potencial de depósito de Bi(III) sobre la respuesta analítica de Se(IV).

Condiciones para la formación de BiFE:  $100 \text{ mg L}^{-1}$  Bi(III), pH 4,5,  $t_{dep}$  300 s. Condiciones de preconcentración:  $50 \text{ mmol L}^{-1}$   $\text{HClO}_4$ ,  $E_{acum}$  -0,5 V y  $t_{acum}$  60s,  $20 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$  Se(IV).

En la Figura 1, se muestran los resultados del efecto del potencial depósito sobre la intensidad de corriente de la señal de Se(IV) y la repetibilidad de un set de 10 medidas consecutivas (dicha repetibilidad fue expresada como la desviación estándar relativa [DER(%)]). Potenciales cercanos a cero, generan un menor depósito de Bi(III) en el electrodo, cubriendo una menor área del electrodo de trabajo generando una menor intensidad de corriente y mayor DER. La aplicación de potenciales más negativos que -1,0 V favorecen la descarga de hidrógeno lo que impide la formación de un depósito uniforme de Bi en el electrodo de carbono vitreo.

Los mejores resultados se obtuvieron con un potencial de -0,8 V. El promedio de las señales presentó una mayor intensidad de corriente y una menor DER respecto al resto de los potenciales aplicados. Este potencial de depósito fue utilizado en todos los estudios posteriores.

### Concentración de Bi(III)

Luego de obtener el potencial de depósito, se evaluó el efecto de la concentración de Bi(III) y el tiempo de depósito en forma simultánea. Las concentraciones Bi(III) estudiadas fueron, 50, 100 y

150 mg L<sup>-1</sup>. Para cada concentración de bismuto fue aplicado un tiempo de depósito de 150, 300 y 600 segundos. Fueron utilizados los mismos parámetros de comparación que en el estudio anterior.

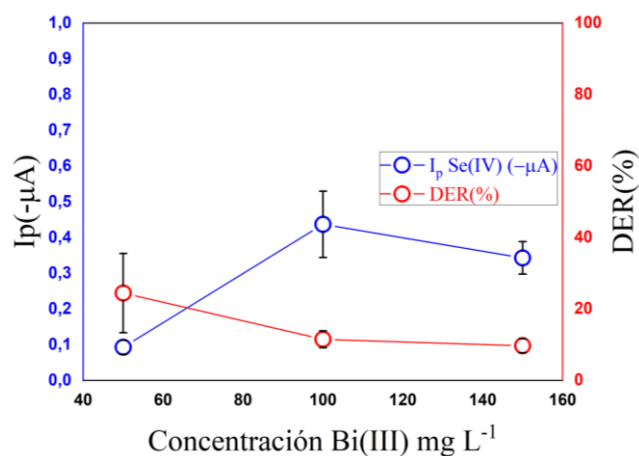


Figura 2: Efecto de la concentración de Bi(III) sobre la respuesta analítica de Se(IV) aplicando un tiempo de depósito de 150 s. Condiciones para la formación de BiFE:  $E_{dep}$  -0,8 V, pH 4,5. Condiciones de preconcentración como en Figura 1.

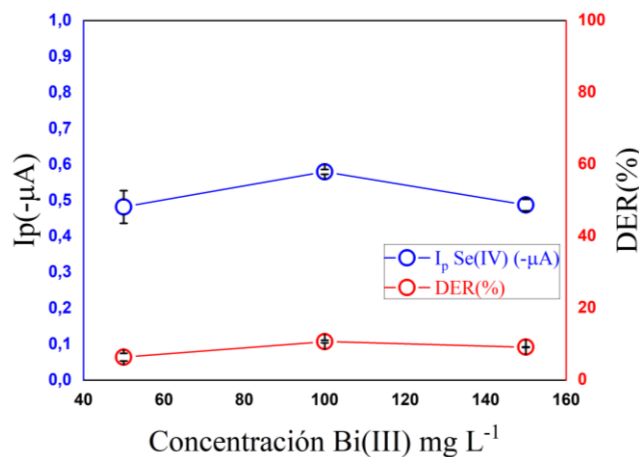


Figura 3: Efecto de la concentración de Bi(III) sobre la respuesta analítica de Se(IV) aplicando un tiempo de depósito de 300 s. Condiciones para la formación de BiFE:  $E_{dep}$  -0,8 V, pH 4,5. Condiciones de preconcentración como en Figura 1.

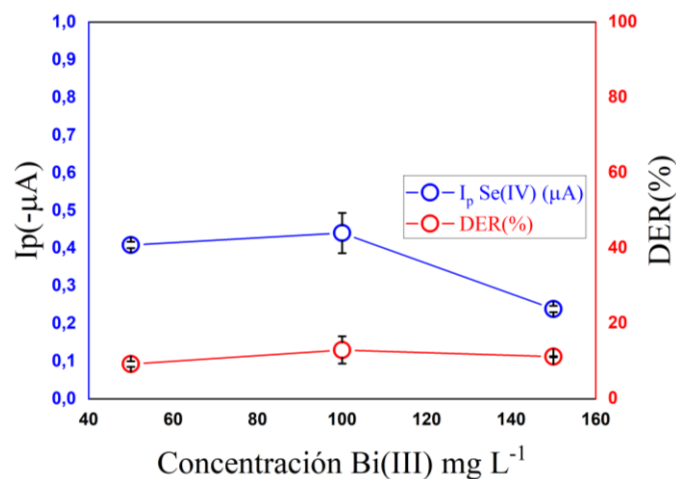


Figura 4: Efecto de la concentración de Bi(III) sobre la respuesta analítica de Se(IV) aplicando un tiempo de depósito de 600 s. Condiciones para la formación de BiFE:  $E_{\text{dep}} -0,8$  V, pH 4,5. Condiciones de preconcentración como en Figura 1.

En la Figura 2 ( $t_{\text{dep}} 150$  s), se observa que a mayor concentración de Bi(III), aumentó la intensidad de corriente y disminuyó la DER. La mayor respuesta analítica para Se(IV) se obtuvo en una disolución de Bi(III) de  $100 \text{ mg L}^{-1}$ . No obstante, presentó una mayor DER, lo cual disminuye la precisión de la metodología. En la Figura 3, se utilizaron 300 s como tiempo de depósito. En este caso, una concentración de  $100 \text{ mg L}^{-1}$  de Bi(III), presentó una mayor intensidad de corriente que las demás concentraciones y con una baja DER, mejorando la repetibilidad. Por otro lado, en la Figura 4 ( $t_{\text{dep}} 600$  s), la intensidad de corriente fue muy similar a la obtenida con una concentración de Bi(III) de  $100 \text{ mg L}^{-1}$  y aplicando  $t_{\text{dep}} 300$  s depósito. Por otra parte, ambas condiciones de depósito permitieron obtener una buena repetibilidad. Sin embargo, con el objetivo de no incrementar el tiempo de análisis, el uso de 600 s fue descartado ya que no generaba una mejora significativa en comparación a 300 s.

### Tiempo de depósito de Bi(III)

Luego de obtener el potencial de depósito y la concentración de Bi(III), se generaron curvas de calibrado con el fin de comprobar la sensibilidad de la metodología producto de la variación del



tiempo de depósito de Bi(III). Fueron estudiados los tiempos, 150, 300 y 600 s con el potencial de depósito y concentración de Bi(III) óptimos. Se construyó una curva de calibrado para cada tiempo utilizando concentraciones de Se(IV) entre 1,0 y 48  $\mu\text{g L}^{-1}$ .

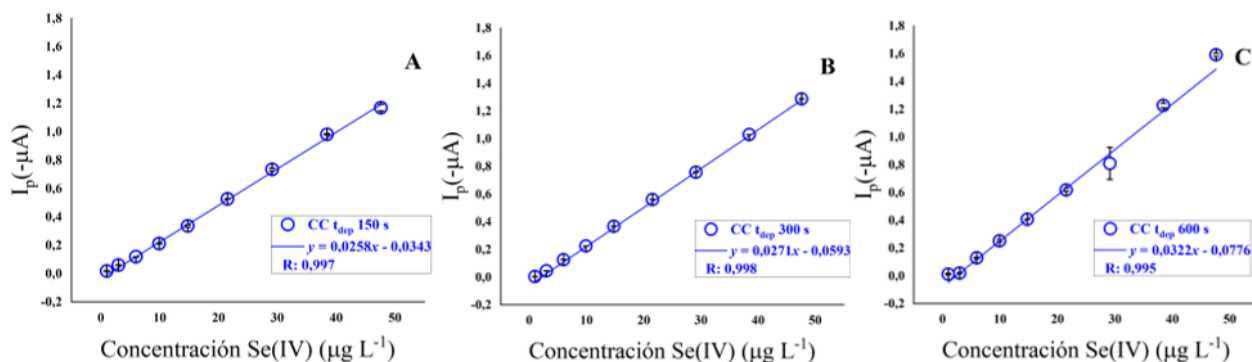


Figura 5: Curva de calibrado de Se(IV) variando el tiempo de depósito: A: 150 s , B: 300 s y C: 600 s . Fueron utilizadas las mismas condiciones de depósito y preconcentración de Se(IV) que en la Figura 1

La Figura 5 permite observar que no existe una variación importante en la sensibilidad producto de la variación del tiempo. Para las tres condiciones estudiadas, la respuesta analítica fue lineal para todas las concentraciones de Se(IV) utilizadas. Para un tiempo de depósito de 300 s, se alcanzaron los mayores valores de pendiente de la curva de calibrado y un coeficiente de correlación (R) más cercano a la unidad. Lo cual, en concordancia con los resultados del estudio anterior, permitieron definir las condiciones óptimas para la formación de la película de bismuto: Bi(III) 100,0  $\text{mg L}^{-1}$ , potencial y tiempo de depósito de -0,8 V y 300 s, respectivamente. El medio utilizado fue una disolución tampón ácido acético/acetato 0,5  $\text{mol L}^{-1}$  de pH 4,5.

Todos los estudios posteriores fueron realizados bajo las condiciones anteriormente señaladas.

## Estudio de las condiciones óptimas para la preconcentración de Se(IV)

En esta sección, se analizaron los parámetros experimentales que afectan la preconcentración de Se(IV). Dentro de estos se encuentran: pH, composición y concentración del electrolito soporte, potencial y tiempo de preconcentración, potencial y tiempo de limpieza del electrodo.

### Efecto del pH y concentración del electrolito de soporte.

Para comenzar, se analizó el efecto de la variación de pH y de la composición del electrolito soporte para generar una mejor respuesta analítica de Se(IV). El efecto del pH se estudió utilizando un tampón Britton-Robinson (BR) variando el pH mediante la adición de NaOH 2 mol L<sup>-1</sup> (Figura 6).

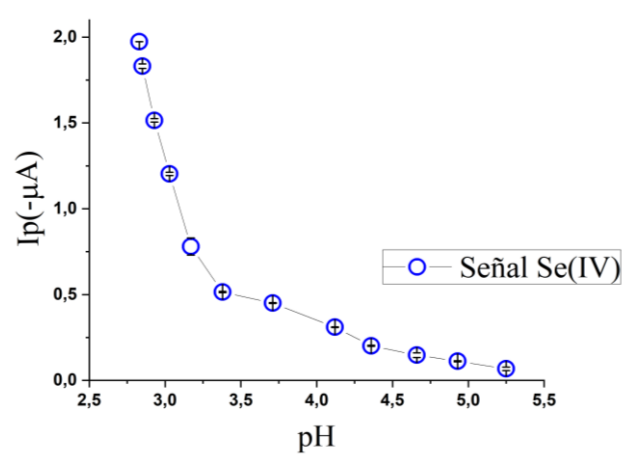


Figura 6: Efecto del pH sobre la respuesta analítica de Se(IV). Condiciones para la formación de BiFE: pH 4,5, E<sub>dep</sub> -0,8V y t<sub>dep</sub> 300 s. Condiciones de preconcentración de Se(IV): 50 mmol L<sup>-1</sup> BR, E<sub>prec</sub> -0,5 V y t<sub>prec</sub> 60s, 20 μg L<sup>-1</sup> de Se(IV).

La dependencia de la respuesta analítica por la variación del pH demostró que el uso de condiciones ácidas permite generar una mayor intensidad de corriente de reducción. En la Figura 6 se observa que a un pH igual o menor a 2,8 se obtuvieron señales de Se(IV) con mayor intensidad y simetría. En base a estos resultados, se estudió por separado el efecto de la concentración de diferentes ácidos como electrolito soporte, H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>, H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, HClO<sub>4</sub>, H<sub>3</sub>CCOOH, HCl y HNO<sub>3</sub>. El rango de concentraciones estudiado fue desde 2 a 167 mmol L<sup>-1</sup>.

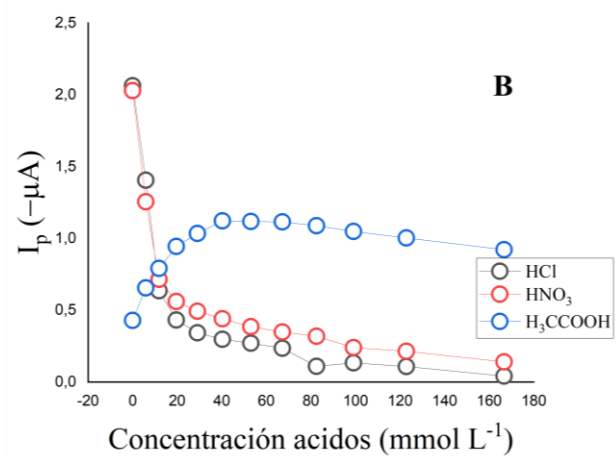
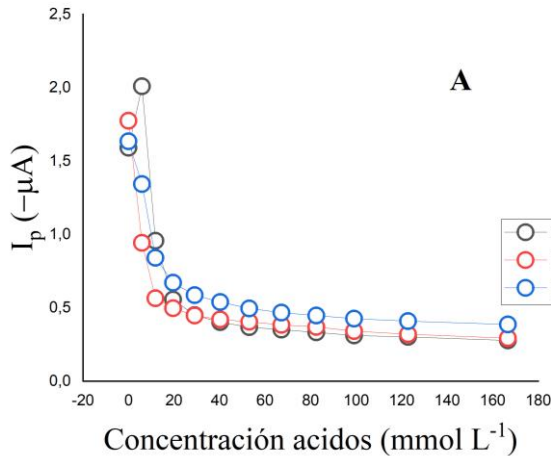


Figura 7: Efecto de diferentes ácidos como electrolito soporte en la respuesta analítica de Se(IV).

A: HClO<sub>4</sub>, H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>; B: HCl, HNO<sub>3</sub>, H<sub>3</sub>CCOOH. Condiciones como en Figura 6.

En la Figura 7, destaca principalmente el ácido acético, el cual generó un aumento en la respuesta analítica. Sin embargo, la forma y simetría de la señal obtenida no permitía realizar una correcta medición de la intensidad de la señal. Lo cual genera una disminución en la precisión y exactitud de la metodología. Los otros ácidos estudiados generaron un efecto similar sobre la respuesta analítica. A medida que se incrementó la concentración de los ácidos, la intensidad de corriente disminuyó fuertemente. Para HCl y HNO<sub>3</sub>, la intensidad de corriente fue casi completamente suprimida para concentraciones superiores a 160 mmol L<sup>-1</sup>. El efecto de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, HClO<sub>4</sub> y H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> fue similar, reduciendo la respuesta analítica a medida que la concentración de los ácidos fue aumentada. El uso de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> fue descartado en comparación a los otros dos ácidos por generar una señal menos simétrica, dificultando medición de la intensidad de corriente.

En función de los resultados obtenidos, se determinaron dos electrolitos apropiados, H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> y HClO<sub>4</sub>. A través de la comparación de la sensibilidad (pendiente de la curva de calibrado), rango lineal y la forma de la señal que permita una medición exacta de la intensidad de corriente fue determinado el electrolito soporte más apropiado (Figura 8).

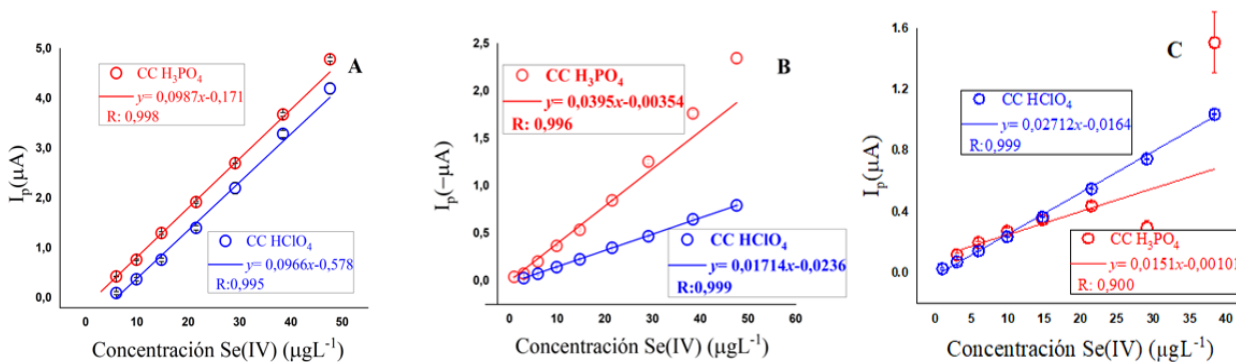


Figura 8: Curvas de calibrado de Se(IV) en presencia de diferentes concentraciones de  $\text{H}_3\text{PO}_4$  y  $\text{HClO}_4$ . A:  $12 \text{ mmol L}^{-1}$ , B:  $20 \text{ mmol L}^{-1}$  y C:  $50 \text{ mmol L}^{-1}$  de ácido. Condiciones como en Figura 6.

En la Figura 8A, ambas curvas presentan valores de pendiente altos y buen valor de correlación R. Sin embargo, el intercepto es un orden de magnitud mayor que el resto de las curvas, además de presentar una línea base asimétrica, que impedía una correcta medición de la señal de Se(IV) por lo que se descartó esta concentración. En la Figura 8B, la pendiente de la curva del ácido fosfórico es mucho mayor que el ácido perclórico, sin embargo, se observó una pérdida de la linealidad de la respuesta a medida que la concentración de Se(IV) fue aumentada en comparación a  $\text{HClO}_4$ . Finalmente, en la Figura 8C, se obtiene que el ácido fosfórico pierde por completo la linealidad y el ácido perclórico entrega una pendiente mayor que en la Figura 8B y menor intercepto, por ello, se determinó que dicha concentración y electrolito era el más apropiado para generar una respuesta de mayor intensidad y fácil medición. Por otra parte, al adicionar concentraciones superiores a los  $60 \text{ mmol L}^{-1}$ , la señal de Se(IV) disminuyó marcadamente por lo que no fue factible el uso de concentraciones mayores a  $60 \text{ mmol L}^{-1}$ .

#### Potencial y tiempo de preconcentración de Se(IV).

Posterior a la obtención de las condiciones de pH y de composición del electrolito soporte, se realizó un estudio para determinar el potencial y tiempo de preconcentración de Se(IV). El rango

de potencial de preconcentración estudiado fue desde -0,4 hasta -0,8 V utilizando una concentración de Se(IV) de  $20,0 \mu\text{g L}^{-1}$ . Como se observa en la Figura 9, para potenciales de preconcentración menores a -0,5 V, la señal de Se(IV) disminuye drásticamente hasta su total supresión. Un potencial de preconcentración de -0,5 V fue seleccionado como óptimo para mantener la mayor diferencia posible respecto a la oxidación de Bi. Adicionalmente, se obtuvo una menor variabilidad de la respuesta en comparación a -0,4 V.

Posteriormente, se evaluó la respuesta analítica aplicando diferentes tiempos de preconcentración, desde 0 hasta 600 s. Como se observa en la Figura 10, la intensidad de corriente aumentó linealmente hasta 90 s. Para tiempos de preconcentración mayores a 90 s, la relación  $I_p:t_{\text{prec}}$  comienza a perder la linealidad, aumentando la respuesta en función del tiempo en una relación cada vez menor. Fue definido un tiempo de preconcentración de 60 s para los estudios siguientes. Sin embargo, en base al aumento de la respuesta analítica en función del tiempo, la aplicación de tiempos de preconcentración más largos es una posibilidad para incrementar la sensibilidad de la metodología.

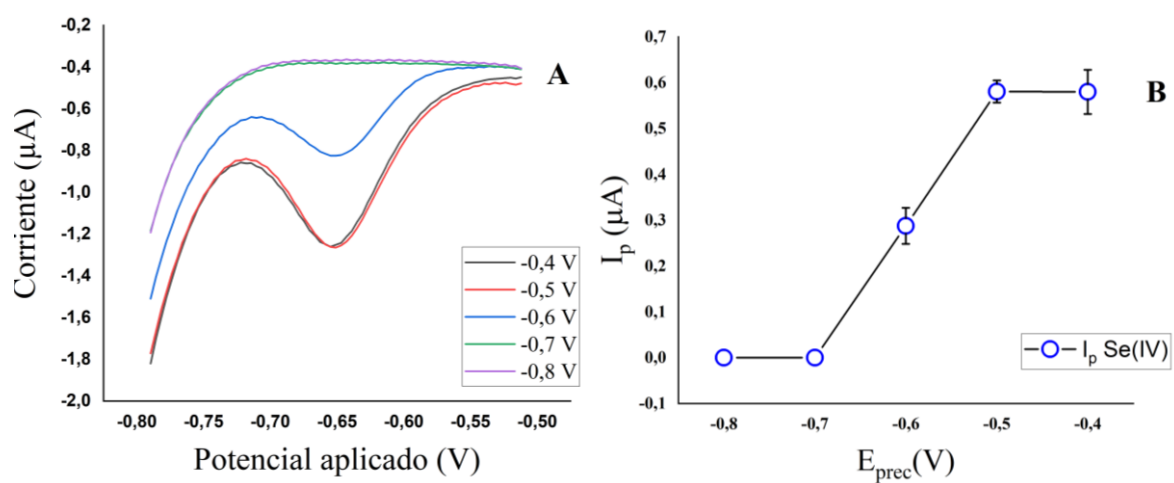


Figura 9: Efecto del potencial de preconcentración en la respuesta analítica de Se(IV) (A) Voltamperogramas obtenidos aplicando distintos potenciales de preconcentración. (B) Efecto de la

variación del potencial de preconcentración sobre la intensidad de corriente de reducción. Condiciones como en Figura 6.

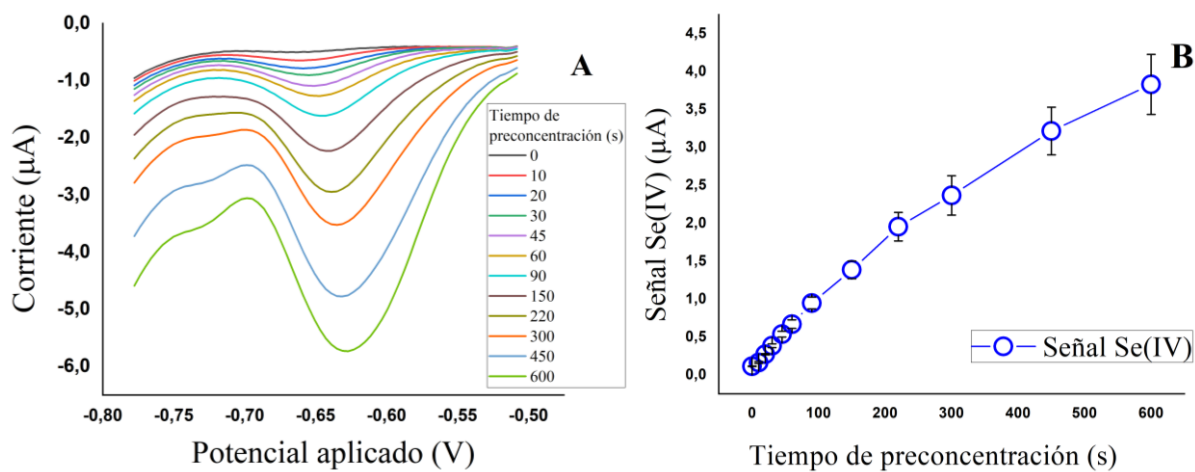


Figura 10: Efecto del tiempo de preconcentración sobre la respuesta analítica de Se(IV). (A) Voltamperogramas obtenidos aplicando distintos tiempos de preconcentración (B) Efecto de la variación del tiempo de preconcentración sobre la intensidad de corriente de reducción. Condiciones como en Figura 6.

#### Limpieza del electrodo en la celda electroquímica.

Luego de obtener las condiciones óptimas para la formación de la película de bismuto y la preconcentración de Se(IV), se estudiaron los parámetros para generar una limpieza del electrodo modificado entre cada medición. Los parámetros analizados en este estudio fueron el potencial de limpieza y tiempo de limpieza necesarios para alcanzar una alta repetibilidad y la menor disminución de la señal de reducción. En primer lugar, se estudió el potencial de limpieza aplicando los siguientes potenciales: -1,1, -0,9, -0,75, -0,5 V durante 5 s.

Tabla 4: Variación de la respuesta analítica de Se(IV) para 10 mediciones consecutivas aplicando distintos potenciales de limpieza.

Potencial limpieza (V)	$\bar{X} I_p \text{ Se(IV)}$ ( $\mu\text{A}$ )	DER(%)
-1,1	-0,373	6,04
-0,9	-0,418	3,89
-0,75	-0,355	6,44
-0,5	-0,609	10,11

En la Tabla 4, se muestra el promedio de la intensidad de corriente y la desviación estándar relativa para 10 medidas consecutivas para cada potencial de limpieza aplicado. La aplicación de potenciales más negativos que -1,0 V, favorece la descarga de hidrógeno, pudiendo afectar la estabilidad de la película de bismuto. Generando que se desprenda debido a las burbujas formadas por este gas. Por otro lado, la aplicación de potenciales cercanos al potencial de preconcentración, generaban una acumulación de Se(IV) en el electrodo en vez de favorecer la limpieza de la superficie de este. Esto se observa ya que la intensidad de corriente aumentó en el potencial de -0,5 V. La menor variación de las medidas se generó al utilizar un potencial de -0,9 V. Dicho potencial, presentó mayor intensidad de corriente y menor DER en comparación al resto de potenciales.

Tras la determinación del potencial de limpieza, se analizó el tiempo necesario que se debe aplicar la limpieza del electrodo. Para ello, se varió el tiempo aplicando 3, 6, 10 y 20 segundos. Se utilizaron como parámetros de comparación la intensidad de corriente de pico y la repetibilidad de un set de 10 mediciones consecutivas (Tabla 5).

Tabla 5: Efecto del tiempo de limpieza sobre de la intensidad de corriente. Fueron utilizadas las condiciones optimizadas de depósito y para la preconcentración de Se(IV) (Figura 6) y un potencial de limpieza de -0,9 V.

Tiempo de limpieza aplicado (s)	$\bar{X} I_p \text{ Se(IV)}$ ( $\mu\text{A}$ )	DER(%)
0	0,415	10,7
3	0,672	2,17

<b>6</b>	0,555	3,32
<b>10</b>	0,343	3,82
<b>20</b>	0,311	4,14

En la Tabla 5, se observa el efecto del tiempo de limpieza sobre la intensidad de respuesta y la repetibilidad. Sin limpieza, existe una mayor variación entre las medidas (mayor DER). El tiempo de limpieza de 3 segundos presentó en promedio mayor intensidad de corriente y menor DER que el resto de los tiempos aplicados, además, se observa que a medida que aumenta el tiempo de limpieza aplicado, aumenta la DER y disminuye en promedio la intensidad de corriente de Se(IV). Tiempos extensos de limpieza, generan que la BiFE, se debilite, acortando su vida útil. De este modo, se determinó que las condiciones de limpieza de este método son óptimas al aplicar un potencial de limpieza de -0,9 V durante 3 segundos.

A partir de los resultados obtenidos anteriormente, las condiciones óptimas para la preconcentración de Se(IV) fueron:  $\text{pH} < 2,9$  utilizando  $\text{HClO}_4$  como electrolito soporte con una concentración de  $50 \text{ mmol L}^{-1}$ , potencial de preconcentración de  $-0,5 \text{ V}$ , tiempo de preconcentración de  $60 \text{ s}$  y un proceso de limpieza aplicando un potencial de  $-0,9\text{V}$  durante  $3 \text{ s}$ .

### **Selectividad.**

La evaluación de la selectividad de la metodología se realizó determinado el efecto de diferentes iones metálicos y aniones en disolución sobre la respuesta analítica de selenio. Por otra parte, se evaluó el efecto de agentes enmascarantes que pudiesen ser utilizados para disminuir el efecto de iones interferentes.

### Agentes enmascarantes

Fue estudiado el efecto de la concentración de CDTA, EDTA y  $\text{F}^-$  sobre la respuesta analítica de Se(IV). Bajo las condiciones óptimas de preconcentración de Se(IV) y una concentración de analito



de 20,0  $\mu\text{g L}^{-1}$ , fue incrementada la concentración de cada agente enmascarante en disolución y se determinó la variación de la intensidad de respuesta analítica (Tabla 6).

Tabla 6: Efecto de la concentración de agentes enmascarantes sobre la respuesta de Se(IV)

Enmascarante (Enm)	[Enm] ( $\mu\text{mol L}^{-1}$ ) ( $\Delta\text{Ip} < 10\%$ )	$\Delta\text{Ip}$ [Enm] 480 $\mu\text{mol L}^{-1}$
EDTA	20	-28,1
CDTA	1,0	-45,8
F <sup>-</sup>	1,0	-41,4

En la Tabla 6, la primera columna presenta la concentración de cada agente que generó una variación en la intensidad de señal de Se(IV) igual o menor al 10%. Mientras que la segunda columna, representa la variación de la intensidad la señal de Se(IV) en la máxima concentración del agente adicionada (480  $\text{mmol L}^{-1}$ ). CDTA y F<sup>-</sup> fueron los agentes enmascarantes que mayor efecto tienen sobre la señal de Se(IV), para la máxima concentración estudiada la disminución de la señal de Se(IV) fue de un 45,8 y 41,4%, respectivamente. Para estudios posteriores, se determinó que la concentración de los agentes enmascarantes fuesen aquellas que no generarán una variación de la señal mayor al 10%: 20,0; 1,0 y 1,0  $\text{mmol L}^{-1}$  para EDTA, CDTA y F<sup>-</sup>, respectivamente.

#### Aniones interferentes

Fue estudiado el efecto de tres aniones comunes en muestras acuosas ( $\text{NO}_3^-$ ,  $\text{SO}_4^{2-}$  y  $\text{Cl}^-$ ). Se modificó la concentración de cada anión para una concentración de Se(IV) de 20,0  $\mu\text{g L}^{-1}$  bajo las condiciones óptimas de depósito de la película de bismuto y de preconcentración de Se(IV). La Tabla 7 muestra los resultados para la máxima concentración de cada anión que no generó una variación mayor al 10% de la respuesta analítica y la variación de la señal de Se(IV) para la máxima concentración estudiada de cada anión (0,1  $\text{mol L}^{-1}$ ).

Tabla 7: Efecto de aniones sobre la señal de Se(IV)

Anión	[anión] (mmol L <sup>-1</sup> ) ( $\Delta I_p < 10\%$ )	$\Delta I_p$ en 4,80 mmol L <sup>-1</sup>
NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	0,25	-45,7
SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup>	0,70	-28,8
Cl <sup>-</sup>	0,01	-47,8

Los aniones cloruro y nitrato fueron quienes presentaron la mayor reducción en la señal de Se(IV). Este efecto es concordante con el estudio de la composición del electrolito soporte, en el cual se observó una disminución de la señal de Se(IV) en función del aumento de la concentración de HNO<sub>3</sub> y HCl. Por su parte, el ion sulfato genera una variación de la señal de Se(IV) al igual que otros aniones. Sin embargo, la concentración de sulfato necesaria para generar una variación de la señal de Se(IV) superior a un 10% fue 0,70 mol L<sup>-1</sup>, y 2,8 veces mayor que para cloruro y nitrato, respectivamente.

### Iones metálicos

El estudio de interferencias por parte de iones metálicos: Ag(I), Al(III), As(V), Ba(II), Be(II), Bi(III), Ca(II), Cd(II), Co(II), Cr(III), CrO<sub>4</sub><sup>2-</sup>, Cs(I), Cu(II), Fe(III), Ga(III), Ge(IV), Hg(II), K(I), Li(I), Mg(II), Mo(VI), Na(I), Ni(II), Pb(II), Ru(III), Sb(III), Sc(III), Sn(IV), Te(VI), Ti(I), V(V), W(VI), Zn(II) y Zr(IV) se llevó a cabo adicionando dichos iones en diferentes relaciones analito: interferente. La Tabla 8 resume los resultados obtenidos, donde se reporta la relación analito: interferente que no genera una variación de la respuesta analítica mayor al 10% y la variación de la respuesta analítica para la máxima relación analito: interferente estudiada 1:500.

Tabla 8: Efecto de diferentes iones metálicos sobre la respuesta de Se(IV) bajo condiciones óptimas de depósito y preconcentración de Se(IV) en presencia de agentes enmascarantes.

Enmascarantes	Concentración $\mu\text{mol L}^{-1}$
CDTA	1,0

<b>EDTA</b>	<b>20</b>				
<b>F<sup>-</sup></b>	<b>1,0</b>				
<b>Iones metálicos (int)</b>	<b>[Int]:[Se(IV)] (ΔIp &lt; 10%)</b>	<b>ΔIp [int]:[Se(IV)] 500:1</b>	<b>Iones metálicos (int)</b>	<b>[Int]:[Se(IV)] (ΔIp &lt; 10%)</b>	<b>ΔIp [int]:[Se(IV)] 500:1</b>
<b>Cd(II)</b>	1	-60,2	<b>Ba(II)</b>	500	0
<b>Ge(IV)</b>	1	-83,9	<b>Al(III)</b>	500	0
<b>Cu(II)</b>	1	-100	<b>Mg(II)</b>	500	0
<b>Sn(IV)</b>	1	-100	<b>Tl(I)</b>	500	0
<b>W(VI)</b>	1	+100	<b>Te(VI)</b>	500	0
<b>Mo(VI)</b>	1	-100	<b>As(V)</b>	500	0
<b>Sb(III)</b>	1	+100	<b>Ni(II)</b>	500	0
<b>Cr(VI)</b>	2	-26,6	<b>Co(II)</b>	500	0
<b>Ru(III)</b>	2,5	+100	<b>Zr(IV)</b>	500	0
<b>Pb(II)</b>	3,5	-15,7	<b>Ca(II)</b>	500	0
<b>Hg(II)</b>	5	-11,1	<b>Na(I)</b>	500	0
<b>Ga(III)</b>	5	-23,9	<b>Cs(I)</b>	500	0
<b>Zn(II)</b>	375	-11,7	<b>Ag(I)</b>	500	0
<b>V(V)</b>	500	-3,3	<b>K(I)</b>	500	0
<b>Bi(III)</b>	500	-3,1	<b>Cr(III)</b>	500	0
<b>Li(I)</b>	500	0	<b>Sc(II)</b>	500	0
<b>Be(II)</b>	500	0	<b>Fe(III)</b>	500	0

El efecto de iones metálicos sobre la señal de Se(IV) se realizó en presencia de las concentraciones máximas de agentes enmascarantes estudiados que no generaron una variación de la respuesta analítica mayor al 10% (20; 1,0; 1,0 mmol L<sup>-1</sup> para EDTA, CDTA y F<sup>-</sup>, respectivamente).

A partir de los resultados incluidos en la Tabla 8, fue posible definir que iones Cd(II), Ge(IV), Cu(II), Sn(IV), W(VI), Mo(VI) y Sb(III) son los interferentes más relevantes. Sin embargo, Cd(II), Ge(IV), Sn(IV) y W(VI) se encuentran en bajas concentraciones en muestras reales (Jianbo, 2002), (Terán-Baamonde y col., 2018), (Grabarczyk, y col., 2023). Mo(VI) se encuentra presente en muestras reales, pero en concentraciones bajo 2-3 μg L<sup>-1</sup> (Pyrzynska, 2007). En el caso de antimonio, su presencia en aguas naturales es principalmente como Sb(V) el cual no es electroactivo, siendo la concentración de Sb(III) inferior a 1 μg L<sup>-1</sup> (Lukáčová-Chomisteková, 2017). La interferencia más importante es la generada por la presencia de Cu(II), el cual si está presente en muestras reales en concentraciones variables. los iones de W(VI), Sb(III) y Ru(III) son interferentes que generar un aumento en la respuesta de la señal de selenio. Ru(III) y W(VI) por superposición de sus respectivas señales de reducción. En el caso de Sb(III), se observó un

desplazamiento de la señal de Se(IV) con un aumento relevante en la intensidad de la respuesta analítica. Este resultado es interesante desde el punto de vista que permitiría aumentar la sensibilidad de la metodología. Ciertos iones como cromato, Pb(II), Hg(II) y Ga(III) generaron interferencia en una relación de Se(IV):interferente menor o igual a 1:5, reduciendo la señal en un 10%. Sin embargo, en una relación de 1:500 para Se(IV): Int, no presentaron una reducción superior al 30% de la señal original. El resto de los iones no generaron variación de la respuesta analítica superior a  $\pm 10\%$  en concentraciones 500 veces superior a Se(IV), a excepción de Zn(II) que a concentración 375 veces mayor que Se(IV) generó un decrecimiento de la señal de Se(IV) mayor al 10%.

#### Disminución de la interferencia de Cu(II)

Se utilizó acetonitrilo como agente complejante para la reducción de la interferencia de Cu(II) en la respuesta analítica de Se(IV). Para ello, se comparó el efecto en la respuesta de Se(IV) a diferentes porcentajes de AcN en la celda electroquímica. En este estudio, se generó una solución muestra con  $3 \mu\text{g L}^{-1}$  de Se(IV) en presencia de  $150 \mu\text{g L}^{-1}$  Cu(II) que se determinaron mediante la utilización de la técnica adición de estándar (Tabla 9).

Tabla 9: Efecto del porcentaje de AcN en la señal de Se(IV).

<b>%AcN en disolución</b>	<b>[Se(IV)] (<math>\mu\text{g L}^{-1}</math>)</b>
<b>0</b>	---
<b>5</b>	1,18
<b>10</b>	2,23
<b>25</b>	2,83
<b>50</b>	2,98

El Cu(II), no presenta interferencia ni reacciona con el Se(IV), debido a que el agua genera una solvatación de este catión, sin embargo, en la reducción ocurrida en el cátodo de la celda, genera las condiciones óptimas para la formación del seleniuro de cobre, dicha interacción desplaza la ventana voltamperométrica y ensancha el pico de selenio, lo que impide su correcta medición. El AcN en disolución según (MacLeod, 1981), genera una solvatación de Cu(I), lo que impide en cierto grado la formación de este seleniuro, por ello, un mayor contenido de AcN en la disolución de Se(IV), aumenta su correcta cuantificación.

En la Tabla 9, se muestra el estudio a diferentes porcentajes de AcN en celda, y el valor obtenido de concentración de Se(IV), pendiente e intercepto de la recta. Se observó un aumento del valor obtenido de [Se(IV)] a medida que se aumentó el porcentaje de AcN. Los valores de pendiente e intercepto no varían en gran medida, con excepción de 5% de AcN, pero dicha medida se descartó por el error asociado en la cuantificación de Se(IV). El valor más cercano a la concentración de la muestra y con mayor valor de correlación fue 50% de AcN en disolución.

La adición de acetonitrilo a disolución para la determinación de Se(IV) generó que el pico de reducción fuese más asimétrico. Con el objetivo de generar una señal más simétrica para una edición de la intensidad de corriente de pico más exacta, se compararon los resultados de la construcción de una curva de calibrado utilizando voltamperometría de onda cuadrada (Figura 11A) y de pulso diferencial (Figura 11B) en presencia de un 50% de acetonitrilo.

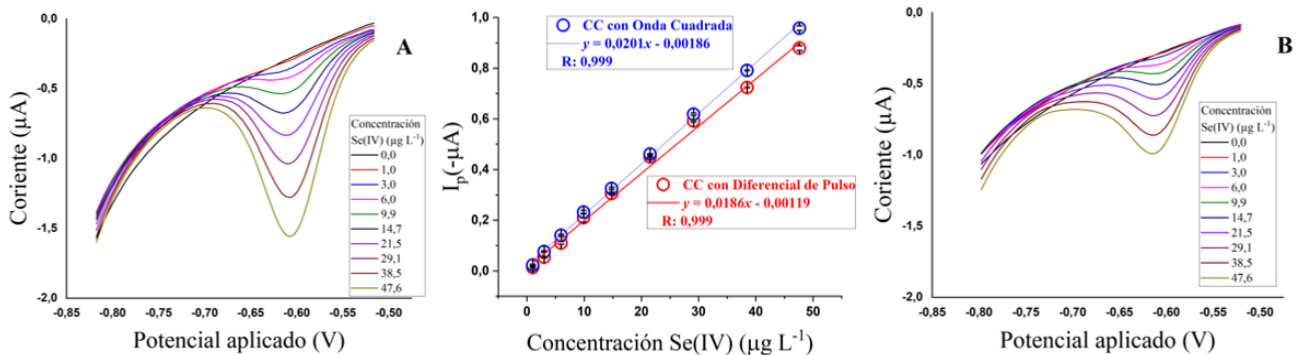


Figura 11: Curvas de calibrado de Se(IV) utilizando las técnicas de barrido (A) onda cuadrada y (B) diferencial de pulso. Condiciones como en la Figura 6.

La voltamperometría de onda cuadrada presentó una mayor sensibilidad que la voltamperometría de pulso diferencial, evidenciable al comparar la pendiente de ambas curvas de calibrado. Los valores de intercepto obtenidos con ambas técnicas son muy cercanos a cero, lo cual demuestra una buena proporcionalidad entre la concentración de Se(IV) y la intensidad de respuesta analítica. Por lo tanto, se determinó que en presencia de acetonitrilo la técnica con mejor desempeño fue la voltamperometría de onda cuadrada.

Con el objetivo de evaluar el efecto de Cu(II) sobre la señal de Se(IV) en presencia y ausencia de AcN, se realizó la adición de alícuotas de un estándar de Cu(II) para alcanzar una concentración entre 10 y 450  $\mu\text{g L}^{-1}$ . En la Figura 12 se gráfica la intensidad de la señal de Se(IV) en función de la concentración de Cu(II) en presencia y ausencia de un 50% de acetonitrilo. Dentro de la Figura 12 se incluye el decaimiento porcentual de la señal de Se(IV) en presencia y ausencia de AcN.

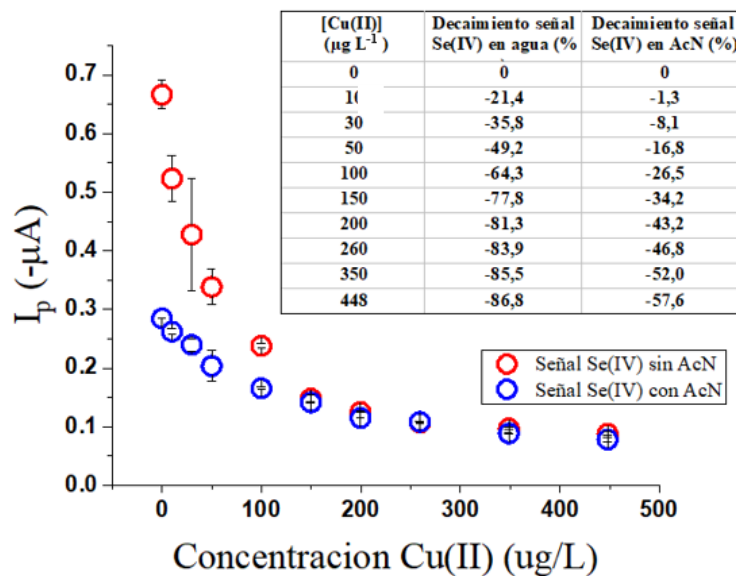


Figura 12: Comparación entre el efecto del Cu(II) sobre la señal de Se(IV) en presencia (A) y ausencia (B) de acetonitrilo en una relación 1:1 de AcN:disolución acuosa. Condiciones como Figura 6.

La adición de Cu(II) generó el decaimiento de la señal de Se(IV) en ausencia y presencia de AcN. Si bien, se reduce la intensidad de señal de selenio en presencia de AcN, el descenso de la señal de Se(IV) es menor y por tanto mantiene un comportamiento más estable al ir aumentando la concentración de Cu(II) en disolución que en ausencia de AcN. Adicionalmente, basado en los resultados de la determinación de Se(IV) en presencia de Cu(II) utilizando un electrolito acetonitrilo-agua, se demostró que presencia del solvente orgánico permitía alcanzar una buena exactitud.

### Figuras de mérito

Utilizando las condiciones experimentales optimizadas, fueron construidas curvas de calibrado utilizando adiciones de Se(IV) desde 1,0 hasta 48  $\mu\text{g L}^{-1}$  en presencia y ausencia de acetonitrilo en la disolución. En la Figura 13 se muestran los voltamperogramas y la curva de calibrado en ausencia de acetonitrilo. La regresión lineal generó una recta con pendiente de 0,0282  $\mu\text{A L } \mu\text{g}^{-1}$  e intercepto

-0,00363  $\mu\text{A}$  (Ecuación 1). En presencia de acetonitrilo la ecuación de la regresión línea fue 0,0201  $\mu\text{A L } \mu\text{g}^{-1}$  e intercepto -0,00218  $\mu\text{A}$  (Ecuación 2, Figura 14). Se utilizaron las Ecuaciones 3 y 4 para calcular el límite de detección (LD) y límite de cuantificación (LQ) de este método en ambas condiciones (Miller, 1988). El LD y LQ en ausencia de AcN y utilizando voltamperometría de pulso diferencial fue 0,143  $\mu\text{g L}^{-1}$  y 0,435  $\mu\text{g L}^{-1}$ , respectivamente. En presencia de AcN y utilizando voltamperometría de onda cuadrada se determinó un LD de 0,428  $\mu\text{g L}^{-1}$  y un LQ de 1,297  $\mu\text{g L}^{-1}$  para Se(IV).

$$LD = \frac{3,3S_B}{m} \quad Ec. (1)$$

$$LQ = \frac{10S_B}{m} \quad Ec. (2)$$

Siendo  $S_B$  la desviación estándar del intercepto y  $m$  la pendiente.

Tanto en presencia como en ausencia de AcN la linealidad se mantuvo en todo el rango de concentraciones utilizado, desde 1,0 hasta 48,0  $\mu\text{g L}^{-1}$  de Se(IV).

La precisión de la metodología en presencia y en ausencia de AcN, expresada como repetibilidad fue de un 4,95 y 6,99 %, respectivamente. Determinada para un set de medidas consecutivas ( $n=15$ ) bajo las mismas condiciones experimentales, la misma disolución y electrodo de película de bismuto. Por otra parte, la reproducibilidad fue de un 10,5 % en presencia de AcN. Este parámetro se obtuvo a partir del análisis de la señal analítica de 24 mediciones realizadas con diferentes disoluciones y electrodo de película de bismuto, pero mismas condiciones experimentales. La reproducibilidad en ausencia de acetonitrilo no fue determinada ya que la aplicación de esta metodología será mayormente en presencia de este disolvente por la presencia común de Cu(II) en muestras reales. Ambos parámetros fueron determinados utilizando una disolución Se(IV) de concentración 20  $\mu\text{g L}^{-1}$ .



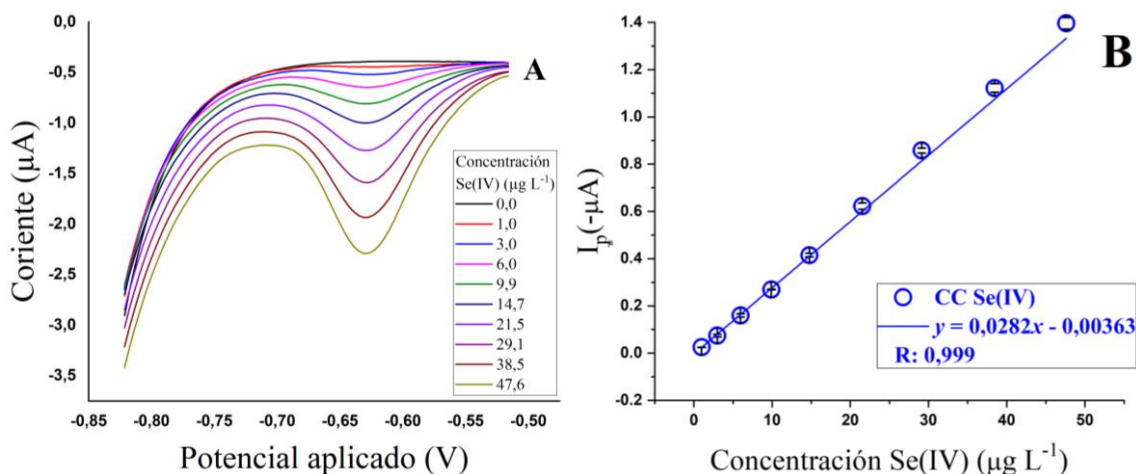


Figura 13: (A) Voltamperogramas de diferencial de pulso (B) Curva de calibrado de 1,0; hasta 48  $\mu\text{g L}^{-1}$  de Se(IV) en condiciones optimizadas de depósito y preconcentración de Se(IV).

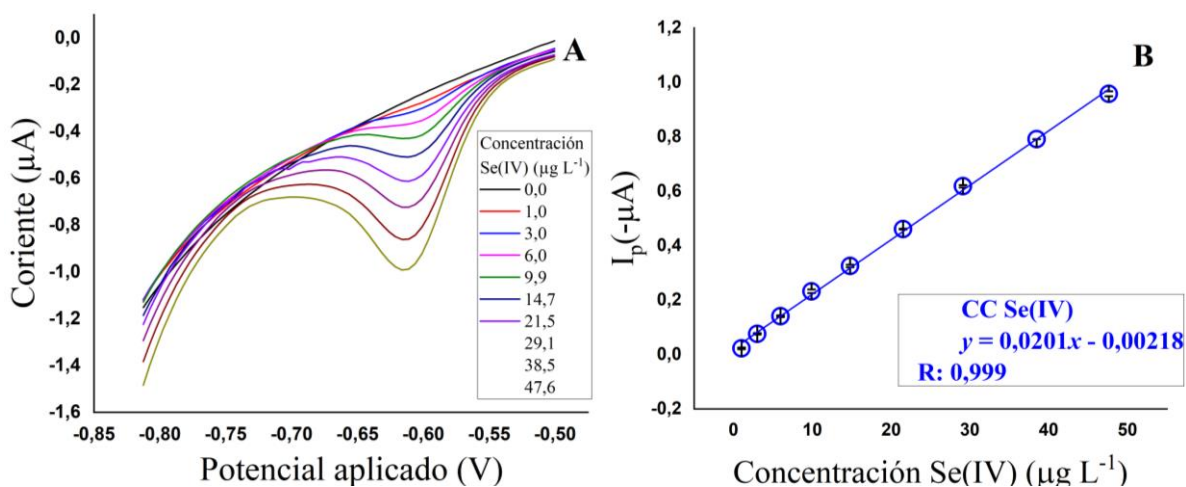


Figura 14: Voltamperogramas de onda cuadrada de 1,0; hasta 48  $\mu\text{g L}^{-1}$  de Se(IV) en condiciones optimizadas de depósito y preconcentración de Se(IV).

La metodología desarrollada al ser comparada con otros reportes previos (Tabla 3), es posible observar que a pesar de la disminución de la sensibilidad por la utilización de AcN permite la determinación de Se(IV) en los mismos rangos de concentración y con un límite de detección del mismo orden. Idris y col. reportaron una metodología para la determinación de Se(IV) utilizando  $\text{H}_2\text{SO}_4$  0,1 mol  $\text{L}^{-1}$  como electrolito soporte y un electrodo de carbono vítreo modificado con

nanopartículas de oro. El LD reportado fue  $0,64 \mu\text{g L}^{-1}$  aplicando el mismo tiempo de preconcentración que en el método descrito en este seminario (60 s) y mantiene una respuesta lineal hasta  $50 \text{ mg L}^{-1}$  (Idris col. 2015). Por otra parte, Shiba y col. utilizando un electrodo de carbono modificado con nanopartículas de oro electrodepositadas lograron alcanzar un límite de detección 10 veces superior ( $10 \mu\text{g L}^{-1}$ ) que el reportado en este seminario (Shiba y col. 2019).

Por su parte, Fakude y col. desarrollaron una metodología que requiere un menor tiempo de preconcentración, con un límite de detección inferior al reportado en este trabajo y un mayor rango lineal. No obstante, la preparación del electrodo utilizado consiste en la modificación de un electrodo de carbono vítreo con polvo de grafito y óxido de grafeno. La modificación requiere a lo menos de 12 h de preparación, incrementando el tiempo de análisis sin generar un incremento relevante de la sensibilidad (LD:  $0,092 \mu\text{g L}^{-1}$ ) (Fakude y col. 2019).

Los trabajos reportados por Merino y col, y Martins y Djenaine presentaron un tiempo de preconcentración de Se(IV) de 45 segundos. Los LD reportados fueron  $0,065$  y  $0,080 \mu\text{g L}^{-1}$  para Se(IV), respectivamente. En ambos casos se utiliza electrodo de trabajo que contiene mercurio, lo cual disminuye su aplicabilidad por las restricciones asociadas al uso de mercurio. (Merino y col. 2019) y (Martins y Djenaine. 2021)

### Validación de la metodología y análisis de muestras reales

Bajo las condiciones experimentales optimizadas, se aplicó este método para la determinación de Se(IV) en 2 materiales de referencia certificados: TM-28,4 y TMDA- 62,2 los que contienen diferentes concentraciones de Se(IV). Los resultados se muestran en la Tabla 10.

Tabla 10: Concentración promedio de Se(IV) utilizando materiales de referencia

MRC	Promedio valor medido $\pm$ DE ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )	Valor material certificado $\pm$ DE ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )	Error (%)
<b>TMDA-62,2</b>	$52,3 \pm 0,30$	$53,4 \pm 6,9$	2,1
<b>TM-28,4</b>	$4,61 \pm 0,81$	$4,59 \pm 0,65$	0,4

MRC: Material de referencia certificado. Valores expresados en  $\mu\text{g L}^{-1}$ .

Los resultados obtenidos demuestran una muy buena exactitud de la metodología, presentando un error relativo inferior al 3% en ambos casos. Por otra parte, los materiales de referencia certificados contenían algunos de los iones metálicos que presentaron mayor efecto sobre la señal de Se(IV). En la Tabla 11 se reporta la concentración de cada uno de estos iones para cada material de referencia certificado.

Tabla 11. Composición de los materiales de referencia para algunos iones seleccionados.

MRC	Cu(II)	Mo(VI)	Cd(II)	Ge(IV)	Sn(IV)	W(VI)	Sb(III)	Se(IV)
<b>TMDA-62,2</b>	93,5	101	93,0	---	109	---	61,0	53,4
<b>TM-28,4</b>	6,52	3,82	1,91	---	3,78	3,90	3,42	4,59

MRC: Material de referencia certificado. Valores expresados en  $\mu\text{g L}^{-1}$ .

### Muestras reales.

La aplicabilidad del método fue evaluada a través de la determinación de Se(IV) en cuatro muestras reales: agua mineral comercial fortificada en selenio, agua de pozo de Batuco (Padre Hurtado), agua del río Loa (Calama) y agua potable. Previo al análisis voltamperométrico, las muestras fueron digeridas utilizando peróxido de hidrógeno y radiación UV con el objetivo de eliminar la materia orgánica presente. Los resultados obtenidos se resumen en la Tabla 11. Al no ser detectado Se(IV) en agua de río, potable y de pozo, estas fueron dopadas con  $3,00 \mu\text{g L}^{-1}$  de Se(IV). Para la determinación de Se(IV) en muestras dopadas y agua mineral comercial fortificada se utilizó el método de la adición de estándar para minimizar el efecto de la matriz.

Tabla 12: Resultados de los análisis de muestras reales dopadas y agua mineral fortificada.

Muestras reales dopadas	Promedio Conc. Se(IV) $\pm$ DE ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )	Conc. Se(IV) dopado	Error (%)
Agua pozo batuco (Padre Hurtado)	$2,98 \pm 0,12$	3,00	-0,2
Agua rio Loa (Calama)	$3,16 \pm 0,03$	3,00	5,2
Agua potable	$3,12 \pm 0,12$	3,00	3,8
Muestra real con Selenio	Promedio Conc. Se(IV) $\pm$ DE ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )	Conc. Se(IV) reportado ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )	Error (%)
Agua mineral comercial fortificada con selenio	$26,7 \pm 0,88$	$28,0 \pm \text{NR}$	-4,5

NR: No reportado

A partir de los resultados expuestos es posible señalar que la metodología reportada presentó una sensibilidad mayor o similar a lo descrito en literatura. Por otra parte, a pesar de existir iones metálicos que son potenciales interferentes, estos en las muestras reales no se encuentran en concentraciones que generen una desviación de los resultados esperados. Lo cual fue demostrado tanto en el análisis de materiales de referencia certificado como en el análisis de muestras reales dopadas. Por otra parte, la utilización de acetonitrilo como un medio para disminuir la interferencia de Cu(II) no ha sido descrito anteriormente. La adición de AcN demostró ser eficiente en la reducción del efecto como interferente de Cu(II).

Otro punto relevante es que la metodología utiliza un electrodo más amigable con el medio ambiente al no requerir el uso de mercurio. Anteriormente Sharifian y col. Utilizando un electrodo de bismuto reportaron que era necesario adicionar mercurio para generar una película mixta y mejorar la línea base obtenida en el medio de determinación HCl 1 mol L<sup>-1</sup>. En este trabajo, se demostró que al realizar una modificación del electrolito soporte es factible la determinación de Se(IV) sin la necesidad de utilizar mercurio.

## Conclusiones

La investigación llevada a cabo en este seminario de título tenía por objetivo desarrollar una metodología que permitiera la detección y cuantificación de selenio(IV) a través de voltamperometría de stripping catódico utilizando un electrodo de carbono vítreo modificado con una película de bismuto libre de mercurio.

La detección y cuantificación de Se(IV) fue exitosa, alcanzando una buena repetibilidad, reproducibilidad, exactitud y precisión. Por otra parte, la sensibilidad de la metodología es comparable con lo existente en literatura. Por otra parte, el tiempo de preconcentración utilizado es relativamente corto (60 s). La obtención de las condiciones experimentales para la formación de la película de Bi(III) y determinación de Se(IV) favorecieron la determinación de este elemento.

Se evaluaron los posibles interferentes como iones metálicos, aniones inorgánicos y agentes enmascarantes. Esta metodología permite la determinación de Se(IV) en una gran variedad de iones metálicos presentes en disolución, sin embargo, la presencia de ciertos iones como el Cd(II), Ge(IV), Cu(II), Sn(IV) Sb(III), W(VI) y Mo(IV) los que generaron un desplazamiento, reducción o amplificación de la señal analítica de Se(IV). La interacción que genera el cobre es una de las más importantes de este estudio, fue posible la reducción de la interferencia con la adición de acetonitrilo al 50% en celda.

La aplicabilidad de este método fue demostrada utilizando materiales de referencia certificados y muestras reales, obteniendo resultados precisos y con un error asociado inferior al 5%.

Se puede concluir que este método cumplió la hipótesis planteada, generando una determinación de Se(IV) selectiva, sensible y reproducible.

## **Bibliografía.**

- Agencia para Sustancias Tóxicas y el Registro de Enfermedades (ATSDR). 2003. *Reseña Toxicológica del Selenio*, Atlanta, GA: Departamento de Salud y Servicios Humanos de los EE.UU., Servicio de Salud Pública.
- Ahmed, M. y col. 2015. A highly selective and sensitive spectrophotometric method for the determination of selenium using 2-hydroxy-1-naphthaldehyde-orthoaminophenol. *Anal. Methods*, 7(18):7811–7823
- Akbaba, T. N., & Aacar, O., (2022). Determination of Cadmium and Selenium in Food Samples by Electrothermal Atomic Absorption Spectrometry using Ni plus Pt Modifier Mixture. *JOURNAL OF ANALYTICAL CHEMISTRY* , vol.77, no.5, 555-562.
- Arthur, J.R., Beckett, G.J. (1989). Selenium Deficiency and Thyroid Hormone Metabolism. In: Wendel, A. (eds) *Selenium in Biology and Medicine*. Springer, Berlin, Heidelberg. 978-3-642-74421-1 pp 90–95
- Arthur J, Beckett G.1994. Symposium 2 Newer aspects of micronutrients in at risk groups. New metabolic roles for selenium. *Proceedings of the Nutrition Society*, 53(3), 615-624.
- Aydin H. 2017. Voltammetry of Se (IV) Part I: Cyclic Voltammetric Study of Se (IV) on HMDE in HNO<sub>3</sub>. *Electrochimica Acta*. Vol 245. Pp 395-402
- Barrientos, E. 2016. Determination of SeMet and Se(IV) in biofortified yeast by ion-pair reversed phase liquid chromatography-hydride generation-microwave induced nitrogen plasma atomic emission spectrometry (HPLC-HG-MP-AES). *J. Anal. At. Spectrom.* 31, 203-211
- Beckett, G. J., & Arthur, J. R. (2005). Selenium and endocrine systems. *The Journal of endocrinology*, 184(3), 455–465
- Behne, D., & Kyriakopoulos, A. (2001). Mammalian selenium-containing proteins. *Annual review of nutrition*, 21, 453–473

- Bizerea-Spiridon, O., Nartita, R., Rogobete, A. F., Negrea, A., Stroescu, R., Bizerea, T. O., Ilie, C., & Marginean, O. (2017). Spectrophotometric Determination of Selenium Through Triiodide Anion. *Clinical laboratory*, 63(5), 887–899.
- Björnstedt, M., y col. 1997. Selenium and the thioredoxin and glutaredoxin systems. *Biomedical and environmental sciences: BES*, 10(2-3), 271-279.
- Cannon HG. 1964 Geochemistry of rocks and related soils and vegetation in the Yellow Cat area, Grand County, Utah. USGS Publications Warehouse 1176. Pp 20-29
- Carlos, R y col. 2019 Determination of molybdenum(VI) via adsorptive stripping voltammetry using an *ex-situ* bismuth screen-printed carbon electrode. *Microchemical Journal*. Vol. 154. 04589. 0026-265X.
- Citak, D. & Tuzen, M. 2017. Solidified floating organic drop microextraction for speciation of Se (IV) and Se (VI) in water samples prior to electrothermal atomic absorption spectrometric detection. *Turkish Journal of Chemistry*: Vol. 40: 6-14.
- Dauchy, X., Potin-Gautier, M., Astruc, A., and Astruc, M., *Fresenius J. Anal. Chem.*, 348 (1994) 792.
- Devi, P. y col. 2017. Ultrasensitive and Selective Sensing of Selenium Using Nitrogen-Rich Ligand Interfaced Carbon Quantum Dots. *ACS Applied Materials & Interfaces*. Vol 9. (15) 13448-13456.
- Diaz J. y col. 1996. Determination of selenium in cereals, legumes and dry fruits from southeastern Spain for calculation of daily dietary intake. *The Science of the total environment*, 184(3), 183–189.
- Donner, M. Y col, 2018. A rapid and sensitive IC-ICP-MS method for determining selenium speciation in natural Waters. *Canadian Journal of Cheministry*. Vol 96

- Dos Santos, y col, 2016. Determination of Selenium in Eggs of Different Birds Using Sample Digestion in a Reflux System and Hydride Generation Atomic Fluorescence Spectrometry. *Current Analytical Chemistry* 2016; 12(2).
- Ekermans, L.& Schneider J. 1982. Selenium in livestock production: A review. *J. South Afr. Vet. Assoc.* v. 53, n. 4, p.223-228.
- El-Egamy, SS. 2006. Electrochemical behavior of antimony and antimony oxide films in acid solutions. *Corrosion.* Vol 62.
- EPA. 2009. National Primary Drinking Water Regulation Table. Disponible: EPA 816-F-09-004
- Fakude C., y col. 2019 Nitrogen-doped Graphene Electrochemical Sensor for Selenium (IV) in Water. *International journal of electrochemical science.* Vol 14. 9391-9403.
- Fang, G, y col. 2015. An ionic liquid improved HPLC-ICP-MS method for simultaneous determination of arsenic and selenium species in animal/plant-derived foodstuffs. *Anal. Methods.* Vol 7.
- Flouda, K. y col. 2016. Quantification of low molecular weight selenium metabolites in human plasma after treatment with selenite in pharmacological doses by LC-ICP-MS. *Anal Bioanal Chem* 408, 2293–2301.
- Grabarczyk M, Wardak C, Piech R, Wawruch A. 2023 An Electrochemical Sensor for the Determination of Trace Concentrations of Cadmium, Based on Spherical Glassy Carbon and Nanotubes. *Materials.* 16(8):3252.
- Glover y col. 1979. *Handbook on Toxicology of Metals*, pp. 555-577. Elsevier/North Holland Biochemical Press, Amsterdam.
- Goehring, T. y col. 1984. Effects of seleniferous grains and inorganic selenium on tissue and blood composition and growth performance of rats and swine. *J. Anim. Sci.* v. 59, p. 725-732.



- Hernández, H., & Rios, M. 2009. Rol biológico del selenio en el humano. *Química Viva*, 8(2), 64-79.
- Holben, D. 1999. The diverse role of selenium within selenoproteins: A review. *J. Am. Diet. Assoc.* v. 99, n. 7, p. 836-843
- Huang, T. y col. 2020. Hollow Zinc Oxide Microflowers for Selective Preconcentration of Selenium Ions in Natural Water. *Current Analytical Chemistry*. Vol 15
- Idris, A. y col. 2017. Electrochemical co-detection of Arsenic and Selenium on a Glassy Carbon Electrode Modified with Gold Nanoparticles. *Int. J. Electrochem. Sci.* Vol 12. 10-21
- Idris, A., y col. 2015 Electroanalysis of selenium in water on an electrodeposited gold-nanoparticle modified glassy carbon electrode, *Journal of Electroanalytical Chemistry*. *Int. J. Electrochem. Sci.* Vol 758. Pp 7-11
- Idris, A., y col. 2017. Electrochemical detection of selenium using glassy carbon electrode modified with reduced graphene oxide. *Int. J. Environmental Analytical Chemistry*. Vol 97. 1-14.
- James, L. y col. 1992 Suspected phyto-genic selenium poisoning in sheep. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* v. 180, p. 1478-1481.
- Jianbo, S, Zhiyong, T, Chunhua, T, Quan and J. Zexiang, *Talanta*, 2002, 56, 711–716.
- Kanchi, S. y col. 2017. Quantification of Se(IV) and Co(II) in *Macrobrachium lamarrei*, freshwater prawns and their feeding materials. *Arabian Journal of Chemistry*. Vol 25.
- Karlıdag, N. 2020. Zirconium nanoparticles based dispersive solid phase extraction prior to slotted quartz tube-flame atomic absorption spectrophotometry for the determination of selenium in green tea samples. *Food chemistry*, 329, 127210.
- Köhrle, F. y col 2005. Selenium, the Thyroid, and the Endocrine System. *Endocrine reviews*. Vol 26(7). 944-984.

- Korolczuk, M y col. 2009. Determination of cadmium by stripping voltammetry at a lead film electrode. *International Journal of Environmental Analytical Chemistry*, 89:8-12, 727-734.
- Laurenti, R. y col. 2016. Detección de residuos de quinolonas sobre electrodos modificados con bismuto en muestras ambientales mediante voltametría de redisolución anódica. *FABICIB*, 20, 55–67.
- Levander O. A global view of human selenium nutrition. *Annu Rev Nutr*. 1987;7:227-50.
- LeBlanc, K. y col. 2016. Identification of trace levels of selenomethionine and related organic selenium species in high-ionic-strength waters. *Anal Bioanal Chem* 408, 1033–1042.
- Lu D., y col. 2020. Simultaneous voltammetric detection of cadmium (II), arsenic (III), and selenium(IV) using gold nanostar-modified screen-printed carbon electrodes and modified Britton-Robinson buffer. *Anal Bioanal Chem* 412, 4113–4125.
- Lukáčová-Chomisteková, Z. y col. 2018. Voltammetric detection of antimony in natural water on cathodically pretreated microcrystalline boron doped diamond electrode: A possibility how to eliminate interference of arsenic without surface modification. *Talanta*. Vol: 178, Pag 943-948,0039-9140.
- MacLeod, I y Parker , A y Singh, P. 1981. Electrochemistry of copper in aqueous acetonitrile. *Journal of Solution Chemistry*. Vol. 10. 757-774.
- Martins, F., De Souza, D., 2021. Ultrasensitive determination of selenium in foodstuffs and beverages using an electroanalytical approach. *Microchemical Journal*. Vol 164.
- Menan, E. y Fishbein, L. 1991. *Metals and their Compounds in the Environment*. UHC Verlagsgesellschaft, Gennan., pp.1 153-1190.
- Merino I., y col. 2019. Determination of Se (IV) concentration via cathodic stripping voltammetry in the presence of Cu (II) ions and ammonium diethyl dithiophosphate. *Analytica chimica acta*, 1048, 22–30.

- Miller, J.C.y Miller, J. N.1988. Estadística para la química analítica. 2º edición, Pp: 125-126.  
Londres, Inglaterra.
- Ministerio de salud, 2007, Decreto 131 modifica el decreto nº 735, de 1969, reglamento de los servicios de agua destinados al consumo humano Disponible:  
<https://www.bcn.cl/leychile/navegar?idNorma=259363&idParte=>
- Mohapatra D. & Kirpalani D. 2019. Selenium in wastewater: fast analysis method development and advanced oxidation treatment applications. Water science and technology: a journal of the International Association on Water Pollution Research, 79(5), 842–849.
- Morrow, D. Acute selenium toxicosis in lambs. J. Am. Vet. Med. Assoc. v. 152, p. 1623-1329, 1982.
- NAS, 1976. Medical and Biological Effects of Environmental Pollutants - Selenium. National Academy of Sciences, Washington, D.C.
- Ochab M., y col. 2017. Determination of trace Se (IV) by anodic stripping voltammetry following double deposition and stripping steps Talanta, 165, 364–368.
- OMS. 2013 Selenium in drinking-water. Disponible en: WHO/SDE/WSH/03.04/13
- OSHA United states department of labor, 2019, Permissible Exposure Limits, disponible:  
[https://www.dir.ca.gov/title8/5155table\\_ac1.html](https://www.dir.ca.gov/title8/5155table_ac1.html)
- Panhwar, A. y col. 2017. Ultrasonic assisted dispersive liquid-liquid microextraction method based on deep eutectic solvent for speciation, preconcentration and determination of selenium species (IV) and (VI) in water and food samples. Talandra. Vol. 175.
- Piech, R.& Kubiak, W. 2007. Determinación de trazas de selenio en electrodos colgantes de gota de amalgama de cobre. Electrochimica. 53. 584-589.

- Pooja D., y col. 2017, A systematic review and meta-analysis of voltammetric and optical techniques for inorganic selenium determination in water. *TrAC Trends in analytical Chemistry*. Vol 95.
- Potes, M. y col. 2019. Investigation of the conditions for selenium determination by photochemical vapor generation coupled to graphite furnace atomic absorption spectrometry. *Microchemical Journal*. Vol 147.
- Pyrzynska, K. (2007) Determination of molybdenum in environmental samples. *Analytica Chimica Acta* 590 (1), 40–48.
- Raptis, S. y Kaiser, G.y Tôlg. U. 1983 *Fresenius Z. Anal? Client*, 316:105-123.
- Reddy A y col. 1988. Expression of Glutathione peroxidase I gene in selenium-deficient rats. *Nucleic Acids Res. Nucleic acids research*, 16(12), 5557–5568.
- Rondan, F. y col. 2019. Determination of Se and Te in coal at ultra-trace levels by ICP-MS after microwave-induced combustion. *Journal of Analytical Atomic Spectrometry*. Vol 34.
- Santarossa, D. y col. 2017. Development of on-line spectrofluorimetric methodology for selenium monitoring in foods and biological fluids using Chromeazurol S quenching. *Talanta*, 172, 31–36.
- Sharifian, P. & Aliakbar, A. 2015 Determination of Se(IV) by adsorptive cathodic stripping voltammetry at a Bi/Hg film electrode. *Anal. Methods*. Vol 7.
- Segura R., y col. 2015, (USACH) Development of electrochemical sensors for the determination of selenium using gold nanoparticles modified electrodes *Sensors and Actuators B: Chemical*. Vol 220. 263-269.
- Shiba S. y col. 2019 Selective Au Electrodeposition on Au Nanoparticles Embedded in Carbon Film Electrode for Se (IV) Detection. *Sensors and Materials*. Vol 31. 1135.

- Švancara, I., y col. 2010 A Decade with Bismuth-Based Electrodes in Electroanalysis. *Electroanalysis*. 22. 1405 - 1420.
- Tan, Z., y col. 2020. Determination of selenium in food and environmental samples using a gold nanocages/fluorinated graphene nanocomposite modified electrode. *Journal of food Composition and Analysis*. Vol 94.
- Terán-Baamonde, J. Bouchet, S. Tessier, E. Amouroux D. 2018. Development of a large volume injection method using a programmed temperature vaporization injector – gas chromatography hyphenated to ICP-MS for the simultaneous determination of mercury, tin and lead species at ultra-trace levels in natural waters. *Journal of Chromatography A*, Vol: 1547, Pag. 77-85,0021-9673
- Ulusoy H. ,2015. Simple and useful method for determination of inorganic selenium species in real samples based on UV-VIS spectroscopy in a micellar medium. *Anal. Methods*. Vol. 7. 953-960.
- Wang, J. 2005, Stripping Analysis at Bismuth Electrodes: A Review. *Electroanalysis*, 17: 1341-1346
- Wang, L. & Shan, XE. 2016. Electrochemical reduction of selenium on a silver electrode and its determination in river water. *Journal of Analytical Chemistry*. Vol. 71. 917-925.
- Wei H., y col., 2020, Anodic Stripping Determination of Selenium in Seawater Using an Electrode Modified with Gold Nanodendrites/Perforated Reduced Graphene Oxide. *Journal of Electrochemical Science*. Vol 15. 1669-1680.
- Wiesenhofer, T. y col. 2017. A time-efficient flow injection/ICPMS method for the direct determination of total selenium in human urine. *Microchemical Journal*. Vol. 130. Pp 310-315.

World Health Organization (1996) Trace elements in human nutrition and health. World Health Organization, Geneva

## Anexo

Anexo 1: Potenciales de limpieza aplicados en el electrodo de carbono vítreo. Fueron utilizadas las condiciones optimizadas de depósito y para la preconcentración de Se(IV) que en la Figura 1.

Potencial limpieza (V)	-1,1	-0,9	-0,75	-0,5
Medida N°	Variación de la señal Se(IV) (%)			
Señal N°1	0,448	0,587	0,356	0,696
2	-0,49	-2,15	2,06	-3,61
3	-8,50	-2,58	-3,86	-1,55
4	-11,2	-3,43	-4,88	-2,58
5	-9,95	-3,00	-5,14	0,52
6	-9,47	-3,86	-9,25	-1,20
7	-12,1	-2,58	-9,25	-0,86
8	-15,1	-5,15	-8,48	-2,75
9	-12,6	-5,58	-10,5	-4,30
10	-16,3	-4,29	-6,94	-7,73
$\bar{X}$ I <sub>p</sub> Se(IV) (μA)	<b>-0,345</b>	<b>-0,268</b>	<b>-0,362</b>	<b>-0,537</b>
DER(%)	<b>6.04</b>	<b>1.66</b>	<b>4.40</b>	<b>2.47</b>

Anexo 2: Efecto de la intensidad de corriente al variar el tiempo aplicado de limpieza. Fueron utilizadas las condiciones optimizadas de depósito y para la preconcentración de Se(IV) que en la Figura 1

Tiempo de limpieza aplicado (s)	3	6	10	20
Señal N°1 (-μA)	0,448	0,587	0,356	0,696
Medida N°	variación señal Se(IV) (%)			
2	-0,042	-0,96	-0,58	-4,60
3	-3,26	-5,49	-4,94	-8,91
4	-2,57	-8,46	-5,81	-12,5
5	-4,41	-10,6	-8,14	-14,1
6	-6,86	-11,3	-10,5	-16,0
7	-8,71	-13,9	-9,88	-18,1
8	-9,03	-15,0	-13,4	-19,3
9	-11,3	-16,0	-13,1	-20,7
10	-12,8	-17,5	-14,5	-22,9
$\bar{X}$ I <sub>p</sub> Se(IV) (μA)	<b>0,422</b>	<b>0,529</b>	<b>0,316</b>	<b>0,696</b>
DER(%)	<b>4,82</b>	<b>6,81</b>	<b>5,59</b>	<b>8,50</b>

Anexo 3: Dependencia del tiempo de limpieza en la intensidad de corriente de Se(IV). Fueron utilizadas las condiciones optimizadas de depósito y para la preconcentración de Se(IV) que en la Figura 1

<b>Tiempo de limpieza aplicado (s)</b>	<b>20</b>	<b>3</b>
<b>Repeticiones</b>	<b>variación señal Se(IV) (%)</b>	
<b>2</b>	-3,98	4,36
<b>3</b>	-7,24	3,29
<b>4</b>	-7,48	-1,81
<b>5</b>	-9,29	-1,49
<b>6</b>	-10,5	-2,23
<b>7</b>	-11,2	-6,27
<b>8</b>	-11,7	-4,68
<b>9</b>	-14,7	-5,63
<b>10</b>	-15,8	-5,63
<b>11</b>	-16,8	-9,67
<b>12</b>	-15,1	-11,2
<b>13</b>	-16,6	-12,5
<b>14</b>	-17,5	-9,56
<b>15</b>	-20,3	-11,7
<b>16</b>	-19,3	-11,8
<b>17</b>	-21,7	-13,2
<b>18</b>	-23,5	-15,9
<b>19</b>	-21,2	-14,6
<b>20</b>	-21,7	-15,0
<b><math>\bar{X}</math> Ip Se(IV) (<math>\mu</math>A)</b>	<b>0,3555</b>	<b>0,436</b>
<b>DER(%)</b>	<b>7,64</b>	<b>6,56</b>