



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE QUERÉTARO

FACULTAD DE QUÍMICA

**“EVALUACIÓN DE LA CAPACIDAD DE *Fusarium oxysporum* PARA
PRODUCIR NANOPARTÍCULAS DE SULFURO DE CADMIO A PARTIR
DE UN RESIDUO DE AZUFRE”.**

TESIS

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE

QUÍMICO FARMACÉUTICO BIÓLOGO

PRESENTA

MARÍA OLIVA HERNÁNDEZ JIMÉNEZ

DIRIGIDA POR

Dra. NORMA GABRIELA ROJAS AVELIZAPA

SANTIAGO DE QUERÉTARO, QUERÉTARO, 2021



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE QUERÉTARO

FACULTAD DE QUÍMICA

“EVALUACIÓN DE LA CAPACIDAD DE *Fusarium oxysporum* PARA
PRODUCIR NANOPARTÍCULAS DE SULFURO DE CADMIO A PARTIR DE
UN RESIDUO DE AZUFRE”.

TESIS

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE
QUÍMICO FARMACÉUTICO BIÓLOGO

PRESENTA

MARÍA OLIVA HERNÁNDEZ JIMÉNEZ

DIRIGIDA POR

Dra. NORMA GABRIELA ROJAS AVELIZAPA

SINODALES

Dra. NORMA GABRIELA ROJAS AVELIZAPA

DIRECTOR

M. en C. ISIDRO RESÉNDIZ LÓPEZ
SINODAL

Dr. HÉCTOR PAUL REYES POOL
SINODAL

Dr. JUAN CAMPOS GUILLÉN
SINODAL

DEDICATORIAS

A mi madre, a quien le debo lo mejor de mi persona y la disciplina y dedicación que me han llevado a lograr mis metas, las cuales hubieran sido imposibles de lograr sin ella.

A mis hermanos, quienes me han apoyado incondicionalmente en cada etapa de mi vida y gracias a sus consejos, han sido un pilar imprescindible en mi desarrollo personal y profesional.

A mi padre, quien ha contribuido en mi crecimiento personal, de igual forma quiero dedicar este logro a mis sobrinos Sofi, Leo y Carlitos por darme motivación en esta etapa.

A mi novio, quien forma parte de mi camino científico brindándome todo su apoyo, y a quien agradezco toda su comprensión y paciencia.

Gracias a todos por ser mi inspiración.

AGRADECIMIENTOS

Quiero agradecer a mi asesora, la Dra. Norma Rojas, quien me ha guiado y motivado para orientar mi trabajo y gracias a sus enseñanzas ha contribuido enormemente en mi desarrollo como científica.

Agradezco a mis sinodales, el Dr. Héctor Reyes, el Dr. Juan Campos y el M. en C. Isidro Reséndiz, quien me apoyó a lo largo de mi carrera con sus enseñanzas que aportaron valores a mi progreso académico.

Gracias a la Facultad de Química de la UAQ, por haberme permitido formarme en ella y gracias a mis profesores que fueron partícipes de este proceso, especialmente al Q.F.B. Carlos Nivón, quien me llenó de conocimientos personales que he podido aplicar en mi vida diaria. Sobre todo quiero agradecer a quien fue mi tutor, el Dr. Miguel Ramos, quien fue una parte crucial en mi desarrollo tanto académica como personalmente.

Además, agradezco a mis compañeros de la Facultad, en especial a mis amigos Karla y Jorge, con quien recorrí el camino para convertirnos en profesionistas y nos mantuvimos firmes en nuestro objetivo, asimismo, agradezco a mis compañeros de laboratorio en CICATA, a Alexa, Ale y Daniel por todas sus enseñanzas y consejos.

Finalmente quiero agradecer el apoyo económico del proyecto CONACYT A1-S-31777 y al Centro de Investigación en Ciencia Aplicada y Tecnología Avanzada donde realicé este trabajo.

ÍNDICE GENERAL

Contenido	Página
DEDICATORIAS	iii
AGRADECIMIENTOS	iv
ÍNDICE GENERAL	v
ÍNDICE DE CUADROS	vii
ÍNDICE DE FIGURAS	viii
RESUMEN	xi
1. ANTECEDENTES	1
1.1. Nanotecnología	1
1.2. Azufre residual	2
1.3. Nanopartículas de sulfuro de cadmio (NPs CdS).....	3
1.4. Métodos de síntesis de nanopartículas.....	4
1.5. Síntesis biológica de nanopartículas.....	5
1.6. Factores que intervienen en la síntesis de NPs CdS	6
1.7. Hongos filamentosos	7
1.8. <i>Fusarium oxysporum</i>	9
1.9. Metabolitos secundarios de <i>Fusarium oxysporum</i>	11
1.10. Extractos orgánicos de hongos	12
2. HIPÓTESIS	15
3. OBJETIVOS	16
3.1. General	16
3.2. Específicos.....	16
4. METODOLOGÍA	17
4.1. MATERIALES	17
4.1.1. Material biológico.....	17
4.1.2. Residuo de azufre.....	17
4.2. MÉTODOS.....	18
4.2.2. Síntesis química de NPs CdS	18
4.2.3. Síntesis biológica de NPs CdS	18
4.2.4. Obtención y evaluación de extractos orgánicos	19
4.2.5. Determinación de poder reductor de los extractos orgánicos.....	19

Caracterización de nanopartículas	19
4.2.6. Análisis estadístico	21
5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	22
5.1. Síntesis química de nanopartículas de CdS	22
5.2. Síntesis biológica de NPs CdS utilizando biomasa húmeda	23
5.3. Determinación del poder reductor de los extractos fúngicos.....	27
5.4. Síntesis de NPs CdS con extractos orgánicos de biomasa seca.....	29
5.4.1. Síntesis con extracto acuoso	30
5.4.2. Síntesis con extracto metanólico	34
5.4.3. Síntesis con extracto etanólico	38
5.5. Análisis de FTIR de muestras seleccionadas	42
6. CONCLUSIONES	48
7. TRABAJO FUTURO	49
8. BIBLIOGRAFÍA	50
9. ANEXOS	60

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro		Página
1	Hongos reportados con capacidad de producir NPs CdS	8
2	Disolventes en orden de polaridad	14

Dirección General de Bibliotecas UAQ

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura		Página
1	Áreas en las que se aplica la nanotecnología	1
2	Diagrama de simulador modular de plantas recuperadoras de azufre	2
3	Métodos de síntesis de nanopartículas	5
4	Nanopartículas de sulfuro de cadmio biosintetizadas con diferentes proporciones de cloruro de cadmio y sulfuro de sodio	6
5	Características morfológicas de <i>Fusarium oxysporum</i> . (A) Microconidios ovoides a renales; (B) macroconidios en forma de hoz, paredes delgadas y delicadas; (C) microconidios producidos en falsas cabezas en monofialides cortas; y (D) una única clamidospora terminal	10
6	Metabolitos secundarios de <i>Fusarium</i> spp.	12
7	Metabolitos secundarios obtenidos de un extracto orgánico de <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>ciceris</i> : (1), bicaverina, (2), 3-O-metil-8-O-metilfusarubina (3), 8-O-metil fusarubina (4), anhydrofusarubina y (5), fusarubina	13
8	Espectro de absorción UV-Vis de la reacción de síntesis de nanopartículas de CdS por vía química y fotografía de su apariencia física	23
9	A) Micrografía de TEM de NPs CdS producidas por síntesis química B) Histograma del tamaño de las NPs CdS	23
10	Espectros de A) absorción UV-Vis y B) emisión de las nanopartículas de CdS sintetizadas a partir de la biomasa de <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>lycopersici</i> y fotografía de su apariencia física después de 24 h de incubación	25
11	Espectro EDS de NPs CdS sintetizadas con la biomasa de <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>lycopersici</i>	26
12	A) Micrografía TEM de NPs CdS sintetizadas con biomasa de <i>Fusarium oxysporum</i> f.sp. <i>lycopersici</i> . B) Histograma del tamaño de las NPs CdS	27
13	A) Micrografía SEM de NPs CdS sintetizadas con biomasa de <i>Fusarium</i>	27

	<i>oxysporum</i> f.sp. <i>lycopersici</i> . B) Espectro EDS	
14	Poder reductor de los extractos de biomasa fúngica empleados en la síntesis de NPs CdS	29
15	Diferencias entre el poder reductor de los extractos orgánicos obtenidos de la biomasa de <i>Fusarium oxysporum</i> f.sp. <i>lycopersici</i>	29
16	Espectros de A) absorción y B) emisión de la obtención de nanopartículas a partir del extracto acuoso de la biomasa de <i>Fusarium oxysporum</i> f.sp. <i>lycopersici</i> y fotografía de su apariencia física después de 24 h de incubación	31
17	Espectro EDS de NPs CdS producidas mediante el extracto acuoso de la biomasa de <i>F. oxysporum</i> f.sp. <i>lycopersici</i>	32
18	A) Micrografía TEM de NPs CdS sintetizadas con extracto acuoso de la biomasa de <i>Fusarium oxysporum</i> f.sp. <i>lycopersici</i> . B) Histograma del tamaño de las NPs CdS	33
19	A) Micrografía SEM de NPs CdS sintetizadas con extracto acuoso de la biomasa de <i>Fusarium oxysporum</i> f.sp. <i>lycopersici</i> . B) Espectro EDS.	33
20	Distribución de potencial Zeta de NPs CdS producidas mediante el extracto acuoso de la biomasa fúngica	34
21	Espectros de A) absorción y B) emisión de la obtención de nanopartículas a partir del extracto metanólico de la biomasa de <i>Fusarium oxysporum</i> f.sp. <i>lycopersici</i> y fotografía de su apariencia física después de 24 h de incubación	35
22	Micrografía TEM de NPs CdS sintetizadas con el extracto metanólico de la biomasa de <i>Fusarium oxysporum</i> f.sp. <i>lycopersici</i> .	36
23	Espectro EDS de NPs CdS producidas mediante el extracto metanólico de la biomasa de <i>F. oxysporum</i> f.sp. <i>lycopersici</i> .	36
24	A) Micrografía SEM de NPs CdS sintetizadas con el extracto metanólico de la biomasa de <i>Fusarium oxysporum</i> f.sp. <i>lycopersici</i> B) Espectro EDS	37
25	Distribución de potencial Zeta de NPs CdS producidas mediante el extracto metanólico de la biomasa fúngica	38

26	Espectro de A) absorción y B) emisión de la obtención de nanopartículas a partir del extracto etanólico de la biomasa de <i>Fusarium oxysporum</i> f.sp. <i>lycopersici</i> y fotografía de su apariencia física después de 24 h de incubación	39
27	Micrografía TEM de NPs CdS sintetizadas con el extracto etanólico de la biomasa de <i>Fusarium oxysporum</i> f.sp. <i>lycopersici</i> .	40
28	Espectro EDS de NPs CdS producidas mediante el extracto etanólico de la biomasa de <i>F. oxysporum</i> f.sp. <i>lycopersici</i> .	41
29	A) Micrografía SEM de NPs CdS sintetizadas con el extracto etanólico de la biomasa de <i>Fusarium oxysporum</i> f.sp. <i>lycopersici</i> B) Espectro EDS.	41
30	Distribución de potencial Zeta de NPs CdS producidas mediante el extracto etanólico de la biomasa fúngica.	42
31	Espectro de FTIR de nanopartículas de CdS obtenidas por síntesis química.	44
32	Espectro de FTIR de nanopartículas de CdS sintetizadas mediante el extracto metanólico de la biomasa de <i>Fusarium oxysporum</i> f.sp. <i>lycopersici</i> .	45
33	Espectro de FTIR del control biológico de la biomasa de <i>Fusarium oxysporum</i> f.sp. <i>lycopersici</i>	46
34	Muestras de NPs CdS producidas mediante A) el extracto acuoso, B) el extracto metanólico, y C) la biomasa fúngica después de 7 meses de conservación en refrigeración a 4°C.	47

RESUMEN

La síntesis de nanopartículas de sulfuro de cadmio (NPs CdS) se realiza principalmente por métodos químicos, no obstante, la síntesis biológica mediada por hongos, ha sido estudiada debido a que éstos son una fuente importante de compuestos reductores esenciales para llevar a cabo la síntesis. El objetivo de este trabajo fue evaluar la capacidad de tres extractos de la biomasa del hongo *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* como productor de NPs CdS utilizando un residuo de azufre proveniente de procesos de refinación de petróleo. Para evaluar el poder reductor de los extractos se empleó la técnica FRAP, en la que se determinó por espectrofotometría la reducción de un complejo férrico. Asimismo, se llevó a cabo la caracterización de las NPs CdS obtenidas para conocer su tamaño y morfología empleando técnicas instrumentales como espectroscopia de UV-Visible y Fluorescencia, TEM, SEM, Potencial Zeta, EDS y FTIR. El estudio muestra que no hay diferencias significativas entre el poder reductor de los extractos y gracias a los resultados obtenidos en las micrografías de TEM, se puede afirmar que son capaces de producir NPs CdS en un rango de 1 a 10 nm; el análisis elemental confirma la producción de dichos nanomateriales y los resultados de potencial Zeta sugieren que la solución coloidal de NPs sintetizadas con el extracto de metanol, tiene la mejor estabilidad. Por último, este nuevo sistema abre la posibilidad de emplearse en diferentes áreas debido a que presenta menos interferencias para la caracterización y sobre todo, el uso de extractos podría hacer posible elucidar los compuestos responsables de la síntesis.

1. ANTECEDENTES

1.1. Nanotecnología

La nanotecnología se ha convertido en una de las tecnologías más prometedoras en todas las áreas de la ciencia, como se muestra en la Figura 2. Se puede definir como el conjunto de estudios y métodos empleados en el procesamiento de materiales a escala atómica y molecular para obtener productos con propiedades especiales, tanto físicos como químicos, con respecto a los productos convencionales (Singh y col., 2016; Nelson y Kantuta, 2010).

En la nanotecnología se estudia y controla la materia con dimensiones entre 1 y 100 nm (Khan y col, 2019). Sin embargo, cuando la materia se encuentra en este rango de dimensiones, puede experimentar cambios drásticos en sus propiedades físicas y químicas que les pueden conferir la capacidad de aplicarse en más áreas. Dichas propiedades están mediadas por las características físicas de los nanomateriales (López, 2015).



Figura 1. Áreas en las que se aplica la nanotecnología (Cuevas y Cueto, 2018).

El proceso Claus permite recuperar hasta 96% del azufre contenido en los gases ácidos de las corrientes de desecho, ya que en caso de no ser recuperados, se incineran y se emiten a la atmósfera. En el proceso Superclaus se introduce un tercer convertidor catalítico para la oxidación selectiva del ácido sulfhídrico (H₂S) remanente en el gas de cola del proceso Claus, en presencia de un catalizador diseñado especialmente para permitir una conversión completa y altamente selectiva de H₂S a azufre elemental (Instituto Mexicano del Petróleo, 2013).

El azufre conseguido por esta vía es de alta pureza, pudiendo alcanzar hasta 99.5% o 99.9% (Katz, 2011; Sandoval y col., 2017). El proceso para la obtención del azufre se basa en la reacción Claus, en la cual los gases ácidos reaccionan con aire en una cámara de combustión y el H₂S se convierte en gas SO₂; posteriormente, este gas pasa a los reactores Claus para convertirse en azufre (Peralta y col., 2011). La reacción global de este proceso es la siguiente:



Para el aprovechamiento de este tipo de materia prima, se han realizado estudios en los que, apoyándose en áreas como la nanotecnología, se han desarrollado nanomateriales muy útiles en diversas ciencias.

1.3. Nanopartículas de sulfuro de cadmio (CdS)

Las nanopartículas metálicas y semiconductoras han recibido atención mundial debido a sus amplias aplicaciones en los campos biomédico, fisicoquímico y en la industria farmacéutica (Kuppusamy y col., 2016; Bravo y col., 2015).

Las nanopartículas de sulfuro de cadmio (CdS) son semiconductoras y son consideradas de gran importancia desde el punto de vista tecnológico debido a su ancho de banda de 2.42 eV que conduce a una gama completa de colores en la región visible cuando se reduce el tamaño (Samadi, 2016). Pueden ser utilizadas como marcadores biológicos, diodos emisores de luz, sensores, así como dispositivos optoelectrónicos (Bravo y col., 2015).

Un tipo de nanopartículas con gran relevancia son los puntos cuánticos (QD), los cuales

presentan tamaños de 1-10 nm (Yao y col., 2015). El tamaño y la composición de las nanopartículas les confieren propiedades físicas, químicas y ópticas únicas que surgen a través del efecto de confinamiento cuántico (Rengers y col., 2019). Específicamente, los QD, tienen notables propiedades como absorción amplia, que se puede ver modificada, los espectros de emisión estrechos, luminiscencia intensa y duraciones luminiscentes prolongadas, todas estas características dependen del tamaño de dichos nanomateriales (Gallardo y col., 2019).

Las nanopartículas de CdS comúnmente se producen mediante métodos fisicoquímicos como el método de microemulsión hidrotermal (Jinxin y col., 2007), el método de coprecipitación química por vía húmeda (Ashok y col., 2014) y la irradiación ultrasónica (Alizadeh y col., 2019).

Dichos métodos requieren una configuración especial de laboratorio y mucho tiempo (Borovaya y col., 2016). Por lo tanto, un método simple y novedoso de síntesis de nanopartículas semiconductoras es un tema de considerable interés científico en la actualidad (Kuppusamy y col., 2016).

1.4. Métodos de síntesis de nanopartículas

Existen diferentes métodos de preparación de nanopartículas y la selección de estos depende de cómo se requieran aplicar dichos nanocompuestos, por ello, es necesario considerar aspectos como la estabilidad física y química de las nanopartículas, así como su toxicidad. Los métodos de síntesis de nanopartículas suelen agruparse en dos categorías: *Bottom up* y *Top down* (López y col., 2018). El primero involucra la miniaturización de los componentes de los materiales generando la formación de nanoestructuras. En el método de *Top down* se utilizan estructuras macroscópicas, de las cuales, el proceso para la formación de nanoestructuras puede ser controlado externamente (Goswami y col., 2018; Agarwal y col., 2017).

Los métodos de síntesis pueden realizarse por vías físicas, químicas y por métodos de síntesis verde. Los métodos físicos incluyen: ablación láser (Seto y col., 2017), litografía (Huang y col., 2012) e irradiación de alta energía (Abdelghany y col., 2017). Los métodos físicos involucran el uso de equipos costosos, alta temperatura y presión así como áreas grandes de trabajo (Chandrasekaran y col., 2016).

Entre las técnicas químicas más comunes para la síntesis de nanopartículas se encuentra la reducción química, electroquímica y reducción fotoquímica (Goswami y col., 2018). Dichos métodos involucran el uso de químicos que pueden ser dañinos a los seres humanos y al ambiente debido a sus metabolitos tóxicos (Agarwal y col. 2017; Kumar, 2019). Comparando los métodos biológicos con los métodos convencionales, se puede inferir que los biológicos son considerados seguros y ecológicos (Goswami y col., 2018). Estos y otros métodos se mencionan en la Figura 3.

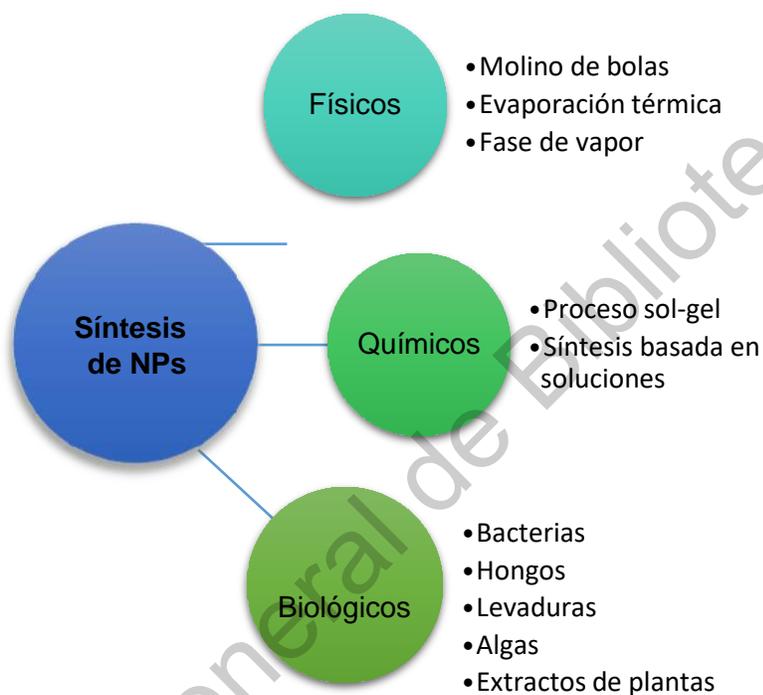


Figura 3. Métodos de síntesis de nanopartículas (Goswami y col., 2018).

1.5. Síntesis biológica de nanopartículas

La síntesis biológica de nanopartículas es llevada a cabo por diferentes plantas y microorganismos (Kuppusamy y col., 2016). Este tipo de síntesis puede realizarse por método intracelular y extracelular mediante enzimas producidas por bacterias, hongos o levaduras (Moghaddam, 2015).

El enfoque de la implementación de métodos con química verde es importante para la perspectiva futura de los nanomateriales. Esta área de la nanotecnología busca llevar a cabo el desarrollo de NP seguras y ecológicas (Kadzińsk y col., 2018). Los métodos tradicionales se utilizan desde hace muchos años, pero las investigaciones han

demostrado que los métodos ecológicos son más efectivos para la generación de NP con la ventaja de tener menores posibilidades de falla, bajo costo y facilidad de caracterización (Abdelghany y col., 2018).

El mecanismo de biosíntesis de las nanopartículas de semiconductores implica la reducción de metales inorgánicos en la solución, que es facilitada por la enzima sulfato reductasa presente en la mayoría de las especies bacterianas y fúngicas (Shivashankarappa y Sanjay, 2015). Es importante señalar que muchas veces la coloración de las nanopartículas se puede evidenciar por cambios en la coloración (amarillo en el caso de las NPs CdS) sin embargo, esto depende de la concentración y la agregación de éstas cuando se encuentran en solución (McFarland y col., 2004).

En la Figura 4 se muestra una fotografía de soluciones coloidales de nanopartículas de sulfuro de cadmio sintetizadas con soluciones de cloruro de cadmio y sulfuro de sodio.



Figura 4. Nanopartículas de sulfuro de cadmio biosintetizadas con diferentes proporciones de cloruro de cadmio y sulfuro de sodio (Shivashankarappa y Sanjay, 2015).

1.6. Factores que intervienen en la síntesis biológica de NPs CdS

El tamaño y la forma de las nanopartículas varían con el organismo empleado y las condiciones empleadas durante la síntesis tales como pH, temperatura y concentración de sustrato. Los microorganismos proporcionan un entorno diverso para la biosíntesis de nanopartículas (Hulkoti y Taranath, 2014).

Debido a su ecología y rentabilidad, los microorganismos como bacterias, hongos y

levaduras han sido ampliamente estudiados para sintetizar nanopartículas por vía extracelular e intracelular. La biosíntesis extracelular de nanopartículas se ha estudiado ya que elimina algunos pasos de procesamiento posteriores y necesarios para recuperar las nanopartículas en metodologías intracelulares, las cuales incluyen sonicación; para romper la pared celular se requieren varios pasos de centrifugación y de lavados para purificar las nanopartículas (Singh y col., 2016). Otros factores como proteínas, péptidos, enzimas, cofactores reductores y materiales orgánicos también juegan un papel importante como agentes reductores (Goswami y col., 2018).

En la síntesis extracelular, la biomasa se cosecha por centrifugación después de cultivar los microorganismos en un agitador rotativo bajo condiciones óptimas de crecimiento. El sobrenadante recuperado después de la centrifugación se incuba en una solución de sal metálica para sintetizar las nanopartículas deseadas del ion metálico o en el caso de requerir NPs de CdS, se utiliza alguna sal de sulfato. Como ya se mencionó anteriormente, un cambio de color en la reacción de la mezcla es la primera indicación cualitativa de que las nanopartículas están siendo sintetizadas. Después de la reacción, las nanopartículas son separadas del coloide por centrifugación a alta velocidad, lavadas con agua/disolvente (etanol o metanol) y recogidas en forma de pellet (Singh y col., 2016).

En la síntesis intracelular de nanopartículas, la biomasa se cosecha después de cultivar microorganismos bajo condiciones óptimas de crecimiento. La biomasa se lava con agua estéril y se incuba con una solución de iones metálicos. Generalmente, un cambio de color es una indicación de la síntesis de nanopartículas, no obstante, se ha demostrado que no siempre es posible observar dichos cambios (Rajeshkumar y col., 2014). Después del período de incubación, la biomasa se somete a ultrasonificación, lavado y centrifugación quedando libres las nanopartículas después de la descomposición de la pared celular. Finalmente, las nanopartículas liberadas se lavan, centrifugan y se recuperan (Singh y col., 2016).

Los hongos son relativamente más atractivos que las bacterias en la biosíntesis de nanopartículas debido a la presencia de varios metabolitos bioactivos, alta acumulación y mayor producción (Castro y col., 2011; Alghuthaymi y col., 2015; Singh y col., 2016).

1.7. Hongos filamentosos

La capacidad de los hongos filamentosos para crecer en sustratos fácilmente disponibles y de bajo costo, así como su capacidad para producir una amplia gama de metabolitos han despertado un interés considerable para explotarlos como microorganismos de producción en biotecnología (Dhillon y col., 2012; Sastry y col., 2010).

Se han utilizado varias cepas de hongos como fuentes propicias para la síntesis de nanopartículas como *Aspergillus*, *Fusarium*, *Verticillium* y *Penicillium* (Alghuthaymi y col., 2015). En el cuadro 1 se muestran algunos hongos que producen nanopartículas de sulfuro de cadmio así como las características de las nanopartículas producidas.

Tabla 1. Hongos reportados con capacidad de producir NPs CdS.

Hongo	Características de NPs	Método	Referencia
<i>Aspergillus foetidus</i>	Diámetro de 15 nm Forma esférica	Extracelular	Kumar y Nasrin, 2016
<i>Aspergillus versicolor</i>	Diámetro de 3 nm	Extracelular	Sujoy y col., 2012
<i>Coriolus versicolor</i>	Diámetro de 100-200 nm Forma esférica	Extracelular	Sanghi y Verma, 2009
<i>Phanerochaete chrysosporium</i>	Longitud 2.56 nm Forma cúbica	Extracelular	Chen y col., 2014
<i>Trichoderma harzianum</i>	Forma hexagonal	Extracelular	Shrivastav, 2013
<i>Pleurotus ostreatus</i>	Diámetro 4-5 nm Forma esférica	Extracelular	Borovaya y col., 2015
<i>Fusarium oxysporum</i>	Diámetro 9-15 nm Forma esférica	Extracelular	Kumar y col., 2007
	Diámetro 6.1-2.1 Forma hexagonal	Extracelular	Sandoval y col., 2017

El uso de hongos en la síntesis de NPs es importante ya que se ha elucidado que producen grandes cantidades de enzimas reductoras, entre otras biomoléculas y son más fáciles de manejar en el laboratorio (Mohanpuria y col., 2007). Dado que las nanopartículas se producen fuera de la célula (extracelularmente), son fáciles de purificar y pueden usarse directamente en varias aplicaciones (Gaikwad y col., 2013).

Se sabe que hay una interacción continua entre los hongos y el entorno en el que viven, de igual forma, las condiciones ambientales influyen en el crecimiento y desarrollo de los organismos. La producción de enzimas por hongos está influenciada por la condición en que se cultivan los organismos (Singh y col., 2014). Por lo tanto, los estudios de optimización no sólo respaldarán un buen crecimiento, sino que también mejorarán el rendimiento del producto (Alghuthaymi y col., 2015).

1.8. *Fusarium oxysporum*

El género *Fusarium* es uno de los más complejos y adaptativos del filo *Ascomycota* y la especie *Fusarium oxysporum* incluye patógenos de plantas, causando marchitamiento y podredumbre en cultivos alimenticios, en algunos casos puede ser patógeno de animales y humanos, así como una amplia gama de no patógenos (Gordon, 2017; Bodah, 2017). *Fusarium oxysporum* es un hongo conocido por su diversidad filogenética (LeBlanc y col., 2017) y se caracteriza principalmente por tener microconidios no septados formados en cabezas falsas en monofiálides cortas, macroconidios septados formados a partir de monofiálides en conidióforos ramificados en esporodoquias y clamidosporas con una apariencia de pared lisa o rugosa formada individualmente o en pares, como se muestra en la Figura 5. Sin embargo, la identificación de esta y otras especies de *Fusarium* puede ser un desafío, debido a la variación entre los aislados (Fourie y col., 2011).

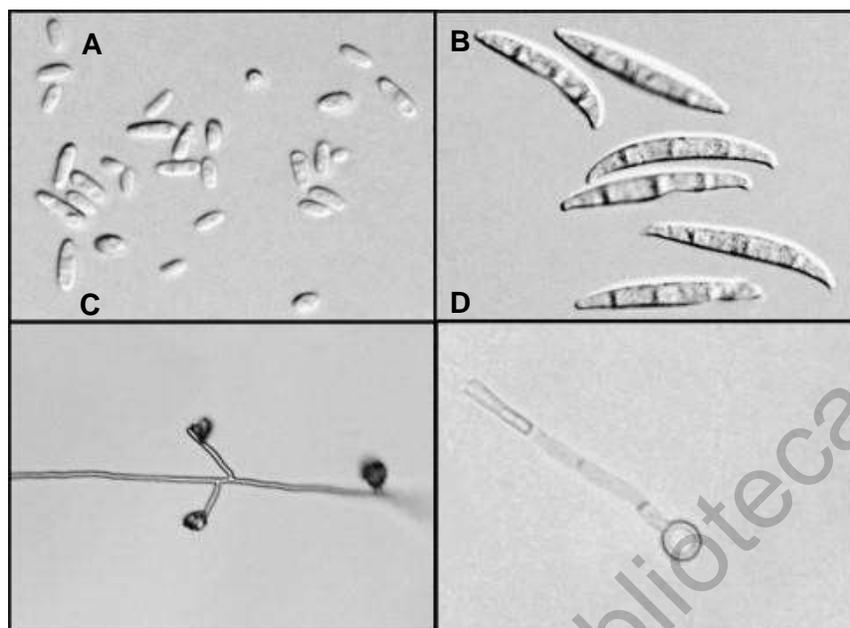


Figura 5. Características morfológicas de *Fusarium oxysporum*. (A) Microconidios ovoides a renales; (B) macroconidios en forma de hoz, paredes delgadas y delicadas; (C) microconidios producidos en falsas cabezas en monofiálides cortas; y (D) una única clamidospora terminal (Fourie y col., 2011).

El uso de *Fusarium oxysporum* para sintetizar nanopartículas ha sido estudiado debido a su naturaleza ecológica, segura y rentable ya que, en general, los hongos tienen el potencial de generar nanopartículas metálicas relativamente rápidas y tienen la capacidad de secretar una gran cantidad de proteínas, las cuales sirven como recubrimiento de las nanopartículas sintetizadas. Dentro de estos nanomateriales metálicos se puede destacar la biosíntesis de nanopartículas de plata (Birla y col., 2013; Hussein y col., 2015), así como de nanopartículas de oro (Pourali y col., 2018; Shamel y col., 2019).

Por otro lado, Ahmad y col., en 2002, han reportado la biosíntesis de NPs CdS de *F. oxysporum f.sp.ciceris* por vía extracelular utilizando la biomasa del hongo.

La cepa *F. oxysporum f.sp. lycopersici* fue estudiada por Sandoval y col., en 2017 para producir NPs CdS; en este estudio, se evaluaron tres agentes reductores, la biomasa, el

extracto crudo y el filtrado extracelular. En ambos trabajos se menciona que enzimas reductoras como nitrato reductasa, sulfito reductasa y NADPH, actúan como agentes reductores propiciando la formación de nanopartículas de sulfuro de cadmio, sin embargo, se sabe que los metabolitos secundarios de los hongos poseen grupos funcionales reductores que también podrían producir nanopartículas de sulfuro de cadmio.

1.9. Metabolitos secundarios de *Fusarium oxysporum*

Uno de los rasgos característicos que exhiben los hongos filamentosos es su capacidad para producir metabolitos secundarios. A diferencia de los metabolitos primarios, como las proteínas, los polisacáridos, el ADN, el ARN, etc., presentes en la gran mayoría de organismos, los metabolitos secundarios son compuestos orgánicos de moléculas pequeñas que se encuentran restringidos a una especie, género o familia en particular. Por lo tanto, la presencia o ausencia de ciertos metabolitos secundarios se ha utilizado con éxito en la clasificación de grandes géneros de ascomicetos, incluyendo *Alternaria*, *Aspergillus*, *Penicillium*, *Fusarium*, entre otros (Gunatilaka, 2010).

Muchos metabolitos secundarios no están involucrados directamente en el crecimiento, desarrollo o reproducción normal del hongo que los produce, pero pueden desempeñar un papel importante en las interacciones ecológicas con otros organismos o bien, dada su estructura, pueden fungir como agentes reductores en diversas reacciones químicas o enzimáticas. En la Figura 6 se muestran algunos metabolitos secundarios que se han extraído de especies de *Fusarium oxysporum* (Gunatilaka, 2010).

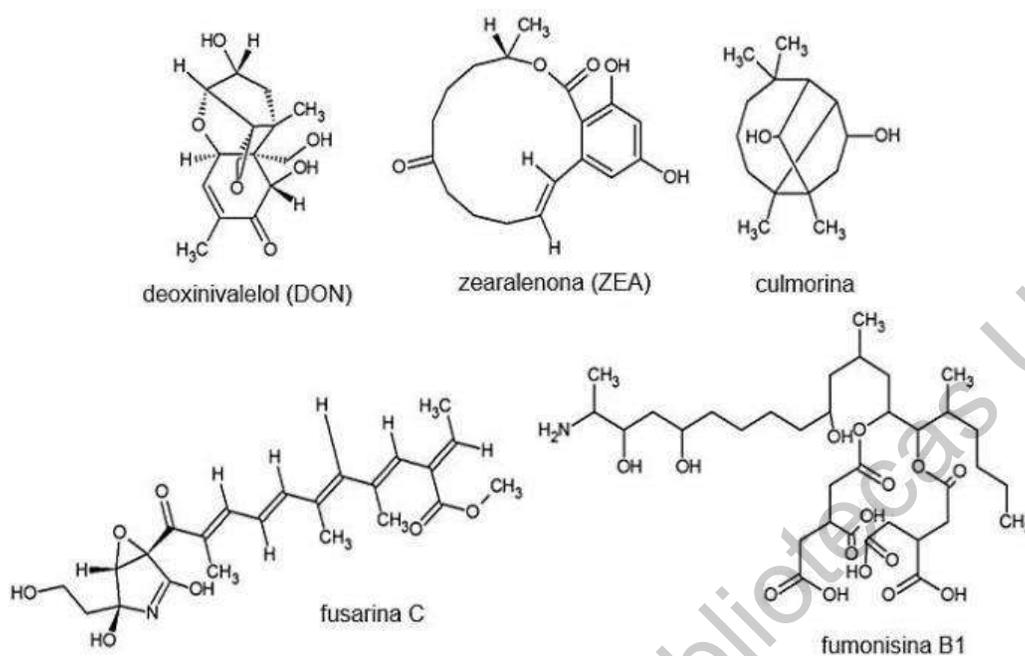


Figura 6. Metabolitos secundarios de *Fusarium spp.* (Bolton y col., 2008).

Los metabolitos bioactivos fúngicos son ampliamente conocidos por exhibir una amplia gama de propiedades biológicas que incluyen antimicrobianos, anticancerígenos y antioxidantes. Dichos metabolitos se originan a partir de diferentes vías biosintéticas y pertenecen a diversos grupos estructurales como terpenoides, esteroides, quinonas, fenoles, cumarinas, etc. Por lo tanto, hongos como *Fusarium oxysporum* representan un depósito químico para nuevos compuestos que pueden tener actividad química y biológica (Blackwell, 2011; Kaul y col., 2012). Muchos investigadores se han interesado en los metabolitos fúngicos extracelulares por diversas razones. Algunas ventajas incluyen a) las células fúngicas son viables para obtener metabolitos; b) la extracción del metabolito es simple y fácil; y c) la producción a gran escala es conveniente (Synytsya y col., 2017).

1.10. Extractos orgánicos de hongos

Los metabolitos secundarios de hongos son una fuente novedosa de compuestos bioactivos potencialmente útiles (Stroble y Daisy, 2003). Kundu y col. en 2016,

reportaron que el género *Fusarium* produce una diversidad de metabolitos secundarios bioactivos que incluyen naftoquinonas, javanicina, fusarubina, solaniol, marticina y nectraiafurona, lo cual es de interés debido a su amplio espectro de actividades, que van desde utilizarlos como pigmentos naturales o usos medicinales (Figura 7).

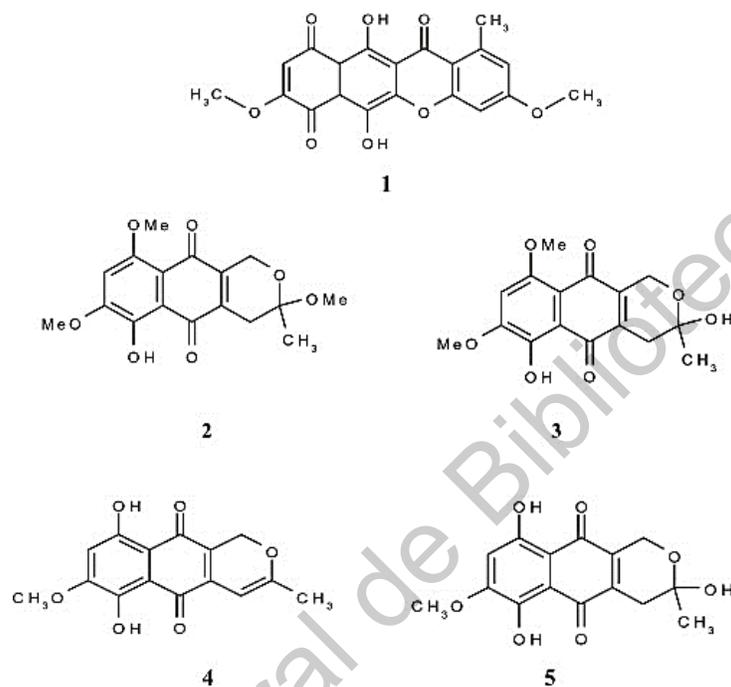


Figura 7. Metabolitos secundarios obtenidos de un extracto orgánico de *Fusarium oxysporum f. sp. ciceris*: (1), bicaverina, (2), 3-O-metil-8-O-metilfusarubina (3), 8-O-metil fusarubina (4), anhydrofusarubina y (5), fusarubina (Kundu y col., 2016).

En un estudio realizado en 2017, con extractos de hongos derivados de sus micelios, Synytsya y col., reportaron que los solventes polares son los más apropiados para la extracción de metabolitos fúngicos ya que obtuvieron altos rendimientos y mencionan que dicha extracción es simple y fácil; asimismo, refieren que se debe considerar la producción a gran escala.

En el cuadro 2, se muestran algunos de los disolventes más utilizados para realizar la extracción de metabolitos secundarios, así como sus respectivas constantes dieléctricas.

Tabla 2. Disolventes más usados para obtener extractos, en orden de polaridad (Albores y col., 2006).

Disolvente	Fórmula semi-desarrollada	Punto de ebullición °C	Constante dieléctrica (ε)
Agua	H ₂ O	100 °C	80.10
Metanol	CH ₃ -OH	65 °C	32.60
Etanol	CH ₃ -CH ₂ -OH	78 °C	24.50
Acetona	CH ₃ (CO)CH ₃	56 °C	20.70
Isopropanol	CH ₃ CH(-OH)CH ₃	83 °C	17.90
Diclorometano	CH ₂ Cl ₂	40 °C	9.10
Acetato de etilo	CH ₃ -COO-CH ₂ -CH ₃	77 °C	6.02
Cloroformo	CHCl ₃	61 °C	4.80
Éter	CH ₃ -CH ₂ -O-CH ₂ -CH ₃	35 °C	4.30
Tolueno	C ₆ H ₅ -CH ₃	110 °C	2.40
Benceno	C ₆ H ₆	80 °C	2.30
Hexano	CH ₃ -CH ₂ -CH ₂ -CH ₂ -CH ₃	69 °C	1.89
Éter de petróleo	Mezcla de hidrocarburos	35-60 °C	1-4

2. HIPÓTESIS

Es posible sintetizar nanopartículas de sulfuro de cadmio empleando extractos orgánicos de la biomasa de *Fusarium oxysporum*.

Dirección General de Bibliotecas UAQ

3. OBJETIVOS

3.1. General

Estudiar la capacidad que tienen los extractos orgánicos de la biomasa de *Fusarium oxysporum*, aislado de cultivos agrícolas, para producir nanopartículas de sulfuro de cadmio.

3.2. Específicos

- Sintetizar nanopartículas de sulfuro de cadmio por vía química y vía biológica.
- Determinar el poder reductor de tres extractos orgánicos empleados como agentes reductores.
- Establecer las condiciones de producción de NPs CdS a partir de un residuo de azufre empleando los extractos orgánicos de *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*.
- Caracterizar las NPs CdS sintetizadas por vía biológica mediante Espectroscopia UV-Visible, Espectroscopia de Fluorescencia, Potencial Zeta, Microscopia Electrónica de Barrido y Microscopía Electrónica de Transmisión con un sistema de EDS.

4. METODOLOGÍA

4.1. MATERIALES

4.1.1. Material biológico

Se utilizó la cepa del hongo filamentoso *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici*, la cual fue proporcionada por la Dra. Luz Irene Rojas Avelizapa del Laboratorio de Biotecnología microbiana de la Universidad Veracruzana. Las esporas de este hongo fueron conservadas en tubos Eppendorf estériles de 1.5 mL, utilizando alícuotas de 500 µL de agua, glicerol al 10% y leche descremada al 10%, éstas fueron mezcladas en tubos con agar dextrosa Sabouraud en donde fue sembrado el hongo, para finalmente obtener dicha suspensión. Las conservas con agua se almacenaron hasta su uso a 4°C y las de glicerol y leche a -20°C.

4.1.2. Residuo de azufre (S_{res})

Fue utilizado un residuo con alto contenido de azufre proveniente de una planta Claus, proporcionado por el Instituto Mexicano del Petróleo. La calidad del azufre recuperado es del 99.9% y es por esto que se emplea como materia prima para diferentes procesos (Carmona, 2012). Este residuo permaneció almacenado a temperatura ambiente hasta su uso.

4.2. MÉTODOS

4.2.1. Síntesis química de NPs CdS

Se prepararon dos soluciones, 50 mL de $\text{Cd}(\text{NO}_3)_2$ 0.1 M y 50 mL de Na_2S 0.1 M, y utilizando una bureta de 25 mL, la solución de Na_2S se agregó gota a gota en la solución de $\text{Cd}(\text{NO}_3)_2$ que estaba sometida a agitación magnética en un equipo Sargent Magnetic Stirrer, Cat. No. S-76490. La mezcla cambió gradualmente de un color amarillo pálido a un amarillo brillante. Posteriormente se centrifugó a 10 000 rpm durante 5 minutos. El precipitado fue lavado con 15 mL de etanol al 70% y nuevamente fue centrifugado, esto por triplicado. Para eliminar impurezas de los reactivos, se hicieron tres lavados con metanol. Finalmente, las nanopartículas se secaron mediante evaporación para su conservación. Con el fin de ser analizadas, se suspendieron en 25 mL de agua destilada y se conservaron en refrigeración a 4°C.

4.2.2. Síntesis biológica de NPs CdS

Se preparó un pre inóculo con el hongo *Fusarium oxysporum f. sp. lycopersici*, transfiriendo 50 μL de las conservas de esporas en glicerol a matraces de 125 mL con 30 mL del medio de cultivo MGYP (en g/L; 6 malta, 10 glucosa, 3 extracto de levadura y 5 peptona); los matraces se incubaron 4 días a 30°C y 150 rpm. De estos matraces se realizó un conteo en cámara de Neubauer para tomar una alícuota de 1×10^6 esporas/mL e inocular esta cantidad de esporas en otro matraz de 125 mL con 30 mL de MGYP. Posteriormente, se volvió a realizar un conteo y se inocularon 1×10^6 esporas/mL en 4 matraces de 1 L con 250 mL de MGYP. Éstos fueron incubados 4 días a 30°C y 150 rpm. A partir de estos matraces se recuperaron 6g de biomasa, la cual fue filtrada al vacío con filtro de poro fino y lavada por triplicado con agua destilada, después, la biomasa fue incubada con 62.5 mL de $\text{Cd}(\text{NO}_3)_2$ 1 mM y 0.6 g S_{res} a 30°C y 150 rpm durante 24 h. Después, se realizó un filtrado al vacío de la muestra y se colocó en tubos Falcon para centrifugar a 9000 rpm durante 10 minutos, por último, se decantó el sobrenadante de los centrifugados y las nanopartículas fueron conservadas en tubos Falcon a 4°C.

4.2.3. Obtención y evaluación de extractos orgánicos

Se obtuvieron 3 muestras de 2 g de biomasa con la metodología anterior, las cuales fueron secadas en un horno a 45°C por 20 h y luego cada una de éstas se colocó en un matraz de 125 mL con tapa rosca y se extrajo con 25 mL de agua, etanol y metanol, respectivamente. Los extractos se incubaron en agitación a 150 rpm y 30°C durante 24 h, posteriormente se filtraron al vacío con filtro de poro fino y se tomó una muestra de 6 mL que fue incubada durante 24 h a 30°C y 150 rpm con 62.5 mL de Cd(NO₃)₂ 1 mM y 0.6g de S_{res}. Se prepararon cuatro controles negativos: un inorgánico, con 62.5 mL de Cd(NO₃)₂ 1 mM y 0.6g de S_{res}, y tres biológicos, con 6 mL de cada uno de los extractos y 62.5 mL de los diferentes solventes empleados.

4.2.4. Determinación del poder reductor de los extractos orgánicos

El poder reductor de los extractos se evaluó empleando la metodología descrita por Rostro, 2014, la cual es una modificación del método planteado por Oyaizu, 1986. Dicha técnica se basa en la reducción de Fe³⁺ a Fe²⁺. Se dice que las muestras que tengan poder reductor van a formar un complejo ferroso de tripiridil triazina, el cual absorbe a 700 nm. Para esta determinación se realizaron las siguientes diluciones de 1.5 mL de cada extracto: 10, 25, 50, 75 y 100 µg/mL. Se tomó 1 mL de cada una de estas diluciones y se les agregaron 2.5 mL de Buffer de fosfatos (0.2 M, pH=6.6) y 2.5 mL de ferricianuro de potasio 1% (w/v) en agua destilada, después, esta mezcla fue incubada a 50 °C durante 20 minutos. Pasado el tiempo de incubación, se dejaron enfriar a temperatura ambiente y se le agregaron 2.5 mL de ácido tricloroacético 10% w/v en agua destilada. Posteriormente, la mezcla fue centrifugada a 3000 rpm por 10 minutos. De esta solución se tomaron 2.5 mL del sobrenadante y se mezclaron con 2.5 mL de agua destilada. Después, se agregaron 0.5 mL de cloruro férrico 1% y se dejó reposar por 20 minutos. Finalmente se midió la absorbancia a 700 nm en un espectrofotómetro UV-Vis. Los incrementos en la absorbancia se consideraron como incrementos del poder reductor.

4.2.5. Caracterización de nanopartículas

La biosíntesis de NPs CdS por *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* se evaluó mediante un análisis de espectroscopia UV-Visible. Las NPs fueron centrifugadas a 9000 rpm

durante 10 min; en una celda de cuarzo se colocó 1 mL de la muestra y se realizó un barrido de 200 a 800 nm con resolución de 1 nm en un espectrofotómetro UV-Visible serie GENESYS 10 S. Como control positivo se utilizaron NPs CdS sintetizadas por síntesis química.

Posteriormente, se realizó un análisis de espectroscopia de fluorescencia (Espectrofotómetro de Fluorescencia F96-PRO) para el cual, las muestras fueron centrifugadas a 9000 rpm durante 10 min, posteriormente se colocó 1 mL en una celda de cuarzo pulida por las cuatro caras, utilizando los siguientes parámetros: longitud de excitación (λ_{exc}) de 365 nm, lecturas del espectro cada 1-2 nm, apertura del slit de excitación y de emisión de 2.5 nm y tiempo de integración de 0.5 s.

Con el fin de conocer la estabilidad de las nanopartículas, se realizó un análisis de potencial zeta empleando un Analizador de partículas Litesizer 500 de Anton Paar. Asimismo, se utilizó la técnica de espectroscopia de transmisión de infrarrojo con transformada de Fourier (FTIR) modelo Cary 670, para indicar los grupos funcionales presentes en las muestras.

Finalmente, se analizaron el tamaño y la morfología de las NPs CdS mediante Microscopía Electrónica de Transmisión (TEM), modelo JEM-ARM200F. Para este análisis las muestras fueron sonicadas durante 10 minutos. Se colocó una Rejilla Holey de cobre con malla de 400 para TEM en un portaobjetos previamente lavado y con ayuda de una micropipeta, se agregó una gota de la muestra en dicha rejilla. Después, se secaron a temperatura ambiente durante 5 días para posteriormente enviarlas al Laboratorio de Microscopía de a la Universidad Autónoma de México (UNAM) Campus Juriquilla, con el fin de analizarlas. Adicionalmente, las soluciones de NPs se enviaron a analizar en un Microscopio Electrónico de Barrido, modelo JEOL JSM-7800F, en el Centro De Investigaciones En Óptica, de la ciudad de León, Guanajuato. Las muestras enviadas se evaluaron también con un sistema de Espectroscopia de Rayos X por Energía Dispersiva (EDS) para determinar la composición elemental de las nanopartículas sintetizadas.

4.2.6. Análisis estadístico

Se utilizó el software estadístico Minitab 19 con el fin de realizar las gráficas de poder reductor y conocer las diferencias entre los valores de poder reductor. El conteo e histogramas de las nanopartículas se realizaron usando el software ImageJ versión 1.52. Para representar gráficamente los datos de potencial Zeta, se utilizó el software Scilab 6.1.0, versión 2.0.

*NOTA. Debido a la pandemia de Covid-19, causada por el virus SARS-CoV-2, para poder realizar este trabajo se tuvieron muchas restricciones a los instrumentos y no fue posible analizar todas las muestras, por lo que se empleó un criterio de selección de éstas con base en su importancia y aportación a dicho trabajo.

5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

5.1. Síntesis química de nanopartículas de CdS

Con el fin de obtener un control positivo de formación de nanopartículas de CdS, se realizó una síntesis química siguiendo la bibliografía previamente reportada (Sandoval y col., 2017). De acuerdo con varios estudios, las nanopartículas coloidales de CdS, sintetizadas por vía química absorben a longitudes de onda de 406, 415, 422, 450, y 512 nm, esto dependiendo de los reactivos utilizados en la síntesis; dichas señales de absorción se ven modificadas cuando hay un incremento en la concentración de las NPs y, en este caso, incrementa la intensidad de las señales de absorción (Khan y col., 2012; Maleki y col., 2017; Muthu y col., 2019).

La síntesis química de NPs CdS (control positivo) se vio evidenciada mediante la señal de absorción a 450 nm (Figura 8), debido a que en esta longitud de onda se representa la máxima absorción de las NPs CdS, dicha absorción disminuye cuando el tamaño de partícula es menor como resultado del confinamiento cuántico de los nanomateriales evaluados (Prabhu y Khadar, 2005).

Con el fin de confirmar la presencia de nanopartículas, en la Figura 9A se muestra la micrografía de TEM en la que se observa la presencia de NPs CdS con un tamaño promedio de 10.11 ± 6.89 nm (Figura 9B). Además, se encuentran visiblemente aglomeradas, por lo que será conveniente someterlas a otro proceso de estabilización si es que se requiere dar un uso a las mismas. Se ha reportado (Li y col., 2011) que las propiedades de confinamiento cuántico de las nanopartículas dependen de su diámetro y forma; se sabe que si se obtiene un tamaño homogéneo en las NPs, es posible evitar variaciones en las propiedades y características de éstas, por lo tanto, la síntesis química de NPs realizada en este trabajo podría ser mejorada para evitar la aglomeración y polidispersidad, si se adiciona un estabilizante cuando se esté llevando a cabo la síntesis o si se modifica el pH de la solución coloidal de NPs (Bastús y col., 2014; Pinto y col., 2020; Zhang y col., 2020). Aunque se ha demostrado que la adición de un solvente en la síntesis química de NPs CdS tiene gran influencia en la estructura, la composición del producto y el tamaño medio de estos nanomateriales (Chawla y col., 2010), se sugiere que la aglomeración pudo haber tenido lugar por la cantidad de metanol empleado

durante los lavados.

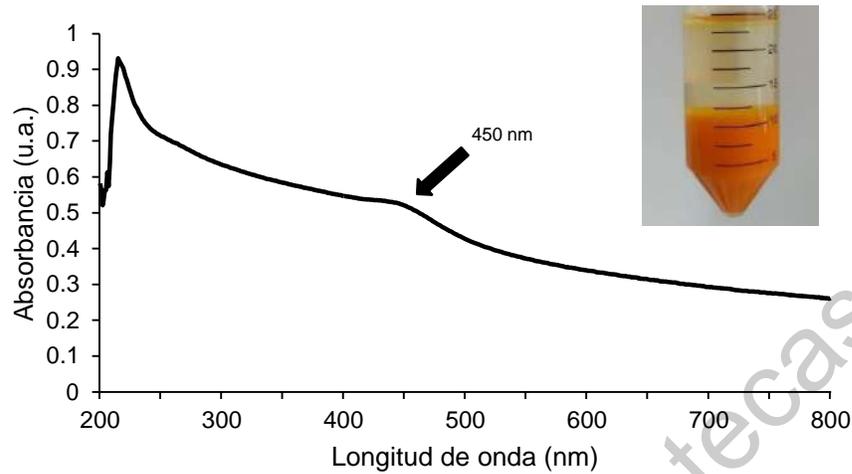


Figura 8. Espectro de absorción UV-Vis de la reacción de síntesis de nanopartículas de CdS por vía química y fotografía de su apariencia física.

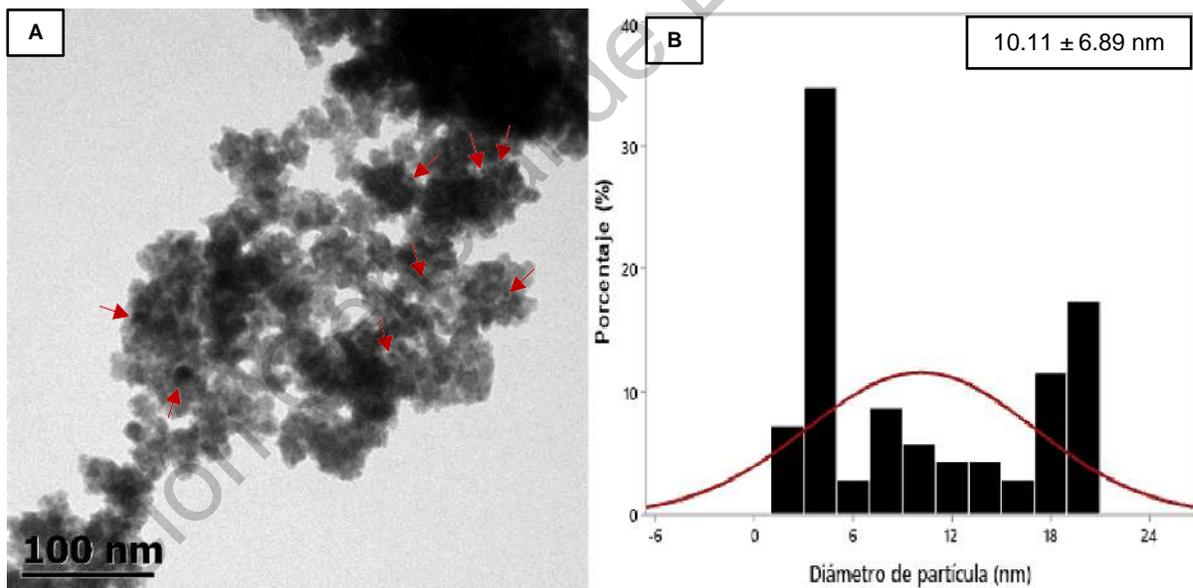


Figura 9. A) Micrografía de TEM de NPs CdS producidas por síntesis química B) Histograma del tamaño de las NPs CdS sintetizadas.

5.2. Síntesis biológica de nanopartículas utilizando biomasa húmeda

Para la medición de la absorción de la resonancia de plasmón superficial de las muestras de nanopartículas, se realizó una dilución 1:10 de la solución coloidal con

agua destilada.

El espectro de UV-Vis de la Figura 10A, correspondiente a la muestra de la síntesis de NPs CdS; muestra bandas de absorción a 219 y 270 nm, las cuales corresponden a la absorción de dobles enlaces posiblemente de moléculas tales como proteínas, así como aminoácidos aromáticos (Atiken, 2002; Lewis y col., 2010; Prasad y col., 2017). Asimismo, se presenta una banda a 320 nm, la cual pertenece a la absorción del plasmón superficial de NPs CdS; se ha reportado que las nanopartículas de CdS sintetizadas por vía química pueden absorber en un rango de 300-315 nm (Sandoval y col., 2017). La banda de emisión de las nanopartículas (Figura 10B) se detectó aproximadamente a 515 nm; no obstante, Prabhu y Khadar (2005), demostraron que las nanopartículas de CdS pueden emitir hasta 450, 470, 482 y 493 nm (esto cuando son monodispersas y estables), lo cual, en el trabajo reportado, puede indicar que dichos nanomateriales no se encuentran dispersos y se generan aglomerados, o bien, se trata de nanopartículas de diferentes tamaños. Con base en los reportes que indican la presencia de NADH o residuos de aminoácidos en los rangos mencionados de 430 a 450 nm (Sandoval y col., 2017), la banda en 515 nm se tomó como posible indicativo de la producción de las nanopartículas. Adicionalmente, en esta figura se puede observar que la señal del control biológico, a 440 nm, presenta un incremento con respecto a la banda a la misma longitud de onda, perteneciente a las NPs CdS, esto posiblemente debido al material orgánico de la solución coloidal que puede contener compuestos con fluoróforos (Hoch y col., 2005; Sanghi y Verma, 2009; Ventura y col., 2014)

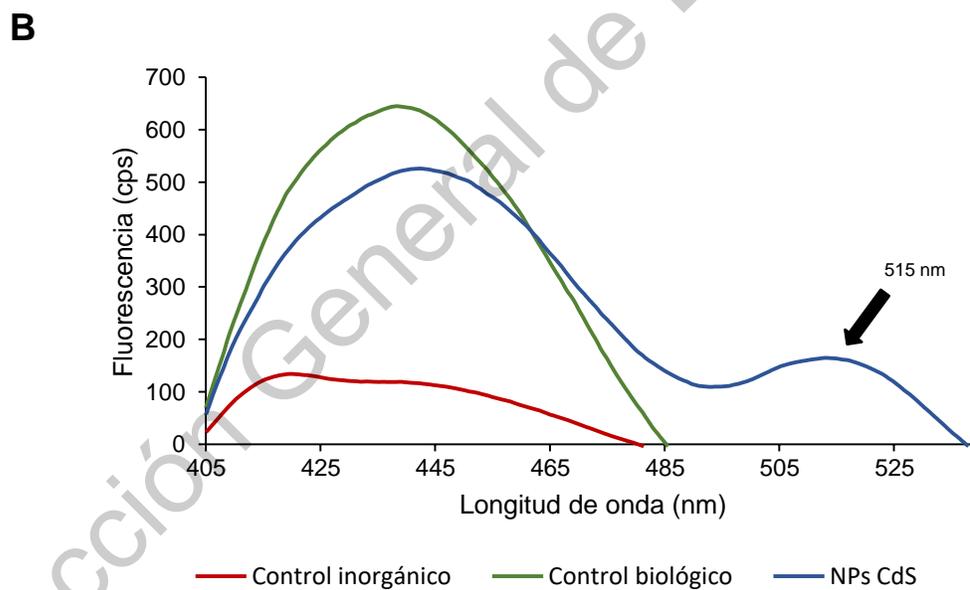
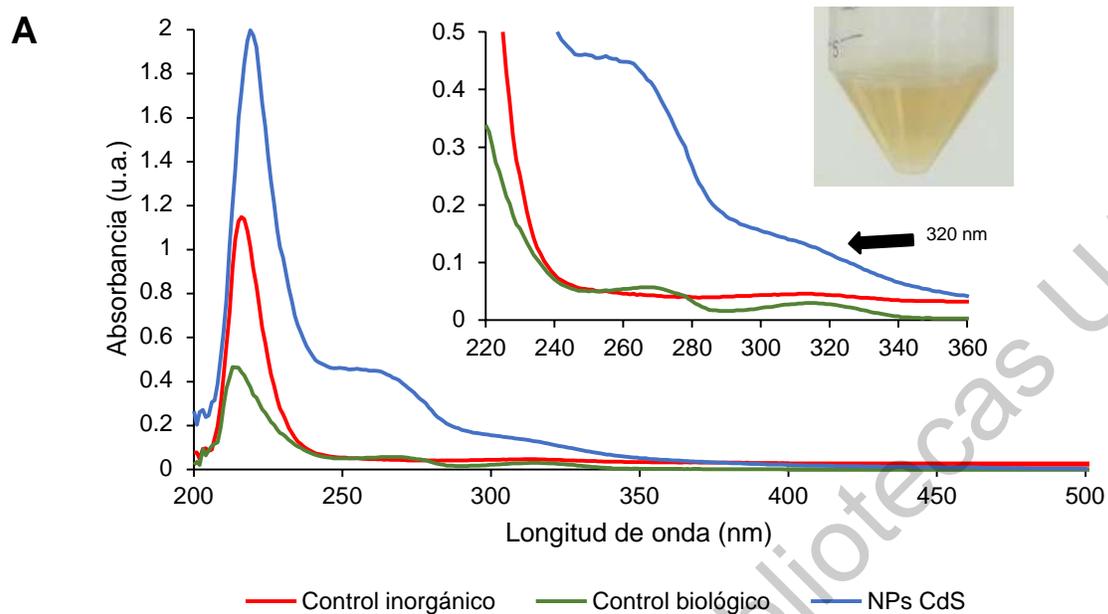


Figura 10. Espectros de A) absorción UV-Vis y B) emisión de fluorescencia de las nanopartículas de CdS sintetizadas a partir de la biomasa de *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* y fotografía de su apariencia física después de 24 h de incubación.

El resultado del análisis de EDS de la Figura 11, muestra la presencia de picos de Cd a 3.4 keV y S a 2.4 keV, lo cual confirma la formación de sulfuro de cadmio puro y no

se presenta ninguna impureza elemental (Qutub y Sabir, 2012). No obstante, en un segundo análisis de EDS (Figura 13B) se encontraron elementos como O, N y C, los cuales se asocian al contenido orgánico en el que se encuentran suspendidas las nanopartículas. El tamaño de las NPs CdS analizadas por TEM es de 6.37 ± 1.04 nm (Figura 12) lo cual se puede corroborar con las señales de los espectros de UV-Vis y Fluorescencia. Adicionalmente, en la micrografía de TEM se puede observar que las nanopartículas obtenidas son de forma esférica aunque también se observa que dichos nanomateriales se encuentran visiblemente aglomerados por lo que un trabajo futuro podría optar por modificar condiciones de pH en la solución coloidal para lograr un tamaño de partícula más homogéneo (Sankhla y col., 2016). El espectro EDS de la Figura 11 muestra la abundancia de elementos específicos y exhibe una señal fuerte a 3.2 keV para Cd y 2.4 keV para S.

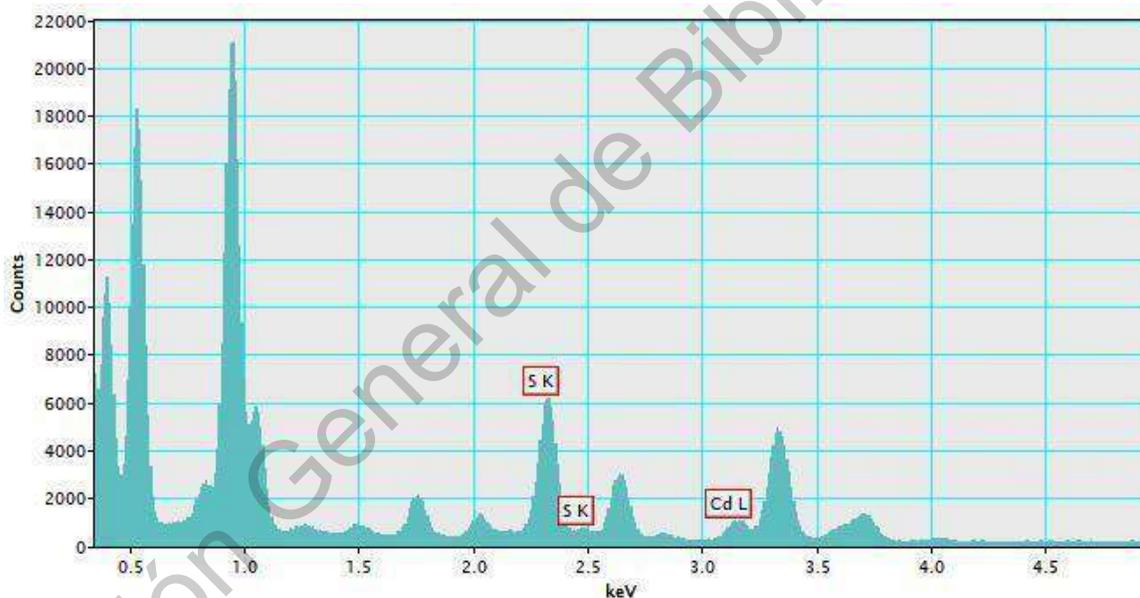


Figura 11. Espectro EDS de NPs CdS sintetizadas con la biomasa de *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*

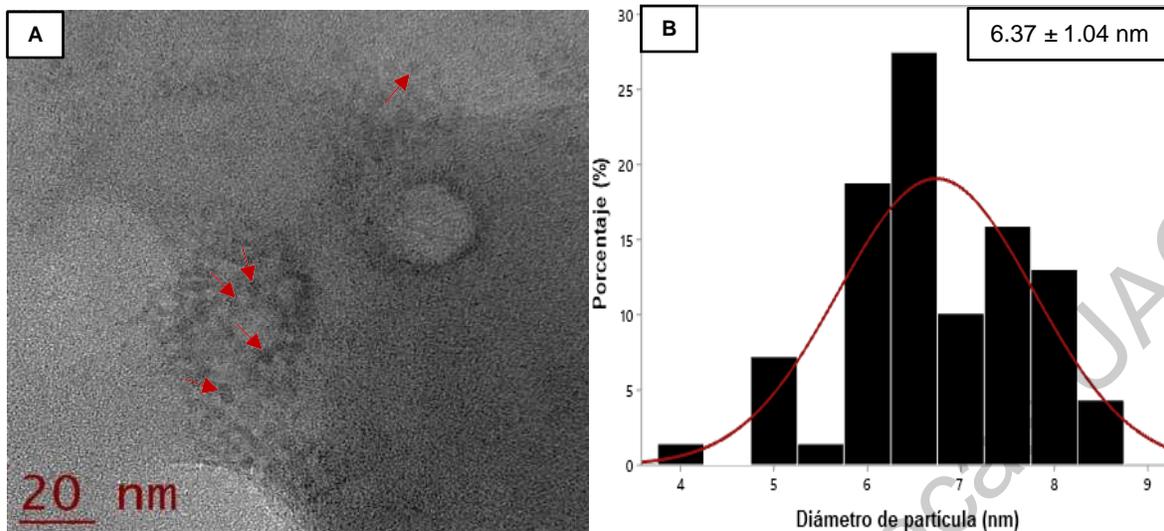


Figura 12. A) Micrografía TEM de NPs CdS sintetizadas con biomasa de *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici*. B) Histograma del tamaño de las NPs CdS sintetizadas.

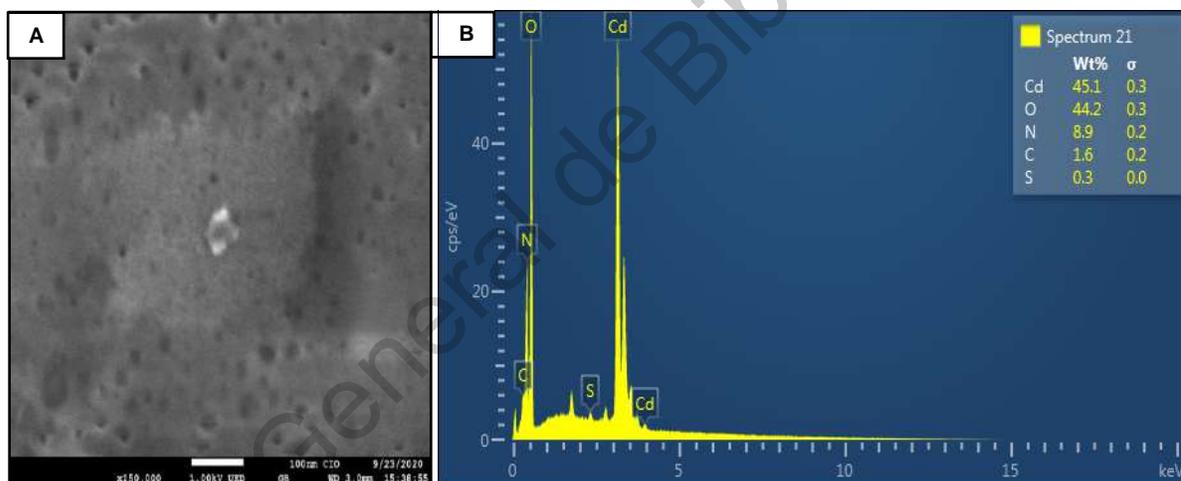


Figura 13. A) Micrografía SEM de NPs CdS sintetizadas con biomasa de *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici*. B) Espectro EDS.

5.3. Determinación del poder reductor de los extractos fúngicos

La obtención de extractos de biomasa fúngica es relativamente sencilla ya que ésta es fácil de secar porque su estructura no tiende a colapsarse (Nigam y Singh, 2014). Se ha reportado que los hongos tienen la ventaja de producir y excretar enzimas, proteínas y moléculas orgánicas como metabolitos secundarios, los cuales tienen la capacidad de reducir metales y compuestos inorgánicos (García, 2017). Empleando la metodología FRAP (*Ferric Reducing Antioxidant Power*) en la Figura 14 se muestra una gráfica con

los resultados del poder reductor de cada uno de los extractos considerando un control positivo de ácido ascórbico al 10%. La curva de calibración y sus resultados se muestran en el Anexo A.

Para los extractos obtenidos de la biomasa de *Fusarium oxysporum f. sp. lycopersici*, los resultados del diseño entre grupos señalan que no existen diferencias estadísticamente significativas entre el poder reductor de los tres extractos evaluados, tal como se muestra en la Figura 15.

Lo anterior puede deberse a que el agua, el metanol y el etanol tienen propiedades químicas similares en cuanto a la polaridad, pudiendo extraer compuestos de naturaleza química semejante. No obstante, como se mencionó anteriormente, el efecto de cada extracto para producir nanopartículas de sulfuro de cadmio demostró ser diferente en cada evaluación, destacando que los extractos de agua y metanol resultaron más eficientes (con base en la estabilidad de la solución coloidal que se analizará más adelante) para sintetizar las nanopartículas de sulfuro de cadmio, esto debido a que se ha reportado que los solventes polares extraen una mayor cantidad de metabolitos secundarios (Kundu y col., 2016). Es importante mencionar que la naturaleza y características de la biomasa de cada cepa fúngica son únicas por lo que se producen moléculas diferentes que pueden o no, conferirle estabilidad a las nanopartículas posiblemente formadas, tal es el caso de las proteínas. Para realizar este tipo de demostración sería conveniente realizar un estudio proteico de electroforesis o un estudio de las biomoléculas presentes en los extractos. Cabe señalar, que, si bien es de suma importancia considerar el poder reductor que tengan los extractos, los extractos de las cepas ideales para producir nanopartículas, serán aquellas que puedan sintetizar con mayor estabilidad dichos nanomateriales. Por lo tanto, este trabajo abre la posibilidad de optimizar la síntesis de nanopartículas de CdS, buscando tener un control en las características físicas de éstas.

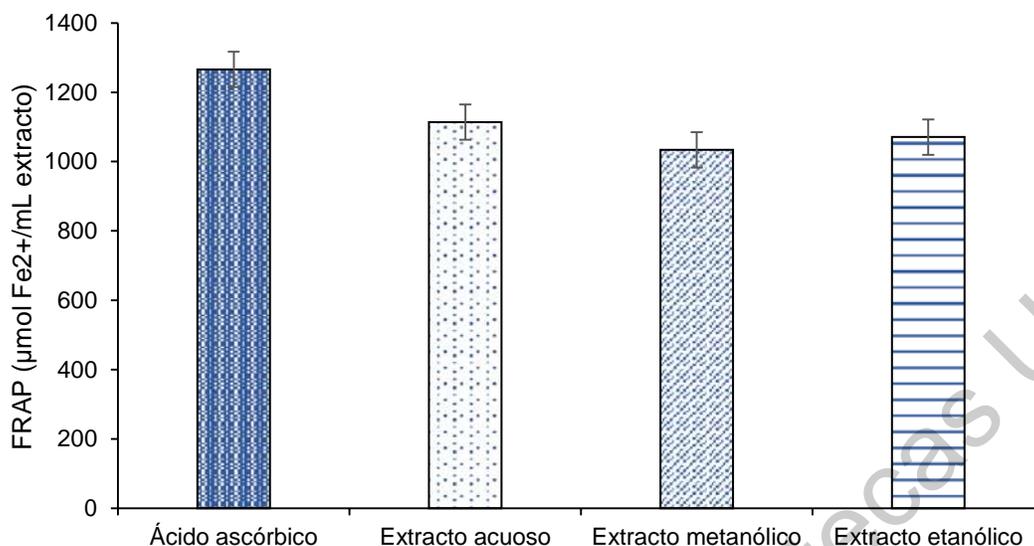


Figura 14. Poder reductor de los extractos de biomasa fúngica empleados en la síntesis de NPs CdS

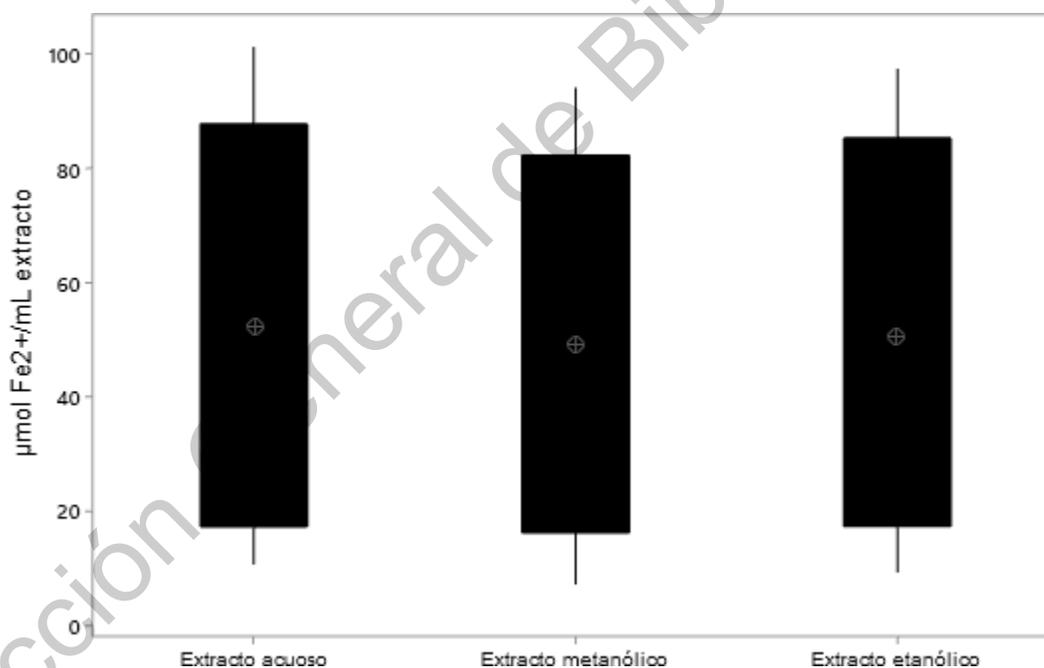


Figura 15. Gráfica de cajas del análisis de varianza entre el poder reductor de los extractos orgánicos obtenidos de la biomasa de *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici*.

5.4. Síntesis de NPs CdS con extractos orgánicos de biomasa seca

*Las tres muestras de nanopartículas obtenidas mediante extractos de biomasa del hongo (extracto acuoso, metanol y etanol), fueron seleccionadas para realizar análisis

que proporcionaran mayor información. Dichos análisis incluyen SEM, EDS y Potencial Zeta.

5.4.1. Síntesis con extracto acuoso

Las señales obtenidas en el espectro de absorción, correspondientes al extracto acuoso de la biomasa de *Fusarium oxysporum f.sp lycopersici*, (Figura 16A) muestran que las nanopartículas de CdS absorben a 320 nm. Borovaya y col., en 2016, reportaron que las nanopartículas de CdS pueden absorber desde 292 nm, indicando que se puede tratar de nanopartículas pequeñas de tamaños entre 3-4 nm o bien, de puntos cuánticos con un tamaño de 1 nm. (Borovaya y col., 2016; Kumar y col., 2007). Por lo tanto, con esta información, se sugiere que la banda de absorción a 320 nm del espectro UV-Vis (Figura 16A), corresponde a la formación de las NPs CdS. Una de las razones por las que las nanopartículas sintetizadas biológicamente pueden absorber a una menor longitud de onda, a diferencia de las nanopartículas químicas, es que se trata de nanopartículas de menor tamaño. En un estudio de 2016 sobre biosíntesis de NPs CdS, Sankhla y col. demostraron que la banda prohibida aumenta con la disminución de tamaño de partícula debido al confinamiento cuántico de las NPs y los espectros tienden a desplazarse hacia la región ultravioleta. De igual forma se ha demostrado que los tiempos en los que se mide la absorción de las nanopartículas de CdS es muy importante, por ejemplo, durante las primeras 3 h las NPs CdS pueden llegar a presentar bandas de absorbancia a 240 nm y pasado este tiempo la señal puede disminuir debido a la inestabilidad coloidal (Sanghi y Verma, 2009). La banda de emisión a 445 nm (Figura 16B) indica que hay materia orgánica en la muestra, podría indicar la presencia de NADH y NADPH o también pudiera tratarse de péptidos (Sandoval y col., 2017). Con base en reportes previos (Du y Li, 2003; Sergiel y col., 2009; Mansur y col., 2012), en este estudio, se consideró la banda a 515 nm como indicativo de la formación de NPs CdS.

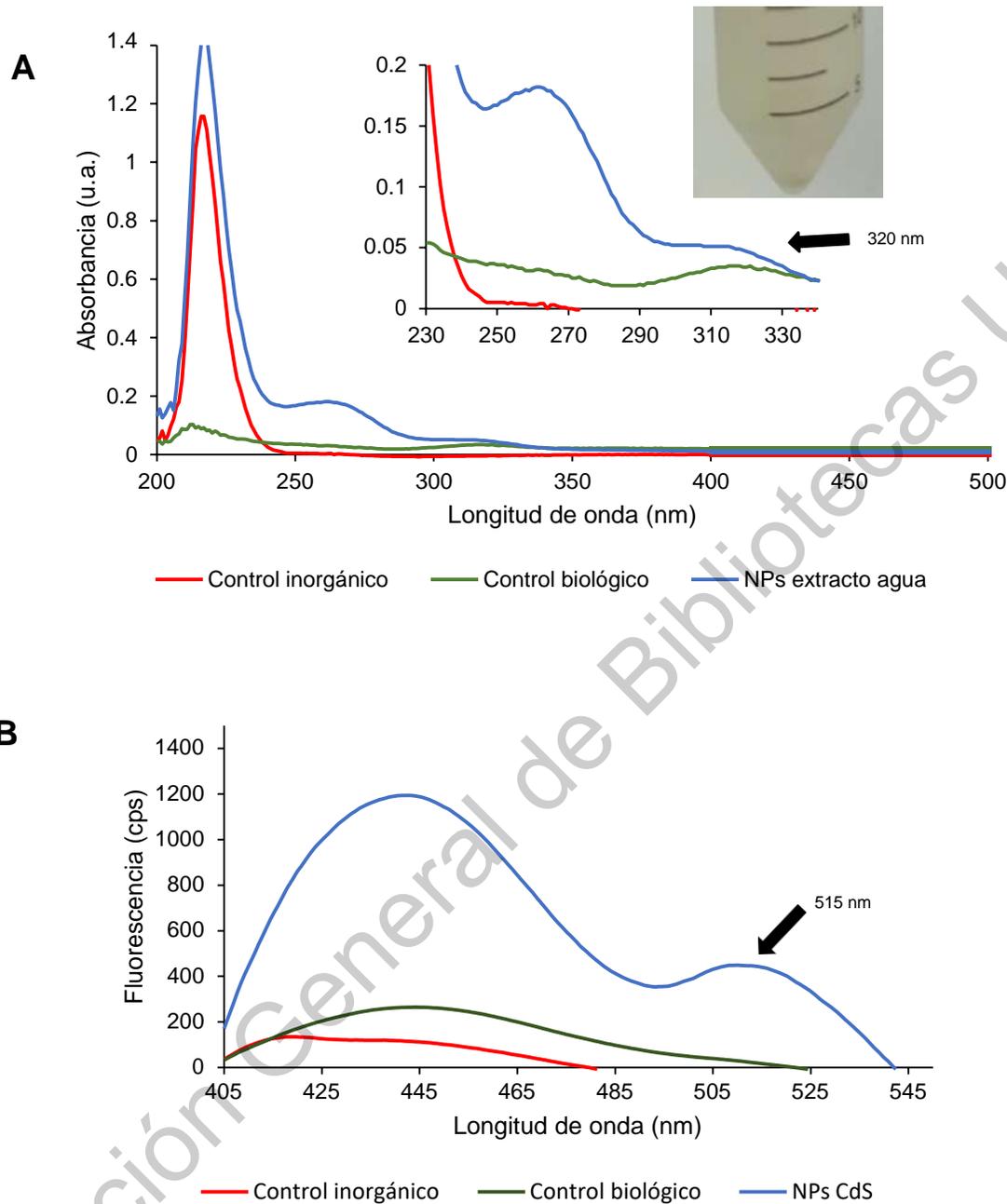


Figura 16. Espectros de A) absorción y B) emisión de la obtención de nanopartículas a partir del extracto acuoso de la biomasa de *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* y fotografía de su apariencia física después de 24 h de incubación.

Los picos de energía de EDS (Figura 17) corresponden a los distintos elementos del coloide de nanopartículas, demostrando que el Cd y S están presentes. En la Figura 18A se muestra la micrografía de TEM con la que se calcularon los tamaños de las

nanopartículas de 1-4 nm (Figura 18B), para complementar la información sobre las características de las NPs, se obtuvo una micrografía de SEM que se muestra en la Figura 19A, con su respectivo espectro de EDS (Figura 19B), en éste se detectaron los elementos de importancia (Cd y S) para la formación de NPs CdS, así como metales (Na y K) que se sugiere están en la muestra por algún tipo de contaminación. No obstante, en las micrografías de TEM y SEM se puede observar que dichas NPs se encuentran aglomeradas y esto pudiera estar relacionado con la falta de estabilidad de la solución coloidal. Kuznetsova y Rempel, en 2015, demostraron que con el valor de potencial Zeta se puede evaluar la estabilidad de los sistemas coloidales de nanopartículas de CdS, por lo tanto se puede inferir que si el valor medio de potencial Z es de -6.6 mV (Figura 20), el coloide de nanopartículas no es estable. En este trabajo se obtuvieron valores de potencial zeta negativos, lo cual se debe a una densa nube de electrones que se concentra en las nanopartículas. Es importante mencionar que a potenciales bajos (menores a -10 mV o mayores a +10 mV) las nanopartículas coloidales tienden a coagularse o agregarse (Yahaya y col., 2020).

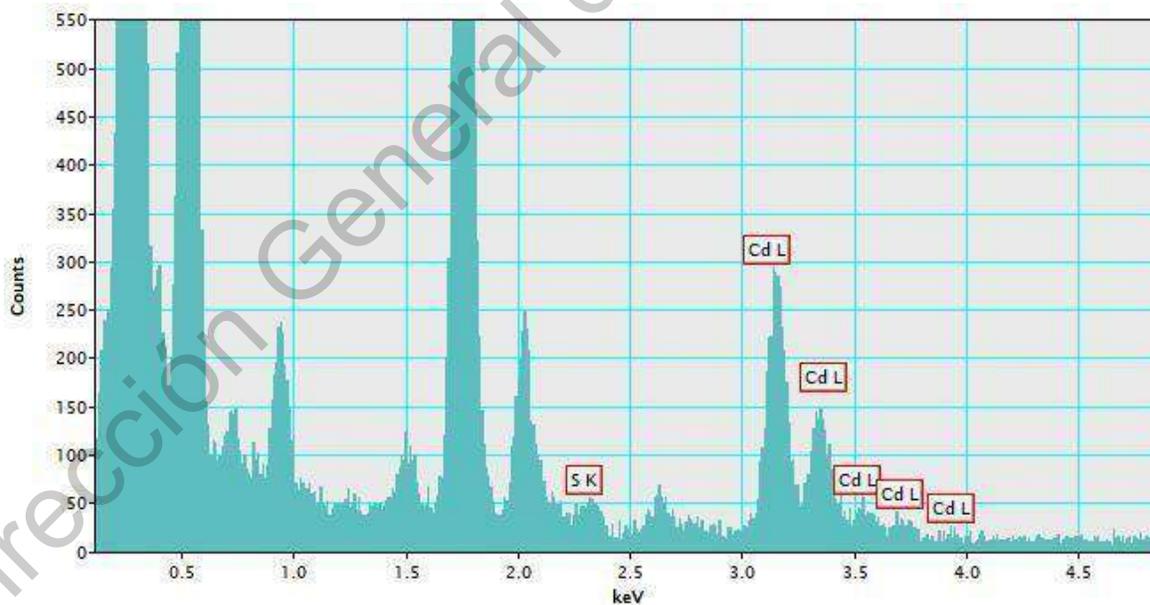


Figura 17. Espectro EDS de NPs CdS producidas mediante el extracto acuoso de la biomasa de *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici*

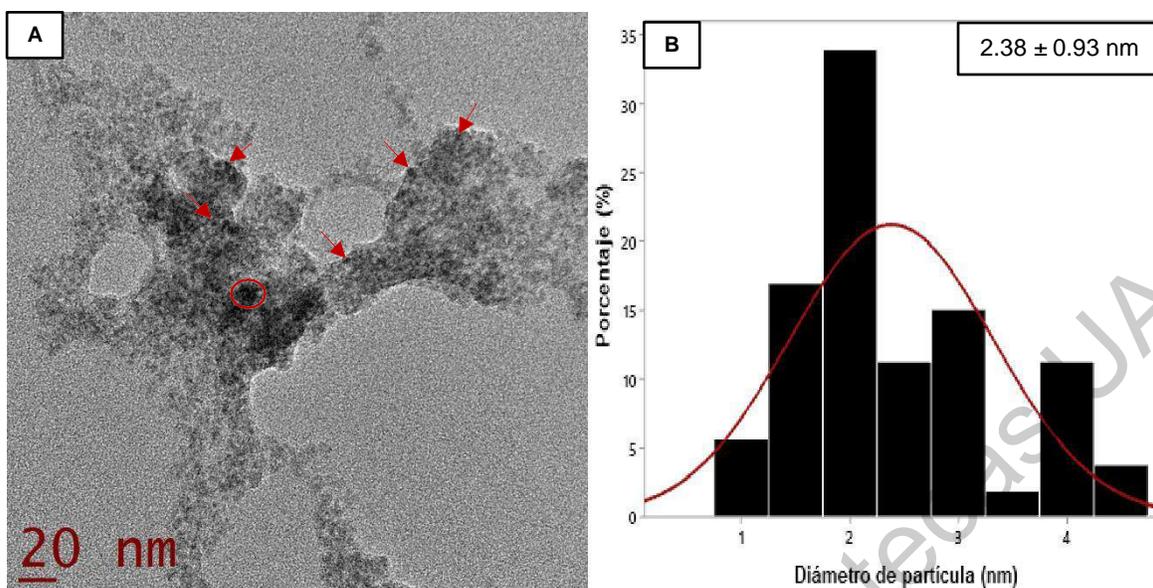


Figura 18. A) Micrografía TEM de NPs CdS sintetizadas con extracto acuoso de la biomasa de *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici*. B) Histograma del tamaño de las NPs CdS sintetizadas.

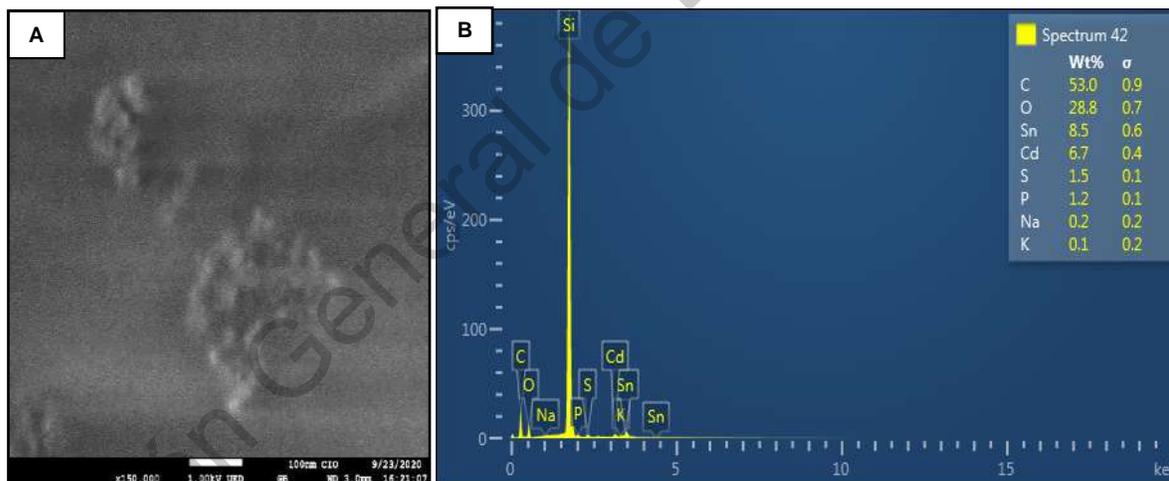


Figura 19. A) Micrografía SEM de NPs CdS sintetizadas con extracto acuoso de la biomasa de *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici*. B) Espectro EDS.

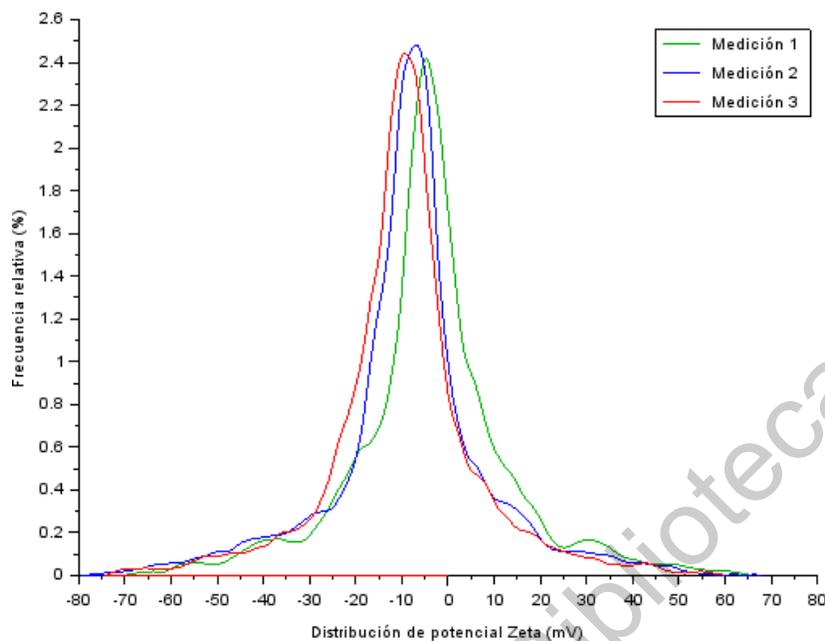


Figura 20. Distribución de potencial Zeta de NPs CdS producidas mediante el extracto acuoso de la biomasa fúngica.

5.4.2. Síntesis con extracto metanólico

El espectro de absorción de la Figura 21A, muestra señales a 260 y 320 nm, que corresponden a la absorbancia de NADPH / NADH y a la formación de nanopartículas de CdS, respectivamente (Huang y col., 2005; Kim y col, 2019; Khan, 2012; Prasad y col., 2017).

Las bandas de emisión obtenidas por el extracto metanólico de *F. oxysporum f.sp. lycopersici*, en 440-450 nm, indican la presencia de anillos aromáticos, pudiendo pertenecer al triptófano, como lo reportaron Chopra y col. (2019) y Srivastava y col. (2011). De igual forma se ha demostrado que la biomasa de *Fusarium oxysporum*, cultivada en medio líquido, contiene cantidades altas de todos los aminoácidos esenciales (Pedone y col. 2005; Pradeep y Pradeep, 2013). La banda de emisión a 515 nm se atribuye al plasmón superficial, correspondiente a las nanopartículas de CdS (Singh y Chauhan, 2009).

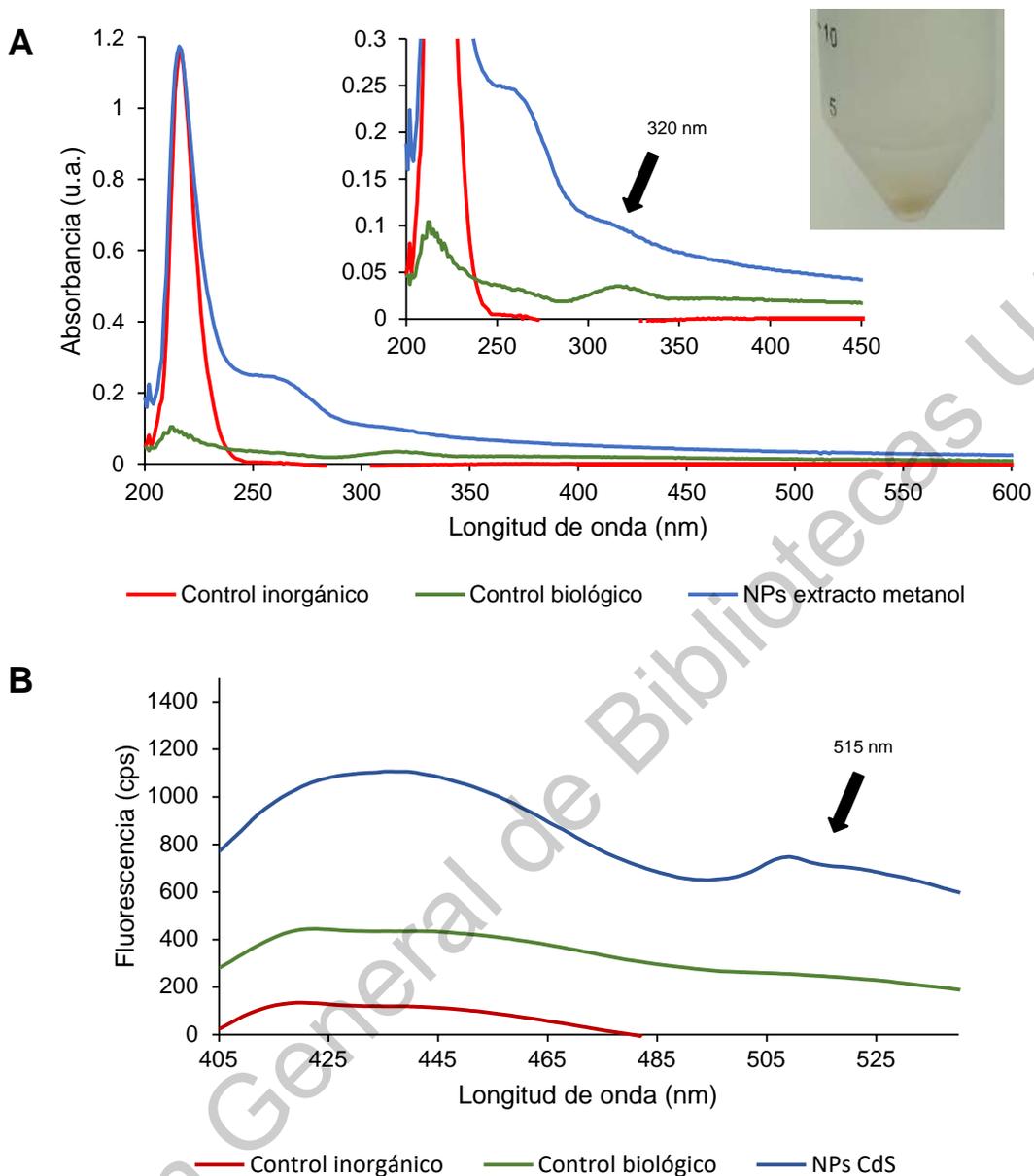


Figura 21. Espectros de A) absorción y B) emisión de la obtención de nanopartículas a partir del extracto metanólico de la biomasa de *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* y fotografía de su apariencia física después de 24 h de incubación.

A pesar de que no fue posible obtener una micrografía de alta resolución de TEM para esta muestra debido a contaminación y problemas físicos de la rejilla (Figura 22) se alcanzan a percibir pequeñas nanopartículas de tamaños menores a 50 nm y justamente por observarse pocas NPs, no se realizó el conteo ni el histograma de tamaño de partícula. En el análisis elemental de EDS de la Figura 23, se observa la presencia de

Cd y S, aunque también se encontraron metales que confirman la contaminación antes mencionada. Adicionalmente, una micrografía SEM y el análisis de EDS indican la presencia de NPs CdS en la muestra (Figura 24A y 24B).

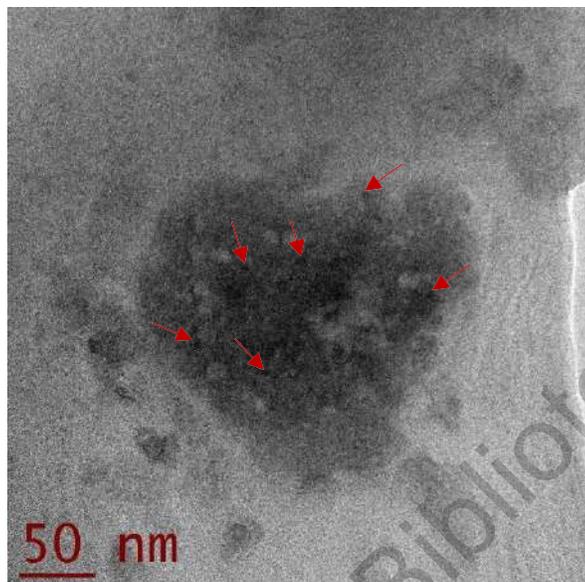


Figura 22. Micrografía TEM de NPs CdS sintetizadas con el extracto metanólico de la biomasa de *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici*.

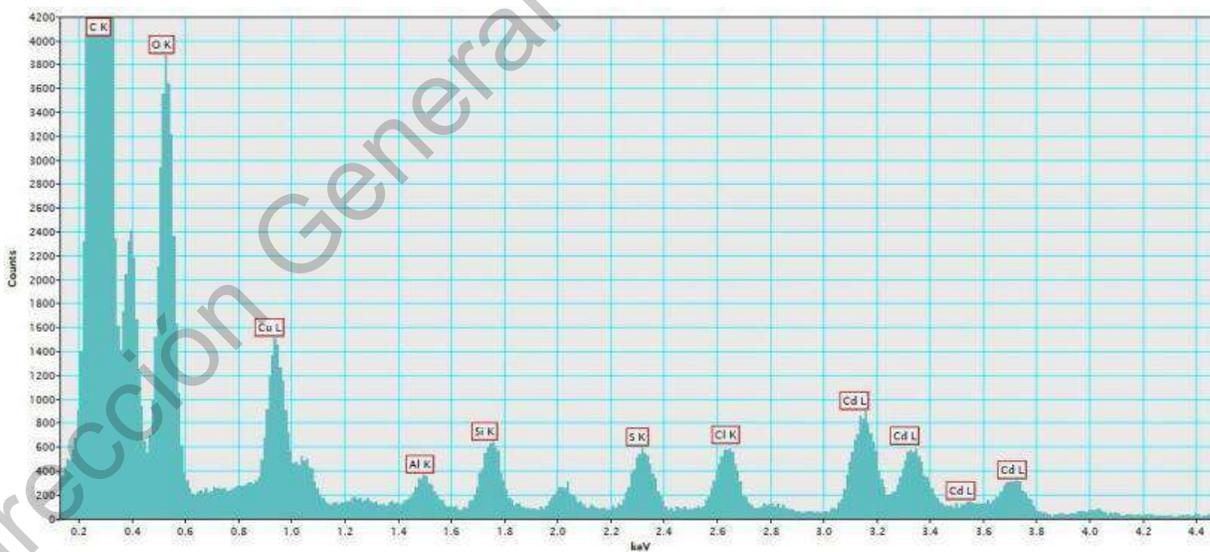


Figura 23. Espectro EDS de NPs CdS producidas mediante el extracto metanólico de la biomasa de *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici*.

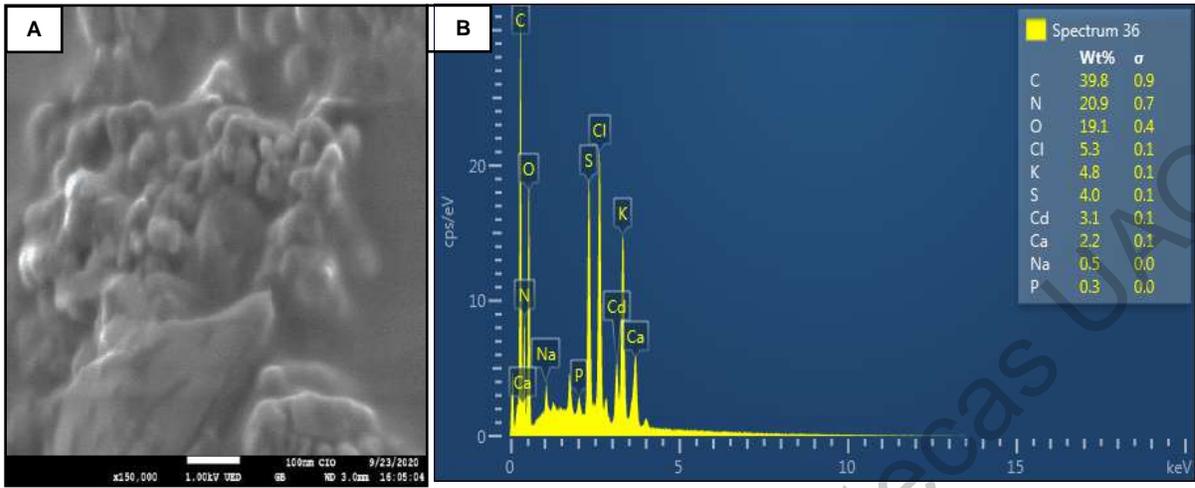


Figura 24. A) Micrografía SEM de NPs CdS sintetizadas con el extracto metanólico de la biomasa de *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* B) Espectro EDS.

Por otro lado, el resultado de potencial Zeta de la solución coloidal de NPs CdS sintetizadas a partir del extracto metanólico de la biomasa, fue determinante para considerarla como la solución coloidal que tuvo mejor estabilidad dado el valor medio de potencial Zeta de -37.3 mV (Figura 25). Yahaya y col, 2020, refieren que las partículas muy dispersas tienen valores de potencial zeta superiores a +30 mV o inferiores a -30 mV. De igual forma, otros autores confirman que el potencial Zeta medido en las soluciones de nanopartículas de CdS biosintetizadas con una fase estable tiene valores menores a -30 mV (Kuznetsova y Rempel, 2015).

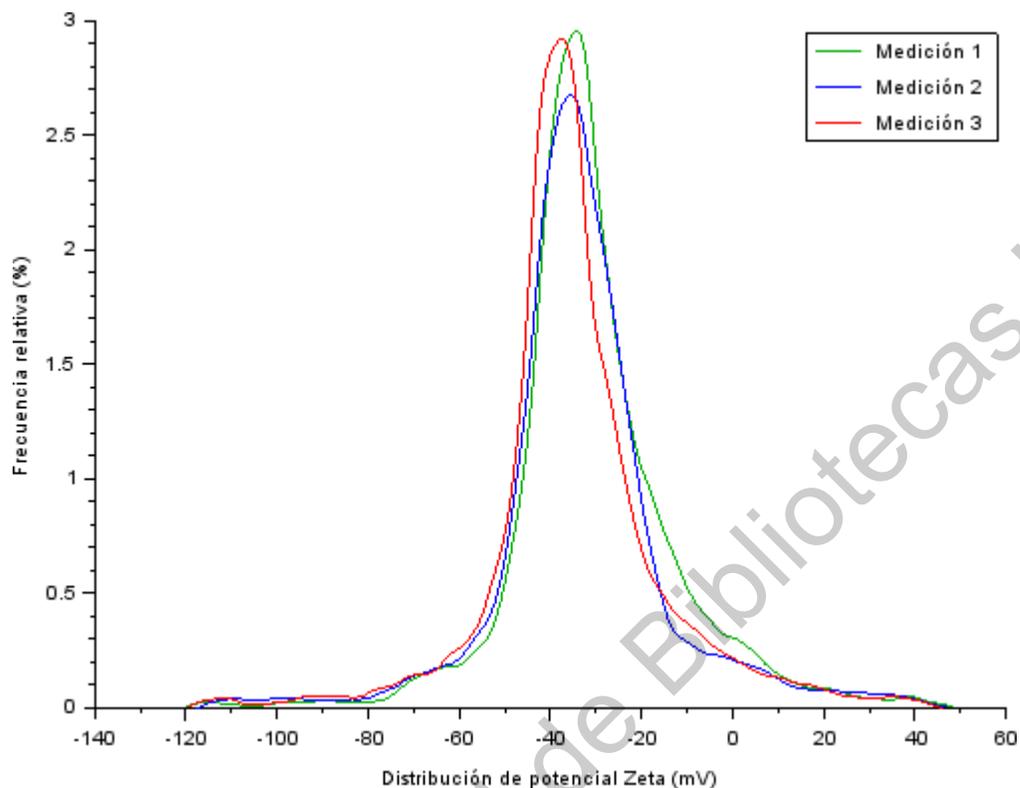


Figura 25. Distribución de potencial Zeta de NPs CdS producidas mediante el extracto metanólico de la biomasa fúngica.

5.4.3. Síntesis con extracto etanólico

En la Figura 26A y 26B, respectivamente, se muestran los espectros de absorción y emisión de la resonancia del plasmón superficial de las nanopartículas obtenidas con el extracto etanólico. En el primer espectro, se observa una banda de absorción a 320 nm que sugiere la formación de NPs CdS (Chatterjee y Patra, 2001; Khan, 2012). En el espectro de emisión, la señal a la que se atribuye la formación de las nanopartículas de CdS, se encuentra en aproximadamente 515 nm (Sergiel y col., 2009; Mansur y col., 2012).

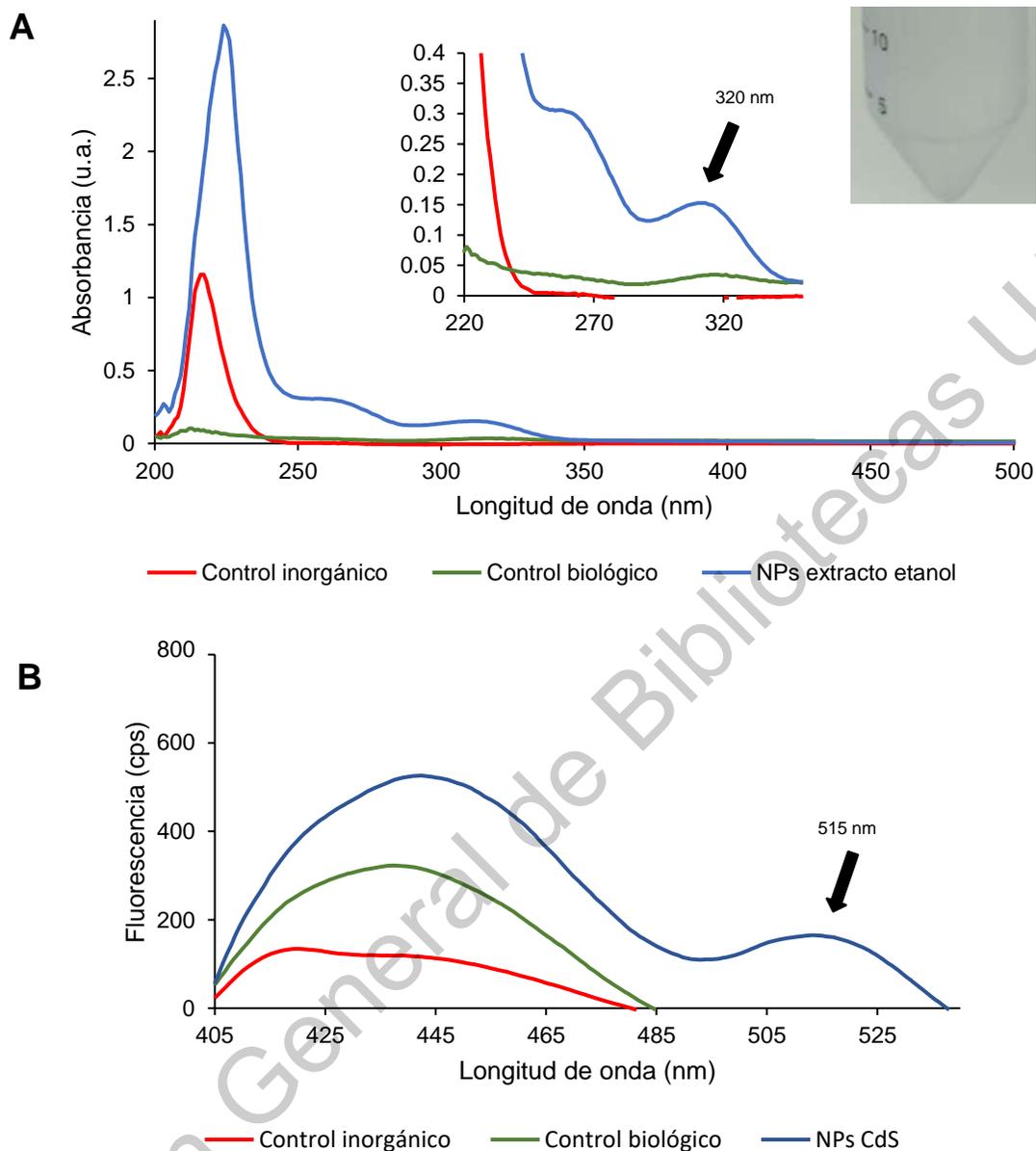


Figura 26. Espectro de A) absorción y B) emisión de la obtención de nanopartículas a partir del extracto etanólico de la biomasa de *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* y fotografía de su apariencia física después de 24 h de incubación.

Se ha demostrado (Pedone y col., 2005) que las nanopartículas de CdS pueden presentar bandas de emisión alrededor de 450 nm pero pueden haber modificaciones o desplazamientos en las bandas dependiendo de la estabilidad de las nanopartículas, su tamaño y si están agregadas o dispersas. No obstante, algunos aminoácidos como triptófano, residuos de cisteína o NADH pueden presentar bandas

de emisión en un rango de 430 a 450 nm (Sandoval y col., 2017), por lo tanto, se tomaría como banda sugerente de presencia de NPs CdS, la banda en 515 nm.

Se obtuvieron micrografías de TEM (Figura 27) y de SEM (Figura 29A) en las que se muestran partículas aglomeradas, pero se alcanzan a distinguir nanopartículas aisladas que son relativamente pequeñas. Debido a la cantidad limitada de NPs en estas micrografías, no se realizó el conteo ni se obtuvo histograma de tamaño de partícula.

Con el fin de analizar los elementos presentes en esta muestra, se realizaron dos análisis de EDS (Figura 28 y 29B), en ambos se observa la presencia de Cd y S.

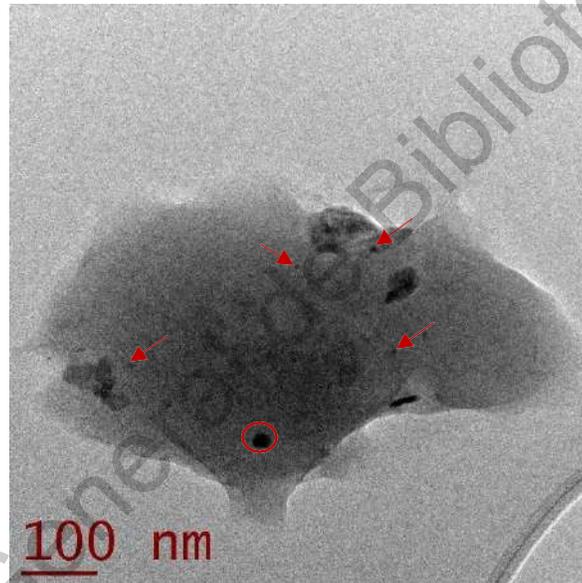


Figura 27. Micrografía TEM de NPs CdS sintetizadas con el extracto etanólico de la biomasa de *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici*.

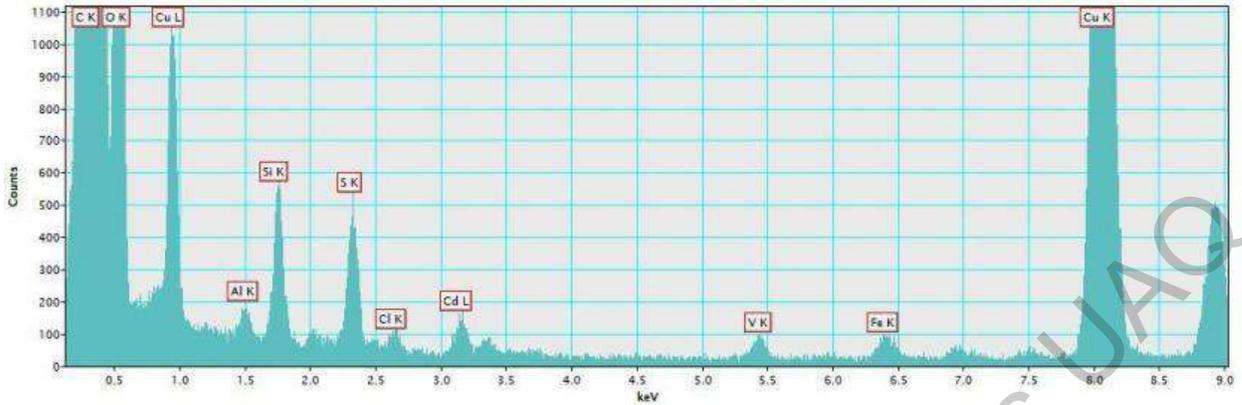


Figura 28. Espectro EDS de NPs CdS producidas mediante el extracto etanólico de la biomasa de *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici*.

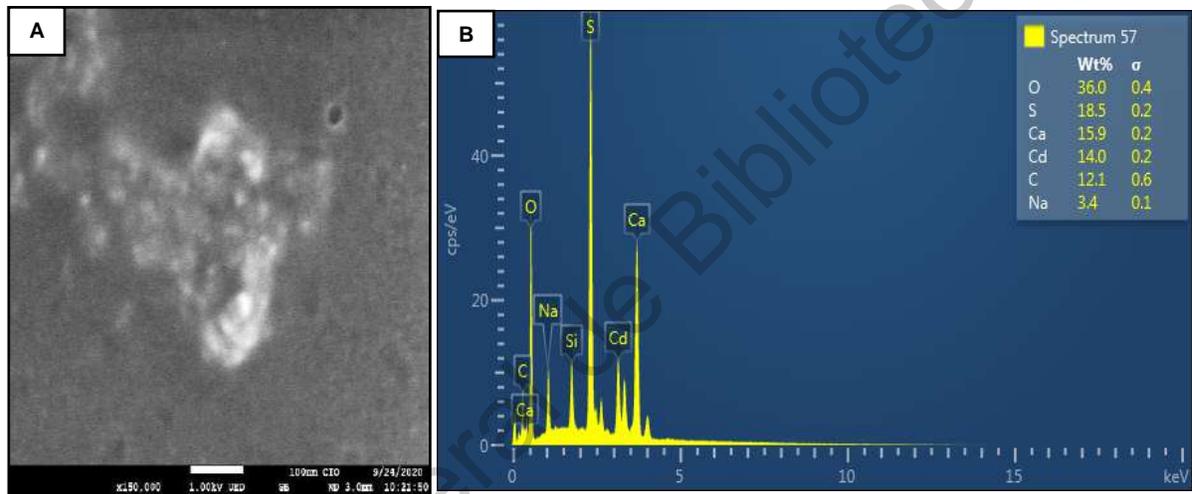


Figura 29. A) Micrografía SEM de NPs CdS sintetizadas con el extracto etanólico de la biomasa de *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* B) Espectro EDS.

En la Figura 30 se muestran los resultados de la determinación de potencial Zeta, en los que se confirma la agregación de las nanopartículas mencionada anteriormente. En esta medición se obtuvo un valor medio de -6.7 mV, lo que reitera que esta solución coloidal de nanopartículas no es estable.

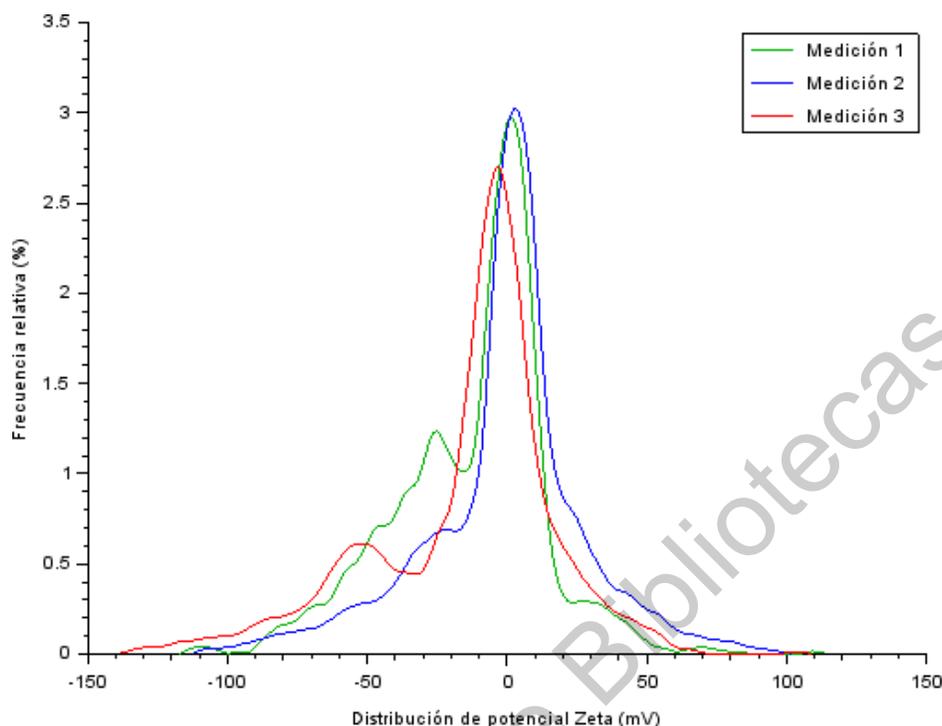


Figura 30. Distribución de potencial Zeta de NPs CdS producidas mediante el extracto etanólico de la biomasa fúngica.

5.5. Análisis FTIR de muestras seleccionadas

Con el fin de identificar bandas características de grupos funcionales presentes en las soluciones coloidales de nanopartículas, se seleccionaron tres de muestras: NPs CdS sintetizadas por vía química, NPs CdS sintetizadas mediante el extracto metanólico de *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici* y el control biológico con la biomasa de esta cepa. Se secaron a 70 °C durante 2 horas, se recolectaron las muestras secas en tubos Eppendorf y se enviaron a analizar en un equipo de FTIR.

En el espectro correspondiente a la síntesis química de NPs CdS (Figura 31) se observa una banda ancha aproximadamente en 3320 cm^{-1} , correspondiente a grupos OH (Martínez, 2014). En muestras húmedas aparece la señal de estiramiento H-O-H (3600-3100) y la presencia de este grupo funcional se puede corroborar por la flexión en 1638 cm^{-1} (Rojo, 2012).

Las bandas alrededor de 1300 y 1200 pueden atribuirse a la vibración de estiramiento del enlace C-O. Las señales de 1200 a 1000 podrían deberse al estiramiento y vibración entre N-H (Prasad y col., 2014).

De acuerdo con reportes de Kumar y col., 2011, las bandas cercanas a 1040, 1116 y 1645 cm^{-1} , sugieren la presencia de nanopartículas de CdS. En la Figura 32, las señales correspondientes a las NPs, según la literatura, se encuentran a 1638, 1125 y 1044 cm^{-1} .

Al igual que en el espectro de la síntesis química, en el espectro correspondiente a la síntesis con el extracto metanólico de la biomasa, se presenta una banda intensa a 3200 cm^{-1} , indicando la presencia de grupos de H-O-H en la muestra. Las bandas de 3187 y 2938 cm^{-1} , indican la presencia de grupos CH_2 o CH_3 , sin embargo, la señal de 1451 cm^{-1} , confirma que se trata de CH_3 (Rojo, 2012). Por otro lado, la banda observada en 1393 cm^{-1} , corresponde al enlace C-N, el cual se puede atribuir a las vibraciones del metileno de las proteínas de la muestra. Las bandas observadas a 1240 y 1451 cm^{-1} corresponden a grupos carboxilo y aminas aromáticas, respectivamente (Bakhshi y Hosseini, 2016). Las bandas a 1650 y 1123 cm^{-1} sugieren la presencia de NPs CdS (Kumar y col., 2011). Sin embargo, Naranthatta y col, en 2021, demostraron que las señales de las vibraciones de las NPs CdS pueden presentarse a 765, 614, 559 y 465 cm^{-1} , esto dependiendo de la matriz en la que se hayan sintetizado las nanopartículas.

En la Figura 33, se observa una banda a 3257 cm^{-1} , indicando que se trata de una muestra con cierto contenido de agua (Rojo, 2012) La señal a 2936 cm^{-1} , se atribuye a las vibraciones de metileno de los hidrocarburos de las proteínas presentes en el medio, mientras que las bandas a 1621 y 1578 cm^{-1} , se relacionan con la presencia de amidas primarias y secundarias, respectivamente (Bakhshi y Hosseini, 2016).

Es de vital importancia señalar que el objetivo de mostrar los resultados de FTIR de estas muestras es conocer a grandes rasgos los grupos funcionales presentes en el coloide, los cuales pudieran pertenecer a moléculas que aún no han sido elucidadas, además, en los espectros de las Figuras 31 y 32, se encuentran señaladas con rojo, las bandas que pudieran pertenecer a átomos de Cd y S.

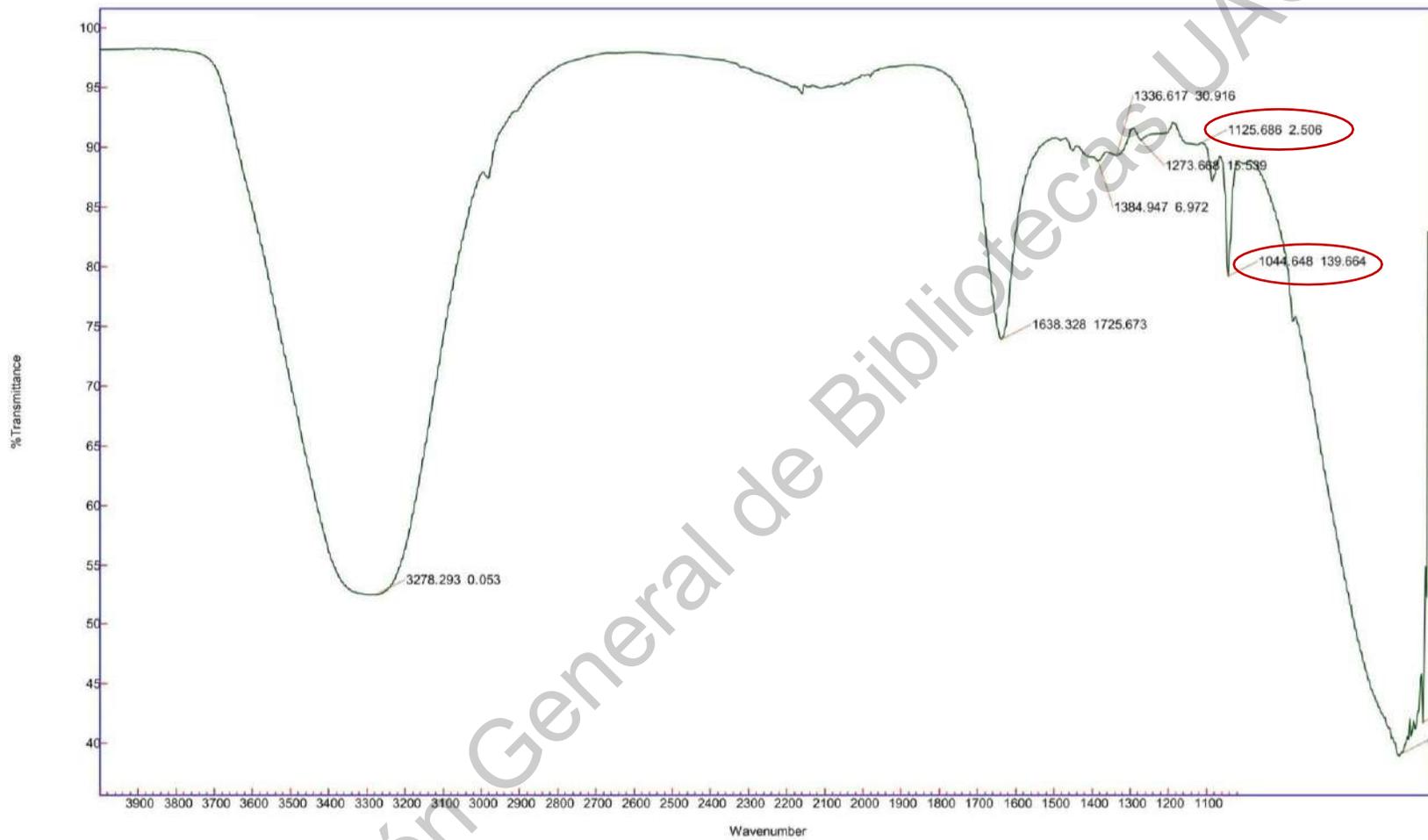


Figura 31. Espectro de FTIR de nanopartículas de CdS obtenidas por síntesis química.

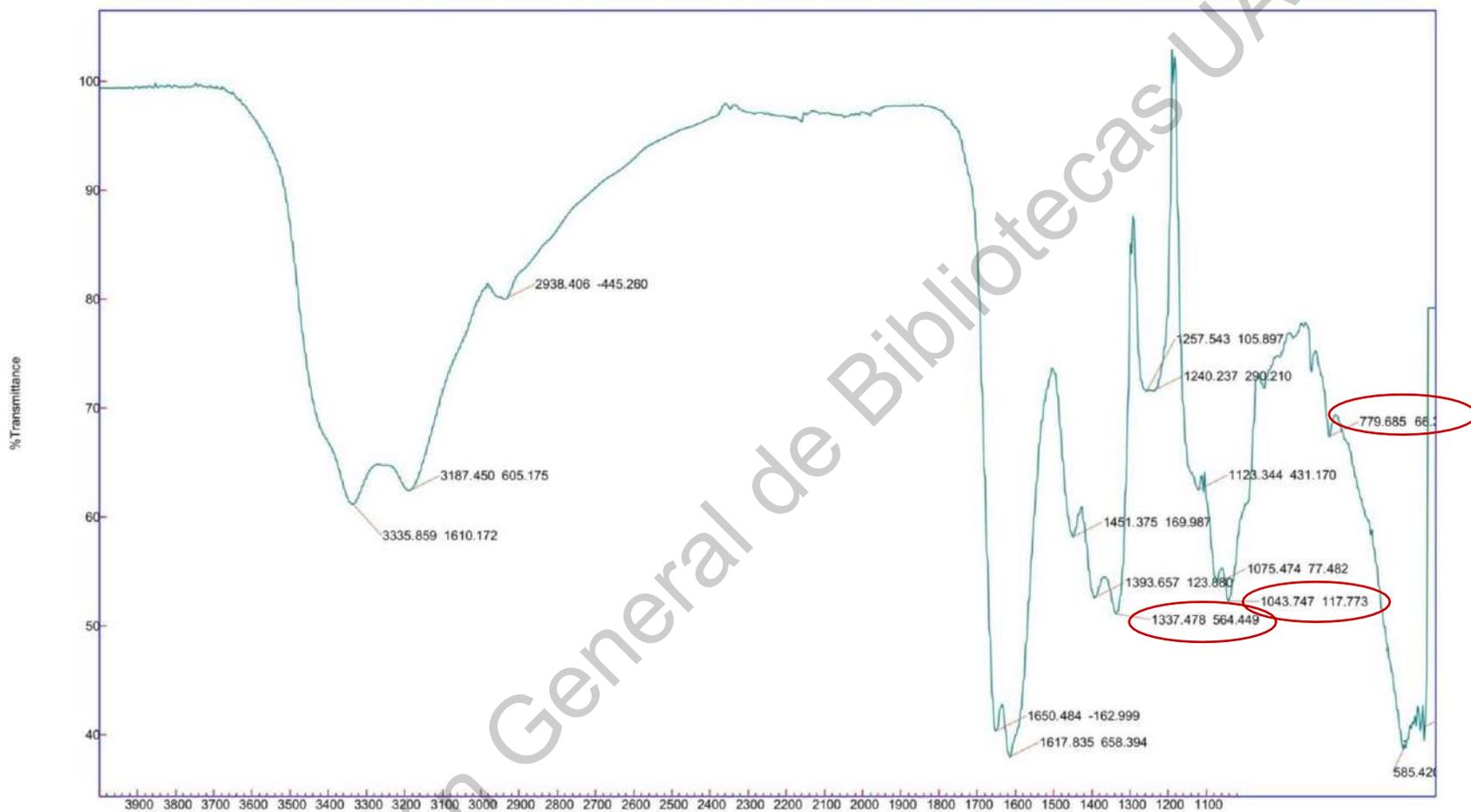


Figura 32. Espectro de FTIR de nanopartículas de CdS sintetizadas mediante el extracto metanólico de la biomasa de *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici*.

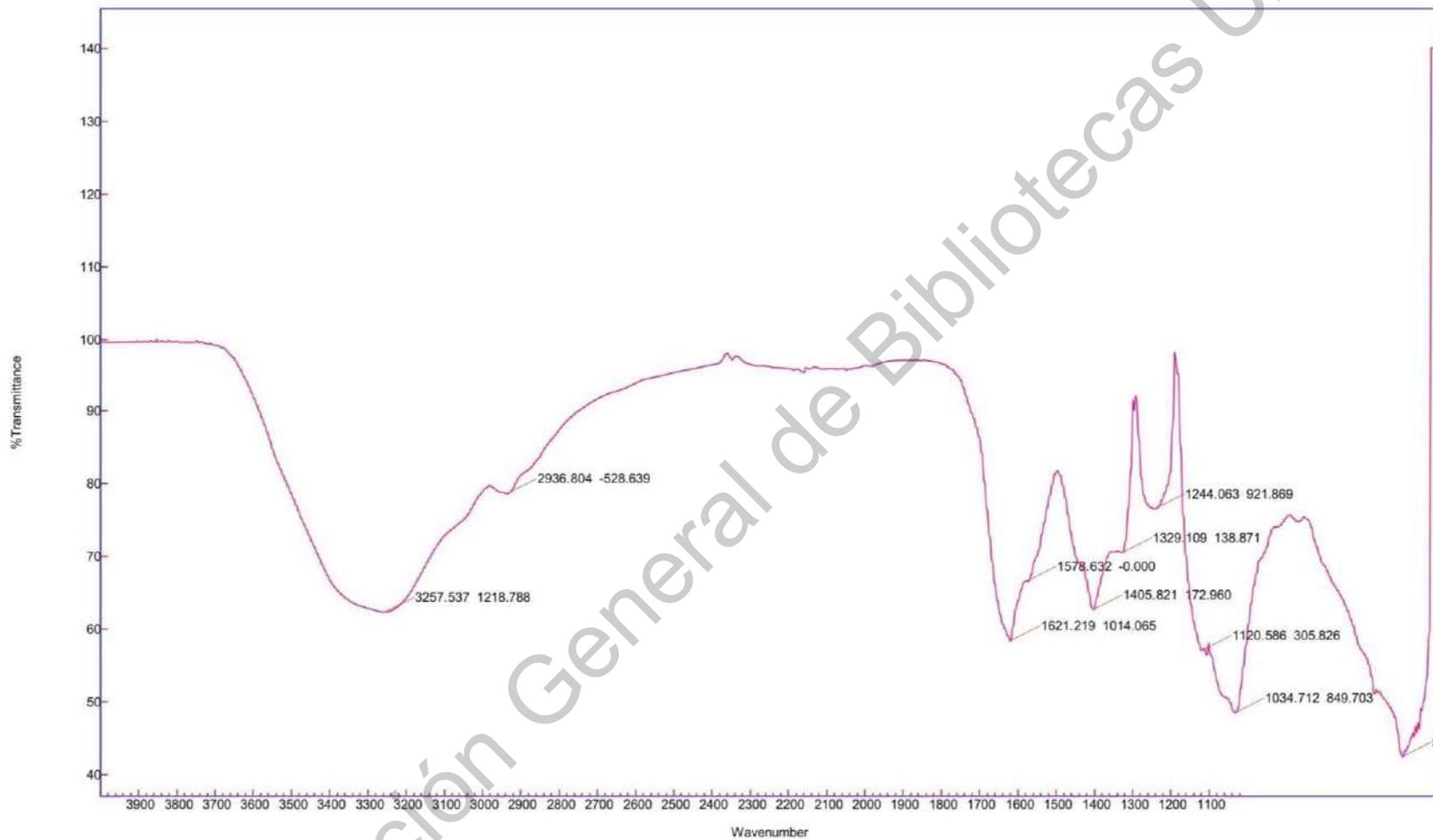


Figura 33. Espectro de FTIR del control biológico de la biomasa de *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici*

Otro punto importante que puede confirmar la presencia de materia orgánica en soluciones coloidales de biomasa, es el crecimiento del hongo. En la Figura 34 se muestra una fotografía de las muestras de NPs CdS obtenidas a partir de la biomasa después de 7 meses de conservar dichas muestras en refrigeración a 4°C. En comparación con las muestras de los extractos metanólico y acuoso, se puede observar que la materia orgánica contenida es considerablemente menor en las muestras de NPs CdS sintetizadas por extractos de biomasa, lo cual puede ser una gran ventaja, no sólo en la facilidad para poder caracterizar las muestras, sino también que el coloide de NPs CdS obtenido mediante extractos podría ser más estable durante más tiempo.

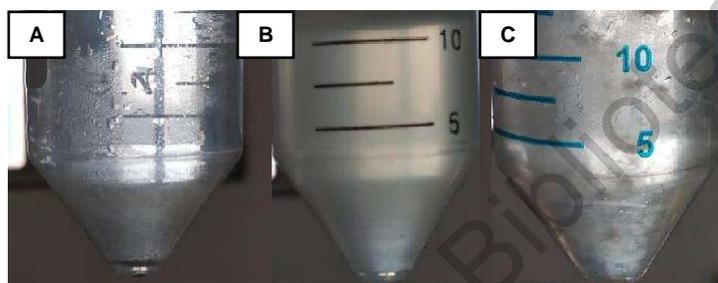


Figura 34. Fotografía de muestras de NPs CdS producidas mediante A) el extracto acuoso, B) el extracto metanólico, y C) la biomasa fúngica después de 7 meses de conservación en refrigeración a 4°C.

El tiempo de incubación para producir biomasa fúngica es uno de los factores que pueden afectar la producción de enzimas y otros compuestos como proteínas, que, en este caso, usamos para producir las nanopartículas de CdS. Es importante mencionar que el hongo *Fusarium oxysporum* sp. *lycopersici* se adaptó una semana más, con respecto a la metodología original, para obtener la misma cantidad de esporas y según algunos reportes, esta situación podría aumentar la actividad enzimática o la producción de metabolitos responsables de la síntesis, lo cual es dependiente del tiempo de incubación (Srivastava y col., 2011; Granjo y col., 2007). Asimismo, las cepas de *Fusarium* son organismos productores de proteínas microbianas (Srivastava y col., 2011), las cuales, en este estudio, pudieron permitir relativa estabilidad de las nanopartículas. Es por esto que estudios adicionales podrían considerar un estudio proteico para conocer los valores del contenido de proteínas, enzimas y otras biomoléculas de la cepa evaluada.

6. CONCLUSIONES

Considerando los resultados de la obtención de nanopartículas de sulfuro de cadmio mediante extractos de la biomasa fúngica, se puede inferir que el extracto acuoso y metanólico tuvieron mejor desempeño como precursores de la síntesis de NPs CdS, sin embargo, se debe considerar mejorar las condiciones de síntesis que favorezcan la obtención de nanopartículas de tamaño homogéneo y que sean más estables en solución.

Las nanopartículas obtenidas mediante extractos orgánicos de biomasa representan una gran ventaja sobre la síntesis biológica convencional empleando este hongo, ya que la caracterización es más sencilla para las nanopartículas, se presentan menos interferencias.

Con base en el potencial Zeta y su estabilidad se concluye que la solución coloidal de nanopartículas obtenidas con extracto metanólico, es el sistema candidato a estudiar con mayor profundidad para la síntesis de NPs CdS.

El uso de extractos abre la posibilidad de elucidar con mayor facilidad los compuestos responsables de la síntesis al encontrarse en un extracto sin exceso de materia orgánica, esto a diferencia de la metodología convencional de síntesis con biomasa.

7. TRABAJO FUTURO

Es necesario buscar estrategias que permitan obtener soluciones coloidales de nanopartículas más estables modificando concentraciones de sales, del extracto empleado como agente reductor, además de condiciones de pH; asimismo, es indispensable realizar dichas modificaciones con el fin de obtener tamaño de partícula homogéneo. Este trabajo abre la posibilidad de aplicar este sistema coloidal de nanopartículas en numerosas aplicaciones entre las que destacan la actividad fotocatalítica de las NPs CdS, su actividad antimicrobiana o su aplicación en sistemas de bioimagen que involucrarían modelos experimentales con animales y estudios de toxicidad.

8. BIBLIOGRAFÍA

Abdelghany, T., Al-Rajhi, A., Abboud, M. y Alawlaqi, M. Recent advances in green synthesis of silver nanoparticles and their applications: about future directions. A review. *BioNanoSci.* **2018**; 8(1):5-16.

Abdelghany, A., Abdelrazek, S., Abdel-Aziz, M. y Morsi, M. Effect of Gamma-irradiation on biosynthesized gold nanoparticles using *Chenopodium murale* leaf extract. *J. Saudi Chem. Soc.* **2017**; 21(5):528-537.

Ahmad, A., Mukherjee, P., Mandal, D., Senapati, S., Khan, M., Kumar, R. y Sastry, M. Enzyme mediated extracellular synthesis of CdS nanoparticles by the fungus, *Fusarium oxysporum*. *J. Am. Chem. Soc.* **2002**; 124:12108-12109.

Albores y col., **2006**. Tabla de disolventes más usados en orden de polaridad. Orgánica I. Manual de prácticas.

Alghuthaymi, M., Almoammar, H., Rai, M., Said-Galiev, E. y Abd-Elsalam, K. Myconanoparticles: synthesis and their role in phytopathogens management. *Biotechnol Biotechnol Equip.* **2015**; 29(2):221-236.

Alizadeh, S., Fallah, N. y Manochehr, N. An ultrasonic method for the synthesis, control and optimization of CdS/TiO₂ core-shell nanocomposites. *RSC Adv.* **2019**; 9(1):4314-4324.

Agarwal, H., Kumar, V. y Rajeshkumar, S. A review on green synthesis of zinc oxide nanoparticles – An eco-friendly approach. *Resource-Efficient Technologies.* **2017**; 3(4):406-413.

Ashok, C., Venkateswara, K., Shilpa, C. y Rajendar, V. Structural properties of CdS nanoparticles for solar cell applications. *Int. J. Pure Appl. Sci. Technol.* **2014**; 23(1):8-12.

Aitken A., Learmonth M.P. (2002) Protein Determination by UV Absorption. In: Walker J.M. (eds) The Protein Protocols Handbook. Springer Protocols Handbooks. Humana Press.

Basavegowda, N. y Lee, Y. Synthesis of silver nanoparticles using Satsuma mandarin (*Citrus unshiu*) peel extract: A novel approach towards waste utilization. *Mater. Lett.* **2013**; 119(1):31-33.

Bastús, N., Merkoçi, F., Piella, J. y Puentes, V. Synthesis of Highly Monodisperse Citrate-Stabilized Silver Nanoparticles of up to 200 nm: Kinetic Control and Catalytic Properties.

Chem. Mater. **2014**; 26(9): 2836-2846.

Bakhshi, M. y Hosseini, S. Synthesis of CdS nanoparticles from cadmium sulfate solutions using the extracellular polymeric substances of *B. licheniformis* as stabilizing agent. *Enzyme Microb. Technol.* **2016**. 95: 209-216.

Blackwell, M. The fungi: 1,2,3 5.1 million species? *Am.J Bot.* **2011**; 98(3): 426-438.

Birla, S., Gaikwad, S., Gade, A. y Rai, M. Rapid Synthesis of Silver Nanoparticles from *Fusarium oxysporum* by Optimizing Physicocultural Conditions. *Sci. World J.* **2013**; 1(1): 1-12.

Bodah, E. Root Rot Diseases in Plants: A review of common causal agents and management strategies. *Agri. Res. Tech.* **2017**; 5(3):001-008.

Bolton, E., Wang, Y. y Bryant, S. Integrated platform of small molecules and biological activities. *Annu. Rep. Comput. Chem.* **2008**; 217-241.

Borovaya, M., Burlaka, O., Naumenko, A., Blume, Y. y Yemets, A. Extracellular synthesis of luminescent CdS quantum dots using plant cell culture. *Nanoscale Res Lett.* **2016**; 11(100):1-8.

Borovaya, M., Pirko, Y., Krupodorova, T., Naumenko, A., Blume, Y. y Yemets, A. Biosynthesis of cadmium sulphide quantum dots by using *Pleurotus ostreatus*. *Biotechnol Biotechnol Equip.* **2015**; 29(6):1156-1163.

Bravo, Y., Balbuena, A., Reynoso, E., Dávila, J., Arroyo, M., Cuatzo, J., Rodríguez, P., González, G et al. Respuesta óptica no lineal de nanopartículas semiconductoras de sulfuro de cadmio (CdS). *Int. Elec. J. Nanoc. Moletrón.* **2015**; 13(2):2467-2471.

Carmona, A. (2012). Evaluación de biodispersantes de azufre en la regeneración de catalizadores gastados. Facultad de Estudios Superiores Zaragoza. Universidad Nacional Autónoma de México.

Castro, E., Vilchis, N. y Ávalos, M. Biosynthesis of silver, gold and bimetallic nanoparticles using the filamentous fungus *Neurospora crassa*. *Colloids Surf. B. Biointerfaces.* **2011**; 83(1):42-48pp.

Chandrasekaran, R., Gnanasekar, S., Seetharaman, P., Keppanan, R., Arockiaswamy, W. y Sivaperumal, S. Formulation of *Carica papaya* latex-functionalized silver nanoparticles for its improved antibacterial and anticancer applications. *J. Mol. Liq.* **2016**; 219(1):232-238.

- Chatterjee**, M. y **Patra**, A. Cadmium Sulfide Aggregates through Reverse Micelles. *J. Am. Ceram. Soc.* **2001**; 84(4): 1439-1444.
- Chawla**, P., **Sharma**, G., **Lochab**, S. y **Singh**, N. Effect of solvent-induced structural modifications on optical properties of CdS nanoparticles. *Bull. Mater. Sci.* **2010**; 33: 535-541.
- Chen**, G., **Yi**, B., **Zeng**, G., **Niu**, Q., **Yan**, Q., **Chen**, A., **Du**, J., **Huang**, J., y col. Facile green extracellular biosynthesis of CdS quantum dots by white rot fungus *Phanerochaete chrysosporium*. *Colloids. Surf. B. Biointerfaces.* **2014**; 117(1):199-205.
- Chopra**, A., **Willmore**, W. y **Biggar**, K. Protein quantification and visualization via ultravioletdependent labeling with 2,2,2-trichloroethanol. *Sci. Rep.* **2019**; (9): 13923-1331.
- Cuevas** y **Cueto**, **2018**. Nanotecnología. Aplicaciones en las ciencias biomédicas. Morfología Virtual. La Habana, Cuba.
- Dhillon**, G., **Brar**, S., **Kaur**, S. y **Verma**, M. Green approach for nanoparticle biosynthesis by fungi: current trends and applications. *Crit. Rev. Biotechnol.* **2012**; 32(1):49-73.
- Diario Oficial de la Federación**. Proyecto de Norma Oficial Mexicana PROY-NOM-148-SEMARNAT-2006. Contaminación atmosférica. Recuperación de azufre proveniente de los procesos de refinación del petróleo [Página web] **2006** [consultado 2019 octubre 11] Disponible en: http://dof.gob.mx/nota_detalle.php?codigo=4934912&fecha=19/10/2006
- Du**, Y. y **Li**, Z. Biomimetic synthesis of CdS nanoparticles with enhanced luminescence. *Mater.Lett.* **2003**; (57): 2480-2484.
- Fourie**, G., **Steenkamp**, E., **Ploetz**, R., **Gordon**, T. y **Viljoen**, A. Current status of the taxonomic position of *Fusarium oxysporum* f.sp. *cubense* within the *Fusarium oxysporum* complex. *Infect. Genet. Evol.* **2011**; 11(3):533-542.
- Gaikwad**, S., **Birla**, S., **Ingle**, A., **Gade**, A., **Marcato**, P., **Rai**, M. y **Duran**, N. Screening of different *Fusarium* species to select potential species for the synthesis of silver nanoparticles. *J. Braz. Chem. Soc.* **2013**; 24(12):1974-1982.
- Gallardo**, C., **Carrión**, O., **Todd**, J., **Pieretti**, J., **Seabra**, A., **Durán**, N., **Rubilar**, O., **Pérez**, J. y **Quiroz**, A. Biosynthesis of CdS Quantum Dots Mediated by Volatile Sulfur Compounds Released by Antarctic *Pseudomonas fragi*. *Front. Microbiol.* **2019**; 10(1866):1-15.
- González**, A. Azufre. PEMEX [página web] **2018** [consultado 2019 noviembre 16].

Disponible en:

<https://www.pemex.com/comercializacion/productos/Paginas/gas/azufre.aspx>

Gordon, T. *Fusarium oxysporum* and the *Fusarium* Wilt Syndrome. *Annu. Rev. Phytopathol.* **2017**; (55):23-39.

Goswami, G., Soni, A., Mehta, P. y Soni, M. Green nanoparticles: synthesis and applications. *IOSR-JBB.* **2018**; 4(3):78-83.

Granjo, C., Alves, T., Gambale, W. y Correa, B. Morphogenesis and growth kinetics of *Fusarium verticillioides*. *Mycopathologia.* **2007**; 164(1):119-126.

Gunatilaka, AAL **2010.** Fungal secondary metabolites. En AccessScience, McGraw-Hill Educación.

Hoch, H., Galvani, C., Szarowski, D. y Turner, J. Two New Fluorescent Dyes Applicable for Visualization of Fungal Cell Walls. *Mycologia.* **2005**; 97(3): 580-588.

Huang, H., Chen, J. y Houng, M. Using soft lithography to fabricate gold nanoparticle patterns for bottom-gate field effect transistors. *Thin Solid Films.* **2012**; 524(1):304-308.

Huang, X., El-Sayed, I., Yi, X. y El-Sayed, M. Gold nanoparticles: catalyst for the oxidation of NADH to NAD(+). *J Photochem Photobiol B.* **2005**; 81(2): 76-83.

Hulkoti, N. y Taranath, T. Biosynthesis of nanoparticles using microbes-A review. *Colloids. Surf. B. Biointerfaces.* **2014**; 121(1):474-483.

Husseiny, S., Salah, T. y Anter, H. Biosynthesis of size controlled silver nanoparticles by *Fusarium oxysporum*, their antibacterial and antitumor activities. *UJBAS.* **2015**; 4(3): 225-231.

Instituto Mexicano del Petróleo. Desarrollo de simulador modular de plantas recuperadoras de azufre. [Página web] **2013** [consultado 2019 octubre 11].

Disponible en: <https://www.gob.mx/imp/articulos/desarrollo-de-simulador-modular-de-plantas-recuperadoras-de-azufre>

Jinxin, Z., Gaoling, Z. y Gaorong, H. Preparation of CdS nanoparticles by hydrothermal method in microemulsion. *Fronts. Chem. China.* **2007**; 2(1):98-101.

Kadziński, M., Cinelli, M., Ciomek, K., Coles, S., Nadagouda, M., Varma, R. y Kirwan, K. Co-constructive development of a green chemistry-based model for the assessment of nanoparticles synthesis. *Eur. J. Oper. Res.* **2018**; 264(2):472-490.

Katz, M. Materiales y materias primas: Azufre. Guía Didáctica. *Instituto Nacional de*

Educación Tecnológica. **2011**. Cap. 4. 1-91.

Kaul, S., Gupta, S., Ahmed, M. y Dhar, M. Endophytic fungi from medicinal plants: a treasure hunt for bioactive metabolites. *Phytochem. Rev.* **2012**; (11):487-505.

Khan, A. CdS Nanoparticles with a Thermoresponsive Polymer: Synthesis and Properties. *J. Nanomater.* **2012**; 2(1):1-8.

Khan, I., Saeed, K. y Khan, I. Nanoparticles: Properties, applications and toxicities. *Arab. J. Chem.* **2019**; 12(7): 908-931.

Kim, J., Lee, S., Tieves, F., Paul, C., Hollmann, F. y Park, C. Nicotinamide adenine dinucleotide as a photocatalyst. *Sci. Adv.* **2019**; 5(7): 1-8.

Kumar, A., Ahmad, A., Ayoobul, A. y Khan, M. Extracellular biosynthesis of CdSe quantum dots by the fungus *Fusarium oxysporum*. *J. Biomed. Nanotechnol.* **2007**; 3(2):190-194.

Kumar, R., Mohana, S., Prabhakarn, A., Gopiesh, V. y Chakroborty, S. Agricultural waste *Annona squamosa* peel extract: Biosynthesis of silver nanoparticles. *Spectrochim. Acta A. Mol. Biomol. Spectrosc.* **2012**; 90(1):173-176.

Kumar, S., Deepak, V., Kalishwaralal, K. y Gurunathan, S. Biologically synthesized fluorescent CdS NPs encapsulated by PHB. *Enzyme Microb. Technol.* **2011**; 48(1); 319-325.

Kundu, A., Saha, S., Walia, S. y Dutta, T. Anti-nemic secondary metabolites produced by *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris*. *J. Asia Pac. Entomol.* **2016**; 19(3):631-636.

Kuppusamy, P., Yusoff, M., Pragas, G. y Govindan, N. Biosynthesis of metallic nanoparticles using plant derivatives and their new avenues in pharmacological applications – An updated report. *Saudi Pharm. J.* **2016**; 24(4):473-484.

Kuznetsova, Y. & Rempel., Size and Zeta Potential of CdS Nanoparticles in Stable Aqueous Solution of EDTA and NaCl. *Neorg. Mater.* **2015**; 51(3): 262-266.

LeBlanc, N., Essarioui, A., Kinkel, L. y Kistler, C. Phylogeny, Plant Species, and Plant Diversity Influence Carbon Use Phenotypes Among *Fusarium* Populations in the *Rhizosphere* Microbiome. *APS.* **2017**; (1):150-157.

Lewis, K., Robson, M., Vecherkina, Y., Ji, C. y Beall, W. Interference with spectrophotometric analysis of nucleic acids and proteins by leaching of chemicals from plastic tubes. *BioTechniques.* **2010**; (48): 297-302.

Li, X., Xu, H., Chen, Z y Chen, G. Biosynthesis of Nanoparticles by Microorganisms and Their Applications. *J. Nanomater.* **2011**: 1-6.

López, M., Gutiérrez, A. y García, C. Síntesis de nanopartículas y su aplicación en la nutrición animal. *AgroProductividad.* **2018**; 11: 85-90.

López, A. (2015) Interacciones excitón-plasmón en superestructuras de CdS-Ag y CdS-Au: un nuevo conector molecular. Universidad Autónoma de Nuevo León. Facultad de Ciencias Químicas.

Maleki, M., Mirdamadi, S., Ghamsarl, M. y Ghasezadeh, R. A facile route for preparation of CdS nanoparticles. *Semicond. Phys. Quantum electron. Optoelectron.* **2017**; 10(1):30-32.

Mansur, H., Mansur, A., Curti, E. y Almeida, M. Bioconjugation of quantum-dots with chitosan and N,N,N-trimethyl chitosan. *Carbohydr. Polym.* **2012**; 1(1): 189-196.

Martínez, N. (2014). Síntesis y Funcionalización de Nanopartículas Semiconductoras con Aplicación Potencial a Celdas Solares de Tercera Generación. Laboratorio de Materiales Fotovoltaicos. Centro de Investigación en Ciencia Aplicada y Tecnología Avanzada del Instituto Politécnico Nacional Unidad Altamira.

McFarland, A., Haynes, C., Mirkin, C., Van Duyne, R., Godwin, H. Color my Nanoworld. *J. Chem. Educ.* **2004**; 81(4):544A-544B.

Moghaddam, A., Namvar, F., Moniri, M., Tahir, P., Azizi, S. y Mohamad, R. Nanoparticles biosynthesized by fungi and yeast: a review of their preparation, properties and medical applications. *Molecules.* **2015**; 20(9):16540-16565.

Mohanpuria, P., Rana, N. y Kumar, S. Biosynthesis of nanoparticles: technological concepts and future applications. *J. Nanopart. Res.* **2008**; 10(3):507-517.

Muthu, S., Zaiats, G. y Sridharan, M. Influence of Plasmonic CuS Interfacing Layer on Photovoltaic Performance of CIZS Quantum Dot Sensitized Solar Cells. *J. Electrochem. Soc.* **2019**; 166(5): 3133-3137.

Naranthatta, S., Janardhanan, P., Pilankatta, R. y Nair, S. Green Synthesis of Engineered CdS Nanoparticles with Reduced Cytotoxicity for Enhanced Bioimaging Application. *ACS Omega.* **2021**; 6(12): 8646-8555.

Nasrin, T. y Kumar, T. *Aspergillus foetidus* mediated biosynthesized CdS nanoparticle shows antifungal activities against plant pathogenic *Aspergillus* species. *Adv. Sci. Eng.*

Med. **2016**; 8(9):718-721.

Nelson, G. y Kantuta, C. Nanotecnología conceptos generales. *RITS.* **2010**; 1(5):7-9.

Nigam, P. y Singh, A. (2014). Single Cell Protein: Mycelial Fungi. *Encyclopedia of Food and Microb. 2a Ed:* 415-424.

NOM-148-SEMARNAT-2006 NORMA Oficial Mexicana, Contaminación atmosférica. Recuperación de azufre proveniente de los procesos de refinación del petróleo. Al margen un sello con el Escudo Nacional, que dice: Estados Unidos Mexicanos.- Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales.

Oyaizu, M. Studies on product of browning reaction prepared from glucose amine. *Japanese J. Nutr.* **1986**; (44): 307.

Pedone, L., Caponetti, E., Leone, M., Militello, V., Pantó, V., Polizzi, S. y Saladino, M. Synthesis and characterization of CdS nanoparticles embedded in a polymethylmethacrylate matrix. *J. Colloid. Interface Sci.* **2005**: 495-500.

Peralta, L., O'Farril, M., Arteaga, L., Díaz, J. y Varela, S. Obtención de azufre a partir de los gases residuales del proceso de refinación de crudo. *Rev. Centro Azúcar.* **2011**; 38(3):19-29.

Pinto, L., Pereira, E., Ferrari, J., Pereira, J. y Schiavon, M. pH effect on the synthesis of different size silver nanoparticles evaluated by DLS and their size-dependent antimicrobial activity. *Matéria.* **2020**; 25(4): 1-10.

Pourali, P., Yahyaei, B. y Afsharnezhad, S. Bio-Synthesis of Gold Nanoparticles by *Fusarium oxysporum* and Assessment of Their Conjugation Possibility with Two Types of β -Lactam Antibiotics without Any Additional Linkers. *Microbiology.* **2018**; 87(1): 229-237.

Prabhu, R. y Khadar, A. Characterization of chemically synthesized CdS nanoparticles. *Pramana.* **2005**; 65(5):801-807.

Pradeep, F. y Pradeep, B. Optimization of pigment and biomass production from *Fusarium moniliforme* under submerged fermentation conditions. *Int. J. Pharm. Pharm. Sci.* **2013**; 5(3): 525-535.

Prasad, K. Amin, T., Katuva, S., Kumari, M. y Selvaraj, K. Synthesis of water soluble CdS nanoparticles and study of their DNA damage activity. *Arab. J. Chem.* **2014**: 10(2): 3929-3935.

Prasad, S., Mandal, I., Singh, S., Paul, A., Mandal, B., Venkatramani, R. y Swaminathan,

R. Near UV-Visible electronic absorption originating from charged amino acids in a monomeric protein. *Chem Sci.* **2017**; 8(8): 5416-5433.

Qutub, N. y Sabir, S. Optical, thermal and structural properties of CdS quantum dots synthesized by a simple chemical route. *Int. J. Nanosci. Nanotechnol.* **2012**; 8(2)111-120

Rajeshkumar, S., Ponnaniakamideen, M., Malarkodi, C., Malini, M. y Annadurai, G. Microbe-mediated synthesis of antimicrobial semiconductor nanoparticles by marine bacteria. *J. Nanostruct. Chem.* **2014**; 4(96): 1-7.

Rengers, C., Nikolai, G., and Eychmüller, A. **2019**. "Quantum dots and quantum rods," in Biological Responses to Nanoscale Particles. *NanoScienc*, eds P. Gehr and R. Zellner (Cham: Springer).

Rojo, F. 2012. Tablas de Espectroscopía Infrarroja. Universidad Autónoma de México. Disponible en: http://depa.fquim.unam.mx/amyd/archivero/TablasIR_34338.pdf

Rostro, M. **2014**. Obtención y caracterización química de arabinosilooligosacáridos a partir de pericarpio de maíz nixtamalizado y determinación de la actividad prebiótica y actividad antioxidante. Universidad Autónoma de Nuevo León. Facultad de Ciencias Químicas. Doctorado en Ciencias con Orientación en Farmacia.

Samadi, A., Sadeghi, M. In-situ synthesis of high stable CdS quantum dots and their application for photocatalytic degradation of dyes. *Spectrochim. Acta A. Mol. Biomol. Spectrosc.* **2016**; 152(5):156-164.

Sankhla, A., Sharma, R., Singh, R., Kashyap, D., Kothari y Kachhwaha, S. Biosynthesis and characterization of cadmium sulfide nanoparticles – An emphasis of zeta potential behavior due to capping. *Mater. Chem. Phys.* **2016**; 170(15):44-51.

Sandoval, C., D. I., Gómez, D., Rojas, N. y Vidales, M. Synthesis of Cadmium Sulfide nanoparticles by biomass of *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*. *J. Nano Res.* **2017**; (46):179–191.

Sanghi, R. y Verma, P. A facile green extracellular biosynthesis of CdS nanoparticles by immobilized fungus. *Chem. Eng. J.* **2009**; 3(15):886-891.

Sastry, R., Rashmi, H., Rao, N. y Ilyas, S. Integrating nanotechnology into agri-food systems research in India: A conceptual framework. *Technol. Forecast. Soc.* **2010**; 77(4):639-648.

Sergiel, I., Mironczyk, A., Koziol, J. y Defort, A. Light Emission from CdS Quantum Dots

Stabilized by Sugars. *Acta Physica Polonica A*. **2009**; (116): 166-168.

Seto, T., Kim, M., Osone, S., Kim, T., y Higashi, H. Synthesis of nanoparticles by laser ablation: a review. *KONA*. **2017**; 34(1):80-90.

Shamel, N., Pourali, P. y Dolatabadi, S. Green synthesis of gold nanoparticles using *Fusarium oxysporum* and antibacterial activity of its tetracycline conjugant. *J. Mycol. Med.* **2019**; 29(1): 7-13.

Shinde, S., Adhav, L., Pise, R. y Jagtap, S. Synthesis and Characteristics of CdS Nanoparticles in Normal (1 g) and Simulated Microgravity (SMG). *Buletin Fisika*. **2021**; 22(1): 7-11.

Shivashankarappa, A. y Sanjay, K. Study on Biological Synthesis of Cadmium Sulfide Nanoparticles by *Bacillus licheniformis* and Its Antimicrobial Properties against Food Borne Pathogens. *J. Nanosci. Nanotechnol.* **2015** 3(1):6-15.

Singh, A., Tripathi, R., Kumar, R., Kumar, N., Singh, R. y Shrivastav, A. Biogenic synthesis and photocatalytic activity of CdS nanoparticles. *RSC Adv.* **2014**; (4):9484-9490.

Singh, D., Rathod, V., Ninganagouda, S., Herimath, J. y Kulkarni, P: Biosynthesis of silver nanoparticle by endophytic fungi *Pencillium* sp. isolated from *Curcuma longa* (turmeric) and its antibacterial activity against pathogenic gram negative bacteria. *J. Pharm. Res.* **2014**; 7(5):448-453.

Singh, P., Kim, Y., Zhang, D. y Yang, D. Biological synthesis of nanoparticles from plants and microorganisms. *Trends. Biotechnol.* **2016**; 34(7):588-599.

Singh, V. y Chauhan, P. Structural and optical characterization of CdS nanoparticles prepared by chemical precipitation method. *J. Phys. Chem. Solids.* **2009**; 70(7): 1074-1079.

Srivastava, S., Pathak, N. y Srivastava, P. Identification of Limiting Factors for the Optimum Growth of *Fusarium Oxysporum* in Liquid Medium. *Toxicol Int.* **2011**; 18(2): 111–116.

Stroble, G. y Daisy, B. Bioprospecting for microbial endophytes and their natural products. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* **2003**; 67(4):491-502.

Sujoy, K., Shome, I. y Guha, A. Surface functionalization of *Aspergillus versicolor* mycelia: in situ fabrication of cadmium sulphide nanoparticles and removal of cadmium

ions from aqueous solution. *RSC Adv.* **2012**; (2):3000-3007.

Synytsya, A., Monkai, J., Bleha, R., Macurkova, A., Ruml, T., Ahn, J., y col. Antimicrobial activity of crude extracts prepared from fungal mycelia. *Asian Pac. J. Trop. Biomed.* **2017**; 7(3):257-261.

Tripathi, R., Singh, A., Singh, P., Shrivastav, A., Singh, M. y Shrivastav, B. Mechanistic aspects of biogenic synthesis of CdS nanoparticles using *Bacillus licheniformis*. *Adv. Nat. Sci. Nanosci. Nanotechnol.* **2014**; 5(2):1-5.

Ventura, S., Fall, C. y Esparza, M. Caracterización de la materia orgánica en el efluente de un reactor nitrificante utilizando espectroscopia de fluorescencia. *Rev. Mex. Ing. Quim.* **2014**; 13(1): 279-289.

Yahaya, M., Zainal, Z., Abdul, S., Md, F., Noor, A. e Issa, M. Eco-Friendly Sustainable Fluorescent Carbon Dots for the Adsorption of Heavy Metal Ions in Aqueous Environment. *Nanomater.* **2020**:10(2):315.

Yao, J., Yang, M., Liu, Y. y Duan, Y. Fluorescent CdS Quantum Dots: Synthesis, Characterization, Mechanism and Interaction with Gold Nanoparticles. *J Nanosci. Nanotechnol.* **2015**; 15(5):3720-7.

Zhang, X., Gallagher, R., He, D. y Chen, G. pH Regulated Synthesis of Monodisperse Penta-Twinned Gold Nanoparticles with High Yield. *Chem. Mater.* **2020**; 32(13): 5626-5633.

ANEXO A

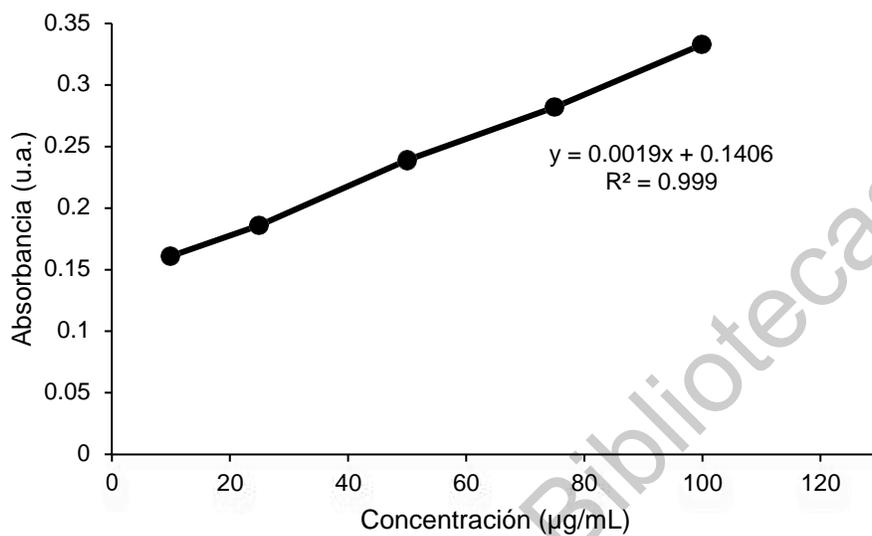


Figura 1. Curva de calibración de ácido ascórbico