

# Instituto Politécnico Nacional

---

CENTRO DE INVESTIGACIÓN EN CIENCIA APLICADA Y  
TECNOLOGÍA AVANZADA

UNIDAD QUERÉTARO

POSGRADO EN TECNOLOGÍA AVANZADA

**Desarrollo de un método para la detección  
espectrofotométrica de metales mediante el uso de  
nanopartículas de CdS sintetizadas a partir de  
extractos orgánicos fúngicos**

**TESIS**

PARA OBTENER EL GRADO DE  
**MAESTRÍA EN TECNOLOGÍA AVANZADA**

PRESENTA:

**L. M. JOSÉ DANIEL AGUILAR LOA**

DIRECTORES DE TESIS

DRA. NORMA GABRIELA ROJAS AVELIZAPA  
DRA. MARLENNE GÓMEZ RAMÍREZ



Santiago de Querétaro, Qro., noviembre del 2022



# INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL

## SECRETARIA DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO

SIP-13  
REP 2017

### ACTA DE REGISTRO DE TEMA DE TESIS Y DESIGNACIÓN DE DIRECTOR DE TESIS

Ciudad de México, a 04 de noviembre del 2022

El Colegio de Profesores de Posgrado de **CICATA Unidad Querétaro** en su Sesión Ordinaria No. 221104 celebrada el día 04 del mes noviembre del 2022, conoció la solicitud presentada por el alumno:

Apellido Paterno:	Aguilar	Apellido Materno:	Loa	Nombre (s):	José Daniel
-------------------	---------	-------------------	-----	-------------	-------------

Número de registro:

del Programa Académico de Posgrado:

Referente al registro de su tema de tesis; acordando lo siguiente:

1.- Se designa al aspirante el tema de tesis titulado:

Objetivo general del trabajo de tesis:

2.- Se designa como Directores de Tesis a los profesores:

Director:  2° Director:

No aplica:

3.- El Trabajo de investigación base para el desarrollo de la tesis será elaborado por el alumno en:

que cuenta con los recursos e infraestructura necesarios.

4.- El interesado deberá asistir a los seminarios desarrollados en el área de adscripción del trabajo desde la fecha en que se suscribe la presente, hasta la aprobación de la versión completa de la tesis por parte de la Comisión Revisora correspondiente.

Director de Tesis

Dra. Norma Gabriela Rojas Avelizapa

Aspirante

Lic. José Daniel Aguilar Loa

2° Director de Tesis

Dra. Marlenne Gómez Ramírez

Presidente del Colegio

Dr. Juan Bautista Hurtado Ramos



# INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL

## SECRETARÍA DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO

### ACTA DE REVISIÓN DE TESIS

En la Ciudad de  siendo las  horas del día  del mes de  del  se reunieron los miembros de la Comisión Revisora de la Tesis, designada por el Colegio de Profesores de Posgrado de:  para examinar la tesis titulada:

del (la) alumno (a):

Apellido Paterno:	Aguilar	Apellido Materno:	Loa	Nombre (s):	José Daniel
-------------------	---------	-------------------	-----	-------------	-------------

Número de registro:

Aspirante del Programa Académico de Posgrado:

Una vez que se realizó un análisis de similitud de texto, utilizando el software antiplagio, se encontró que el trabajo de tesis tiene 6% de similitud. **Se adjunta reporte de software utilizado.**

Después que esta Comisión revisó exhaustivamente el contenido, estructura, intención y ubicación de los textos de la tesis identificados como coincidentes con otros documentos, concluyó que en el presente trabajo **SI**  **NO**  **SE CONSTITUYE UN POSIBLE PLAGIO.**

**JUSTIFICACIÓN DE LA CONCLUSIÓN:** El porcentaje de similitud encontrado mediante el software Turnitin fue considerablemente bajo para la extensión del documento. Además, no se encontró ninguna señal de alerta a lo largo del documento. Las similitudes que se encontraron no están relacionadas con plagio, sino con los nombres y designaciones oficiales de las técnicas y procesos metodológicos de los diseños experimentales.

Finalmente y posterior a la lectura, revisión individual, así como el análisis e intercambio de opiniones, los miembros de la Comisión manifestaron **APROBAR**  **SUSPENDER**  **NO APROBAR**  la tesis por **UNANIMIDAD**  o **MAYORÍA**  en virtud de los motivos siguientes:  
Satisface los requerimientos de las disposiciones oficiales vigentes.

#### COMISIÓN REVISORA DE TESIS

Dra. Norma Gabriela Rojas Avelizapa

Dr. Juan Bautista Hurtado Ramos

Dra. Marlenne Gómez Ramirez

Dr. José Dolores Oscar Barceinas Sánchez

Dr. Juan Luis Pichardo Molina

Dr. Juan Bautista Hurtado Ramos  
PRESIDENTE DEL COLEGIO DE PROFESORES



# INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL

## SECRETARÍA DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO

### CARTA DE AUTORIZACIÓN DE USO DE OBRA PARA DIFUSIÓN

En la Ciudad de México el día 08 del mes de noviembre del año 2022, el (la) que suscribe José Daniel Aguilar Loa alumno(a) del programa Maestría en Tecnología Avanzada con número de registro B200466, adscrito(a) a Centro de Investigación en Ciencia Aplicada y Tecnología Avanzada, Unidad Querétaro manifiesta que es autor(a) intelectual del presente trabajo de tesis bajo la dirección de la Dra Norma Gabriela Rojas Avelizapa y la Dra. Marlenne Gómez Ramírez y cede los derechos del trabajo intitulado Desarrollo de un método para la detección espectrofotométrica de metales mediante el uso de nanopartículas de CdS sintetizadas a partir de extractos orgánicos fúngicos, al Instituto Politécnico Nacional, para su difusión con fines académicos y de investigación.

Los usuarios de la información no deben reproducir el contenido textual, gráficas o datos del trabajo sin el permiso expresado del autor y/o director(es). Este puede ser obtenido escribiendo a las siguiente(s) dirección(es) de correo. nrojasa@ipn.mx, mgomezr@ipn.mx y dloa.microbiology@gmail.com. Si el permiso se otorga, al usuario deberá dar agradecimiento correspondiente y citar la fuente de este.

José Daniel Aguilar Loa

Nombre completo y firma autógrafa del (de la)  
estudiante

## DEDICATORIA

A mi esposa Gabriela Ramírez Gudiño y nuestras mascotas Benito y Vicente quienes forman mi familia donde siempre encuentro amor y apoyo incondicional.

A mi mamá Rosalba Loa Ramos y mi hermano José Guadalupe Aguilar Loa quienes aún me siguen apoyando en cada una de mis metas.

## **AGRADECIMIENTOS**

Al Instituto Politécnico Nacional por abrirme sus puertas a sus instalaciones y programa de Maestría en Tecnología Avanzada en CICATA, Unidad Querétaro.

Al Fondo Sectorial de Investigación para la Educación del Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT) por financiar mi proyecto de maestría mediante el proyecto A1-S-31777 y por el apoyo de beca de posgrado.

A la Dra. Norma Gabriela Rojas Avelizapa por abrirme las puertas en su línea de investigación y formar parte de su equipo de trabajo, así como por su enorme apoyo, el cual me han permitido avanzar en grande en mi vida profesional.

A la Dra. Marlenne Gómez Ramírez por todo el apoyo que me brindó a cada momento durante mi estancia en el CICATA, Unidad Querétaro.

A mis asesores el Dr. Juan Luis Pichardo Molina, Dr. Juan Bautista Hurtado Ramos y el Dr. José Dolores Oscar Barceinas Sánchez por el tiempo que les implicó brindarme sus revisiones, sugerencias y observaciones sobre mi proyecto de investigación, pues permitieron mejorarlo en gran medida.

A mis compañeros del laboratorio que ahora forma parte de mis amistades, pues hicieron muy ameno el tiempo que pasé durante mi posgrado

## RESUMEN

Las nanopartículas de sulfuro de cadmio (CdS-NPs) sintetizadas por vía fúngica presentan características químicas y ópticas altamente estables a causa de su tamaño, composición y estructura, las cuales las hacen una alternativa prometedora para el desarrollo de métodos espectrofotométricos de alta sensibilidad en la detección de metales en solución. No obstante, la aplicación de las nanopartículas biogénicas resulta un reto, debido a que el material biológico que se utiliza para llevar a cabo la síntesis y el recubrimiento, es ampliamente diverso, por lo que el recubrimiento que presentan las nanopartículas es de composición compleja y por lo tanto, en ocasiones su función y aplicación se ignora. Lo anterior se debe a que es necesario caracterizar a detalle los componentes biológicos que recubren las nanopartículas para poder encontrar una aplicación en particular. A causa de lo anterior, actualmente se busca obtener nanopartículas biogénicas dirigidas hacia alguna aplicación en específico desde las primeras etapas del proceso. Por ello, el presente trabajo tiene como objetivo desarrollar un método espectrofotométrico a base de CdS-NPs, así como la detección de los iones metálicos. Se seleccionaron las condiciones de producción del extracto fúngico que permitiera obtener la máxima concentración de NADH, grupos sulfhidrido y FRAP, así como la mínima concentración de proteínas. Se sintetizaron y caracterizaron las CdS-NPs por espectrofotometría, potencial Z, microscopía electrónica de transmisión y electroforesis en geles de poliacrilamida en condiciones desnaturizantes SDS-PAGE. Finalmente se evaluó la capacidad de detección de los iones metálicos en muestras sintéticas de agua al agregar 1 mL de las CdS-NPs biogénicas a pH 4 y 8 a 1 mL de la solución de cada metal (Co, Hg, Pb, Zn, Cu, Ni, As, Mn<sup>+2</sup>, Fe<sup>+3</sup> y Cr<sup>+6</sup>) a una concentración de 100 µg/mL. Se demostró que el extracto metanólico de *Aspergillus niger* obtenido bajo condiciones evaluadas, cuenta con los componentes necesarios para la síntesis y recubrimiento de las CdS-NPs, así como para la detección de iones metálicos, pues fue posible sintetizar CdS-NPs con forma triangular de longitud máxima de  $2.56 \pm 0.50$  nm, capaces de detectar Pb<sup>2+</sup>, Cr<sup>6+</sup> y Fe<sup>3+</sup> a pH 4, así como Co<sup>2+</sup> a pH 8.

## ABSTRACT

Cadmium sulfide nanoparticles (CdS-NPs) synthesized by fungal route present highly stable chemical and optical characteristics due to their size, composition and structure, which make them a promising alternative for the development of highly sensitive spectrophotometric methods for metal detection in solution. However, the application of biogenic nanoparticles is a challenge, due to the fact that the biological material used to carry out the synthesis and coating, is widely diverse, thus the coating presented by the nanoparticles is complex in composition and therefore, sometimes their function and application is ignored. This is due to the fact that it is necessary to characterize in detail the biological components that coat the nanoparticles in order to find a particular application. Because of the above, currently the aim is to obtain biogenic nanoparticles directed towards a specific application from the first stages of the process. Therefore, the present work aims to develop a spectrophotometric method based on CdS-NPs, as well as the detection of metal ions. The production conditions of the fungal extract were selected to obtain the maximum concentration of NADH, sulfhydryl groups and FRAP, as well as the minimum concentration of proteins. CdS-NPs were synthesized and characterized by spectrophotometry, Z-potential, transmission electron microscopy and electrophoresis in polyacrylamide gels under denaturing conditions (SDS-PAGE). Finally, the ability to detect metal ions in synthetic water samples was evaluated by adding 1 mL of the biogenic CdS-NPs at pH 4 and 8 to 1 mL of the solution of each metal (Co, Hg, Pb, Zn, Cu, Ni, As, Mn<sup>+2</sup>, Fe<sup>+3</sup> and Cr<sup>+6</sup>) at a concentration of 100 µg/mL. It was demonstrated that the methanolic extract of *Aspergillus niger* obtained under evaluated conditions has the necessary components for the synthesis and coating of CdS-NPs, as well as for the detection of metal ions, since it was possible to synthesize triangular-shaped CdS-NPs with a maximum length of  $2.56 \pm 0.50$  nm, capable of detecting Pb<sup>2+</sup>, Cr<sup>6+</sup> and Fe<sup>3+</sup> at pH 4, as well as Co<sup>2+</sup> at pH 8.

## TABLA DE CONTENIDO

DEDICATORIA.....	1
AGRADECIMIENTOS .....	2
RESUMEN .....	3
ABSTRACT .....	4
1 INTRODUCCIÓN.....	8
2 ANTECEDENTES.....	9
2.1 Contaminación ambiental.....	9
2.2 Metales como contaminantes.....	10
2.3 Métodos convencionales para la detección de metales .....	12
2.4 Métodos en investigación para la detección de metales .....	13
2.5 Nanopartículas .....	14
2.6 Puntos cuánticos.....	15
2.6.1 Materiales semiconductores como puntos cuánticos .....	15
2.6.2 Fenómeno de confinamiento cuántico.....	16
2.6.3 Puntos cuánticos de CdS.....	16
2.6.4 Propiedades ópticas de los puntos cuánticos de CdS.....	17
2.6.5 Funcionalización de los puntos cuánticos y las CdS-NPs.....	17
2.6.5.1 Recubrimiento de nanomateriales .....	18
2.6.5.2 Compuestos de origen biológico como recubrimientos de nanomateriales .....	21
2.6.5.3 Mecanismos de detección de metales a partir del recubrimiento del nanomaterial .....	22
2.7 Avances en el desarrollo de métodos para la detección de metales con nanomateriales.....	23
2.8 Limitantes en el desarrollo de métodos para la detección de metales con nanomateriales.....	24
2.9 Importancia de la caracterización de las propiedades de los nanomateriales .....	25
3 JUSTIFICACIÓN.....	27
4 HIPÓTESIS.....	28
5 OBJETIVO GENERAL.....	28
6 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	28
7 METODOLOGÍA.....	29

7.1	Selección del extracto acuoso o metanólico con las moléculas indispensables para la síntesis y el recubrimiento de CdS-NPs mediante espectroscopía UV-vis y electroforesis SDS-PAGE.....	29
7.1.1	Diseño de experimentos.....	29
7.1.2	Obtención y adaptación del hongo.....	29
7.1.3	Producción de la biomasa fúngica .....	29
7.1.4	Producción de extractos orgánicos fúngicos .....	30
7.1.5	Determinación del cofactor enzimático NADH .....	30
7.1.6	Determinación del poder reductor antioxidante férrico (FRAP) .....	30
7.1.7	Determinación de la concentración de proteínas .....	31
7.1.8	Determinación de la concentración de grupos sulfhidrilo (SH).....	31
7.1.9	Perfil proteico de los extractos fúngicos por electroforesis en gel de poliacrilamida desnaturalizante (SDS-PAGE) .....	32
7.2	Síntesis de CdS-NPs mediante el extracto orgánico de la biomasa de <i>Aspergillus niger</i> .....	33
7.2.1	Síntesis de CdS-NPs.....	33
7.3	Caracterización fisicoquímica de las CdS-NPs biogénicas mediante métodos espectroscópicos, microscópicos, potencial zeta y electroforesis SDS-PAGE.....	33
7.3.1	Caracterización espectroscópica y de potencial eléctrico de las CdS-NPs.. .....	33
7.3.2	Caracterización microscópica de las CdS-NPs .....	34
7.3.3	Electroforesis SDS-PAGE de las CdS-NPs.....	34
7.4	Evaluación del método espectrofotométrico para la detección de iones metálicos en muestras sintéticas de agua mediante CdS-NPs biogénicas. ....	35
8	RESULTADOS Y DISCUSIÓN .....	36
8.1	Selección del extracto acuoso y metanólico para la síntesis y el recubrimiento de CdS-NPs mediante espectrofotometría y electroforesis SDS-PAGE .....	36
8.1.1	Diseño experimental.....	36
8.1.2	Concentración de biomoléculas en el extracto orgánico de <i>Aspergillus niger</i> .....	37
8.1.3	Identificación parcial de las proteínas presentes en el extracto orgánico de <i>Aspergillus niger</i> por SDS-PAGE .....	42
8.2	Síntesis y caracterización fisicoquímica de las CdS-NPs biogénicas mediante métodos espectroscópicos, microscópicos, potencial zeta y electroforesis SDS-PAGE .....	43
8.2.1	Caracterización espectroscópica de las CdS-NPs biogénicas .....	43

8.2.2	Caracterización microscópica de las CdS-NPs biogénicas .....	47
8.2.3	Determinación de la concentración de las CdS-NPs.....	50
8.2.4	Estudio de la estabilidad coloidal de las nanopartículas biogénicas de CdS por potencial zeta. ....	52
8.2.5	Perfil proteico de las CdS-NPs por electroforesis en gel de poliacrilamida desnaturalizante (SDS-PAGE) .....	53
8.3	Evaluación del método espectrofotométrico para la detección de iones metálicos en muestras sintéticas de agua mediante CdS-NPs .....	56
9	COCLUSIÓN .....	63
10	REFERENCIAS .....	64
11	ANEXO A: Tablas .....	80
12	ANEXO B: Figuras.....	81

## 1 INTRODUCCIÓN

Los metales como el Co, Pb, Hg, Cr, Ni, Cu y Zn son altamente tóxicos para la salud y el medio ambiente y pueden ser transportados fácilmente de un lugar a otro a causa de diversas actividades antropogénicas, por lo que pueden llegar a contaminar cuerpos de agua, aire y suelo. Los métodos actuales de detección y cuantificación de dichos elementos se realizan haciendo uso de técnicas analíticas como la espectroscopía de masas y emisión óptica acoplado a plasma inductivamente (ICP-MS/ICP-OES). Estas técnicas son costosas y en muchas de las ocasiones el número de muestras a analizar hace incosteable un muestreo y por consiguiente la recuperación del sitio. Por ello, actualmente se busca el desarrollo de métodos rápidos de bajo costo y sencillos de utilizar para la detección preliminar de metales contaminantes en muestras ambientales y así dirigir el muestreo y el análisis de contaminantes. El uso de las nanopartículas de sulfuro de cadmio (CdS-NPs) sintetizadas por vía biológica, las cuales presentan características químicas y ópticas altamente estables a causa de su tamaño, composición y estructura, son una alternativa prometedora para el desarrollo de métodos espectrofotométricos de alta sensibilidad para la detección de metales. No obstante, la caracterización de los componentes biológicos de la cubierta de las nanopartículas (NP) obtenidas por dichos métodos resulta un reto, debido a la inmensa cantidad de biomoléculas que están presentes en la biomasa de los hongos, responsables de la síntesis y recubrimiento, así como de la interacción con los iones metálicos. El presente trabajo tiene como objetivo desarrollar un método espectrofotométrico a base de CdS-NPs biogénicas sintetizadas con los extractos acuoso y/o metanólico de *Aspergillus niger* para la detección de iones metálicos como el Co, Hg, Pb, Zn, Cu, Ni, As,  $Mn^{+2}$ ,  $Fe^{+3}$  y  $Cr^{+6}$  en muestras sintéticas de agua a una concentración de 100  $\mu\text{g/mL}$ .

## **2 ANTECEDENTES**

### **2.1 Contaminación ambiental**

El crecimiento poblacional dado en el territorio mexicano a partir del siglo XX es el principal causante de la degradación ambiental, pues ha generado una alta demanda de los recursos naturales, los cuales pueden ser obtenidos de distintas maneras (SEMARNAT, 2016). No obstante, otros factores socioeconómicos de la población como la economía, tecnología, educación, urbanización y desigualdad son responsables de la eficacia con la cual se obtienen los recursos naturales y por lo tanto, de la huella ecológica que generan (Riojas-Rodríguez et al., 2013; SEMARNAT, 2016).

México a partir de la segunda mitad del siglo pasado es un país en desarrollo y presenta un deterioro ambiental considerable, pues a causa de la urbanización y migración poblacional (SEMARNAT, 2016), muchos de los contaminantes tanto de origen natural como antropogénico se han visto incrementados a causa de las tasas de movilización y transporte, lo que genera impactos sobre el medio ambiente y la salud de las personas (Vargas-Marcos, 2018).

Según informes de la Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales (SEMARNAT) sobre la situación del medio ambiente en México (2016), las actividades mineras, así como las agropecuarias, acuícolas y de infraestructura son de las principales actividades que generan las huellas ecológicas más altas en el ambiente. Sin embargo, de acuerdo con el Sistema Nacional de Indicadores Ambientales de la SEMARNAT, los tipos de contaminantes más frecuentemente reportados son por fuentes de hidrocarburos, seguido de metales pesados y ácido-bases, de los cuales éstos últimos normalmente están presentes en conjunto con la contaminación por metales y metaloides (SEMARNAT, 2020). A pesar de que la gran mayoría de contaminantes presentes en el ambiente son por hidrocarburos como los derivados del petróleo, la contaminación por metales y metaloides no es menos importante (Vargas-Marcos, 2018).

La determinación del número de personas afectadas por causa de factores contaminantes en el ambiente no es claro, pues la Organización Mundial de la Salud

(OMS) no cuenta con cifras que estimen la gravedad del deterioro ambiental (Organización Mundial de la Salud, 2018). Esto debido a que los problemas de salud en la población asociados a la contaminación ambiental suelen variar considerablemente de acuerdo con el tipo de contaminante, pues pueden ir desde infecciones gastrointestinales y respiratorias por el desbalance de las poblaciones microbianas, animales y de plantas, hasta problemas cardiopulmonares, neurológicos y cánceres ocasionados por acción directa de algunos contaminantes como los metales (Escobar, 2002; Vargas-Marcos, 2018).

## **2.2 Metales como contaminantes**

Los metales naturalmente se encuentran distribuidos de manera homogénea en bajas concentraciones en la corteza terrestre, rocas y agua (Susana y Botello, 1998). Estos pueden ser agrupados por su densidad superior a  $5 \text{ g/cm}^3$  como metales pesados, los cuales son asociados a una elevada toxicidad en el organismo a muy bajas concentraciones según la OMS (Tabla 1). No obstante, no todos los metales pesados son tóxicos, ni todos los metales no pesados son no tóxicos, pues un metal puede ser clasificado como tóxico o contaminante dependiendo de la concentración, su estado iónico y la biodisponibilidad que presente en un sitio específico (Briffa et al., 2020; Suarez y Narváez, 2017).

Algunos de los elementos metálicos más tóxicos y comunes en el ambiente para el organismo son el Cd, Cr, Cu, Hg, Ni, Pb, Zn y As (este último metaloide) (Morton-Bermea et al., 2009; Susana y Botello, 1998). Sin embargo, aunque el Cu y el Zn son necesarios en varias de las actividades biológicas de las células, éstos se encuentran presentes en mayor proporción en el medio ambiente y por lo tanto, también son un factor de riesgo importante para la salud (Susana y Botello, 1998).

La toxicidad de los metales y los metaloides radica principalmente en su estado iónico y la afinidad que presentan hacia ciertos grupos funcionales como los sulfhidrilo (-SH), carboxilo (-COOH), amino (-NH) e hidroxilo (-OH) presentes en biomoléculas como proteínas, lípidos y carbohidratos, lo que hace que éstos puedan generar una modificación o supresión de las actividades fisiológicas normales (Briffa et al., 2020).

Por ejemplo, en enzimas y transportadores de iones de algunos organelos que regulan los procesos celulares y la ósmosis, como son las mitocondrias, lisosomas, el núcleo y la membrana celular (Tchounwou et al., 2012)

**Tabla 1.** Límites de concentración de iones metálicos en agua para consumo

<b>Metal</b>	<b>OMS límite (mg/L)</b>
Arsénico (As)	0.01
Cadmio (Cd)	0.003
Cobre (Cu)	2
Cromo (Cr)	0.05
Mercurio (Hg)	0.006
Níquel (Ni)	0.07
Plomo (Pb)	0.01
Zinc (Zn)	S/D

*S/D*: Sin datos observados para el daño a la salud (Organización Mundial de la Salud, 2018)

Los elementos metálicos también pueden presentarse en altas concentraciones en zonas con alta actividad antropogénica donde están involucradas las emisiones industriales, minería, fundición, actividades tecnológicas, agrícolas y domésticas (Ali et al., 2019; Shirani et al., 2020), pues la urbanización e industrialización son la principal causa de contaminación por metales debido a que éstos son transportados por escorrentías hasta cuerpos de agua (Morton-Bermea et al., 2009).

En los cuerpos de agua, los metales pueden encontrarse en suspensión y ser transportados por ríos, aire y otros factores bióticos y abióticos a diferentes zonas o bien, encontrarse en solución y ser sedimentados hasta llegar a filtrarse a los mantos acuíferos (Briffa et al., 2020). Por ello, los metales al ser tóxicos a muy bajas concentraciones para los seres vivos y difíciles de eliminar del medio ambiente, son una preocupación especialmente cuando se encuentran presentes en los cuerpos de agua,

lo que resulta en la necesidad de un diagnóstico oportuno de dichos elementos (Tchounwou et al., 2012; Valko et al., 2005).

### **2.3 Métodos convencionales para la detección de metales**

Los métodos analíticos cualitativos y cuantitativos que pueden utilizarse para el análisis elemental son los volumétricos, gravimétricos y espectrofotométricos. No obstante, los métodos convencionales para la detección de los metales contaminantes comunes en el medio ambiente (Atieh et al., 2017; Odošić et al., 2019) son por técnicas instrumentales de espectroscopía de absorción atómica (EAA), espectroscopía atómica de fluorescencia (EAS), espectroscopía de rayos X (ERX) y la espectroscopía de masas y de emisión óptica acoplado a plasma inductivamente (ICP-MS e ICP-OES). Estas técnicas pueden detectar cualitativa y cuantitativamente una gran variedad de elementos con una elevada sensibilidad y especificidad (Gumpu et al., 2015).

La EAA puede determinar la concentración de los elementos ionizados de una muestra líquida, al hacer fluir un rayo de luz proveniente de una lámpara catódica que atraviesa la muestra en forma de vapor (Potts, 1987). Esto a partir de la determinación de absorción de luz por parte de los elementos presentes en la muestra, con ayuda de un espectrómetro monocromático (Potts, 1987; Stoepler, 1983). Por otro lado, las técnicas de ICP pueden detectar la emisión de luz atómica de la muestra a partir de su ionización por la acción de una llama de plasma, mientras que la ERX realiza la cuantificación a partir de la absorción y emisión de energía de rayos X provenientes de los electrones de las capas más internas de los átomos que componen a la muestra (Hutton et al., 2014; Sharma et al., 2018).

La selección de técnicas instrumentales para la cuantificación de los elementos presentes en las muestras se realiza con base en el objetivo principal del análisis, es decir, la sensibilidad y especificidad deseada, la reducción de interferencias o de acuerdo con la complejidad de la muestra, la matriz y el tiempo de análisis. No obstante, dichas técnicas son costosas, se requieren tiempos largos de procesamiento de muestras y requieren de equipos y materiales de alto costo, así como personal entrenado para su análisis (Gumpu et al., 2015). Por ello, recientemente se exploran

nuevas alternativas para la detección *in situ* de iones metálicos contaminantes de cuerpos de agua; que sean rápidos, específicos y selectivos. Todo ello con el objetivo de utilizarlos como pruebas preliminares para dirigir el muestreo en zonas específicas, y así hacer más eficiente el proceso de análisis instrumental al reducir el número y toma de muestras (Odobasić et al., 2019).

## **2.4 Métodos en investigación para la detección de metales**

Los biosensores son dispositivos analíticos rápidos, específicos y selectivos, integrados por un material biológico que reconoce el analito en investigación, el cual con ayuda de otros elementos transductores transmiten un tipo de señal que puede ser óptico, eléctrico o térmico a un detector para poder ser analizado (Odobasić et al., 2019). Dada la naturaleza de los elementos metálicos, los métodos rápidos para su detección se basan principalmente en pruebas espectrofotométricas o electroquímicas, mediante el uso de indicadores de iones metálicos y nanomateriales en solución, los cuales cambian de color o de potencial eléctrico al unirse con los iones libres (Gumpu et al., 2015; Lou et al., 2014; Odobasić et al., 2019).

Los indicadores de iones metálicos son sustancias químicas simples o complejas, que contienen ligandos que reconocen los iones por su carga, afinidad y peso molecular, tales como las bases de Schiff (Alorabi et al., 2019; Aydin y Keleş, 2020; Reimann et al., 2019), quelantes y colorantes (Abed et al., 2019; Chen et al., 2019). Dichos compuestos, son poco selectivos hacia cierto tipo de iones metálicos y altamente sensibles a las modificaciones del pH, pues cambian de color en función de su estado de protonación.

Los nanomateriales en solución, gracias a las propiedades ópticas y eléctricas que presentan algunos de ellos, como las nanopartículas de oro (Au-NPs) y plata (Ag-NPs), además de las nanopartículas semiconductoras son una alternativa para la detección de metales contaminantes (Gao et al., 2016; Gumpu et al., 2015; Lou et al., 2014; Pujol et al., 2014). Las Au-NPs y Ag-NPs debido al coeficiente de extinción y de resonancia de superficie plasmónica que presentan, pueden generar cambios espectrofotométricos en solución en presencia de otros elementos o bien, producir un cambio en el potencial

eléctrico de la solución en la que se encuentren al detectar ciertos analitos (Kim et al., 2017; Kobashigawa et al., 2019; Liu et al., 2017; Wang et al., 2018). Sin embargo, los reactivos con los cuales son sintetizadas son costosos, lo que podría verse reflejado en un precio elevado del producto final (Kim et al., 2017; Sabela et al., 2017; Wang et al., 2018).

Los puntos cuánticos semiconductores o “*quantum dots*” (QD) por sus propiedades fluorescentes y catalíticas dependientes de su tamaño, son un blanco prometedor para la detección de iones metálicos en solución por medio de cambios en el espectro de absorción y emisión de luz (Rempel et al., 2015; Suresh, 2013). Este tipo de nanomateriales son de gran interés para el desarrollo de métodos rápidos de detección de metales mediante reacciones redox que generan cambios colorimétricos en las soluciones, permitiendo una identificación de dichos elementos con una alta sensibilidad, especificidad, capacidad de portabilidad a campo y con el uso de reactivos menos costosos (Bera et al., 2010; Suresh, 2013)

## **2.5 Nanopartículas**

Las nanopartículas (NP) son agregados sólidos de tamaño nanométrico menor a 100 nm, compuestas por diversos elementos como pueden ser metales, no metales, polimeros o la combinación entre estos (Ashok, 2016a). Se clasifican en 1) bidimensionales; cuando una de sus tres dimensiones se encuentra en el rango de la nanoescala 2) unidimensionales; cuando dos de sus dimensiones están a nanoescala y 3) cerodimensionales; cuando todas sus dimensiones están a nanoescala, tales como los puntos cuánticos (QD), fullerenos y nanohilos (Jain, 2017).

Las propiedades y características físicas y químicas de los nanomateriales como la flexibilidad, conductividad eléctrica, térmica, reactividad, catálisis, luminiscencia, índice de superficie a volumen, entre muchas otras, suelen ser diferentes a las del material original con el que fueron sintetizados, debido al tamaño y estructura que presentan (Ashok, 2016a). Algunas de las nanopartículas mayormente empleadas están compuestas por elementos metálicos, mientras que otras se componen tanto de un

elemento metálico como de uno no metálico, tales como las nanopartículas semiconductoras (Saallah y Lenggoro, 2018; Siddiqi y Husen, 2016; Suresh, 2013).

## **2.6 Puntos cuánticos**

Los puntos cuánticos son nanoestructuras semiconductoras de tamaños nanométricos que presentan cero dimensiones en un plano tridimensional (Maxwell et al., 2019). Los QD exhiben propiedades ópticas distintas al ser excitados por radiaciones electromagnéticas. Estrictamente, se le conoce como puntos cuánticos a aquellas partículas semiconductoras que tienen un diámetro menor al radio de Bohr y que muestran propiedades luminiscentes altamente estables a causa de su tamaño el cual puede ir de 1.5 a 10 nm, dependiendo de los elementos por los que esté conformado el nanomaterial (Bera et al., 2010; Pawar et al., 2018).

### **2.6.1 Materiales semiconductores como puntos cuánticos**

Los puntos cuánticos semiconductores son un material compuesto por diversos elementos no metálicos que incluyen los grupos II-VI, III-V y IV-VI de la tabla periódica, así como diferentes iones metálicos (Pawar et al., 2018). Dentro de estos grupos de elementos se incluyen los cationes de Zn, Cd y Hg en combinación con los aniones de S, O, Te, y Se para formar nanomateriales como los de ZnO, ZnS, CdTe, CdS, etc (Kumar, 2019; Meziani et al., 2005). Dichos nanomateriales presentan propiedades ópticas, eléctricas y térmicas diferentes a las de sus formas macroscópicas (Alivisatos, 1996; Mal et al., 2016; Silvi y Credi, 2015).

Los materiales semiconductores por su naturaleza presentan una banda de energía de valencia (BV) y una banda de energía de conducción (BC), donde los electrones pueden pasar de la BV a la BC a partir de una energía de excitación específica, determinada por la brecha o distancia (gap) entre las dos bandas de energía, la cual depende del tamaño del material semiconductor (Alivisatos, 1996). Los electrones que se encuentran sobre la BV al ser excitados y pasar a la BC, dejan “huecos” en la BV conocidos como excitones. Estos últimos al ser ocupados por los electrones que

regresan de la BC a la BV, liberan fotones y emiten luz con mayor estabilidad óptica y luminiscencia debido al efecto cuántico que se muestra en la gran mayoría de las nanoestructuras con diámetros inferiores a 10 nm (Lou et al., 2014; Priyanka et al., 2016; Uddandarao et al., 2019; Uddandarao y Balakrishnan, 2017; Uddandarao y Mohan, 2016).

### **2.6.2 Fenómeno de confinamiento cuántico**

El fenómeno de confinamiento cuántico ocurre en los nanomateriales de cero dimensiones donde los electrones que componen a los átomos del semiconductor se encuentran tan restringidos en el espacio para su libre movimiento, en comparación con los electrones que fluyen libremente en las diferentes dimensiones de los materiales de mayor tamaño, los cuales pueden llegar a presentar una dimensión o hasta dos dimensiones (Alivisatos, 1996; Bera et al., 2010; Kumar, 2019). Este fenómeno sucede cuando una energía de excitación hace brincar los electrones de los átomos de un semiconductor de la BV a la BC, con la consecuente liberación de energía en forma de fotones. Esto se observa tanto en el material a granel como en los puntos cuánticos. Sin embargo, la distancia o brecha entre la BV y la BC se vuelve más grande en los materiales más pequeños y la energía de excitación necesaria para que un electrón pase de la BV a la BC, se vuelve mayor (Maxwell et al., 2019; Pawar et al., 2018). Esto a su vez genera el incremento en la emisión de fotones en comparación con los materiales en su forma macroscópica, donde la brecha y la energía de excitación necesarias para que un electrón pase de la BV a la BC se vuelve más pequeña y por lo tanto, su estabilidad óptica y luminiscencia disminuye (Alivisatos, 1996).

### **2.6.3 Puntos cuánticos de CdS**

Los puntos cuánticos de CdS son nanoestructuras que se pueden presentar con diferentes morfologías, las cuales se obtienen a partir de una estructura cristalina básica cúbica o hexagonal (Kozhevnikova et al., 2015). Estos nanomateriales han ganado importancia en diversos campos a causa de las propiedades ópticas, eléctricas

y químicas (Khan, 2012; Khan et al., 2011; Kozhevnikova et al., 2015), dadas por la energía de banda prohibida que presentan, la cual se incrementa de 2.42 electronvoltios (eV) hasta 3-4 eV cuando el material de CdS en su forma macroscópica llega a tamaños inferiores a 10 nm (Kozhevnikova et al., 2015; Rempel et al., 2015; Sandoval-Cárdenas et al., 2017b). Lo anterior les confiere características ópticas específicas como su coloración y el rango de absorción y emisión de luz. Por ello, los QD de CdS pueden emplearse en el recubrimiento de electrodos, celdas solares, detectores de infrarrojo, sensores ambientales y biológicos, así como en la construcción de sensores potenciométricos y microscópicos (Yuting et al., 2019).

#### **2.6.4 Propiedades ópticas de los puntos cuánticos de CdS**

Los puntos cuánticos de CdS presentan un amplio rango de absorción de luz que puede ir desde los 350 a los 525 nm aproximadamente, con un espectro de emisión de luz dentro de los 400 y los 550 nm (Ahmad et al., 2002; Bel Haj et al., 2018; Bhadwal et al., 2014; Chen et al., 2014; Khan et al., 2011; Sandoval-Cárdenas et al., 2017b). El rango de absorción y emisión de luz de los puntos cuánticos en el espectro electromagnético depende directamente del tamaño y la estructura del nanomaterial, el cual se ve modificado por el coeficiente de extinción, e indirectamente del recubrimiento que puedan presentar los puntos cuánticos, pues éste último les brinda características de solubilidad, estabilidad coloidal, biocompatibilidad y funcionalización del nanomaterial, mismo que puede resultar en la dispersión o aglomeración de las partículas y con ello en la modificación de la interacción con el espectro electromagnético (Bel Haj et al., 2018; Lou et al., 2014; Shang y Xiaohu, 2015; Yu et al., 2003).

#### **2.6.5 Funcionalización de los puntos cuánticos y las CdS-NPs**

La funcionalización de los puntos cuánticos con la cual tiene lugar la detección espectrofotométrica de los elementos metálicos y otras moléculas está determinada por el tipo de recubrimiento que presentan (Lou et al., 2014). La cubierta del nanomaterial es la principal responsable de las interacciones con las moléculas que se encuentran presentes en una solución y causante de los cambios en las propiedades fisicoquímicas que pueda sufrir la nanopartícula o punto cuántico (Dameron et al., 1989; Pareek et al., 2018; Poornaprakash et al., 2016; Uddandarao et al., 2019).

Algunos de los factores más importantes que influyen directamente sobre la cubierta de las nanopartículas y por lo tanto en las propiedades fisicoquímicas del nanomaterial son, las variaciones de pH, interacción con compuestos orgánicos, inorgánicos y/o elementos presentes en el medio, así como la concentración salina de la solución y en algunas ocasiones la temperatura (Bhadwal et al., 2014; Sabela et al., 2017; Uddandarao et al., 2019; Varela y Bermejo-barrera, 2014). Dichos cambios están relacionados con modificaciones sobre los grupos tiol ( $-SH$ ), carboxilo ( $-COOH$ ), amino ( $-NH_2$ ) e hidroxilo ( $-OH$ ) que conforman la cubierta del punto cuántico de CdS, tales como los aminoácidos de las proteínas, los carbohidratos y lípidos (Ahmad et al., 2002; Priyanka et al., 2016; Uddandarao y Mohan, 2016).

#### **2.6.5.1 Recubrimiento de nanomateriales**

La cubierta de los nanomateriales como los puntos cuánticos de CdS, tiene como objetivo principal brindar solubilidad al material y función específica para su aplicación (Odobasić et al., 2019). Dicha cubierta puede ser de origen orgánico e inorgánico y deberá tener la capacidad de unirse a los átomos que conforman al núcleo con alta afinidad (Bel Haj et al., 2018; Lou et al., 2014). No obstante, la selección de la cubierta es un tema muy complicado, pues esta tendrá que cumplir con ciertas especificaciones que cubran las necesidades deseadas; por ejemplo, brindar estabilidad coloidal, biocompatibilidad, capacidad de bioconjugación, resistencia a cambios de pH, temperatura, salinidad etc (Ahmad et al., 2002; Sandoval-Cárdenas et al., 2017b). El recubrimiento de los puntos cuánticos de CdS y de las nanopartículas en general, puede llevarse a cabo a partir de un origen sintético o biológico, las ventajas y desventajas de cada uno de ellos varían (Tabla 2) (Dameron y Winge, 1990; Mal et al., 2016; Reyes et al., 2009; Sandoval-Cárdenas et al., 2017b).

**Tabla 2.** Ventajas y desventajas de los tipos de recubrimiento de nanomateriales

<b>Cubierta de origen sintético</b>	
<b>Ventajas</b>	<b>Desventajas</b>
<ul style="list-style-type: none"><li>• Se obtienen nanomateriales con cubierta de composición definida.</li><li>• Los métodos de síntesis y recubrimiento sintético son por procesos físicos y químicos rápidos.</li><li>• Generalmente se obtiene mayor homogeneidad en composición, tamaño y estructura de la cubierta y el nanomaterial.</li><li>• Se favorece la solubilidad del nanomaterial.</li></ul>	<ul style="list-style-type: none"><li>• Se utilizan reactivos de alta pureza.</li><li>• La eficiencia del proceso de recubrimiento es bajo y se utiliza mayor cantidad de reactivos.</li><li>• Los recubrimientos presentan menor fuerza de unión al núcleo del nanomaterial.</li><li>• Los nanomateriales son más propensos a desestabilización coloidal por factores abióticos.</li><li>• Los procesos de recubrimiento generan más residuos químicos y pueden utilizar más energía.</li></ul>
<b>Cubierta de origen biológico</b>	
<b>Ventajas</b>	<b>Desventajas</b>
<ul style="list-style-type: none"><li>• Los recubrimientos se agregan a los nanomateriales al momento de su síntesis.</li><li>• Diversos compuestos de origen biológico pueden funcionar como recubrimiento del nanomaterial.</li><li>• Se utiliza una menor cantidad de reactivos y de menor pureza.</li><li>• El proceso de recubrimiento es más eficiente.</li><li>• Se generan residuos menos contaminantes y en menor proporción.</li><li>• El recubrimiento tiene mayor fuerza de unión al núcleo del nanomaterial.</li><li>• Los nanomateriales tienen mayor estabilidad coloidal frente a diversos factores abióticos.</li><li>• Los nanomateriales recubiertos presentan mayor sensibilidad y especificidad por un analito.</li></ul>	<ul style="list-style-type: none"><li>• No se conoce la composición del recubrimiento.</li><li>• Es necesario realizar una caracterización detallada del recubrimiento.</li><li>• Los procesos de síntesis y recubrimiento de los nanomateriales son más tardados.</li><li>• Se pueden obtener cubiertas menos homogéneas en tamaño, composición y estructura.</li></ul>

Los recubrimientos sintéticos se emplean para las nanopartículas que son sintetizadas por métodos fisicoquímicos con el uso de reactivos de alta pureza, es decir, el experimentador puede utilizar el recubrimiento de interés para alguna aplicación en específico (Ashok, 2016a; Dameron y Winge, 1990; Pareek et al., 2018). No obstante, la gran mayoría de veces se genera un recubrimiento con poca fuerza de unión al núcleo, lo que puede resultar en una desestabilización coloidal frente a diferentes factores

abióticos (Hulkoti y Taranath, 2014; Tang et al., 2005). Algunos ejemplos de los recubrimientos sintéticos más frecuentemente utilizados son aquellos que contienen fosfenos (óxidos) o mercaptanos (sulfhidrilos), tales como trioctilfosfina (TOP), óxido de trioctilfosfina (TOPO), ácido mercaptoacético (MAA), ácido mercaptopropiónico (MPA), ácido tioglicólico (TGA), L-cisteína, entre otros (Bel Haj et al., 2018; Lou et al., 2014).

Los recubrimientos de origen biológico a diferencia de los sintéticos son obtenidos a partir del metabolismo de los microorganismos como parte de su desarrollo e intervienen en los nanomateriales al momento de sus síntesis. Esto debido a que los puntos cuánticos y nanopartículas que presentan dichos recubrimientos se originan a partir de organismos vivos como plantas, bacterias y hongos, así como de extractos orgánicos derivados de su materia orgánica (Bhadwal et al., 2014; Jacob et al., 2016). La cubierta del nanomaterial se produce a partir de los componentes orgánicos (proteínas, carbohidratos y lípidos) una vez que los compuestos esenciales para la síntesis de las partículas generan el núcleo; estos últimos pueden ser enzimas reductasas de sulfatos y/o nitratos y cofactores enzimáticos como el NADH, NADPH y ATP (Ahmad et al., 2002; Reyes et al., 2009).

El recubrimiento obtenido por procesos biológicos es eficiente, de alta fuerza de unión al núcleo, estabilidad coloidal y elevada resistencia a factores abióticos. Además, debido a que se utilizan procesos enzimáticos, moléculas y compuestos propios de los organismos que las generan, se reduce el uso de materiales tóxicos, costosos y dañinos a la salud y al ambiente (Sharma et al., 2018). Asimismo, las nanopartículas al contener una cubierta de mayor complejidad estructural, pueden exhibir mayor sensibilidad y especificidad hacia cierto tipo de analitos (Priyanka et al., 2016; Uddandarao et al., 2019; Uddandarao y Balakrishnan, 2017). Por otro lado, las desventajas de este tipo de recubrimientos es que no se conoce de qué está formada la cubierta y por lo tanto, tampoco la función que tendrán para alguna aplicación en específico, pues el recubrimiento se genera de manera inespecífica con los materiales orgánicos que se encuentran en el medio, los cuales pueden ser muy variados sino se restringe la cantidad de componentes a utilizar durante el proceso (Priyanka et al., 2016; Uddandarao y Balakrishnan, 2017). No obstante, para reducir las diferencias del recubrimiento que se pueda obtener, se utilizan extractos que ayuden a eliminar la

mayor cantidad de componentes biológicos no esenciales, así como a caracterizar los elementos que conforman la muestra a utilizar (Ahmad et al., 2013; Chowdhury et al., 2014; Durán et al., 2005; Kobashigawa et al., 2019; Sabela et al., 2017; Siddiqi y Husen, 2016). Todo ello con el objetivo de llevar a cabo la síntesis y el recubrimiento del nanomaterial de manera repetible y reproducible (Ahmad et al., 2002; Basavaraja et al., 2008; Gnansounou y Raman, 2017; Sabri et al., 2016; Shaligram et al., 2009).

#### **2.6.5.2 Compuestos de origen biológico como recubrimientos de nanomateriales**

Actualmente existen numerosos reportes acerca de la síntesis y recubrimiento de nanopartículas con compuestos de origen biológico con el fin de reducir el uso de productos sintéticos (Aruna-Devi et al., 2015; Sandoval-Cárdenas et al., 2017b; Uddandarao et al., 2019; Uddandarao y Mohan, 2016). No obstante, en la mayoría de ocasiones la obtención y purificación de nanopartículas suele complicarse dependiendo del tipo de organismo que se utilice para su producción, pues para el caso de bacterias y plantas, es necesario llevar a cabo varios pasos metódicos para su obtención como la lisis de la pared celular o la extracción y purificación de compuestos polares, respectivamente (Sharma et al., 2018). Por otro lado, la síntesis de nanopartículas por vía fúngica suele ser más simple, pues las proteínas, enzimas, compuestos y moléculas implicadas en su síntesis, recubrimiento y funcionalización pueden encontrarse en la pared celular de los hongos o ser secretados al medio, lo que facilita el uso de la biomasa o el medio acuoso para dicho proceso sin la necesidad de realizar la lisis celular (Ahmad et al., 2002; Durán et al., 2005; Reyes et al., 2009).

Los recubrimientos de NP y puntos cuánticos de CdS por vía fúngica se han investigado en procesos intracelulares y extracelulares (Jacob et al., 2016). En el primer caso, se encuentran reportados los hongos levaduriformes *Schizosaccharomyces pombe* y *Candida glabrata* (Dameron y Winge, 1990; Dameron et al., 1989). Por otro lado, los hongos filamentosos *Pleurotus ostreatus* (Borovaya et al., 2015), *Phanerochaete chrysosporium* (Chen et al., 2014), *Coriolus versicolor* (Sanghi y Verma, 2009), *Trichoderma harzianum* (Bhadwal et al., 2014), *Fusarium oxysporum* (Ahmad et al., 2002; Sandoval-Cárdenas et al., 2017a, 2017b), *Aspergillus versicolor* y *Aspergillus niger* producen en su biomasa los componentes necesarios para llevar a cabo tanto la

síntesis y el recubrimiento de las nanopartículas de manera extracelular (Alsaggaf et al., 2020; Das et al., 2012), tales como proteínas y enzimas como sulfato y nitrato reductasas (Sandoval-Cárdenas, 2017), además de moléculas mediadoras como el ATP y NADPH (Aruna-Devi et al., 2015; Reyes et al., 2009); dicha vía es más rápida y un tanto más sencilla. Esto debido a la diversidad de enzimas que presentan en su pared celular (Hulkoti y Taranath, 2014).

### **2.6.5.3 Mecanismos de detección de metales a partir del recubrimiento del nanomaterial**

Los mecanismos por los cuales tiene lugar la detección espectrofotométrica de los elementos metálicos y otras moléculas aún no están bien descritos, pero se sabe que se pueden generar cambios en sus propiedades ópticas a partir de diferentes procesos que dependerán tanto de la estructura, composición y tamaño del nanomaterial, así como de las características del analito y su proximidad e interacción con el nanomaterial (Priyanka et al., 2016; Uddandarao et al., 2019; Uddandarao y Balakrishnan, 2017). Además, los factores como el pH, temperatura, salinidad y la complejidad de las muestras a analizar, determinarán también los límites de sensibilidad y especificidad del método (Uddandarao et al., 2019; Uddandarao y Balakrishnan, 2017; Varela y Bermejo-barrera, 2014). Algunos de los mecanismos descritos son:

1. Interacción de los excitones del nanomaterial con los electrones de los analitos. Los iones de los analitos en solución tendrán la capacidad de donar electrones a los excitones de la BV de las NP excitadas y/o aceptar los electrones energizados liberados de la BV de las NP excitadas y con ello la reducción o eliminación de la fluorescencia (Lou et al., 2014).
2. Formación de complejo analito-ligando. Los analitos se unen a los grupos funcionales de la cubierta de las nanopartículas y le brindan rigidez y protección al núcleo, limitando la interacción de los electrones excitados de las NP con los electrones de los átomos del medio y por lo tanto favorece la fluorescencia (Lou et al., 2014).
3. Desplazamiento de ligandos. Los analitos por afinidad al núcleo de la NP desplazan las moléculas y los grupos que forman la cubierta y que les dan

estabilidad coloidal, lo que genera la pérdida de su solubilidad y/o estabilidad coloidal con la formación de conglomerados y la consecuente disminución de la fluorescencia (Lou et al., 2014).

4. Activadores y supresores de la fluorescencia. Agentes intermediarios específicos adicionados al medio o compuestos presentes en las muestras son capaces de aumentar o inhibir la fluorescencia de las NP y a su vez ser susceptibles a la conjugación con analitos (iones metálicos) que modifican la fluorescencia de las NP (Lou et al., 2014).
5. Formación de complejo analito-ligando-analito. Un analito puede interactuar con el grupo funcional de la cubierta de dos nanopartículas a la par y formar redes que culminan con la formación de conglomerados y la pérdida de la fluorescencia

## **2.7 Avances en el desarrollo de métodos para la detección de metales con nanomateriales**

Existen numerosos reportes y revisiones extensas del uso de nanopartículas para la detección de iones metálicos a partir de AuNP, AgNP y distintos QD semiconductores, todos ellos con diferentes estrategias de detección de dichos elementos (Bel Haj et al., 2018; Kim et al., 2017; Kobashigawa et al., 2019; Lou et al., 2014; Sabela et al., 2017; Shrivastava et al., 2015; Varela y Bermejo-barrera, 2014; Wang et al., 2018). Los mecanismos de detección son variados y generalmente se basan en procesos de afinidad con los grupos -SH, -COOH, -NH<sub>2</sub> e -OH de las moléculas que conforman la cubierta, lo que genera la dispersión o conglomeración de las NP (Priyanka et al., 2016; Uddandarao y Balakrishnan, 2017). Algunos de los metales que han sido detectados por procesos de afinidad con los grupos -SH son el Pb, Zn, Cu, Ca, Mn<sup>+2</sup> y As, Cr<sup>+3</sup>, mientras que por interacción con los grupos -COOH, -NH<sub>2</sub> e -OH se han detectado Co, Hg, Pb, Pd y Pt<sup>+2</sup>, todos estos métodos con diferente sensibilidad, especificidad e interferencias (Sabela et al., 2017).

La gran lista de métodos reportados para la detección de iones metálicos hasta el momento utiliza nanopartículas sintetizadas por procesos químicos y físicos con el uso

de recubrimientos sintéticos específicos (Lou et al., 2014). No obstante, también existen unos pocos reportes acerca del uso de nanopartículas y puntos cuánticos recubiertos con biomoléculas de *Aspergillus flavus* por procesos bioquímicos para la detección de Cu, Mn y As (Ahmad et al., 2002; Bhadwal et al., 2014; Priyanka et al., 2016; Uddandarao et al., 2019; Uddandarao y Balakrishnan, 2017; Uddandarao y Mohan, 2016). Dos ejemplos de este tipo de nanomateriales utilizados en solución son las nanopartículas de calcogenuros metálicos de sulfuro de zinc (ZnS) y sulfuro de plomo (PbS), reportadas como partículas cristalinas semiconductoras de 1 – 20 nm con propiedades fluorescentes, electroluminiscentes (Borovaya et al., 2015; Chen et al., 2014; Priyanka et al., 2016; Uddandarao y Balakrishnan, 2017). Este tipo de nanoestructuras además de las propiedades anteriormente mencionadas, tienen en común su estructura en forma de esfera, tamaño aproximado y recubrimiento con biomoléculas fúngicas (Priyanka et al., 2016; Sandoval-Cárdenas et al., 2017b; Uddandarao y Mohan, 2016). Tanto las nanopartículas de ZnS como las de PbS se han empleado para la detección espectrofotométrica de metales a partir del análisis espectroscópico de fluorescencia por cambios en los espectros de absorción y emisión de luz en presencia de diferentes elementos (Priyanka et al., 2016; Uddandarao y Balakrishnan, 2017). El mecanismo por el cual los metales en solución son detectados tiene lugar cuando dichos elementos se enlazan con la cubierta de la NP y generan cambios en el nanomaterial que lleva a una aglomeración y así, la modificación en la absorción y emisión de luz de las nanopartículas (Priyanka et al., 2016; Uddandarao y Balakrishnan, 2017).

## **2.8 Limitantes en el desarrollo de métodos para la detección de metales con nanomateriales**

Actualmente existen numerosos reportes acerca de métodos de detección de iones metálicos a base de nanopartículas con cubiertas sintéticas y pocos reportes con el uso de nanopartículas con cubiertas de origen biológico (Aruna-Devi et al., 2015; Borovaya et al., 2015; Khan et al., 2011; Lou et al., 2014; Onwudiwe et al., 2014; Reyes et al.,

2009; Sanghi y Verma, 2009, 2009; Wang et al., 2018). No obstante, la gran mayoría de ellos presenta más de una limitante.

Los nanomateriales que presentan cubiertas sintéticas, generalmente utilizan mayor concentración de los precursores para llevar a cabo la síntesis y el recubrimiento del nanomaterial por procesos fisicoquímicos ( $\geq 0.1$  M), además de que en ocasiones la optimización de su sensibilidad, especificidad y estabilidad coloidal son necesarias (Sharma et al., 2018). Por otro lado, los nanomateriales con cubierta biológica, tienen como mayor limitante la caracterización del recubrimiento y la determinación de su funcionalización a causa de la gran variedad de componentes que se utilizan para el proceso de síntesis y recubrimiento de la nanopartícula (Bel Haj et al., 2018; Shang y Xiaohu, 2015; Silvi y Credi, 2015). No obstante, dichas limitantes pueden ser remediadas de una manera menos complicada mediante procesos de caracterización fisicoquímica y técnicas moleculares específicas (Bel Haj et al., 2018; Shang y Xiaohu, 2015; Silvi y Credi, 2015).

Una limitante que se presenta en el uso de los nanomateriales tanto con un recubrimiento sintético como biológico es la cuantificación de la concentración de las NP, pues para ello es necesario recurrir a técnicas gravimétricas o espectroscópicas para cuantificar con mayor exactitud el peso molecular de un compuesto del cual se desconoce el número de elementos que lo conforman (Shang y Xiaohu, 2015). Para ello se suele utilizar análisis instrumental o información de reportes previos de la identificación de algunos parámetros importantes y específicos de los nanomateriales, como el coeficiente de extinción (Yu et al., 2003).

## **2.9 Importancia de la caracterización de las propiedades de los nanomateriales**

Conocer algunas de las características físicas y químicas de las nanopartículas es clave para su identificación, debido a que sus propiedades cambian con base al material de que están hechas, su tamaño y el medio que las rodea (Ashok, 2016b). Por esto, actualmente existen numerosas técnicas analíticas que permiten determinar algunas características esenciales de las nanopartículas, como son el tamaño, forma, estructura, peso molecular, composición y propiedades químicas, eléctricas y ópticas de su

superficie (Sharma et al., 2018). Todo esto, mediante espectroscopía ultravioleta-visible (UV-vis), espectroscopía de masas acoplado a plasma inductivamente (ICP-MS), espectroscopía de rayos X por energía dispersiva (EDAX), espectroscopía infrarroja por transformada de Fourier (FTIR), esparcimiento dinámico de luz (DLS), potencial zeta (ZP), microscopía de fuerza atómica (AFM) y microscopía electrónica de transmisión (TEM) y de barrido (SEM) (Ashok, 2016b; Priyanka et al., 2016; Sharma et al., 2018; Uddandarao y Balakrishnan, 2017)

### 3 JUSTIFICACIÓN

La presente investigación se enfoca en el desarrollo de un método de detección espectrofotométrico a base de CdS-NPs biogénicas sintetizadas con el extracto fúngico de *Aspergillus niger* para la detección de iones metálicos en solución. Lo anterior debido a que los métodos de detección actuales, a pesar de ser rápidos, sencillos, específicos y sensibles, son a base CdS-NPs sintetizadas por procesos fisicoquímicos los cuales presentan algunas limitantes, tales como un recubrimiento simple y con menor fuerza de unión al núcleo, que reduce el tiempo de utilidad de las nanopartículas a causa de fenómenos de inestabilidad coloidal, además de que se utilizan reactivos de alta pureza y grandes cantidades de energía con una baja eficiencia de producción. El uso de CdS-NPs de origen biogénico sintetizadas a partir de extractos fúngicos, ayudará a mejorar la estabilidad coloidal, biocompatibilidad y tiempo de utilidad de las nanopartículas, ya que presentan como ventaja un recubrimiento de mayor complejidad química debido a que durante su síntesis se utiliza solo aquel extracto fúngico que contenga la máxima concentración de poder reductor, NADH y grupos sulfhidrilo que se requieren para el proceso de síntesis, así como la mínima concentración de proteínas que participan en el recubrimiento del nanomaterial y la detección de los iones metálicos.

El contar con el método de detección a base de CdS-NPs biogénicas obtenidas a partir de un extracto fúngico, favorecerá las características fisicoquímicas de las nanopartículas y por lo tanto el éxito de su aplicación para la detección de metales en solución. Lo anterior generará conocimiento nuevo en cuanto al proceso de síntesis, recubrimiento y aplicación de CdS-NPs de origen biogénico para la detección de iones metálicos debido a que actualmente las CdS-NPs obtenidas por procesos biogénicos son sintetizadas a partir de un gran número de componentes orgánicos no esenciales para dichos procesos, lo que resulta en un recubrimiento de gran tamaño y complejidad casi imposible de caracterizar y por lo tanto de ser aplicado para alguna función en particular.

## 4 HIPÓTESIS

Las nanopartículas biogénicas sintetizadas con el extracto acuoso o metanólico de *Aspergillus niger* tienen la capacidad de detectar iones metálicos como el Co, Hg, Pb, Zn, Cu, Ni, As, Mn<sup>+2</sup>, Fe<sup>+3</sup> y Cr<sup>+6</sup> en muestras sintéticas de agua.

## 5 OBJETIVO GENERAL

Desarrollar un método espectrofotométrico a base de CdS-NPs biogénicas sintetizadas con el extracto acuoso o metanólico de *Aspergillus niger* para la detección de iones metálicos como el Co, Hg, Pb, Zn, Cu, Ni, As, Mn<sup>+2</sup>, Fe<sup>+3</sup> y Cr<sup>+6</sup> en muestras sintéticas de agua

## 6 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Seleccionar el extracto acuoso o metanólico que contenga las moléculas indispensables para la síntesis y el recubrimiento de CdS-NPs mediante espectroscopía UV-vis y electroforesis SDS-PAGE.
2. Sintetizar CdS-NPs mediante el extracto orgánico de la biomasa de *Aspergillus niger*.
3. Caracterizar fisicoquímicamente las CdS-NPs biogénicas obtenidas por el extracto fúngico mediante métodos espectroscópicos, microscópicos, potencial zeta y electroforesis SDS-PAGE.
4. Evaluar la capacidad del método espectrofotométrico en la detección de los iones metálicos Co, Hg, Pb, Zn, Cu, Ni, As, Mn<sup>+2</sup>, Fe<sup>+3</sup> y Cr<sup>+6</sup> en muestras sintéticas de agua mediante CdS-NPs biogénicas.

## 7 METODOLOGÍA

### 7.1 Selección del extracto acuoso o metanólico con las moléculas indispensables para la síntesis y el recubrimiento de CdS-NPs mediante espectroscopía UV-vis y electroforesis SDS-PAGE

#### 7.1.1 Diseño de experimentos

Se llevó a cabo un diseño de experimentos para la determinación de las condiciones de producción de los extractos orgánicos fúngicos de *Aspergillus niger* utilizando el software Design-Expert v11. Se incluyeron tres factores con un nivel alto y uno bajo por triplicado; 1) Estado de la biomasa (seca, húmeda), 2) Solvente (agua, metanol) y 3) Tiempo (24 h, 72 h). Se evaluaron cuatro respuestas involucradas en la síntesis y recubrimiento de las NP de CdS, así como en la detección de iones metálicos en solución; 1) NADH, 2) FRAP (Poder Reductor Antioxidante Férrico), 3) Proteínas y 4) SH (grupo sulfhidrilo). Se seleccionaron las condiciones de las variables que permitieran maximizar la concentración de los grupos sulfhidrilo y el cofactor enzimático NADH, así como minimizar la concentración de proteínas.

#### 7.1.2 Obtención y adaptación del hongo

El hongo *Aspergillus niger* se obtuvo del Laboratorio de Biotecnología Ambiental del Centro de Investigación en Ciencia Aplicada y Tecnología Avanzada (CICATA), Unidad Querétaro del Instituto Politécnico Nacional, Querétaro, México. La cepa bajo criopreservación fue descongelada de manera gradual y posteriormente, 100 µL de la conserva fue inoculada en placas de Petri con Agar Papa Dextrosa (PDA); los cultivos se incubaron durante 4 días a 30°C. Se realizaron tres pases consecutivos en placas con PDA, bajo las mismas condiciones de incubación; la pureza y ausencia de contaminación de los cultivos se observó en un microscopio a 40X a partir de una tinción en fresco con KOH al 5% de (Priyanka et al., 2016).

#### 7.1.3 Producción de la biomasa fúngica

Se obtuvo un preinóculo de *A. niger*, el cual consistió en obtener discos de micelio de 10 mm de diámetro después de incubar el hongo a 30°C durante 15 días en una placa

de Petri con Agar Dextrosa Sabouraud. La obtención de la biomasa fúngica se obtuvo al inocular un disco de micelio de 10 mm de *A. niger* en matraces de 1 L con 250 mL de medio MGYP incubado a 30°C y 150 rpm durante 4 días (g/L): extracto de malta, 6; glucosa, 10; extracto de levadura, 3; peptona de gelatina, 5 (Sandoval-Cárdenas et al., 2017b). Se produjo biomasa húmeda y biomasa seca como material para los extractos orgánicos; la biomasa húmeda se recuperó por filtración al vacío después de 4 días de incubación a 30°C y 150 rpm y se lavó tres veces con 50 mL de agua destilada estéril, mientras que la biomasa seca se obtuvo después de poner la biomasa húmeda a 55°C por 24 h (Basavaraja et al., 2008; Durán et al., 2005).

#### 7.1.4 Producción de extractos orgánicos fúngicos

La biomasa húmeda y seca al 6% (1.5 g) por separado se colocó en un matraz de 125 mL con 25 mL de agua destilada estéril y se incubó por 24 y 72 h a 30°C y 150 rpm (Shaligram et al., 2009). El sobrenadante se filtró al vacío con papel filtro de poro fino y se almacenó bajo oscuridad a -20°C hasta su posterior uso. El procedimiento anterior se repitió al reemplazar como solvente, el agua por el metanol concentrado para la extracción de biomoléculas (Durán et al., 2005; Shaligram et al., 2009)

#### 7.1.5 Determinación del cofactor enzimático NADH

El cofactor enzimático NADH y su forma oxidada (NAD<sup>+</sup>) se identificaron y analizaron por espectrofotometría de absorción UV-Vis en el equipo Genesys 10S, Thermo Scientific mediante un barrido de 200 a 800 nm con velocidad media e intervalo de 1 nm, así como con mediciones puntuales a 340 y 260 nm, respectivamente (Giancaspero et al., 2013; Simonian, 2002). La cuantificación del NADH a 340 nm se realizó a partir de la ecuación de la recta de una curva de calibración de 0 a 0.2 mM de NADH (Cat. No. N8129, Sigma-Aldrich) disuelto en buffer Tris-base, 0.01M pH 9.5. Los extractos orgánicos diluidos 1:5 en agua destilada estéril se incubaron durante 10 min con 500 µL del buffer Tris-base en una relación 1:1 y se analizaron a 340 nm. El blanco que se utilizó para el análisis de espectrofotometría fue agua destilada.

#### 7.1.6 Determinación del poder reductor antioxidante férrico (FRAP)

El poder reductor total de los extractos orgánicos fúngicos se determinó con base en la técnica FRAP reportada por Vijayalakshmi y Ruckmani (2016), mediante la ecuación de la recta de una curva de calibración de 0.002 a 2 mM/L de FRAP; concentraciones equivalentes 0.001 a 1 mM/L de ácido ascórbico. Para ello, se colocó 1 mL de los extractos orgánicos concentrados o diluidos en un tubo cónico de 15 mL y se le agregó 2.5 mL de buffer de fosfatos 0.2 M, pH 6.6 (g/L): 8; cloruro de sodio, 0.2; cloruro de potasio, 1.44; fosfato de sodio dibásico, 0.24; fosfato de potasio monobásico. En seguida, se añadieron 2.5 mL de ferricianuro de potasio al 1%, se resuspendió la mezcla en vortex y se incubó a 50°C por 20 min en baño maría. Posteriormente, a la mezcla se agregó 2.5 mL de ácido tricloroacético (TCA) al 10% y se centrifugó a 3,000 rpm durante 10 min. Finalmente se tomaron 2.5 mL del sobrenadante, se añadieron 2.5 mL de agua destilada, 0.5 mL de cloruro férrico al 0.1%, se mezcló, dejó incubar por 10 min a temperatura ambiente y se determinó la absorbancia de las muestras a 700 nm (Vijayalakshmi y Ruckmani, 2016). Se utilizó agua destilada como blanco para el análisis de espectrofotometría

#### 7.1.7 Determinación de la concentración de proteínas

La cuantificación de proteínas solubles de los extractos orgánicos acuoso y metanólico fue mediante el microensayo Bradford de Bio-Rad mediante la ecuación de la recta de una curva de calibración de Albumina Sérica Bovina (BSA) (CAS No. 9048-46-8) de 0.001 mg/mL a 0.03 mg/mL en agua y en metanol al 10%, a partir de una solución stock de 1.37 mg/mL. La cuantificación de proteínas se determinó después de 5 minutos de incubación de 800 µl de la muestra con 200 µl del reactivo Bradford (Cat No. 5000006) a temperatura ambiente en un espectrofotómetro a 595 nm. Los extractos acuosos y metanólicos se diluyeron en una relación 1:10 en agua destilada y como blanco se utilizó agua o metanol al 10% sin el reactivo Bradford.

#### 7.1.8 Determinación de la concentración de grupos sulfhidrilo (SH)

La identificación de los grupos funcionales (-SH) se realizó mediante el método propuesto por Beveridge y colaboradores (1974). Para ello, a 500 µL de los extractos orgánicos se agregó 500 µL de buffer Tris-glicina 0.1M, pH 8.0 con 0.01M de EDTA (g/L): 10.4; tris-base, 6.9; glicina, 1.2; EDTA sin sodio. Enseguida se adicionaron 25 µL

del reactivo Ellman; DTNB (Cat No. D8130, Sigma-Aldrich) 6 mg/1.5 mL de buffer Tris-glicina y se dejó incubar por 30 min bajo oscuridad. Las muestras se analizaron a 412 nm y la concentración de los grupos sulfhidrilo se calculó en  $\mu\text{M/L}$  de (-SH) a partir del valor de absorción de luz, la ley de Lamber-Beer, el coeficiente de absortividad molar del producto formado TNB (ácido 2-nitro-5-tiobenzoico) y la descripción No. 22582, Thermo Scientific para la determinación de los grupos sulfhidrilo (Beveridge et al., 1974).

#### 7.1.9 Perfil proteico de los extractos fúngicos por electroforesis en gel de poliacrilamida desnaturalizante (SDS-PAGE)

El perfil proteico de los extractos acuoso y metanólico se realizó mediante una electroforesis en gel de poliacrilamida con dodecilsulfato sódico (SDS-PAGE) de acuerdo con las especificaciones reportadas en el boletín No. 10007296 de Bio-Rad para la electroforesis SDS-PAGE (Laemmli, 1970). En un gel de poliacrilamida al 15% se colocaron las muestras del extracto orgánico con buffer de carga 4X a una concentración final de 1  $\mu\text{g}/20 \mu\text{L}$ , así como 10  $\mu\text{l}$  de marcador de peso de 10 – 250 kDa (Cat. No. 161-0373). El gel se corrió en una cámara de electroforesis Mini-PROTEAN® Tetra System, Bio-Rad con buffer de corrida 1X a 200V durante 45 min y se tiñó con plata, con base en el protocolo Silver Satin Plus, Bio Rad (Cat. No. 161-0449). El peso molecular se determinó con una curva de calibración que se construyó al colocar el logaritmo del peso molecular de cada banda en el eje Y, contra la movilidad electroforética o relativa ( $R_f$ ) de cada banda en el eje X. Se determinó la ecuación de la recta y se sustituyó el valor de la movilidad electroforética ( $R_f$ ) de cada banda obtenida en los geles de electroforesis para estimar el peso molecular. La distancia migrada por las proteínas o bandas del gel, así como la distancia migrada por el frente (zona donde quedó el colorante del buffer de carga después de la corrida) se obtuvo con el programa Image J®.

$$R_f = \frac{\text{Distancia migrada por la proteína}}{\text{Distancia migrada por el frente}}$$

## **7.2 Síntesis de CdS-NPs mediante el extracto orgánico de la biomasa de *Aspergillus niger***

### 7.2.1 Síntesis de CdS-NPs

La síntesis de CdS-NPs se realizó al incubar por triplicado 6 mL del extracto orgánico seleccionado de *Aspergillus niger* con 30 mL de  $\text{Cd}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$  2 mM y 30 mL de  $\text{Na}_2\text{SO}_3$  0.3 M en un matraz de 250 mL a 30°C y 150 rpm durante 72 horas (CdS-NPs de  $\text{Na}_2\text{SO}_3$ ) (Sandoval-Cárdenas et al., 2017b). La reacción de síntesis de las nanopartículas también se llevó a cabo utilizando 60 mL de  $\text{Cd}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$  1 mM y  $\text{S}^\circ$  0.15 M (CdS-NPs de  $\text{S}^\circ$ ). Para el control biológico negativo se utilizaron 6 mL del extracto con 60 mL de agua destilada, mientras que para el control inorgánico se utilizó el  $\text{Cd}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$  con el  $\text{Na}_2\text{SO}_3$  (inorgánico-  $\text{Na}_2\text{SO}_3$ ) o con el  $\text{S}^\circ$  (inorgánico- $\text{S}^\circ$ ) a la misma concentración y volumen. En un tubo cónico de 50 mL se recuperó el volumen final por filtración al vacío con papel filtro estéril grado 608 y posteriormente con filtros para jeringa con membrana de nylon de 0.45  $\mu\text{m}$  (Khan et al., 2011; Sandoval-Cárdenas et al., 2017b).

## **7.3 Caracterización fisicoquímica de las CdS-NPs biogénicas mediante métodos espectroscópicos, microscópicos, potencial zeta y electroforesis SDS-PAGE**

### 7.3.1 Caracterización espectroscópica y de potencial eléctrico de las CdS-NPs

La caracterización óptica para la determinación de la resonancia de plasmón superficial de las CdS-NPs por espectroscopía de absorción y fluorescencia, se realizó en un espectrofotómetro UV-vis Genesys 10S, Thermo Scientific mediante un barrido de 200 a 500 nm, mientras que el análisis de fluorescencia se llevó a cabo con una excitación ( $\lambda$ ) a 365 nm mediante un barrido de 400 a 700 nm en un espectrofotómetro F96Pro, Luzeren con lecturas cada 1 nm, apertura del slit de excitación y de emisión de 10.0 nm y fotomultiplicación (PMT) de 5. Por otro lado, el cálculo de la energía de banda prohibida o “Band Gap” se realizó con el método gráfico “Tauc” a partir del espectro de

absorción UV-Vis de las CdS-NPs. El análisis de la dispersidad de las nanopartículas se realizó en un Zetasizer Ver. 7.11, Malvern Instruments Ltd, mediante potencial Z para la determinación del potencial eléctrico de la superficie de las CdS-NPs y la identificación del pH de mayor estabilidad coloidal; para ello, las CdS-NPs se ajustaron a pH de 4 y 8 con NaOH y HCl 0.1 M (Priyanka et al., 2016; Uddandarao y Balakrishnan, 2017).

### 7.3.2 Caracterización microscópica de las CdS-NPs

Sobre una caja de Petri con papel filtro y con la ayuda de pinzas ultrafinas (Cat. No. 72864-D), se colocó una rejilla de cobre (Cu) con película de carbón Holey ultrafino, Agar Scientific (Cat. No. AGS147-3H). Se adicionó una microgota de la reacción de síntesis de las CdS-NPs sobre la rejilla y se llevó a un desecador a temperatura ambiente y vacío durante 3 días para eliminar la humedad. El tamaño y la estructura de las nanopartículas se calculó y determinó con el programa Image J<sup>®</sup> a partir de las micrografías obtenidas por microscopía electrónica de transmisión (TEM) en un microscopio JEOL, JEM-1010. La estimación de la concentración de las CdS-NPs se realizó mediante la ecuación de la ley de Lambert Bear, a partir del valor de la absorbancia del nanomaterial y del coeficiente de extinción de las nanopartículas. Este último se determinó mediante la ecuación propuesta por Yu y colaboradores (2003), al sustituir el diámetro del nanomaterial obtenido de la caracterización y análisis de las micrografías, en la fórmula  $\epsilon = 21536(D)^{2.3}$

La estructura y composición de las nanopartículas se analizó por microscopía electrónica de transmisión de alta resolución (HRTEM) y espectroscopía de difracción de rayos X por energía dispersiva (EDX) en un microscopio JEOL, JEM-ARM200F. Las micrografías que se obtuvieron por HRTEM se analizaron con el programa Image J<sup>®</sup> y Digital Micrograph<sup>®</sup> para calcular el patrón de difracción y las distancias interplanares de las NP cristalinas.

### 7.3.3 Electroforesis SDS-PAGE de las CdS-NPs

La caracterización del recubrimiento de las CdS-NPs se realizó mediante una electroforesis SDS-PAGE en condiciones desnaturalizantes. Las proteínas de la cubierta de las nanopartículas fueron extraídas al tratar la muestra que contenía las CdS-NPs con SDS al 1% a 100°C durante 10 min y centrifugar a 8000 rpm durante 10

minutos. El sobrenadante se utilizó en gel SDS-PAGE como fue reportado para la caracterización de los extractos orgánicos y como control se utilizaron las CdS-NPs que no fueron tratadas con SDS (Chowdhury et al., 2014).

#### **7.4 Evaluación del método espectrofotométrico para la detección de iones metálicos en muestras sintéticas de agua mediante CdS-NPs biogénicas.**

La detección espectrofotométrica de metales (Co, Hg, Pb, Zn, Cu, Ni, As,  $Mn^{+2}$ ,  $Fe^{+3}$  y  $Cr^{+6}$ ) se realizó a partir de la preparación de muestras sintéticas de agua con sales metálicas de cloruros ( $CoCl_2$ ,  $ZnCl_2$ ,  $CuCl_2$ ,  $NiCl_2$ ,  $MnCl_2$  y  $FeCl_3$ ), óxidos metálicos ( $HgO$  y  $As_2O_3$ ), acetato de plomo ( $Pb[CH_3COO]_2$ ) y dicromato de potasio ( $K_2Cr_2O_7$ ), los cuales se pusieron en contacto con 1 mL de la solución de CdS-NPs concentradas, al agregar 1 mL de la solución de cada metal a una concentración de 100  $\mu g/mL$  (Uddandarao y Balakrishnan, 2017). Las pruebas se realizaron con las CdS-NPs a pH de 4 y 8, identificando el cambio en la coloración de las soluciones y el espectro de absorción UV-Vis y fluorescencia. El control biológico de *Aspergillus niger*, además de los controles inorgánicos de  $S^{\circ}$  y  $Na_2SO_3$  también se pusieron en contacto con cada uno de los metales bajo las mismas condiciones, tanto a pH de 4 como de 8. Lo anterior con motivo de descartar algún tipo de interferencia que pudiera surgir entre el extracto fúngico y los precursores de las CdS-NPs con los metales seleccionados para la evaluación del método espectrofotométrico.

La determinación del límite de detección de los metales que fueron detectados con las CdS-NPs se llevó a cabo con 1 mL de la solución de las CdS-NPs y 1 mL de cada uno de los metales detectados a 50, 100, 300 y 500  $\mu g/mL$ . Los resultados se analizaron de manera visual y mediante espectrofotometría de absorción y fluorescencia con un barrido espectral de 200 a 800 nm y de 400 a 700 nm, respectivamente (Uddandarao y Balakrishnan, 2017).

## 8 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 8.1 Selección del extracto acuoso y metanólico para la síntesis y el recubrimiento de CdS-NPs mediante espectrofotometría y electroforesis SDS-PAGE

#### 8.1.1 Diseño experimental

El diseño de experimentos que se obtuvo para la selección de los extractos orgánicos de *Aspergillus niger* fue un diseño factorial  $2^3$  con 24 corridas, donde la variable A corresponde al estado de la biomasa (seca, húmeda), la B al solvente (agua, metanol) y la C al tiempo de incubación (24 h, 72 h). Cada combinación posible se realizó por triplicado como se muestra en la Tabla 3.

**Tabla 3.** Diseño factorial  $2^3$  con tres replicas para la producción de los extractos orgánicos de *Aspergillus niger*

Corrida	Estado de la biomasa	Solvente	Tiempo de incubación (h)	Corrida	Estado de la biomasa	Solvente	Tiempo de incubación (h)
1	Seca	Metanol	72	13	Húmeda	Agua	72
2	Húmeda	Agua	24	14	Seca	Metanol	24
3	Seca	Agua	72	15	Húmeda	Metanol	24
4	Seca	Metanol	72	16	Húmeda	Metanol	72
5	Seca	Metanol	24	17	Húmeda	Agua	24
6	Húmeda	Metanol	24	18	Seca	Agua	24
7	Seca	Agua	24	19	Seca	Metanol	24
8	Húmeda	Metanol	72	20	Seca	Agua	72
9	Húmeda	Agua	72	21	Húmeda	Agua	72
10	Húmeda	Metanol	24	22	Seca	Metanol	72
11	Seca	Agua	72	23	Húmeda	Agua	24
12	Seca	Agua	24	24	Húmeda	Metanol	72

A partir del diseño experimental y como variables de respuesta se determinaron los valores de la concentración de algunas de las biomoléculas que han sido reportadas por tener mayor influencia en la síntesis y recubrimiento de las CdS-NPs, así como en la detección de los iones metálicos. Los factores que fueron considerados dentro del diseño experimental fueron el cofactor enzimático NADH, el poder reductor antioxidante férrico (FRAP), la concentración de proteínas y la concentración de grupos sulfhidrilo

(SH), lo que resultó en un diseño experimental 2<sup>3</sup> con cuatro respuestas para el análisis de las condiciones de producción del extracto orgánico de *Aspergillus niger* (Anexo A1).

#### 8.1.2 Concentración de biomoléculas en el extracto orgánico de *Aspergillus niger*

Los resultados del análisis de varianza (ANOVA) para la comparación de medias de los extractos orgánicos de *Aspergillus niger* respecto a la concentración FRAP y proteínas, mostraron que el estado de la biomasa resulta ser el factor significativo que más influye en la concentración FRAP y proteínas (Tabla 4 y Tabla 5). Así mismo, el tipo de solvente en la obtención de los extractos orgánicos de *A. niger*, es un factor que influye en gran medida, sobre todo en la concentración de los grupos SH, donde su contribución es superior al 50%, así como también en la concentración de NADH y proteínas, donde contribuye con un 23.7 y 15.4%, respectivamente (Tabla 4). La razón que explica lo anterior se atribuye a que los hongos del género *Aspergillus* son considerados excelentes productores de ácidos orgánicos, alcaloides, precursores de micotoxinas y policétidos cíclicos, los cuales presentan propiedades liposolubles y por lo tanto, mayor solubilidad con solventes orgánicos como el metanol (Carvalho et al., 2019). Por otro lado, la mayor contribución del estado de la biomasa, sobre las variables de respuesta, se debe a que la biomasa húmeda e íntegra puede dificultar la penetración del solvente a las células, así como la expulsión de las moléculas orgánicas, además de que el solvente sufre un efecto de dilución por el hecho de utilizar biomasa hidratada (Valu et al., 2020) Por otra parte, la biomasa seca por acción de la ruptura celular al haber sido macerada y deshidratada, deja biodisponibles los componentes orgánicos a los solventes, lo que permite una liberación más eficiente de las diversas moléculas presentes dentro y fuera de las células. Lo anterior ha sido confirmado por diversos autores que utilizan métodos de extracción de moléculas orgánicas a partir de la biomasa de hongos y plantas, los cuales involucran la ruptura celular por microondas, ultrasonido, congelación, liofilización y maceración, donde éste último método es uno de los que ha mostrado ser altamente eficiente (Cetin et al., 2021; Jernejc, 2004; Zekri et al., 2021).

El tiempo de incubación no fue significativo en las variables de respuesta, excepto en la concentración de FRAP. De igual manera, las interacciones entre el estado de la

biomasa (A), solvente (B) y tiempo de incubación (C) no resultaron significativos en los modelos descriptivos de las variables de respuesta, a excepción de la variable FRAP, donde la interacción BC y la interacción ABC resultaron significativas (Tabla 4). Lo anterior se atribuye al uso de la biomasa macerada, pues al romper las células se liberan los componentes orgánicos y el solvente penetra las células de manera más eficiente. Por lo tanto, en un menor tiempo de incubación se extraen grandes cantidades de moléculas orgánicas y con ello, resulta un bajo porcentaje de contribución del factor tiempo sobre las variables de respuesta (Jernejc, 2004).

**Tabla 4.** Porcentaje de contribución de los factores y sus interacciones sobre las variables de respuesta NADH, FRAP, PROTEÍNAS y -SH evaluadas en los extractos orgánicos de *Aspergillus niger*.

Factores	Contribución al modelo estadístico (%)			
	NADH	FRAP	PROTEÍNAS	-SH
<b>Biomasa (A)</b>	37.8**	74.1**	58.3**	2.6
<b>Solvente (B)</b>	23.7**	7.7**	15.4**	51.3**
<b>Tiempo (C)</b>	3.5	1.8*	0.04	9
<b>AB</b>	3.4	0.3	1.8	1.3
<b>AC</b>	0.5	0.003	1	0.1
<b>BC</b>	0.6	7.2**	3.8	0.04
<b>ABC</b>	1.1	2.3*	1.1	0.01
<b>Error</b>	29	6.2	18.2	35.4

AB; AC, BC y ABC: Interacción entre los factores Biomasa (A), Solvente (B) y Tiempo (C)

\* Estadísticamente significativo con intervalo de confianza del 95%

\*\* Estadísticamente significativo con intervalo de confianza del 99%

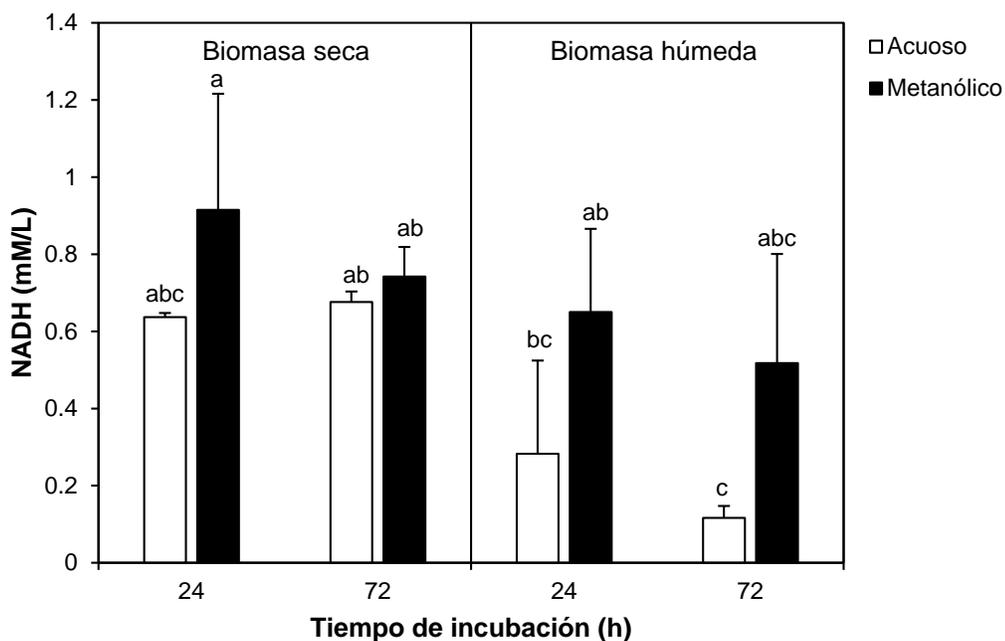
**Tabla 5.** Promedio y desviación estándar de las variables de respuesta (NADH, FRAP, Proteínas y -SH) de los extractos orgánicos de *Aspergillus niger*

Extractos orgánicos			NADH (mM/L)	FRAP (mM/L)	Proteínas (mg/ml)	-SH (μM/L)
Seca	Metanol	24h	0.92 ± 0.30 <sup>a</sup>	3.22 ± 0.99 <sup>b</sup>	0.21 ± 0.01 <sup>bc</sup>	181.31 ± 59.10 <sup>a</sup>
Húmeda	Metanol	24h	0.65 ± 0.21 <sup>ab</sup>	0.92 ± 0.05 <sup>d</sup>	0.30 ± 0.01 <sup>ab</sup>	181.52 ± 44.79 <sup>a</sup>
Seca	Agua	24h	0.64 ± 0.01 <sup>abc</sup>	3.01 ± 0.16 <sup>b</sup>	0.14 ± 0.008 <sup>c</sup>	121.75 ± 0.47 <sup>ab</sup>
Húmeda	Agua	24h	0.28 ± 0.24 <sup>bc</sup>	1.17 ± 0.06 <sup>d</sup>	0.31 ± 0.10 <sup>ab</sup>	96 ± 49.95 <sup>ab</sup>
Seca	Metanol	72h	0.74 ± 0.07 <sup>ab</sup>	2.54 ± 0.03 <sup>bc</sup>	0.24 ± 0.01 <sup>abc</sup>	157.56 ± 13.03 <sup>ab</sup>
Húmeda	Metanol	72h	0.52 ± 0.28 <sup>abc</sup>	0.96 ± 0.17 <sup>d</sup>	0.33 ± 0.01 <sup>a</sup>	147.02 ± 52.13 <sup>ab</sup>
Seca	Agua	72h	0.68 ± 0.02 <sup>ab</sup>	4.38 ± 0.07 <sup>a</sup>	0.14 ± 0.01 <sup>c</sup>	91.57 ± 4.33 <sup>ab</sup>
Húmeda	Agua	72h	0.12 ± 0.03 <sup>c</sup>	1.76 ± 0.18 <sup>cd</sup>	0.25 ± 0.01 <sup>c</sup>	59.36 ± 25.19 <sup>b</sup>

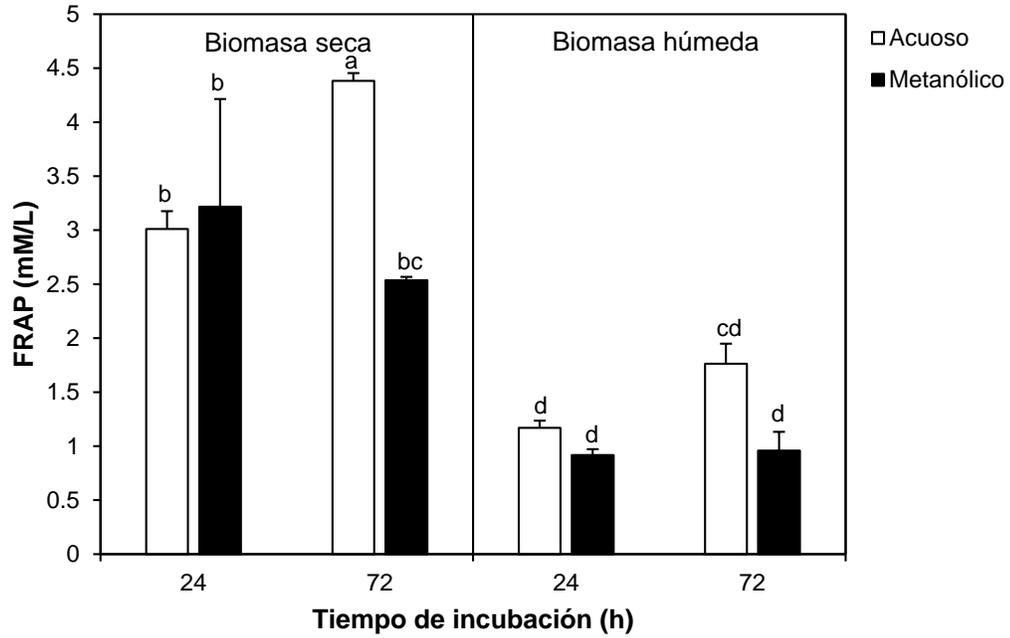
a, b, c: análisis estadístico de Tukey con intervalo de confianza del 95% para la comparación de medias. Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes

Las condiciones para la obtención de los valores máximos de NADH y SH en los extractos de *A. niger* fue cuando se utilizó biomasa seca, metanol y 24 h de incubación (Figura 1 y 4), pues se obtuvo 0.92 ± 0.30 mM/L de NADH y 181.31 ± 59.1 μM/L de SH, mientras que para obtener la concentración máxima de FRAP de 4.38 ± 0.07 mM/L, se ocupó biomasa seca, agua y 72 h (Figura 2). Por otro lado, para obtener la máxima concentración de proteínas de 0.33 ± 0.01 mg/mL se requirió de biomasa húmeda, metanol y 72 h de incubación, mientras que para obtener mínimas concentraciones de proteínas se requieren las mismas condiciones en las que se obtienen los valores más altos de NADH y SH, es decir, biomasa seca, agua o metanol y 24 h de incubación (Figura 3). El tiempo de incubación al no ser significativo en las variables de respuesta que son de mayor interés (NADH, SH y proteínas) fue descartado, con el motivo de reducir el tiempo de obtención de los extractos. Lo anterior es semejante a lo reportado en la síntesis de nanopartículas de plata, pues se han obtenido concentraciones de 0.1 – 1 mM/L de NADH y NADPH, donde la concentración más empleada ronda los 0.5 mM/L (Hietzschold et al., 2019; Kumar et al., 2007; Talekar et al., 2016). Por otra parte, el poder reductor reportado en la síntesis de nanopartículas es a base de extractos de plantas y abarca un amplio rango, pues puede ir desde 1 mM

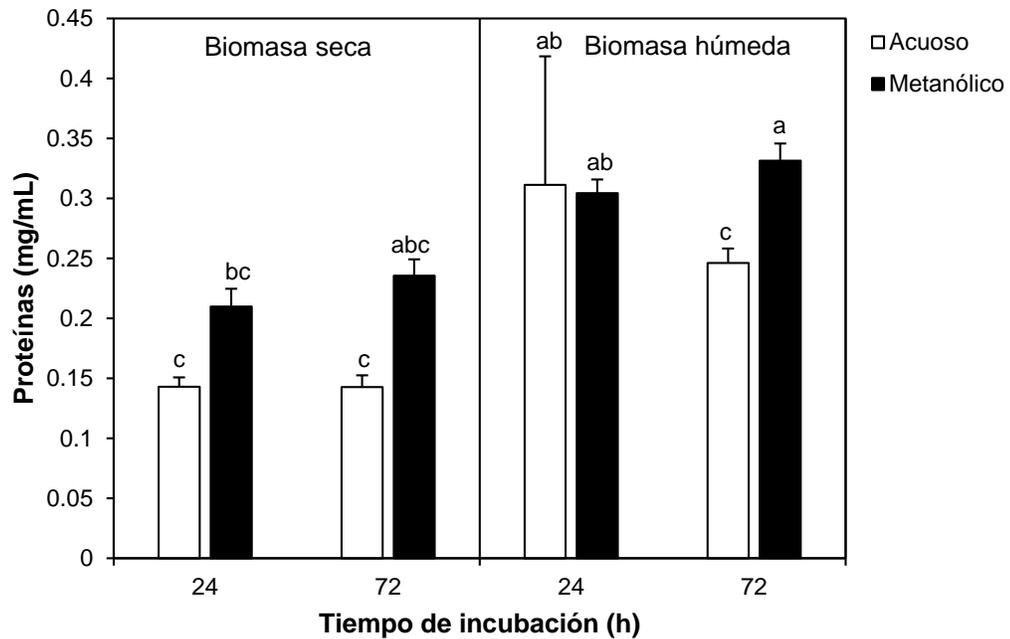
- 1 M de FRAP (Mahendran y Ranjitha Kumari, 2016; Phongtongpasuk et al., 2016; Salari et al., 2018), mientras que las biomoléculas como péptidos, cisteína, homocisteína, tioglicerol y tioacetamida utilizadas en el recubrimiento de nanopartículas sintetizadas por métodos fisicoquímicos para la detección de iones metálicos, reportan un rango de 100 – 500  $\mu\text{M/L}$  (Abolhasani et al., 2014; Chen et al., 2008, 2006; Chen y Rosenzweig, 2002; Gallagher et al., 2010; Jiao et al., 2014; Koneswaran y Narayanaswamy, 2009; Naik et al., 2002; Wei et al., 2012). Por ello, en este estudio las mejores condiciones para maximizar la concentración de NADH y SH, así como disminuir la concentración de proteínas son utilizar biomasa seca, metanol y 24 h de incubación, lo que corresponde a  $0.92 \pm 0.30 \text{ mM/L}$  de NADH,  $3.22 \pm 0.99 \text{ mM/L}$  de FRAP,  $0.21 \pm 0.01 \text{ mg/mL}$  de proteínas y  $181.31 \pm 59.10 \mu\text{M/L}$  de SH (Anexo B1).



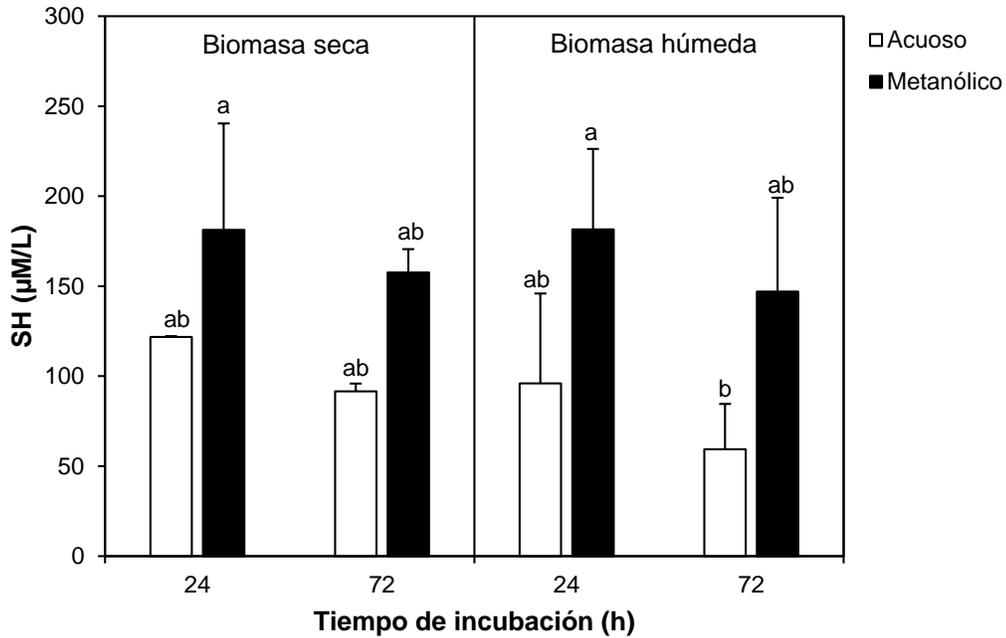
**Figura 1.** Concentración de NADH de los extractos orgánicos de *Aspergillus niger*.



**Figura 2.** Concentración del poder reductor antioxidante férrico (FRAP) de los extractos orgánicos de *Aspergillus niger*.



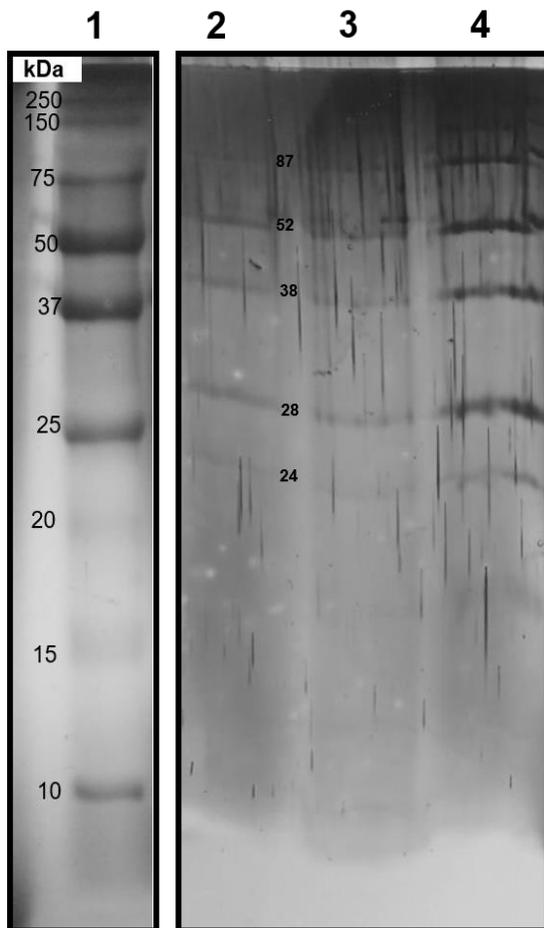
**Figura 3.** Concentración de proteínas de los extractos orgánicos de *Aspergillus niger*.



**Figura 4.** Concentración de grupos sulfhidriilo (SH) de los extractos orgánicos de *Aspergillus niger*.

### 8.1.3 Identificación parcial de las proteínas presentes en el extracto orgánico de *Aspergillus niger* por SDS-PAGE

El perfil proteico del extracto metanólico de *Aspergillus niger* que se utilizó para llevar a cabo la síntesis de las CdS-NPs mostró claramente la presencia de diversas proteínas, pues se encontraron 5 bandas en el gel teñido con plata (Figura 5). Las bandas presentaron pesos moleculares correspondientes a 87, 52, 38, 28 y 24 kDa en el extracto metanólico de *Aspergillus niger*.



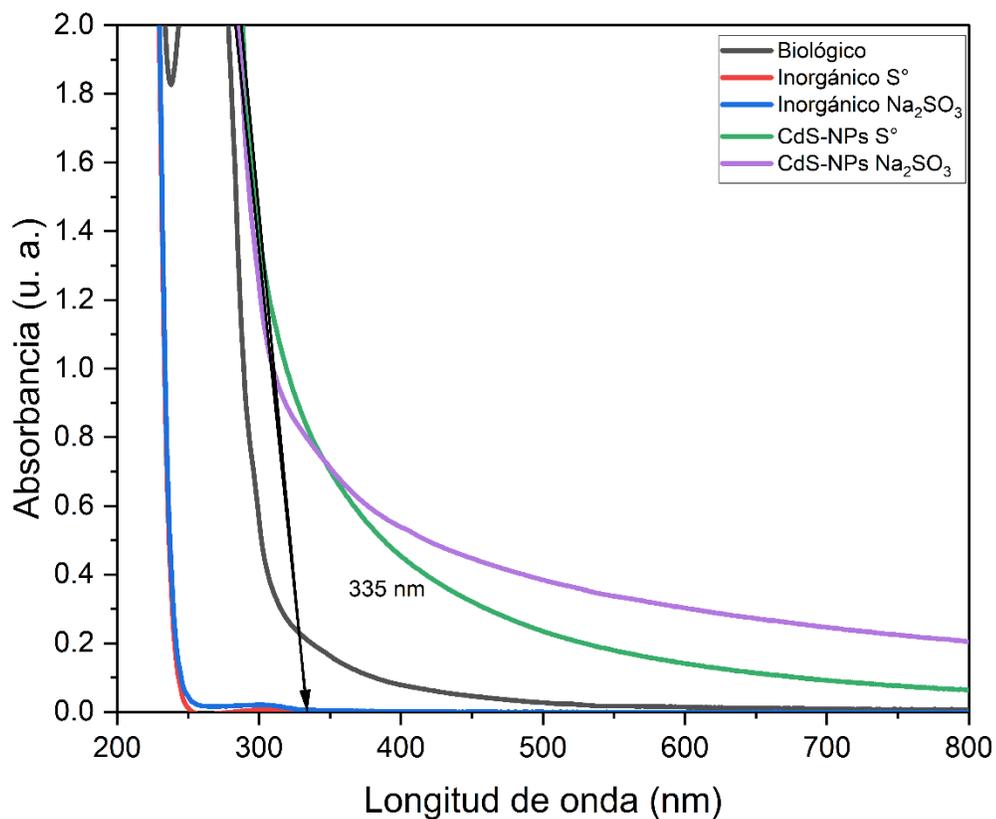
**Figura 5.** Perfil proteico del extracto metanólico de *Aspergillus niger*. Carril 1; marcador de peso molecular, carril 2 – 4; triplicado del extracto fúngico a 1 µg/20 µL.

## 8.2 Síntesis y caracterización fisicoquímica de las CdS-NPs biogénicas mediante métodos espectroscópicos, microscópicos, potencial zeta y electroforesis SDS-PAGE

### 8.2.1 Caracterización espectroscópica de las CdS-NPs biogénicas

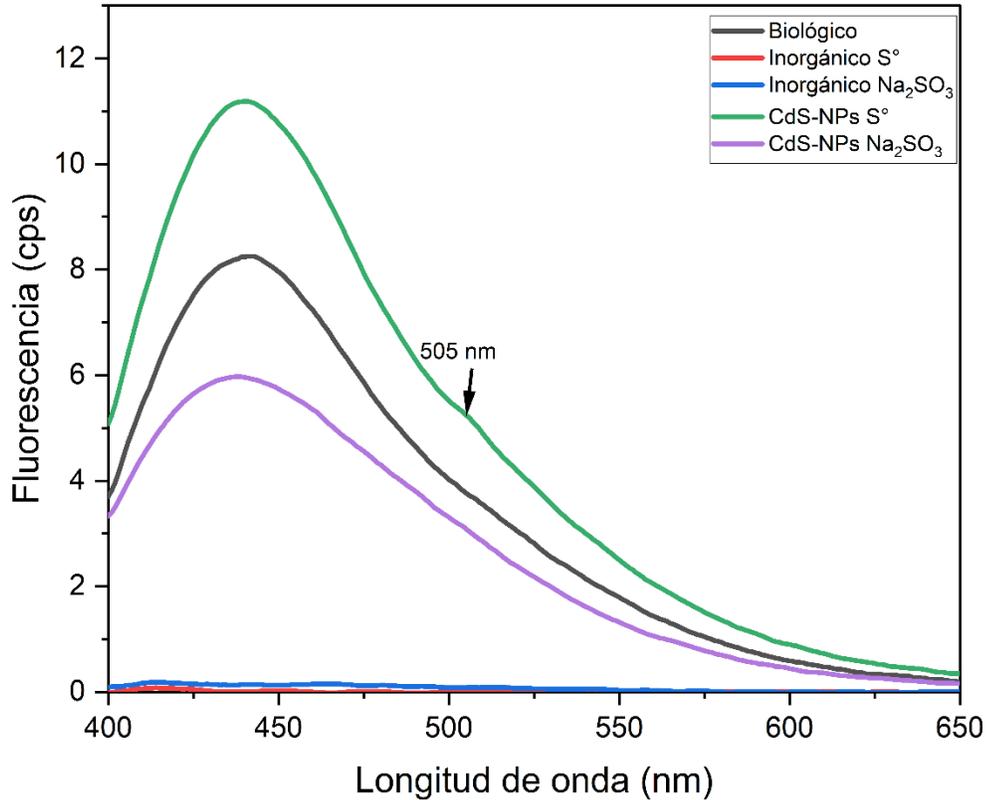
El análisis espectroscópico para la caracterización de las CdS-NPs sintetizadas a partir del extracto metanólico de *Aspergillus niger*, confirmó que el  $\text{Cd}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$  utilizado para llevar a cabo la síntesis de las nanopartículas, presenta una banda de absorción a 225 nm, correspondiente al grupo nitrato que conforma la sal (Kelly y Love, 2007), misma banda que se observa en el control inorgánico  $\text{Na}_2\text{SO}_3$  y el inorgánico  $\text{S}^\circ$  (Figura

10-11). Lo anterior indica que el  $\text{Na}_2\text{SO}_3$  y el  $\text{S}^\circ$  no presentan absorción y que no hay reacción abiótica entre ambos compuestos con el  $\text{Cd}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ . Por otro lado, el control biológico presentó bandas de absorción a 230 y 280 nm (Figura 10-11), correspondientes a biomoléculas presentes en el medio, como carbohidratos, compuestos polares y aminoácidos con grupos aromáticos como la tirosina y el triptófano, los cuales también se ven reflejados en el espectro de absorción de las CdS-NPs (Raynal et al., 2010; Taniguchi y Lindsey, 2018). Además, en la muestra correspondiente a la síntesis de CdS-NPs surgió un fenómeno de esparcimiento de la luz a partir de los 335 nm cuando la reacción se realizó con el extracto metanólico de *Aspergillus niger*,  $\text{Na}_2\text{SO}_3$  o  $\text{S}^\circ$  y  $\text{Cd}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$  (Figura 6), el cual se atribuye a la presencia de las CdS-NPs (Alsaggaf et al., 2020; Loa et al., 2021; Uddandarao y Mohan, 2016).



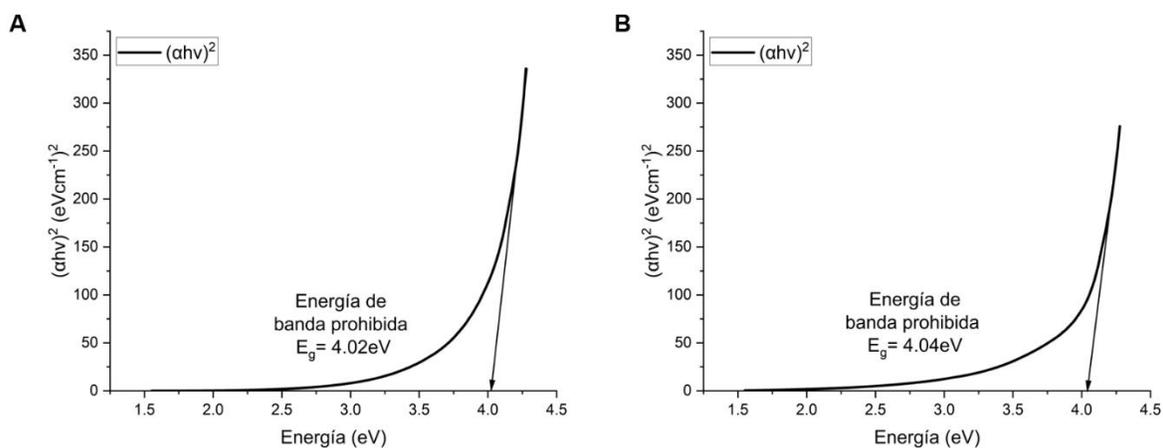
**Figura 6.** Espectro de absorción de luz de las CdS-NPs sintetizadas con el extracto metanólico de *Aspergillus niger*.

En el análisis de fluorescencia con una excitación a 365 nm, se observó una banda de fluorescencia alrededor de los 450 nm en el control biológico y en las CdS-NPs (Figura 7), correspondiente al NADH y los aminoácidos de las proteínas que se encuentran en el extracto fúngico (Giancaspero et al., 2013; Perucho et al., 2015). No obstante, en las CdS-NPs se presentó una banda de emisión de luz adicional a 505 nm cuando se utilizó el extracto con S<sup>o</sup> y Na<sub>2</sub>SO<sub>3</sub> como precursores de la reacción (Figura 7). Dicha banda se sugiere puede corresponder al pico de emisión excitónico de la recombinación de los electrones de la superficie de las CdS-NPs con otros componentes que recubren el nanomaterial, el cual se ha reportado de los 450 a los 520 nm (Gadalla et al., 2018; Khan, 2012; Kozhevnikova et al., 2015; Su et al., 2016).



**Figura 7.** Espectro de emisión de luz de las CdS-NPs sintetizadas con el extracto acuoso de *Aspergillus niger*.

La formación de nanopartículas o puntos cuánticos de CdS a partir del extracto fúngico de *Aspergillus niger* cuando se utilizó Na<sub>2</sub>SO<sub>3</sub> y S° se confirmó por el método gráfico Tauc, el cual permitió determinar la energía de banda prohibida o band gap del CdS (Bel Haj et al., 2018). En dicho análisis se encontró que las CdS-NPs sintetizadas con el extracto metanólico de *A. niger* presentaron valores de 4.04 y 4.02 eV (Figura 8), respectivamente. Dichos valores son superiores a la energía de banda prohibida que presenta el CdS a granel, el cual es de 2.42 eV, pues la energía de banda incrementa a medida que el tamaño del material disminuye, lo que resulta en una gran estabilidad química, eléctrica y óptica del CdS a escala nanométrica (Bhadwal et al., 2014; Kozhevnikova et al., 2015).

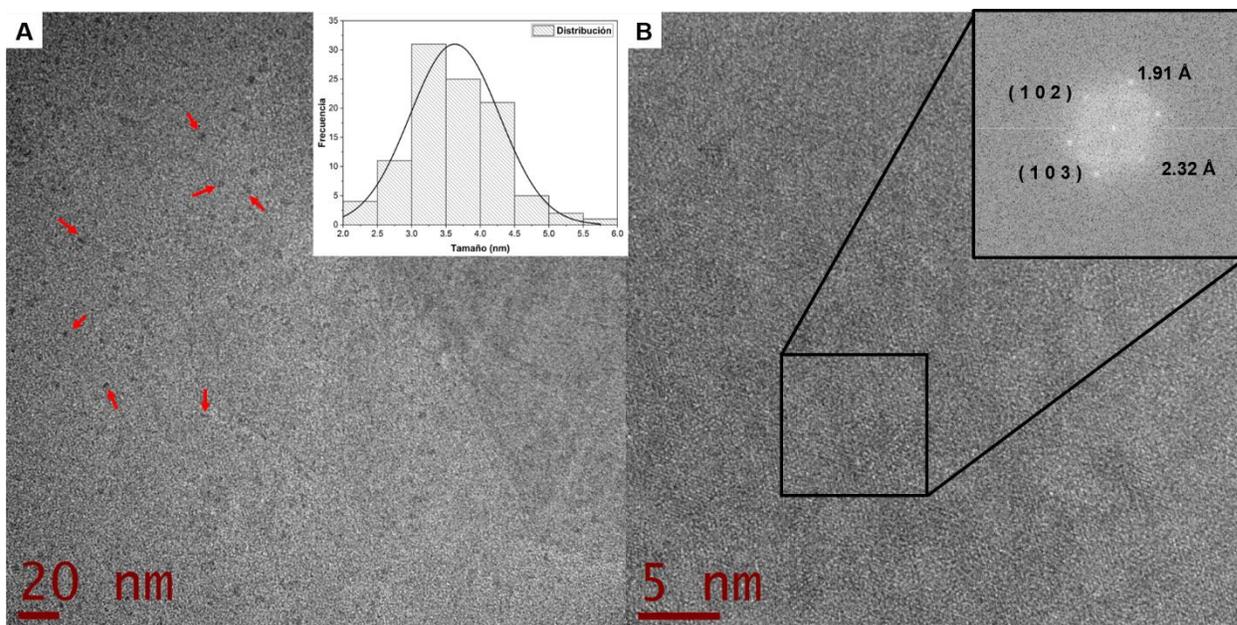


**Figura 8.** Energía de banda prohibida de las CdS-NPs de *Aspergillus niger* por el método gráfico Tauc. A; CdS-NPs sintetizadas a partir de  $\text{S}^\circ$ , B; CdS-NPs sintetizadas a partir de  $\text{Na}_2\text{SO}_3$ .

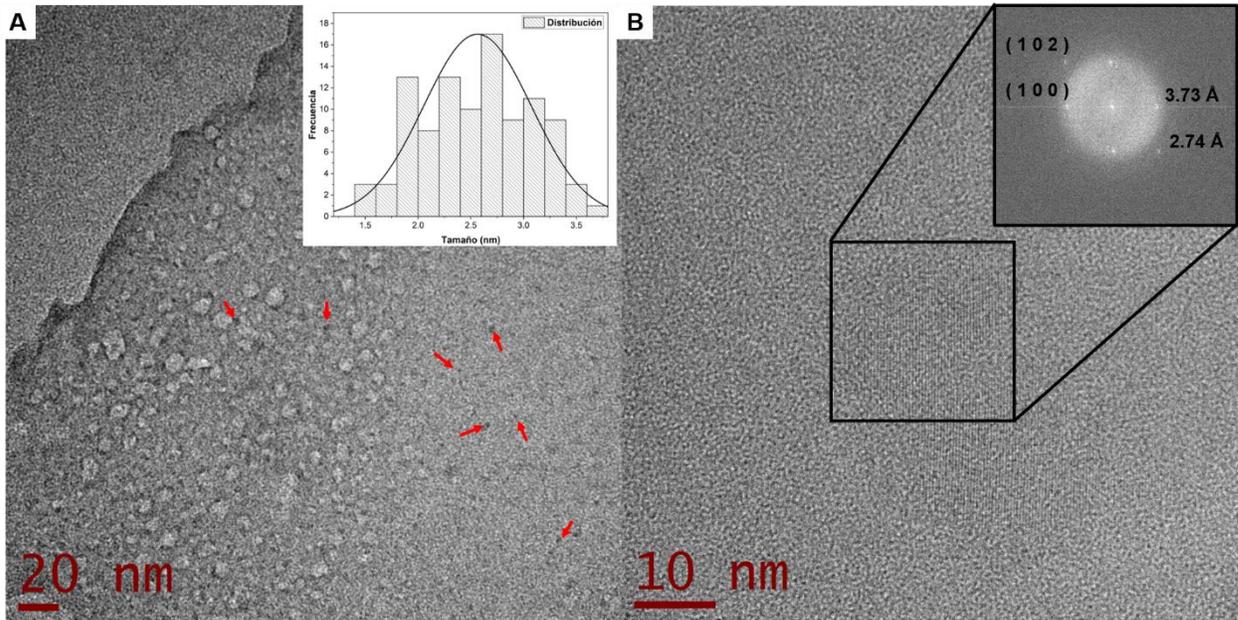
### 8.2.2 Caracterización microscópica de las CdS-NPs biogénicas

La caracterización de las muestras por microscopía electrónica de transmisión de alta resolución (HRTEM) confirmó la presencia de CdS-NPs triangulares sintetizadas con el extracto metanólico de *Aspergillus niger*, independientemente de la fuente de azufre utilizada como precursor inorgánico (Figura 9 – 10). Los resultados no mostraron cambios en el tamaño de las nanopartículas obtenidas mediante el extracto metanólico de *Aspergillus* al utilizar  $\text{S}^\circ$  o  $\text{Na}_2\text{SO}_3$  como precursores de la reacción, pues las primeras presentaron un tamaño promedio de  $3.62 \pm 0.65 \text{ nm}$  (Figura 9A), mientras que las CdS-NPs sintetizadas a partir  $\text{Na}_2\text{SO}_3$  presentaron un tamaño promedio de  $2.56 \pm 0.50 \text{ nm}$  (Figura 10A). Por otro lado, el análisis de las micrografías mediante el software ImageJ™ y DigitalMicrograph®, confirmó que las CdS-NPs sintetizadas a partir de  $\text{S}^\circ$  y  $\text{Na}_2\text{SO}_3$  tienen estructura cristalina hexagonal, debido a que fue posible identificar las columnas atómicas de las nanopartículas con una distancia interplanar de 2.32 y 1.91 Å, correspondientes a los índices de Miller (1 0 2) y (1 0 3) para las CdS-NPs obtenidas a partir de  $\text{S}^\circ$  (Figura 9B), mientras que las CdS-NPs sintetizadas a partir  $\text{Na}_2\text{SO}_3$ , presentaron una distancia interplanar de 2.74 y 3.73 Å, así como los índices de Miller de (1 0 2) y (1 0 0), respectivamente (Figura 10B).

La obtención de CdS-NPs más pequeñas al utilizar  $\text{Na}_2\text{SO}_3$  como precursor inorgánico en comparación con el uso de  $\text{S}^\circ$ , se atribuye a la eficiencia con la cual se lleva a cabo la reacción de reducción de los precursores de azufre, misma que está determinada por la naturaleza del compuesto (Mal et al., 2016), su estado de oxidación y la capacidad reductora del extracto fúngico (Linder, 2018). Lo anterior se debe a que las biomoléculas antioxidantes presentes en el extracto donan electrones al azufre, lo que reduce su estado de oxidación de +4 para el caso del  $\text{Na}_2\text{SO}_3$  o de 0 para el caso del  $\text{S}^\circ$  a un estado de oxidación de -2, esto permite que el  $\text{S}^{2-}$  interaccione con el  $\text{Cd}^{2+}$  para formar CdS y con ello, los núcleos de las nanopartículas, los cuales tendrán un tamaño proporcional al azufre reducido (Ahmad et al., 2002; Bhadwal et al., 2014; Sandoval-Cárdenas et al., 2017a, 2017b). Lo anterior se explica mediante el principio de Ostwald que describe cómo los cristales más grandes se forman a partir de la deposición de cristales de menor tamaño sobre su superficie (Kamble et al., 2020).



**Figura 9.** Microscopía electrónica de transmisión de alta resolución de las CdS-NPs sintetizadas con el extracto metanólico de *Aspergillus niger* a partir de  $\text{S}^\circ$ . A; CdS-NPs triangulares indicadas con flechas color rojo, B; distancia entre planos, patrón cristalográfico e índices de Miller de las CdS-NPs.



**Figura 10.** Microscopía electrónica de transmisión de alta resolución de las CdS-NPs sintetizadas con el extracto metanólico de *Aspergillus niger* a partir de  $\text{Na}_2\text{SO}_3$ . A; CdS-NPs triangulares indicadas con flechas color rojo, B; distancia entre planos, patrón cristalográfico e índices de Miller de las CdS-NPs.

El análisis de espectroscopía de difracción de rayos X de dispersión de energía (EDX) confirmó que las nanopartículas observadas en las micrografías por HRTEM, están conformadas por Cd y S, pues fue posible detectar dichos elementos en el campo analizado. Además, fue posible identificar otros elementos que estuvieron presentes durante la preparación de la muestra, tales como el Cu, Si, Na, C y O, los cuales corresponden al material del que están hechas las rejillas donde se depositó la muestra, el componente principal de los materiales de cristal donde se llevaron a cabo las reacciones (Si), el sodio del precursor inorgánico  $\text{Na}_2\text{SO}_3$  y los elementos prioritarios que componen el material orgánico presente en el extracto metanólico (C y O) (Figura 11).



**Figura 11.** Espectroscopía de difracción de rayos X por energía dispersiva de las CdS-NPs.

### 8.2.3 Determinación de la concentración de las CdS-NPs

El cálculo de la concentración aproximada de las CdS-NPs se realizó mediante la ley de Lambert Beer:

$$A = \epsilon CL$$

A = absorbancia (u. a.)

$\epsilon$  = coeficiente de extinción molar

C = concentración

L = longitud de la celda (1 cm)

a partir de la determinación del coeficiente de extinción de las CdS-NPs, el cual se obtuvo mediante la ecuación descrita por Yu y colaboradores (2003) con la ayuda del

tamaño y la longitud de onda de las nanopartículas que se calculó con las micrográficas obtenidas por HRTEM (Tabla 6):

$$\text{CdS: } \epsilon = 21536 (D)^{2.3}$$

$\epsilon$  = coeficiente de extinción de las CdS-NPs

D = diámetro o longitud de las CdS-NPs

**Tabla 6.** Concentración de las CdS-NPs sintetizadas mediante del extracto fúngico de *Aspergillus niger* a partir de S° y Na<sub>2</sub>SO<sub>3</sub>.

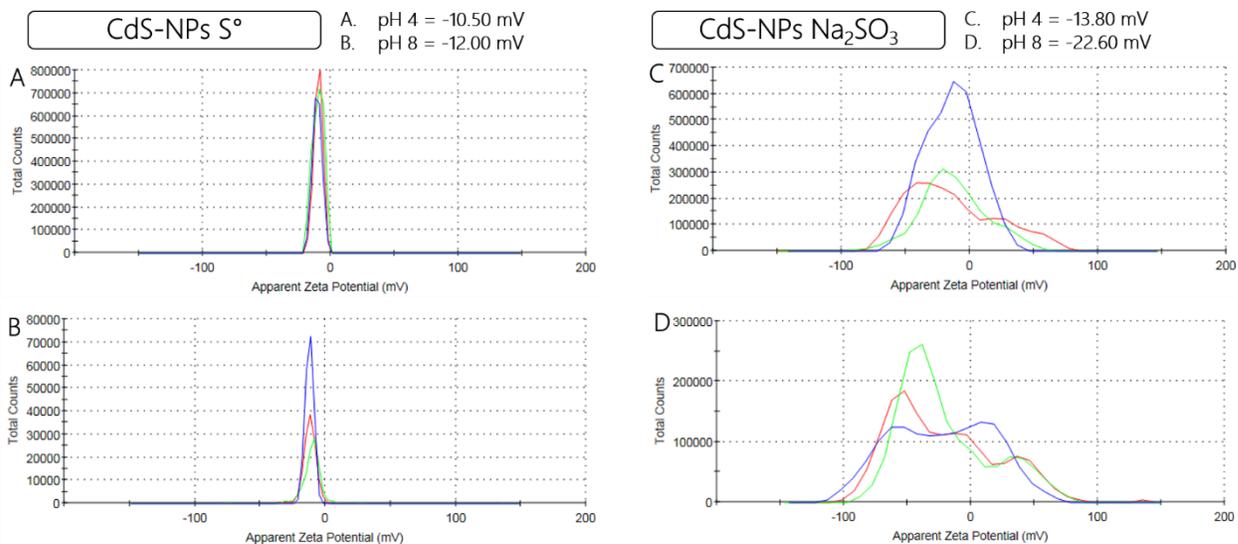
CdS-NPs	L. de onda absorción (nm)	Absorbancia (u. a.)	Diámetro (nm)	Coefficiente de extinción molar (cm <sup>-1</sup> M <sup>-1</sup> )	Concentración (μM)
S°	335	0.13	3.62 ± 0.65	415,140.17	0.33
Na <sub>2</sub> SO <sub>3</sub>	335	0.12	2.56 ± 0.50	187,118.60	0.64

Es importante resaltar que dicho método es una estimación matemática de la concentración de las nanopartículas basada en pruebas empíricas donde se determinó el coeficiente de extinción de diversas CdS-NPs de origen físico-químico, por lo que los resultados pueden variar considerablemente, pues en la investigación realizada por Yu y colaboradores (2003), la naturaleza de los ligandos superficiales o la cubierta de las nanopartículas, el índice de refracción de los disolventes, el método de síntesis y la temperatura, no mostraron influencia detectable sobre el coeficiente de extinción de las CdS-NPs analizadas. No obstante, el coeficiente de extinción al ser un parámetro que determina cuánta luz puede absorber una sustancia, misma que está relacionada con la presencia de dobles y triples enlaces químicos, puede verse modificado por la presencia de una cubierta compleja de biomoléculas que recubren a las CdS-NPs. Otras técnicas que nos pudieran ayudar a cuantificar con mayor precisión la concentración de las nanopartículas como gravimetría y esparcimiento de luz dinámica suelen utilizar equipos altamente sofisticados y metodologías muy específicas para llevarlo a cabo, tales como ultracentrífugas, espectroscopía de masas acoplado a plasma inductivamente (ICP-MS) y contadores de partículas nanométricas individuales

(Shang y Xiaohu, 2015) por lo que éste método resulta más fácil y sencillo con una buena aproximación.

#### 8.2.4 Estudio de la estabilidad coloidal de las nanopartículas biogénicas de CdS por potencial zeta.

El análisis de dispersidad de las CdS-NPs sintetizadas a partir del extracto metanólico de *Aspergillus niger* a pH 4 y 8, mostró que las nanopartículas sintetizadas a partir de Na<sub>2</sub>SO<sub>3</sub> se encuentran inestables coloidalmente a pH ácido, mientras que a pH básico muestran mayor estabilidad, pues presentaron un potencial eléctrico de -13.8 y -22.6 mV, respectivamente (Figura 12 C – 12D). Lo anterior indica que las biomoléculas que podrían estar involucradas en el recubrimiento de las CdS-NPs contienen grupos funcionales fácilmente ionizables a pH ácido, generando cargas negativas y por lo tanto un potencial eléctrico negativo, lo que sugiere la presencia de grupos funcionales (–COO<sup>-</sup>) presentes en los ácidos orgánicos que producen los hongos del género *Aspergillus* (Yu et al., 2021). Por otro lado, las nanopartículas sintetizadas a partir de S<sup>o</sup> a pH de 4 y 8, mostraron un potencial eléctrico de -10.5 y -12.0 mV, lo cual indica que las CdS-NPs se encuentran inestables coloidalmente tanto a pH ácido como a pH básico (Figura 12A – 12B), lo cual podría ser un inconveniente para su uso en la detección de metales contaminantes en solución. Lo anterior debido a que los mecanismos de detección de metales a partir del uso de nanopartículas, se basan en procesos de aglomeración y dispersión de las nanopartículas por modificaciones del potencial eléctrico de su superficie a causa del efecto de la interacción de la cubierta de las CdS-NPs con los metales.

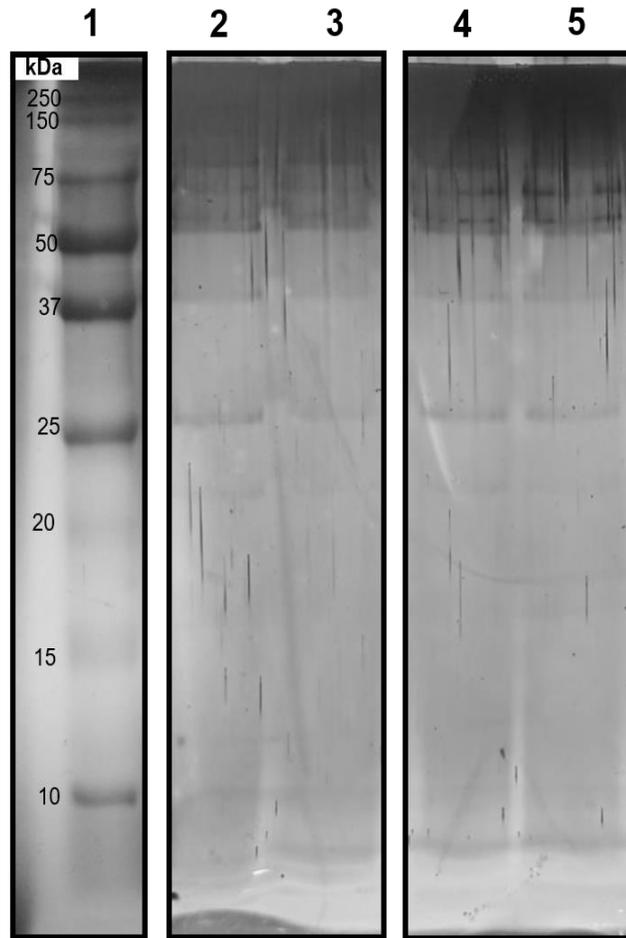


**Figura 12.** Potencial zeta de las CdS-NPs sintetizadas a partir del extracto metanólico de *Aspergillus niger* mediante Potencial zeta. A; CdS-NPs sintetizadas a partir S° pH 4, B; CdS-NPs sintetizadas a partir S° pH 8, C; CdS-NPs sintetizadas a partir Na<sub>2</sub>SO<sub>3</sub> pH 4, D; CdS-NPs sintetizadas a partir Na<sub>2</sub>SO<sub>3</sub> pH 8.

### 8.2.5 Perfil proteico de las CdS-NPs por electroforesis en gel de poliacrilamida desnaturizante (SDS-PAGE)

Los resultados del perfil proteico de las CdS-NPs sintetizadas a partir de S° y Na<sub>2</sub>SO<sub>3</sub>, sugieren que la cubierta de las nanopartículas no está conformada por proteínas o péptidos, pues las CdS-NPs sometidas a un tratamiento desnaturizante para la separación de la cubierta del nanomaterial, no presentaron modificaciones en el número y la intensidad de bandas obtenidas con respecto a las CdS-NPs sin tratamiento (Figura 13). El tratamiento desnaturizante consistió en someter térmicamente las CdS-NPs a 100°C durante 10 min en SDS al 1% y separar por centrifugación el núcleo de las nanopartículas de su cubierta, pues esta última al estar separada del núcleo de las CdS-NPs, puede migrar fácilmente desde la parte superior hasta la parte inferior del gel de poliacrilamida, dependiendo de su peso molecular. Por otro lado, para el caso de las CdS-NPs sin tratamiento, la cubierta se encuentra anclada al núcleo de las nanopartículas y en su conjunto, resulta una estructura de mayor tamaño y peso molecular, lo cual impide la migración de las proteínas y las CdS-NPs a través del gel, por lo que no es posible visualizar las proteínas de la cubierta de las CdS-NPs sin un

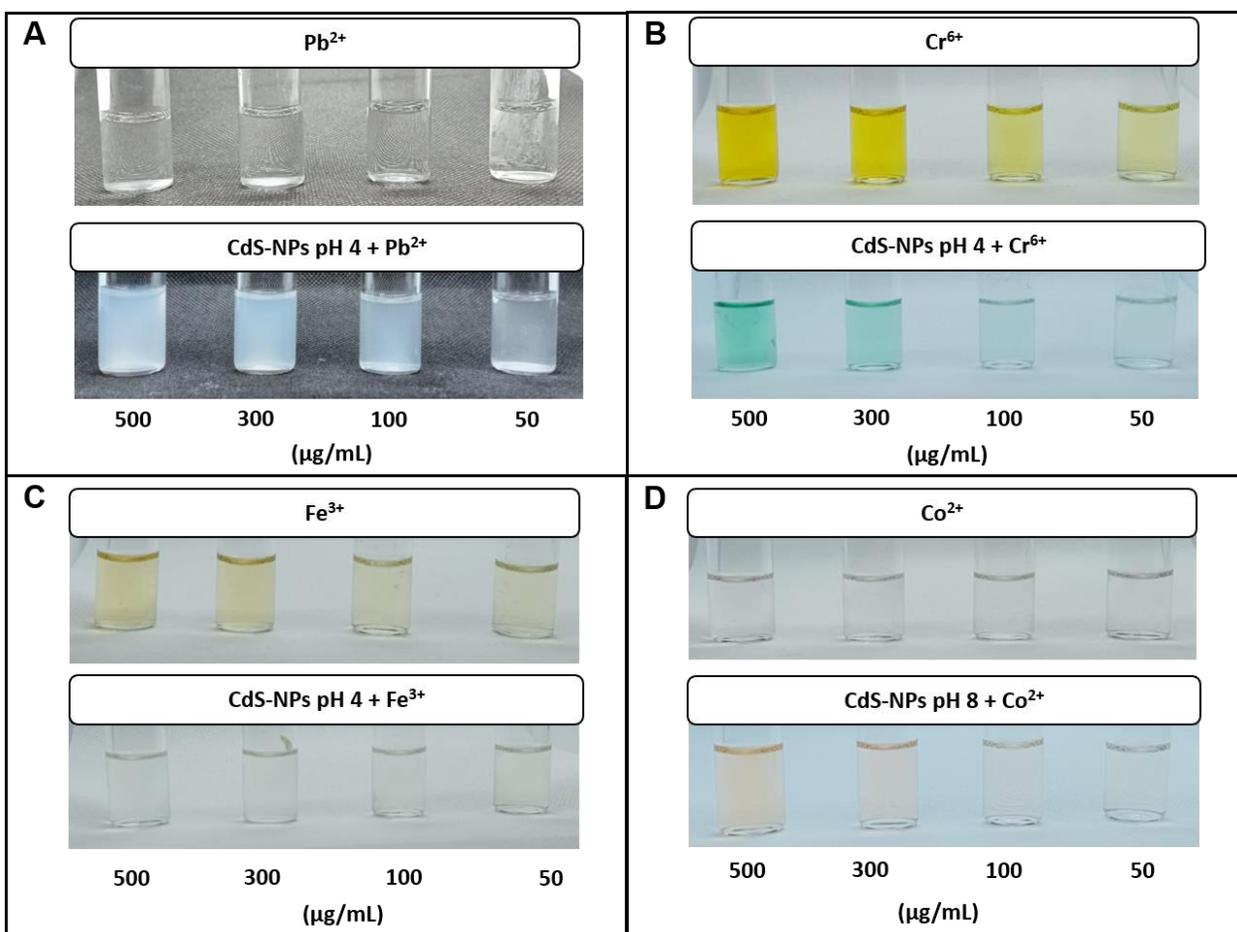
tratamiento desnaturizante (Chowdhury et al., 2014; Jain et al., 2011). No obstante, los carriles 2 y 4 con las CdS-NPs sin tratamiento y los carriles 3 y 5 con las CdS-NPs con tratamiento desnaturizante, presentaron las mismas bandas obtenidas en el extracto metanólico 87, 52, 38, 28 y 24 kDa (Figura 5 y 13), lo que significa que las proteínas no intervinieron en el recubrimiento de las nanopartículas, pues de haberlo hecho, en los carriles 3 y 5 con las CdS-NPs con tratamiento desnaturizante, se habrían visualizado bandas proteicas diferentes a las bandas proteicas de los carriles 2 y 4 que contenían las CdS-NPs sin tratamiento. Lo anterior se comprende debido al hecho de que el extracto utilizado para la síntesis de las CdS-NPs fue metanol, el cual tiene un efecto negativo sobre las proteínas, pues induce cierto grado de desnaturización ocasionando una precipitación y con ello, imposibilita su participación en el recubrimiento de las nanopartículas. Además, dada la naturaleza del microorganismo utilizado para producir el extracto fúngico, es posible que otro tipo de biomoléculas se encuentren recubriendo las nanopartículas, tales como ácidos orgánicos, los cuales son producidos en mayor proporción por hongos del género *Aspergillus*. Esto explicaría también los resultados del potencial eléctrico de las CdS-NPs, donde el potencial eléctrico negativo obtenido parece estar dado por una mayor concentración de grupos fácilmente ionizables a pH ácido, tales como los grupos carboxilo (Carvalho et al., 2019).



**Figura 13.** Perfil proteico de las CdS-NPs de *Aspergillus niger* sintetizadas a partir de S° y Na<sub>2</sub>SO<sub>3</sub>. Carril 1; marcador de peso molecular, carril 2; CdS-NPs sintetizadas a partir de S° sin tratamiento desnaturizante, carril 3; CdS-NPs sintetizadas a partir de S° con tratamiento desnaturizante 100°C-SDS 1%, carril 4; CdS-NPs sintetizadas a partir de Na<sub>2</sub>SO<sub>3</sub> sin tratamiento desnaturizante, carril 5; CdS-NPs sintetizadas a partir de Na<sub>2</sub>SO<sub>3</sub> con tratamiento desnaturizante 100°C-SDS 1%. Todos los carriles tienen una concentración de proteínas igual a 1 µg/20 µL.

### **8.3 Evaluación del método espectrofotométrico para la detección de iones metálicos en muestras sintéticas de agua mediante CdS-NPs**

Al poner en contacto cada uno de los metales (Co, Hg, Pb, Zn, Cu, Ni, As,  $Mn^{+2}$ ,  $Fe^{+3}$  y  $Cr^{+6}$ ) a una concentración de 50 – 500  $\mu\text{g/mL}$  con las CdS-NPs a pH 4, sintetizadas a partir de  $\text{Na}_2\text{SO}_3$  como precursor inorgánico, se evidenció un cambio en la coloración de la solución en presencia de  $Pb^{2+}$ ,  $Cr^{6+}$  y  $Fe^{3+}$  (Figura 14A – 14C y Anexo B2). Por otro lado, cuando los metales se pusieron en contacto con las CdS-NPs a pH 8, sintetizadas a partir de  $\text{Na}_2\text{SO}_3$ , se generó un cambio en la coloración de la solución de  $Co^{2+}$  (Figura 14D y Anexo B2). Los límites de detección detectados mediante espectrofotometría UV-Vis para el  $Pb^{2+}$  (315 nm),  $Cr^{6+}$  (600 nm),  $Fe^{3+}$  (290 nm) y  $Co^{2+}$  (340 nm) fue a 50, 50, 300 y 50  $\mu\text{g/mL}$ , respectivamente (Anexo B3). No se detectó cambio en el color ni en el espectro de luz de ninguna de las soluciones metálicas al ponerse en contacto con las CdS-NPs sintetizadas a partir de  $S^\circ$  (Anexo B4), control biológico (Anexo B5), control inorgánico de  $\text{Na}_2\text{SO}_3$  y control inorgánico de  $S^\circ$  (Anexo B6 – B7). La incapacidad de reacción de las CdS-NPs sintetizadas a partir de  $S^\circ$  con los iones metálicos se atribuye a su recubrimiento, pues el potencial eléctrico de dichas nanopartículas, dado por su cubierta, fue de -10 y -12 mV a pH de 4 y 8, lo que indica que las CdS-NPs siempre estarán inestables coloidalmente, independientemente de su pH, lo cual imposibilita el fenómeno de conglomeración y dispersión de las partículas y, por lo tanto, de los cambios de color y del espectro electromagnético (Uddandarao y Balakrishnan, 2017).



**Figura 14.** Detección espectrofotométrica de A;  $Pb^{2+}$  CdS-NPs pH 4, B;  $Cr^{6+}$  CdS-NPs pH 4, C;  $Fe^{3+}$  CdS-NPs pH 4 y D;  $Co^{2+}$  CdS-NPs pH 8

La comprensión de los posibles mecanismos de interacción de los metales detectados con las CdS-NPs biogénicas y los cambios en el espectro electromagnético, requiere entender las propiedades y funciones de dichos elementos sobre las moléculas orgánicas presentes en los organismos. Así, el Cr, Fe y Co son metales de transición considerados microminerales con actividad biológica, pues el primero participa como constituyente de las hormonas tiroideas (Jumina y Harizal, 2019); el segundo actúa como cofactor enzimático y constituyente de la hemoglobina y mioglobina (Marengo-Rowe, 2006; Pannequin et al., 2002); y el tercero como constituyente de la vitamina B<sub>12</sub> para la formación de los glóbulos rojos, regulación positiva del ADN y funcionamiento nervioso (Yildiz, 2017).

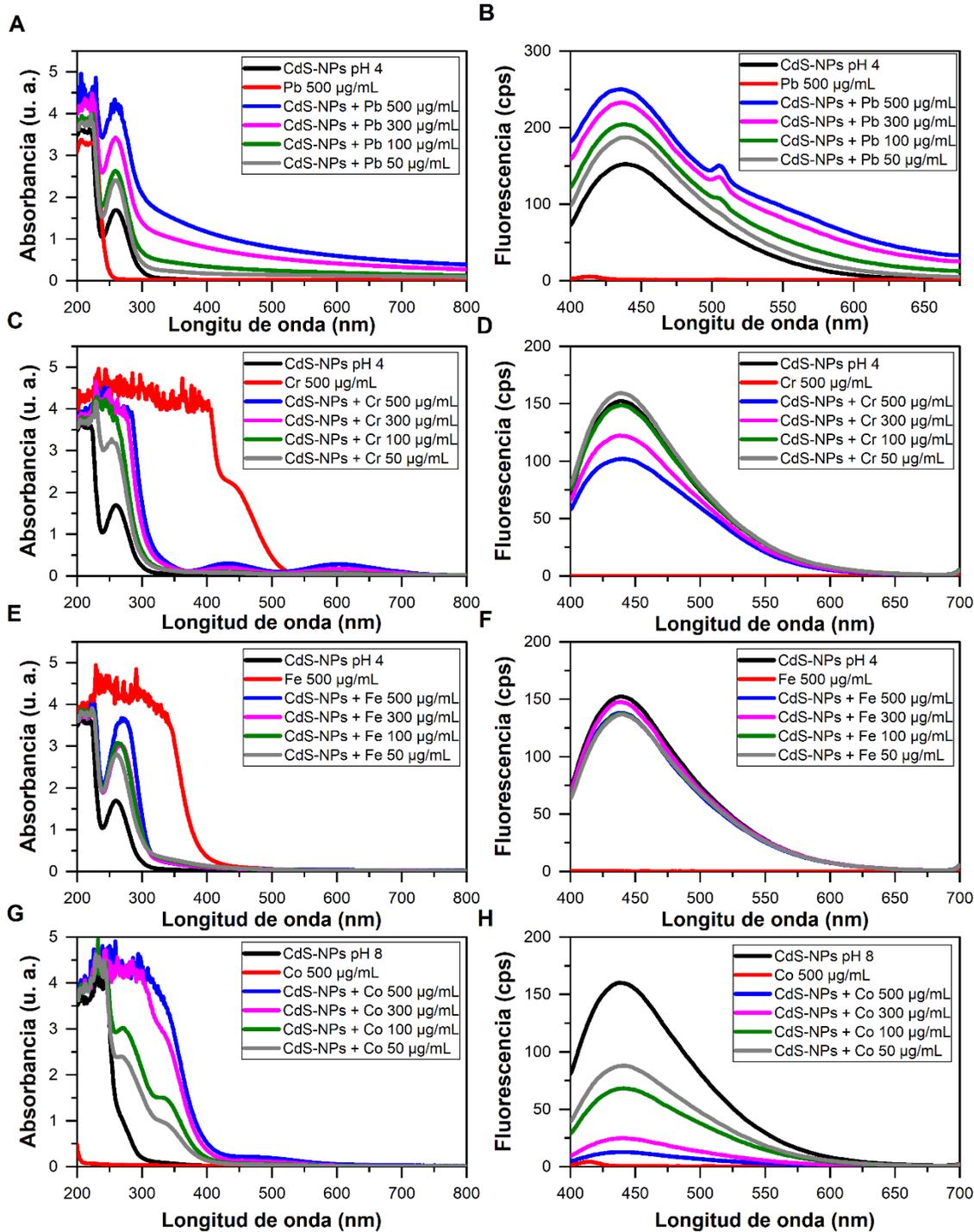
El Cr es un elemento de transición fuertemente oxidante y carcinogénico en su estado de oxidación  $\text{Cr}^{6+}$  o  $\text{Cr}^{5+}$  (Pietrzyk y Frank, 1979), que actúa sobre casi cualquier antioxidante que contenga grupos funcionales  $-\text{S}^-$  y  $-\text{O}^-$ , tales como compuestos polares o residuos de cisteína, mismos que convierten el  $\text{Cr}^{6+}$  a  $\text{Cr}^{3+}$  en el organismo (Levina y Lay, 2019), de los cuales, éste último tiene función catalítica sobre algunas enzimas (Jumina y Harizal, 2019). Por otro lado, el Fe es asimilado en la mayoría de los organismos como  $\text{Fe}^{3+}$  y posteriormente transformado a ion ferroso ( $\text{Fe}^{2+}$ ) por un gran número de enzimas reductasas y compuestos aromáticos a partir de sus grupos funcionales  $-\text{NH}^-$ ,  $-\text{COO}^-$  y  $-\text{O}^-$  (Escudero et al., 2012), pues el ion  $\text{Fe}^{2+}$  resulta más estable cuando interacciona con moléculas de origen orgánico como cofactor (Pansuriya y Patel, 2008). El  $\text{Co}^{2+}$  como metal de transición puede cambiar su coloración de azul a rojo, dependiendo de su número de coordinación, mismo que puede ir de 1 a 6 (Howell y Jackson, 1933). El número de coordinación es el número de átomos donantes que se encuentran unidos al elemento, mismos que pueden ser grupos funcionales  $-\text{NH}^-$  y  $-\text{O}^-$ , los cuales presentan mayor afinidad hacia dicho metal, formando una estructura en la cual el ion metálico se encuentra en el centro, rodeado por 1 a 6 grupos funcionales coordinados (Renfrew et al., 2018). Por el contrario, el Pb detectado con las CdS-NPs biogénicas no está considerado como mineral traza en el organismo. A pesar de lo anterior, el Pb tiene una fuerte afinidad hacia los grupos  $-\text{COO}^-$  y  $-\text{S}^-$  (Farkas y Buglyó, 2017; Gyliene et al., 1997), los cuales se encuentran tanto en los ácidos orgánicos, como en los residuos de cisteína de péptidos y proteínas, lo que ocasiona la precipitación de los iones metálicos (Perelomov et al., 2011).

Según la NOM-001-SEMARNAT-2021 que establece los límites permisibles de contaminantes en descargas de aguas residuales, el Pb y Cr son considerados contaminantes cuando se encuentran por arriba de 1 y 1.5  $\mu\text{g}/\text{mL}$ , respectivamente. No obstante, el límite de detección para ambos metales mediante el uso de CdS-NPs fue de 50  $\mu\text{g}/\text{mL}$  cuando las nanopartículas se encuentran a una concentración de 0.64  $\mu\text{M}/\text{L}$ , es decir, una concentración muy diluida, pues otros autores han detectado metales contaminantes como el As, Cu y Mn en agua, a una concentración de 1  $\mu\text{g}/\text{mL}$  mediante el uso de nanopartículas biogénicas semiconductoras como las de PbS y ZnS (Priyanka et al., 2016; Uddandarao y Balakrishnan, 2017). Sin embargo, las

concentraciones a las que han utilizado las nanopartículas de PbS y ZnS, se encuentran a una concentración de 1.12 y 2.60 mM/L, respectivamente (Priyanka et al., 2016; Uddandarao y Balakrishnan, 2017). Lo anterior sugiere que, al incrementar la concentración de las CdS-NPs para la detección de metales, también se incrementará su sensibilidad. Otra razón que pudiera ser la causa de una baja sensibilidad en la detección de los iones metálicos es el tamaño del recubrimiento de las CdS-NPs, pues a medida que el grosor del recubrimiento incrementa, se dificulta la transferencia de electrones entre el núcleo de las nanopartículas y los iones metálicos (Lou et al., 2014), lo que impide los procesos de óxido-reducción que generan los cambios de coloración de las soluciones debido a la naturaleza de los elementos.

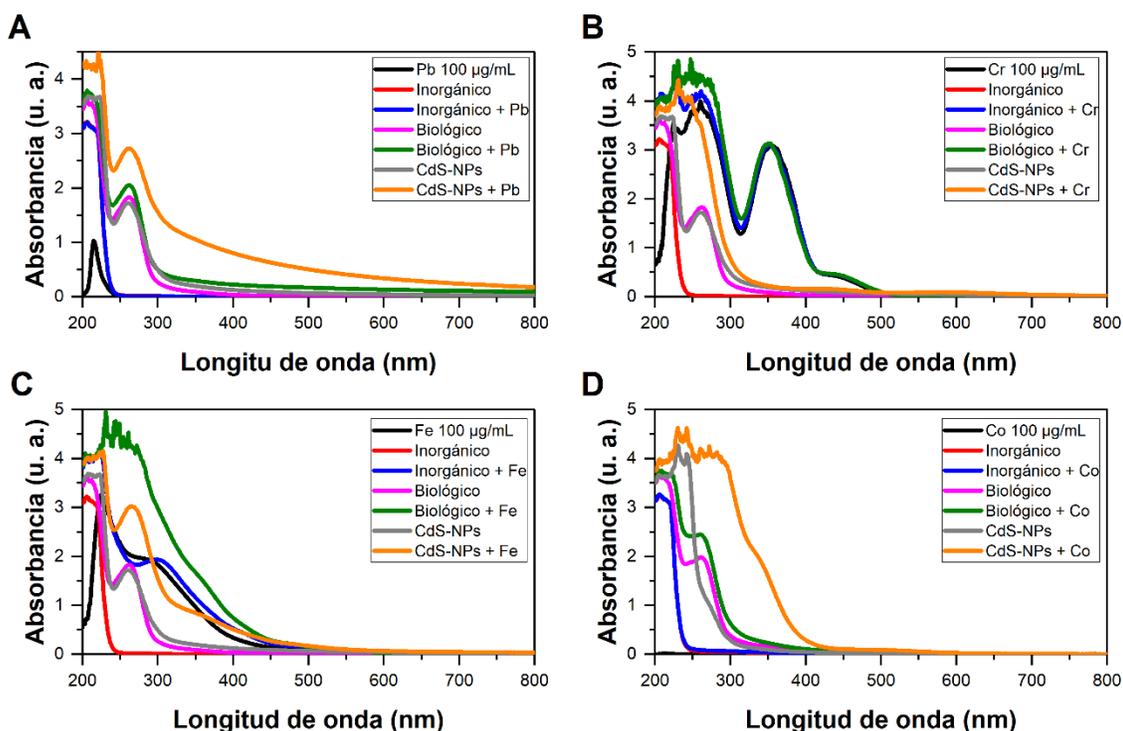
Los cambios de coloración de las soluciones metálicas al ponerse en contacto con las CdS-NPs sintetizadas a partir de  $\text{Na}_2\text{SO}_3$  se evidenciaron en el espectro de luz mediante absorción y fluorescencia (Figura 15). En la detección del  $\text{Pb}^{2+}$  se presentó un efecto de esparcimiento de luz en las muestras a partir de los 300 nm a medida que la concentración de  $\text{Pb}^{2+}$  se incrementa (Figura 15A). Lo anterior puede atribuirse a la unión del  $\text{Pb}^{2+}$  con los grupos  $-\text{COO}^-$  de las biomoléculas que recubren a las CdS-NPs (Atieh et al., 2010; Qu et al., 2022), lo que induce su precipitación, el efecto de esparcimiento de luz (Figura 14A) y un incremento de la fluorescencia de las CdS-NPs a 505 nm (Figura 15B), pues estas últimas al encontrarse inestables a pH 4, adquieren carga de la interacción del  $\text{Pb}^{2+}$  con los grupos funcionales  $-\text{COO}^-$ , lo que las vuelve aún más inestables al neutralizar sus cargas negativas y por lo tanto induce su precipitación. Por otra parte, el  $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$  en su forma  $\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-}$  donde el cromo se encuentra como  $\text{Cr}^{6+}$ , al ser un metal de transición presenta una coloración amarilla emitida por la absorción de luz ultravioleta a 350 y 450 nm (Figura 14B y 5C), mientras que la reducción de  $\text{Cr}^{6+}$  a  $\text{Cr}^{3+}$  ocasiona un cambio de coloración del amarillo al verde, generado por la absorción de luz a 430 y 600 nm del  $\text{Cr}^{3+}$ , respectivamente (Pietrzyk and Frank, 1979). La reducción de  $\text{Cr}^{6+}$  a  $\text{Cr}^{3+}$  en presencia de las CdS-NPs inestables a pH 4, se sugiere es generada por la transferencia de electrones que ocurre entre el núcleo de las CdS-NPs y el orbital *d* del Cr, lo que provoca que la absorción de luz a 350 y 450 nm del  $\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-}$  se reduzca, y con ello (Figura 15C), surja el cambio en la coloración de la solución de amarillo a verde (Figura 14B), pues el  $\text{Cr}^{6+}$  se coordina para

obtener  $\text{Cr}^{3+}$ , cambiando la tonalidad de la solución (Pietrzyk and Frank, 1979). Del mismo modo, por procesos de reducción de los iones  $\text{Fe}^{3+}$  mediante los grupos funcionales  $-\text{OH}$  presentes en la cubierta de las CdS-NPs, se evidencia un cambio en la coloración de las soluciones por la reducción de  $\text{Fe}^{3+}$  a  $\text{Fe}^{2+}$ , con la disminución del color dorado de la solución y la aparición de un precipitado marrón al fondo del tubo (Figura 14C), la cual se debe a la formación de hidróxido férrico ( $\text{Fe}(\text{OH})_3$ ) (Christensen y Stulc, 1979; Pietrzyk y Frank, 1979). Por el contrario, en la detección de  $\text{Co}^{2+}$ , los procesos de coordinación de los iones metálicos libres con los grupos funcionales  $-\text{O}^-$  y  $-\text{NH}^-$  de la cubierta de las CdS-NPs, generan una tonalidad cobriza a causa de la absorción de luz de las soluciones a 280, 340 y 490 nm (Figura 14D y 5G), debido a que a medida que el  $\text{Co}^{2+}$  se reduce por coordinación de sus electrones, se genera un cambio de coloración que puede ir del azul al rojo, dependiendo del número de ligandos que se encuentren rodeando al  $\text{Co}^{2+}$  (Howell y Jackson, 1933). Los procesos descritos para la detección de  $\text{Cr}^{6+}$ ,  $\text{Fe}^{3+}$  y  $\text{Co}^{2+}$ , involucran procesos de reducción de los iones que culminan con la disminución de la fluorescencia (Figura 15D, 15F y 15H), misma que se ha reportado es causa de procesos de donación de los electrones de la banda de conducción de las CdS-NPs a los analitos receptores de electrones (Lou et al., 2014).



**Figura 15.** Detección espectrofotométrica por absorción UV-Vis y fluorescencia de A – B;  $Pb^{2+}$  CdS-NPs pH 4, C – D;  $Cr^{6+}$  CdS-NPs pH 4, E – F;  $Fe^{3+}$  CdS-NPs pH 4, G – H;  $Co^{2+}$  CdS-NPs pH 8

Finalmente, con motivo de confirmar que los cambios de coloración de las soluciones fueron generados por acción de las Cd-NPs y sus grupos funcionales que conforman el recubrimiento y no por procesos de oxido-reducción generados entre las biomoléculas fúngicas libres y los iones metálicos, se observó que cuando los metales se pusieron en contacto con el control biológico y el control inorgánico de  $\text{Na}_2\text{SO}_3$  que contienen las biomoléculas con capacidad reductora y los precursores de las CdS-NPs a pH 4 y 8, no presentan cambios en la coloración ni en el espectro electromagnético de la solución de  $\text{Pb}^{2+}$ ,  $\text{Cr}^{6+}$ ,  $\text{Fe}^{3+}$  y  $\text{Co}^{2+}$  como ocurrió en presencia de las CdS-NPs (Figura 16).



**Figura 16.** Análisis espectrofotométrico de la interacción de las CdS-NPs, control biológico y control inorgánico con A;  $\text{Pb}^{2+}$  pH 4, B;  $\text{Cr}^{6+}$  pH 4, C;  $\text{Fe}^{3+}$  pH 4 y D;  $\text{Co}^{2+}$  pH 8

Por otra parte, es de importancia destacar que los metales detectados con el método espectrofotométrico aquí descrito son eficientes cuando se utilizan los elementos con un estado de oxidación de  $\text{Pb}^{2+}$ ,  $\text{Cr}^{6+}$ ,  $\text{Fe}^{3+}$  y  $\text{Co}^{2+}$  provenientes del acetato de plomo ( $\text{Pb}[\text{CH}_3\text{COO}]_2$ ), dicromato de potasio ( $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ ), cloruro férrico ( $\text{FeCl}_3$ ) y cloruro de cobalto ( $\text{CoCl}_2$ ), respectivamente. El alcance del proyecto no contempló otras sales con

los iones metálicos al mismo estado de oxidación con motivo de identificar si la naturaleza química del elemento está involucrada en el proceso de detección. Sin embargo, es conocido que los elementos metálicos se encuentran presentes en la naturaleza de maneras específicas; por ejemplo, se sabe que el Pb casi nunca se encuentra en su forma pura, sino que está combinado con otros elementos; el más abundante en la corteza es el PbS y los estados de oxidación en los que mayormente es encontrado este elemento son 2+ y 4+ (Acharya, 2013). Por otra parte, el Cr es un elemento de transición de gran abundancia en la corteza terrestre y en diversos procesos industriales capaz de formar diversas especies químicas con estados de oxidación que pueden ir de -4 a +6, pero que sus formas más comunes en el ambiente son cuando se encuentra en estado de oxidación de 6+ y 3+ (Jumina y Harizal, 2019). El Fe es un elemento que puede llegar a formar una gran cantidad de minerales, sobre todo cuando se combina con el oxígeno, pues es el metal más abundante en la tierra, pudiéndose encontrar con un estado de oxidación de 2+, 3+, 4+ y 6+ en mayor proporción (Bernát, 1983). Por otro lado, el Co al igual que el Cr es un metal de transición con gran abundancia en la naturaleza, y se encuentra con estado de oxidación de 2+ y 3+, pues las formas 4+, 1+ y 1-, son mucho menos comunes y estables (Yildiz, 2017).

## 9 COCLUSIÓN

En el presente trabajo se demostró la capacidad de síntesis de CdS-NPs a partir del extracto metanólico de la biomasa de *Aspergillus niger*, debido a que posee los componentes esenciales para llevar a cabo la síntesis y el recubrimiento de las nanopartículas el cual se mostró no son de naturaleza proteica, así como la detección de iones metálicos como el  $Pb^{2+}$ ,  $Cr^{6+}$ ,  $Co^{2+}$  y  $Fe^{3+}$  a 50 y 300  $\mu\text{g/mL}$  en muestras sintéticas de agua. Por ello, con este proyecto se demuestra que es posible dirigir la investigación de las nanopartículas biogénicas hacia una aplicación en particular como la detección de metales contaminantes en medio acuoso desde las primeras etapas de la investigación. No obstante, con el fin de lograr una efectiva aplicación de las nanopartículas biogénicas, es necesario que los precursores utilizados para su síntesis

y recubrimiento, cuenten con los elementos necesarios para llevar a cabo la función deseada, como una elevada concentración de poder reductor, NADH y grupos –SH, así como una baja concentración de proteínas, lo que brinda nuevas alternativas para la aplicación de la nanobiotecnología.

## 10 REFERENCIAS

- Abed, T., Kadem, B., Kadhim, R., 2019. Simple Colorimetric Method Using Aqueous Solution to Detect Heavy Metal | Iraqi Journal of Science. Iraqi J. Sci. 60, 28–33.
- Abolhasani, J., Hassanzadeh, J., Jalali, E.S., 2014. Ultrasensitive determination of lead and chromium contamination in well and dam water based on fluorescence quenching of CdS quantum dots. Int. Nano Lett. 4, 65–72. <https://doi.org/10.1007/s40089-014-0120-9>
- Acharya, S., 2013. Lead between the lines. Nat. Chem. 2013 510 5, 894–894. <https://doi.org/10.1038/nchem.1761>
- Ahmad, A., Mukherjee, P., Mandal, D., Senapati, S., Khan, M.I., Kumar, R., Sastry, M., 2002. Enzyme mediated extracellular synthesis of CdS nanoparticles by the fungus, *Fusarium oxysporum*. J. Am. Chem. Soc. 124, 12108–12109. <https://doi.org/10.1021/ja027296o>
- Ahmad, T., Wani, I.A., Manzoor, N., Ahmed, J., Asiri, A.M., 2013. Biosynthesis, structural characterization and antimicrobial activity of gold and silver nanoparticles. Colloids Surfaces B Biointerfaces 107, 227–234. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2013.02.004>
- Ali, H., Khan, E., Ilahi, I., 2019. Environmental Chemistry and Ecotoxicology of Hazardous Heavy Metals: Environmental Persistence, Toxicity, and Bioaccumulation. J. Chem. 2019, 1–14. <https://doi.org/10.1155/2019/6730305>
- Alivisatos, A.P., 1996. Perspectives on the Physical Chemistry of Semiconductor Nanocrystals. J. Phys. Chem 100, 13226–13239.
- Alorabi, A.Q., Abdelbaset, M., Zabin, S.A., 2019. Colorimetric Detection of Multiple Metal

- Ions Using Schiff Base 1-(2-Thiophenylimino)-4-(N-dimethyl)benzene. *Chemosens.* 2020, Vol. 8, Page 1 8, 1. <https://doi.org/10.3390/CHEMOSENSORS8010001>
- Alsaggaf, M.S., Elbaz, A.F., Badawy, S. El, Moussa, S.H., 2020. Anticancer and antibacterial activity of cadmium sulfide nanoparticles by *Aspergillus niger*. *Adv. Polym. Technol.* 2020, 1–13. <https://doi.org/10.1155/2020/4909054>
- Aruna-Devi, R., Latha, M., Velumani, S., Oza, G., Reyes-Figueroa, P., Rohini, M., Becerril-Juarez, I.G., Lee, J.H., Yi, J., 2015. Synthesis and characterization of cadmium sulfide nanoparticles by chemical precipitation method. *J. Nanosci. Nanotechnol.* 15, 8434–8439. <https://doi.org/10.1166/jnn.2015.11472>
- Ashok, K., 2016a. Structure, Synthesis, and Application of Nanoparticles, in: *Engineered Nanoparticles*. Academic Press, Minneapolis, USA, pp. 19–76. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-801406-6.00002-9>
- Ashok, K., 2016b. Experimental Methodologies for the Characterization of Nanoparticles, in: *Engineered Nanoparticles*. Academic Press, Minneapolis, MN, USA, pp. 125–170. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-801406-6.00004-2>
- Atieh, M.A., Bakather, O.Y., Al-Tawbini, B., Bukhari, A.A., Abuilaiwi, F.A., Fettouhi, M.B., 2010. Effect of carboxylic functional group functionalized on carbon nanotubes surface on the removal of lead from water. *Bioinorg. Chem. Appl.* 2010. <https://doi.org/10.1155/2010/603978>
- Atieh, M.A., Ji, Y., Kochkodan, V., 2017. Metals in the Environment: Toxic Metals Removal. *Bioinorg. Chem. Appl.* 2017. <https://doi.org/10.1155/2017/4309198>
- Aydin, Z., Keleş, M., 2020. Colorimetric cadmium ion detection in aqueous solutions by newly synthesized Schiff bases. *Turkish J. Chem.* 44, 791. <https://doi.org/10.3906/KIM-1912-36>
- Basavaraja, S., Balaji, S.D., Lagashetty, A., Rajasab, A.H., Venkataraman, A., 2008. Extracellular biosynthesis of silver nanoparticles using the fungus *Fusarium semitectum*. *Mater. Res. Bull.* 43, 1164–1170. <https://doi.org/10.1016/j.materresbull.2007.06.020>

- Bel Haj, M., Ben Brahim, N., Mrad, R., Haouari, M., Ben Chaâbane, R., Negrerie, M., 2018. Use of MPA-capped CdS quantum dots for sensitive detection and quantification of Co<sup>2+</sup> ions in aqueous solution. *Anal. Chim. Acta* 1028, 50–58. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2018.04.041>
- Bera, D., Qian, L., Tseng, T.K., Holloway, P.H., 2010. Quantum dots and their multimodal applications: A review. *Materials* (Basel). <https://doi.org/10.3390/ma3042260>
- Bernát, I., 1983. The Distribution of Iron in Nature. *Iron Metab.* 9–13. [https://doi.org/10.1007/978-1-4615-7308-1\\_1](https://doi.org/10.1007/978-1-4615-7308-1_1)
- Beveridge, T., Toma, S., Nakai, S., 1974. Determination of SH- and SS-Groups in Some Food Proteins Using Ellman 's Reagent. *New York* 39, 49–51.
- Bhadwal, A.S., Tripathi, R.M., Gupta, R.K., Kumar, N., Singh, R.P., Shrivastav, A., 2014. Biogenic synthesis and photocatalytic activity of CdS nanoparticles. *RSC Adv.* 4, 9484–9490. <https://doi.org/10.1039/c3ra46221h>
- Borovaya, M., Pirko, Y., Krupodorova, T., Naumenko, A., Blume, Y., Yemets, A., 2015. Biosynthesis of cadmium sulphide quantum dots by using *Pleurotus ostreatus* (Jacq.) P. Kumm. *Biotechnol. Equip.* 29, 1156–1163. <https://doi.org/10.1080/13102818.2015.1064264>
- Briffa, J., Sinagra, E., Blundell, R., 2020. Heavy metal pollution in the environment and their toxicological effects on humans. *Heliyon.* <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2020.e04691>
- Carvalho, C.R. De, Ferreira, M.C., Amorim, S.S., Hellen, R., Catarine, J., Assis, S. De, Zani, C.L., Rosa, L.H., 2019. Recent Advancement in White Biotechnology Through Fungi.
- Cetin, B.M., Ceylan, G., Cantürk, Z., Öztürk, N., Babayiğit, M.K., Yüzüak, S., Yamaç, M., 2021. Screening of Antioxidant Activity of Mycelia and Culture Liquids of Fungi from Turkey. *Microbiol. (Russian Fed.* 90, 133–143. <https://doi.org/10.1134/S0026261721010033>

- Chen, G., Yi, B., Zeng, G., Niu, Q., Yan, M., Chen, A., Du, J., Huang, J., Zhang, Q., 2014. Facile green extracellular biosynthesis of CdS quantum dots by white rot fungus *Phanerochaete chrysosporium*. *Colloids Surfaces B Biointerfaces* 117, 199–205. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2014.02.027>
- Chen, J., Gao, Y.C., Xu, Z.B., Wu, G.H., Chen, Y.C., Zhu, C.Q., 2006. A novel fluorescent array for mercury (II) ion in aqueous solution with functionalized cadmium selenide nanoclusters. *Anal. Chim. Acta* 577, 77–84. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2006.06.039>
- Chen, J., Zheng, A.F., Gao, Y., He, C., Wu, G., Chen, Y., Kai, X., Zhu, C., 2008. Functionalized CdS quantum dots-based luminescence probe for detection of heavy and transition metal ions in aqueous solution. *Spectrochim. Acta - Part A Mol. Biomol. Spectrosc.* 69, 1044–1052. <https://doi.org/10.1016/j.saa.2007.06.021>
- Chen, L., Tian, X., Xia, D., Nie, Y., Lu, L., Yang, C., Zhou, Z., 2019. Novel Colorimetric Method for Simultaneous Detection and Identification of Multimetal Ions in Water: Sensitivity, Selectivity, and Recognition Mechanism. *ACS Omega* 4, 5915–5922. [https://doi.org/10.1021/ACSOMEGA.9B00312/SUPPL\\_FILE/AO9B00312\\_SI\\_001.PDF](https://doi.org/10.1021/ACSOMEGA.9B00312/SUPPL_FILE/AO9B00312_SI_001.PDF)
- Chen, Y., Rosenzweig, Z., 2002. Luminescent CdS quantum dots as selective ion probes. *Anal. Chem.* 74, 5132–5138. <https://doi.org/10.1021/ac0258251>
- Chowdhury, S., Basu, A., Kundu, S., 2014. Green synthesis of protein capped silver nanoparticles from phytopathogenic fungus *Macrophomina phaseolina* (Tassi) Goid with antimicrobial properties against multidrug-resistant bacteria. *Nanoscale Res. Lett.* 9, 1–11. <https://doi.org/10.1186/1556-276X-9-365>
- Christensen, L., Stulc, D., 1979. Reacciones químicas que afectan la filtrabilidad en el acondicionamiento de lodos de hierro y cal en JSTOR. *J. (Water Pollut. Control Fed.* 51, 499–512.
- Dameron, C., Winge, D., 1990. Characterization of Peptide-Coated Cadmium-Sulfide Crystallites. *Inorg. Chem.* 29, 1343–1348. <https://doi.org/10.1021/ic00332a011>
- Dameron, C.T., Reese, R.N., Mehra, R.K., Kortan, A.R., Carroll, P.J., Steigerwald, M.L.,

- Brus, L.E., Winge, D.R., 1989. Biosynthesis of cadmium sulphide quantum semiconductor crystallites. *Nature* 338, 596–597. <https://doi.org/10.1038/338596a0>
- Das, S.K., Shome, I., Guha, A.K., 2012. Surface functionalization of *Aspergillus versicolor* mycelia: In situ fabrication of cadmium sulphide nanoparticles and removal of cadmium ions from aqueous solution. *RSC Adv.* 2, 3000–3007. <https://doi.org/10.1039/c2ra01273a>
- Durán, N., Marcato, P.D., Alves, O.L., De Souza, G.I.H., Esposito, E., 2005. Mechanistic aspects of biosynthesis of silver nanoparticles by several *Fusarium oxysporum* strains. *J. Nanobiotechnology* 3, 1–7. <https://doi.org/10.1186/1477-3155-3-8>
- Escobar, J., 2002. La contaminación de los ríos y sus efectos en las áreas costeras y el mar, 2002nd ed, División de recursos naturales e infraestructura. Santiago de Chile.
- Escudero, R., Gómez-Gallego, M., Romano, S., Fernández, I., Gutiérrez-Alonso, Á., Sierra, M.A., López-Rayó, S., Nadal, P., Lucena, J.J., 2012. Biological activity of Fe(III) aquo-complexes towards ferric chelate reductase (FCR). *Org. Biomol. Chem.* 10, 2272–2281. <https://doi.org/10.1039/C2OB06754D>
- Farkas, E., Buglyó, P., 2017. Lead(II) Complexes of Amino Acids, Peptides, and Other Related Ligands of Biological Interest. *Met. Ions Life Sci.* 17, 201–240. <https://doi.org/10.1515/9783110434330-008>
- Gadalla, A., Almokhtar, M., Abouelkhir, A.N., 2018. Effect of Mn doping on structural, optical and magnetic properties of CdS diluted magnetic semiconductor nanoparticles. *Chalcogenide Lett.* 15, 207–218.
- Gallagher, S.A., Moloney, M.P., Wojdyla, M., Quinn, S.J., Kelly, J.M., Gun'Ko, Y.K., 2010. Synthesis and spectroscopic studies of chiral CdSe quantum dots. *J. Mater. Chem.* 20, 8350–8355. <https://doi.org/10.1039/c0jm01185a>
- Gao, X., Du, C., Zhuang, Z., Chen, W., 2016. Carbon quantum dot-based nanoprobe for metal ion detection. *J. Mater. Chem. C.* <https://doi.org/10.1039/c6tc02055k>
- Giancaspero, T.A., Locato, V., Barile, M., 2013. A Regulatory Role of NAD Redox Status on Flavin Cofactor Homeostasis in *S. cerevisiae* Mitochondria. *Oxid. Med. Cell.*

- Longev. 2013, 16. <https://doi.org/10.1155/2013/612784>
- Gnansounou, E., Raman, J.K., 2017. Life Cycle Assessment of Algal Biorefinery, Life-Cycle Assessment of Biorefineries. Elsevier B.V. <https://doi.org/10.1016/B978-0-444-63585-3.00007-3>
- Gumpu, M.B., Sethuraman, S., Krishnan, U.M., Rayappan, J.B.B., 2015. A review on detection of heavy metal ions in water - An electrochemical approach. *Sensors Actuators, B Chem.* 213, 515–533. <https://doi.org/10.1016/j.snb.2015.02.122>
- Gyliene, O., Jus-ke, R., alkauskas, nas S., 1997. The Use of Organic Acids as Precipitants for Metal Recovery from Galvanic Solutions \*. 111È115 *J. Chem. T ech. Biotechnol* 70, 111–115. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1097-4660\(199709\)70:1](https://doi.org/10.1002/(SICI)1097-4660(199709)70:1)
- Hietzschold, S., Walter, A., Davis, C., Taylor, A.A., Sepunaru, L., 2019. Does Nitrate Reductase Play a Role in Silver Nanoparticle Synthesis? Evidence for NADPH as the Sole Reducing Agent. *ACS Sustain. Chem. Eng.* 7, 8070–8076. <https://doi.org/10.1021/acssuschemeng.9b00506>
- Howell, O.R., Jackson, A., 1933. The change in the absorption spectrum of cobalt chloride in aqueous solution with increasing concentration of hydrochloric acid. *Proc. R. Soc. London. Ser. A, Contain. Pap. a Math. Phys. Character* 142, 587–597. <https://doi.org/10.1098/RSPA.1933.0190>
- Hulkoti, N.I., Taranath, T.C., 2014. Biosynthesis of nanoparticles using microbes-A review. *Colloids Surfaces B Biointerfaces* 121, 474–483. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2014.05.027>
- Hutton, L.A., O'Neil, G.D., Read, T.L., Ayres, Z.J., Newton, M.E., MacPherson, J. V., 2014. Electrochemical X-ray fluorescence spectroscopy for trace heavy metal analysis: Enhancing X-ray fluorescence detection capabilities by four orders of magnitude. *Anal. Chem.* 86, 4566–4572. <https://doi.org/10.1021/ac500608d>
- Jacob, J.M., Lens, P.N.L., Balakrishnan, R.M., 2016. Microbial synthesis of chalcogenide semiconductor nanoparticles: a review. *Microb. Biotechnol.* 9, 11–21. <https://doi.org/10.1111/1751-7915.12297>

- Jain, K.K., 2017. Nanobiotechnology. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-809633-8.09044-0>
- Jain, N., Bhargava, A., Majumdar, S., Tarafdar, J.C., Panwar, J., 2011. Extracellular biosynthesis and characterization of silver nanoparticles using *Aspergillus flavus* NJP08: A mechanism perspective. *R. Soc. Chem.* 2011, 635–641. <https://doi.org/10.1039/c0nr00656d>
- Jernejc, K., 2004. Comparison of different methods for metabolite extraction from *Aspergillus niger* mycelium. *Acta Chim. Slov.* 51, 567–578.
- Jiao, H., Zhang, L., Liang, Z., Peng, G., Lin, H., 2014. Size-controlled sensitivity and selectivity for the fluorometric detection of Ag<sup>+</sup> by homocysteine capped CdTe quantum dots. *Microchim. Acta* 181, 1393–1399. <https://doi.org/10.1007/s00604-014-1276-8>
- Jumina, J., Harizal, H., 2019. Dermatologic Toxicities and Biological Activities of Chromium. *Trace Met. Environ. - New Approaches Recent Adv.* <https://doi.org/10.5772/INTECHOPEN.90347>
- Kamble, M.M., Rondiya, S.R., Bade, B.R., Kore, K.B., Nasane, M.P., Dzade, N.Y., Funde, A.M., Jadkar, S.R., 2020. Optical, structural and morphological study of CdS nanoparticles: role of sulfur source. *Nanomater. Energy* 9, 72–81. <https://doi.org/10.1680/jnaen.19.00041>
- Kelly, R.T., Love, N.G., 2007. Ultraviolet Spectrophotometric Determination of Nitrate: Detecting Nitrification Rates and Inhibition. *Water Environ. Res.* 79, 808–812. <https://doi.org/10.2175/106143007x156682>
- Khan, A., 2012. CdS nanoparticles with a thermoresponsive polymer: Synthesis and properties. *J. Nanomater.* 2012. <https://doi.org/10.1155/2012/451506>
- Khan, Z.R., Zulfequar, M., Khan, M.S., 2011. Chemical synthesis of CdS nanoparticles and their optical and dielectric studies. *J. Mater. Sci.* 46, 5412–5416. <https://doi.org/10.1007/s10853-011-5481-0>
- Kim, K., Nam, Y.S., Lee, Y., Lee, K.B., 2017. Highly Sensitive Colorimetric Assay for

- Determining Fe<sup>3+</sup> Based on Gold Nanoparticles Conjugated with Glycol Chitosan. *J. Anal. Methods Chem.* 2017. <https://doi.org/10.1155/2017/3648564>
- Kobashigawa, J.M., Robles, C.A., Martínez Ricci, M.L., Carmarán, C.C., 2019. Influence of strong bases on the synthesis of silver nanoparticles (AgNPs) using the ligninolytic fungi *Trametes trogii*. *Saudi J. Biol. Sci.* 26, 1331–1337. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2018.09.006>
- Koneswaran, M., Narayanaswamy, R., 2009. I-Cysteine-capped ZnS quantum dots based fluorescence sensor for Cu<sup>2+</sup> ion. *Sensors Actuators, B Chem.* 139, 104–109. <https://doi.org/10.1016/j.snb.2008.09.028>
- Kozhevnikova, N.S., Vorokh, A.S., Uritskaya, A.A., 2015. Cadmium sulfide nanoparticles prepared by chemical bath deposition. *Russ. Chem. Rev.* 84, 225–250. <https://doi.org/10.1070/rcr4452>
- Kumar, M., 2019. Semiconductor Nanoparticles Theory and Applications. *Int. J. Appl. Eng. Res.* 14, 491–494.
- Kumar, S.A., Abyaneh, M.K., Gosavi, S.W., Kulkarni, S.K., Pasricha, R., Ahmad, A., Khan, M.I., 2007. Nitrate reductase-mediated synthesis of silver nanoparticles from AgNO<sub>3</sub>. *Biotechnol. Lett.* 29, 439–445. <https://doi.org/10.1007/s10529-006-9256-7>
- Laemmli, U., 1970. © 1970 Nature Publishing Group. *Nat. Publ. Gr.* 228, 726–734. <https://doi.org/doi:10.1038/227680a0>.
- Levina, A., Lay, P.A., 2019. Redox chemistry and biological activities of chromium(III) complexes. *Nutr. Biochem. Chromium* 281–321. <https://doi.org/10.1016/B978-0-444-64121-2.00009-X>
- Linder, T., 2018. Assimilation of alternative sulfur sources in fungi. *World J. Microbiol. Biotechnol.* 34, 1–7. <https://doi.org/10.1007/s11274-018-2435-6>
- Liu, Y., Deng, Y., Dong, H., Liu, K., He, N., 2017. Progress on sensors based on nanomaterials for rapid detection of heavy metal ions. *Sci. China Chem.* 60, 329–337. <https://doi.org/10.1007/s11426-016-0253-2>
- Loa, J.D.A., Castellanos-Angeles, A., García-Tejeda, L.Á., Rivas-Castillo, A.M., Rojas-

- Avelizapa, N.G., 2021. Assessment of Cadmium Sulfide Nanoparticles Synthesis by Cadmium-Tolerant Fungi. *Lect. Notes Networks Syst.* 297, 145–156. [https://doi.org/10.1007/978-3-030-82064-0\\_12](https://doi.org/10.1007/978-3-030-82064-0_12)
- Lou, Y., Zhao, Y., Chen, J., Zhu, J.J., 2014. Metal ions optical sensing by semiconductor quantum dots. *J. Mater. Chem. C* 2, 595–613. <https://doi.org/10.1039/c3tc31937g>
- Mahendran, G., Ranjitha Kumari, B.D., 2016. Biological activities of silver nanoparticles from *Nothapodytes nimmoniana* (Graham)Mabb. fruit extracts. *Food Sci. Hum. Wellness* 5, 207–218. <https://doi.org/10.1016/j.fshw.2016.10.001>
- Mal, J., Nancharaiah, Y. V., Van Hullebusch, E.D., Lens, P.N.L., 2016. Metal chalcogenide quantum dots: Biotechnological synthesis and applications. *RSC Adv.* 6, 41477–41495. <https://doi.org/10.1039/c6ra08447h>
- Marengo-Rowe, A.J., 2006. Structure-function relations of human hemoglobins. *Proc. (Bayl. Univ. Med. Cent)*. 19, 239. <https://doi.org/10.1080/08998280.2006.11928171>
- Maxwell, T., Nogueira Campos, M.G., Smith, S., Doomra, M., Thwin, Z., Santra, S., 2019. Quantum dots, Nanoparticles for Biomedical Applications: Fundamental Concepts, Biological Interactions and Clinical Applications. Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-816662-8.00015-1>
- Meziani, M.J., Pathak, P., Harruff, B.A., Hurezeanu, R., Sun, Y., Carolina, S., 2005. Direct Conjugation of Semiconductor Nanoparticles with Proteins. *Langmuir* 21, 2008–2011.
- Morton-Bermea, O., Hernández-Álvarez, E., González-Hernández, G., Romero, F., Lozano, R., Beramendi-Orosco, L.E., 2009. Assessment of heavy metal pollution in urban topsoils from the metropolitan area of Mexico City. *J. Geochemical Explor.* 101, 218–224. <https://doi.org/10.1016/j.gexplo.2008.07.002>
- Naik, R.R., Stringer, S.J., Agarwal, G., Jones, S.E., Stone, M.O., 2002. Biomimetic synthesis and patterning of silver nanoparticles. *Nat. Mater.* 1, 169–172. <https://doi.org/10.1038/nmat758>
- Odobašić, A., Šestan, I., Begić, S., 2019. Biosensors for Determination of Heavy Metals

- in Waters, in: Biosensors for Environmental Monitoring. IntechOpen. <https://doi.org/10.5772/intechopen.84139>
- Onwudiwe, D.C., Krüger, T.P.J., Strydom, C.A., 2014. Laser assisted solid state reaction for the synthesis of ZnS and CdS nanoparticles from metal xanthate. *Mater. Lett.* 116, 154–159. <https://doi.org/10.1016/j.matlet.2013.10.118>
- Organización Mundial de la Salud, 2018. Aspectos químicos. Guías para la Calid. del agua Consum. Hum. 185–238.
- Pannequin, J., Barnham, K.J., Hollande, F., Shulkes, A., Norton, R.S., Baldwin, G.S., 2002. Ferric Ions Are Essential for the Biological Activity of the Hormone Glycine-extended Gastrin. *J. Biol. Chem.* 277, 48602–48609. <https://doi.org/10.1074/JBC.M208440200>
- Pansuriya, P., Patel, M.N., 2008. Iron(III) complexes: Preparation, characterization, antibacterial activity and DNA-binding. *J. Biol. Chem.* 283, 230–239. <http://dx.doi.org/10.1080/14756360701474657> <https://doi.org/10.1080/14756360701474657>
- Pareek, V., Bhargava, A., Bhanot, V., Gupta, R., 2018. Formation and Characterization of Protein Corona Around Nanoparticles : A Review. *J. Nanosci. Nanotechnol.* 18, 6653–6670. <https://doi.org/10.1166/jnn.2018.15766>
- Pawar, R.S., Upadhaya, P.G., Patravale, V.B., 2018. Quantum dots: Novel realm in biomedical and pharmaceutical industry, *Handbook of Nanomaterials for Industrial Applications*. Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-813351-4.00035-3>
- Perelomov, L. V., Pinskiy, D.L., Violante, A., 2011. Effect of organic acids on the adsorption of copper, lead, and zinc by goethite. *Eurasian Soil Sci.* 2011 441 44, 22–28. <https://doi.org/10.1134/S1064229311010091>
- Perucho, J., Gonzalo-Gobernado, R., Bazan, E., Casarejos, M.J., Jiménez-Escrig, A., Asensio, M.J., Herranz, A.S., 2015. Optimal excitation and emission wavelengths to analyze amino acids and optimize neurotransmitters quantification using precolumn OPA-derivatization by HPLC. *Amino Acids* 47, 963–973. <https://doi.org/10.1007/s00726-015-1925-1>

- Phongtongpasuk, S., Poadang, S., Yongvanich, N., 2016. Environmental-friendly Method for Synthesis of Silver Nanoparticles from Dragon Fruit Peel Extract and their Antibacterial Activities. *Energy Procedia* 89, 239–247. <https://doi.org/10.1016/j.egypro.2016.05.031>
- Pietrzyk, D.J., Frank, C.W., 1979. Oxidizing and Reducing Agents as Titrants in Analytical Chemistry, in: Pietrzyk, D., Frank, C.W. (Eds.), *Analytical Chemistry*. Academic Press, pp. 265–290. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-555160-1.50016-2>
- Poornaprakash, B., Chalapathi, U., Reddeppa, M., Park, S.H., 2016. Effect of Gd doping on the structural, luminescence and magnetic properties of ZnS nanoparticles synthesized by the hydrothermal method. *Superlattices Microstruct.* 97, 104–109. <https://doi.org/10.1016/j.spmi.2016.06.013>
- Potts, P.J., 1987. Atomic absorption spectrometry, in: *A Handbook of Silicate Rock Analysis*. Springer Netherlands, pp. 106–152. [https://doi.org/10.1007/978-94-015-3988-3\\_4](https://doi.org/10.1007/978-94-015-3988-3_4)
- Priyanka, U., M, A.G.K., Elisha, M.G., B, S.T., Nitish, N., B, R.M., 2016. Biologically synthesized PbS nanoparticles for the detection of arsenic in water. *Int. Biodeterior. Biodegradation* 1–9. <https://doi.org/10.1016/j.ibiod.2016.10.009>
- Pujol, L., Evrard, D., Groenen-Serrano, K., Freyssinier, M., Ruffien-Cizsak, A., Gros, P., 2014. Electrochemical sensors and devices for heavy metals assay in water: The French groups' contribution. *Front. Chem.* <https://doi.org/10.3389/fchem.2014.00019>
- Qu, C., Yang, S., Mortimer, M., Zhang, M., Chen, J., Wu, Y., Chen, W., Cai, P., Huang, Q., 2022. Functional group diversity for the adsorption of lead(Pb) to bacterial cells and extracellular polymeric substances. *Environ. Pollut.* 295, 118651. <https://doi.org/10.1016/J.ENVPOL.2021.118651>
- Raynal, B., Lenormand, P., Baron, B., Hoos, S., England, P., 2010. Quality assessment and optimization of purified protein samples: Why and how? *Microb. Cell Fact.* 13. <https://doi.org/10.1186/s12934-014-0180-6>

- Reimann, M.J., Salmon, D.R., Horton, J.T., Gier, E.C., Jefferies, L.R., 2019. Water-Soluble Sulfonate Schiff-Base Ligands as Fluorescent Detectors for Metal Ions in Drinking Water and Biological Systems. *ACS Omega* 4, 2874–2882. [https://doi.org/10.1021/ACSOMEGA.8B02750/SUPPL\\_FILE/AO8B02750\\_SI\\_001.PDF](https://doi.org/10.1021/ACSOMEGA.8B02750/SUPPL_FILE/AO8B02750_SI_001.PDF)
- Rempel, S., Levin, A.D., Sadagov, A.Y., Rempel', A.A., 2015. Optical properties of cadmium sulfide quantum dots in water solutions. *Phys. Solid State* 57, 1103–1107. <https://doi.org/10.1134/S106378341506027X>
- Renfrew, A.K., O'Neill, E.S., Hambley, T.W., New, E.J., 2018. Harnessing the properties of cobalt coordination complexes for biological application. *Coord. Chem. Rev.* 375, 221–233. <https://doi.org/10.1016/J.CCR.2017.11.027>
- Reyes, L.R., Gómez, I., Garza, M.T., 2009. Biosynthesis of cadmium sulfide nanoparticles by the Fungi *Fusarium* sp. *Int. J. Green Nanotechnol. Biomed.* 1, 90–95. <https://doi.org/10.1080/19430850903149936>
- Riojas-Rodríguez, H., Schilman, A., López-Carrillo, L., Finkelman, J., 2013. La salud ambiental en México: situación actual y perspectivas futuras. *Salud Publica Mex.* 55, 638. <https://doi.org/10.21149/spm.v55i6.7310>
- Saallah, S., Lenggoro, I.W., 2018. Nanoparticles carrying biological molecules: Recent advances and applications. *KONA Powder Part. J.* 2018, 89–111. <https://doi.org/10.14356/kona.2018015>
- Sabela, M., Balme, S., Bechelany, M., Janot, J., Bisetty, K., 2017. A Review of Gold and Silver Nanoparticle-Based Colorimetric Sensing Assays. *Adv. Eng. Mater.* 1700270, 1–24. <https://doi.org/10.1002/adem.201700270>
- Sabri, M.A., Umer, A., Awan, G.H., Hassan, M.F., Hasnain, A., 2016. Selection of Suitable Biological Method for the Synthesis of Silver Nanoparticles. *Nanomater. Nanotechnol.* 6, 29. <https://doi.org/10.5772/62644>
- Salari, S., Esmailzadeh, S., Samzadeh-kermani, A., 2018. In-vitro Evaluation of Antioxidant and Antibacterial Potential of Green Synthesized Silver Nanoparticles Using *Prosopis farcta* Fruit Extract. *Iran. J. Pharm. Res.* 18, 430–445.

- Sandoval-Cárdenas, D.I., 2017. Síntesis por vía microbiana de nanopartículas de sulfuro de cadmio a partir de un residuo industrial. Centro de Investigación en Ciencia Aplicada y Tecnología Avanzada-IPN. <https://doi.org/10.13140/RG.2.1.2354.9680>
- Sandoval-Cárdenas, I., Gómez-Ramírez, M., Rojas-Avelizapa, N.G., 2017a. Use of a sulfur waste for biosynthesis of cadmium sulfide quantum dots with *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*. *Mater. Sci. Semicond. Process.* 63, 33–39. <https://doi.org/10.1016/j.mssp.2017.01.017>
- Sandoval-Cárdenas, I., Gómez-Ramírez, M., Rojas-Avelizapa, N.G., Vidales-Hurtado, M.A., 2017b. Synthesis of cadmium sulfide nanoparticles by biomass of *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*. *J. Nano Res.* 46, 179–191. <https://doi.org/10.4028/www.scientific.net/JNanoR.46.179>
- Sanghi, R., Verma, P., 2009. A facile green extracellular biosynthesis of CdS nanoparticles by immobilized fungus. *Chem. Eng. J.* 155, 886–891. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2009.08.006>
- SEMARNAT, 2020. Sistema Nacional de Información Ambiental y de Recursos Naturales [WWW Document]. *Sist. Nac. Inf. Ambient. y Recur. Nat.* URL <https://www.gob.mx/semarnat/acciones-y-programas/sistema-nacional-de-informacion-ambiental-y-de-recursos-naturales> (accessed 1.5.21).
- SEMARNAT, 2016. Informe de la Situación del Medio Ambiente en México, 2015th ed, Indicadores Clave, de Desempeño Ambiental y de Crecimiento Verde. <http://www.gob.mx/semarnat>, México.
- Shaligram, N., Bule, M., Bhambure, R., Singhal, R., Singh, S.K., Szakacs, G., Pandey, A., 2009. Biosynthesis of silver nanoparticles using aqueous extract from the compactin producing fungal strain. *Process Biochem.* 44, 939–943. <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2009.04.009>
- Shang, J., Xiaohu, G., 2015. Nanoparticle Counting: Towards Accurate Determination of the Molar Concentration. *Chem. Soc. Rev.* 43, 7267–7278. <https://doi.org/10.1039/c4cs00128a.Nanoparticle>

- Sharma, G., Pandey, S., Ghatak, S., Watal, G., Rai, P.K., 2018. Potential of Spectroscopic Techniques in the Characterization of " Green Nanomaterials", Nanomaterials in Plants, Algae, and Microorganisms. Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-811487-2.00003-7>
- Shirani, M., Afzali, K.N., Jahan, S., Strezov, V., Soleimani-Sardo, M., 2020. Pollution and contamination assessment of heavy metals in the sediments of Jazmurian playa in southeast Iran. *Sci. Rep.* 10, 1–11. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-61838-x>
- Shrivastava, K., Shankar, R., Dewangan, K., 2015. Gold nanoparticles as a localized surface plasmon resonance based chemical sensor for on-site colorimetric detection of arsenic in water samples. *Sensors Actuators B. Chem.* 220, 1376–1383. <https://doi.org/10.1016/j.snb.2015.07.058>
- Siddiqi, K.S., Husen, A., 2016. Fabrication of Metal Nanoparticles from Fungi and Metal Salts: Scope and Application. *Nanoscale Res. Lett.* 11, 1–15. <https://doi.org/10.1186/s11671-016-1311-2>
- Silvi, S., Credi, A., 2015. Luminescent sensors based on quantum dot-molecule conjugates. *R. Soc. Chem.* 44, 4275–4289. <https://doi.org/doi.org/10.1039/C4CS00400K>
- Simonian, M., 2002. Spectrophotometric Determination of Protein Concentration. *Curr. Protoc. Cell Biol.* 1–7.
- Stoeppler, M., 1983. Atomic absorption spectrometry - a valuable tool for trace and ultratrace determinations of metals and metalloids in biological materials. *Spectrochim. Acta Part B At. Spectrosc.* 38, 1559–1568. [https://doi.org/10.1016/0584-8547\(83\)80016-0](https://doi.org/10.1016/0584-8547(83)80016-0)
- Su, J., Zhang, T., Li, Y., Chen, Y., Liu, M., 2016. Photocatalytic Activities of Copper Doped Cadmium Sulfide Microspheres Prepared by a Facile Ultrasonic Spray-Pyrolysis Method. *Molecules* 21, 735. <https://doi.org/10.3390/molecules21060735>
- Suarez, O., Narváez, P., 2017. Fichas informativas sobre sustancias químicas.

- Suresh, S., 2013. Semiconductor Nanomaterials, Methods and Applications: A Review. *Nanosci. Nanotechnol.* 3, 62–74. <https://doi.org/10.5923/j.nn.20130303.06>
- Susana, V., Botello, A., 1998. Metal Pollution in Coastal Areas of Mexico. *Env. Contam Toxicol* 157, 53–94.
- Talekar, S., Joshi, A., Chougale, R., Nakhe, A., Bhojwani, R., 2016. Immobilized enzyme mediated synthesis of silver nanoparticles using cross-linked enzyme aggregates (CLEAs) of NADH-dependent nitrate reductase. *Nano-Structures and Nano-Objects* 6, 23–33. <https://doi.org/10.1016/j.nanoso.2016.03.002>
- Tang, H., Yan, M., Zhang, H., Xia, M., Yang, D., 2005. Preparation and characterization of water-soluble CdS nanocrystals by surface modification of ethylene diamine. *Mater. Lett.* 59, 1024–1027. <https://doi.org/10.1016/j.matlet.2004.11.049>
- Taniguchi, M., Lindsey, J.S., 2018. Database of Absorption and Fluorescence Spectra of >300 Common Compounds for use in PhotochemCAD. *Photochem. Photobiol.* 94, 290–327. <https://doi.org/10.1111/php.12860>
- Tchounwou, P.B., Yedjou, C.G., Patlolla, A.K., Sutton, D.J., 2012. Heavy metal toxicity and the environment, in: Luch, A. (Ed.), *Molecular, Clinical and Environmental Toxicology. Experientia Supplementum.* Springer, Basel, pp. 133–164. [https://doi.org/10.1007/978-3-7643-8340-4\\_6](https://doi.org/10.1007/978-3-7643-8340-4_6)
- Uddandarao, P., Balakrishnan, R.M., 2017. Thermal and optical characterization of biologically synthesized ZnS nanoparticles synthesized from an endophytic fungus *Aspergillus flavus*: A colorimetric probe in metal detection. *Spectrochim. Acta - Part A Mol. Biomol. Spectrosc.* 175, 200–207. <https://doi.org/10.1016/j.saa.2016.12.021>
- Uddandarao, P., Balakrishnan, R.M., Ashok, A., Swarup, S., Sinha, P., 2019. Bioinspired ZnS:Gd Nanoparticles Synthesized from an Endophytic Fungi *Aspergillus flavus* for Fluorescence-Based Metal Detection. *Biomimetics* 4, 11. <https://doi.org/10.3390/biomimetics4010011>
- Uddandarao, P., Mohan, R., 2016. ZnS semiconductor quantum dots production by an endophytic fungus *Aspergillus flavus*. *Mater. Sci. Eng. B Solid-State Mater. Adv. Technol.* 207, 26–32. <https://doi.org/10.1016/j.mseb.2016.01.013>

- Valko, M., Morris, H., Cronin, M., 2005. Metals, Toxicity and Oxidative Stress. *Curr. Med. Chem.* 12, 1161–1208. <https://doi.org/10.2174/0929867053764635>
- Valu, M.V., Soare, L.C., Sutan, N.A., Ducu, C., Moga, S., Hritcu, L., Boianjiu, R.S., Carradori, S., 2020. Optimization of ultrasonic extraction to obtain erinacine a and polyphenols with antioxidant activity from the fungal biomass of *Hericium erinaceus*. *Foods* 9, 1–17. <https://doi.org/10.3390/foods9121889>
- Varela, L.G., Bermejo-barrera, P., 2014. Functionalized gold nanoparticles for the detection of arsenic in water. *Talanta* 118, 262–269. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2013.10.029>
- Vargas-Marcos, F., 2018. LA CONTAMINACIÓN AMBIENTAL COMO FACTOR DETERMINANTE DE LA SALUD. *J. Bus. Contin. Emer. Plan.* 12, 4–5.
- Vijayalakshmi, M., Ruckmani, K., 2016. Ferric reducing anti-oxidant power assay in plant extract. *Bangladesh J. Pharmacol.* 11, 570–572. <https://doi.org/10.3329/bjp.v11i3.27663>
- Wang, F., Lu, Y., Chen, Y., Sun, J., Liu, Y., 2018. Colorimetric Nanosensor Based on the Aggregation of AuNP Triggered by Carbon Quantum Dots for Detection of Ag<sup>+</sup> Ions. *ACS Sustain. Chem. Eng.* 6, 3706–3713. <https://doi.org/10.1021/acssuschemeng.7b04067>
- Wei, F., Yu, H., Hu, M., Xu, G., Cai, Z., Yang, J., Li, L., Hu, Q., 2012. Manganese modified CdTe/CdS quantum dots as a highly selective probe to detect trace copper element in beer samples. *Anal. Methods* 4, 1438–1444. <https://doi.org/10.1039/c2ay05794h>
- Yildiz, Y., 2017. General Aspects of the Cobalt Chemistry. *Cobalt.* <https://doi.org/10.5772/INTECHOPEN.71089>
- Yu, R., Liu, J., Wang, Y., Wang, H., Zhang, H., 2021. *Aspergillus niger* as a Secondary Metabolite Factory. *Front. Chem.* 9, 434. <https://doi.org/10.3389/FCHEM.2021.701022/BIBTEX>
- Yu, W., Qu, L., Gou, W., Peng, X., 2003. Experimental determination of the extinction

coefficient of CdTe, CdSe, and CdS nanocrystals 125, 2854–2860.

Yuting, L., Jing, Z., Donghui, L., 2019. Preparation of cadmium sulfide nanoparticles and their application for improving the properties of the electrochemical sensor for the determination of enrofloxacin in real samples. *Chirality* 31, 174–184. <https://doi.org/10.1002/chir.23045>

Zekri, N., Zerkani, H., Elazzouzi, H., Zair, T., El Belghiti, M.A., 2021. Extracts of *m. pulegium* (L.) and *m. spicata* (L.): Effect of extraction conditions on phenolics and flavonoids contents and their antioxidant power. *Egypt. J. Chem.* 64, 1447–1459. <https://doi.org/10.21608/EJCHEM.2020.43922.2893>

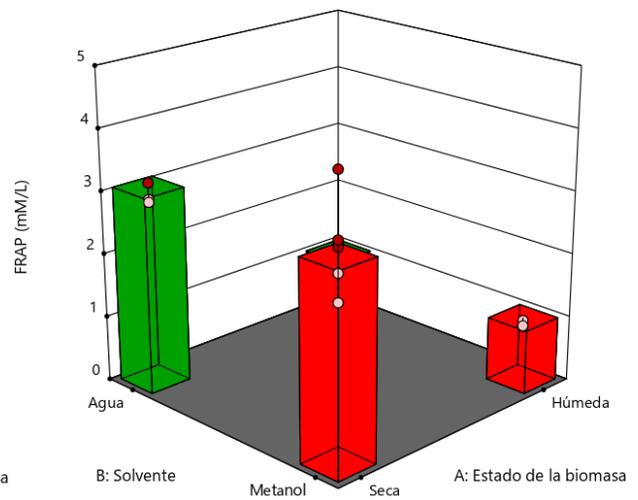
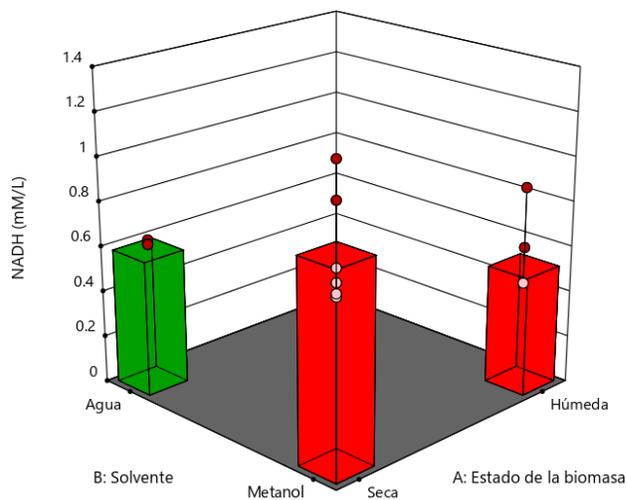
## 11 ANEXO A: Tablas

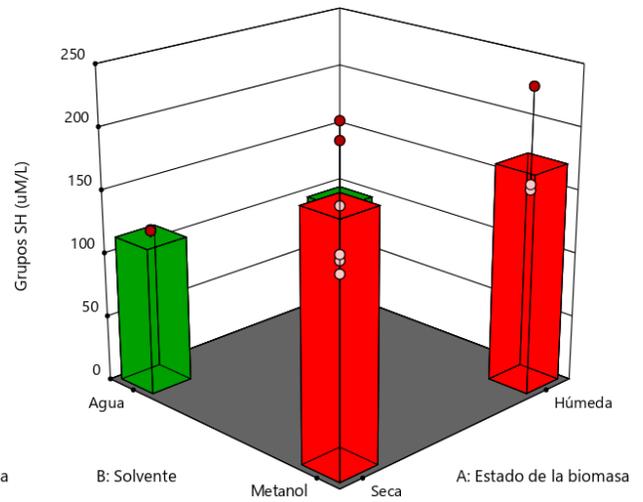
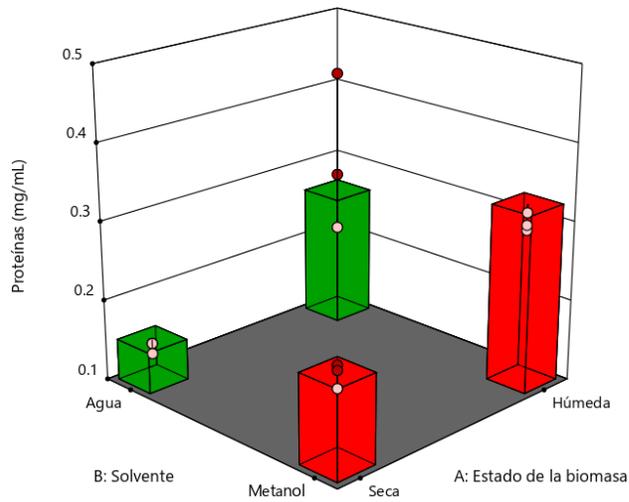
**Anexo A1.** Diseño experimental 2<sup>3</sup> con cuatro variables de respuesta de los extractos orgánicos de *Aspergillus niger*

Factores			Respuestas			
Estado de la biomasa	Solvente	Tiempo (h)	NADH (mM/L)	FRAP (mM/L)	Proteínas (mg/ml)	-SH (μM/L)
Seca	Metanol	24	0.7710	2.8679	0.2214	152.12
Seca	Metanol	24	1.2610	4.3416	0.1931	249.329
Seca	Metanol	24	0.7130	2.4407	0.2149	142.473
Húmeda	Metanol	24	0.6152	0.9799	0.2947	153.604
Húmeda	Metanol	24	0.4540	0.8818	0.3012	157.778
Húmeda	Metanol	24	0.8815	0.8916	0.3170	233.189
Seca	Agua	24	0.6490	2.9377	0.1476	121.548
Seca	Agua	24	0.6330	3.1993	0.1474	122.29
Seca	Agua	24	0.6290	2.8941	0.1339	121.399
Húmeda	Agua	24	0.2140	1.1565	0.2902	91.5504
Húmeda	Agua	24	0.5515	1.1107	0.4272	148.039

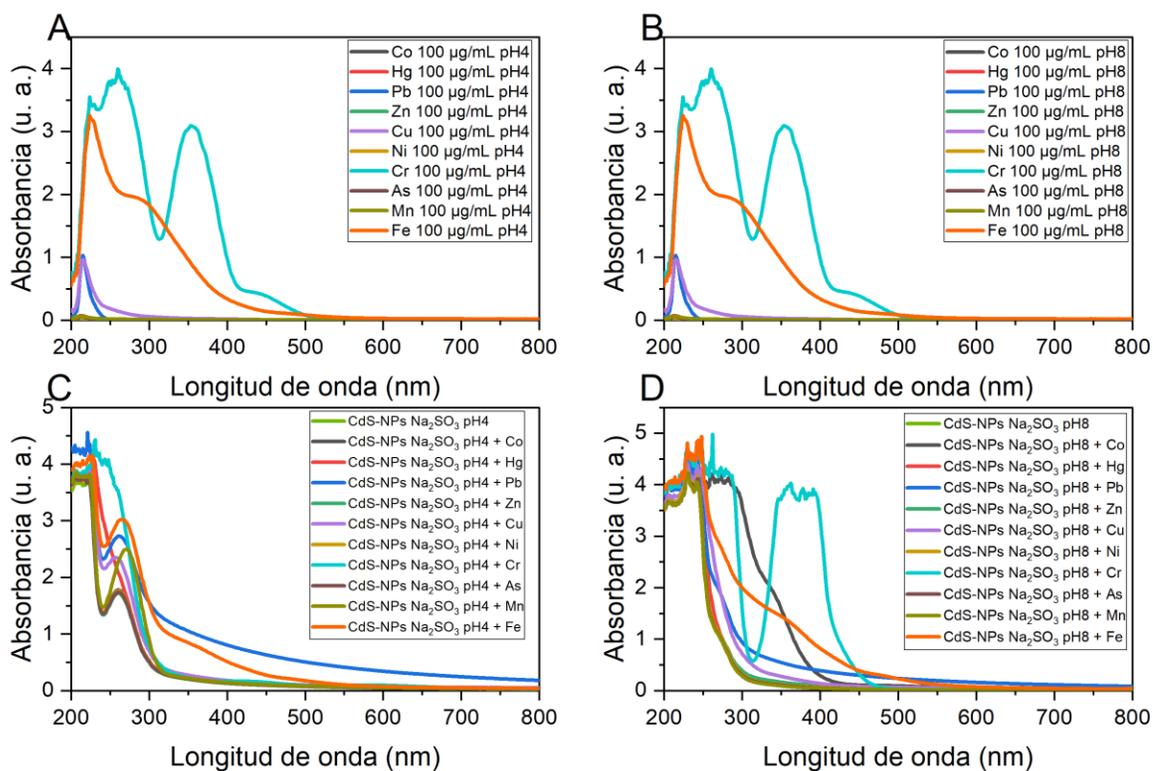
Húmeda	Agua	24	0.0827	1.2415	0.2162	48.4187
Seca	Metanol	72	0.7330	2.5017	0.2352	143.958
Seca	Metanol	72	0.6710	2.5453	0.2493	158.799
Seca	Metanol	72	0.8230	2.5627	0.2218	169.929
Húmeda	Metanol	72	0.8440	1.0191	0.3148	204.806
Húmeda	Metanol	72	0.3677	0.7608	0.3392	132.734
Húmeda	Metanol	72	0.3415	1.0943	0.3399	103.516
Seca	Agua	72	0.6550	4.3242	0.1524	96.1696
Seca	Agua	72	0.7070	4.4637	0.1326	90.9753
Seca	Agua	72	0.6670	4.3590	0.1428	87.5618
Húmeda	Agua	72	0.0902	1.7974	0.2367	40.3489
Húmeda	Agua	72	0.1090	1.9282	0.2420	49.8101
Húmeda	Agua	72	0.1502	1.562	0.2596	87.9329

## 12 ANEXO B: Figuras

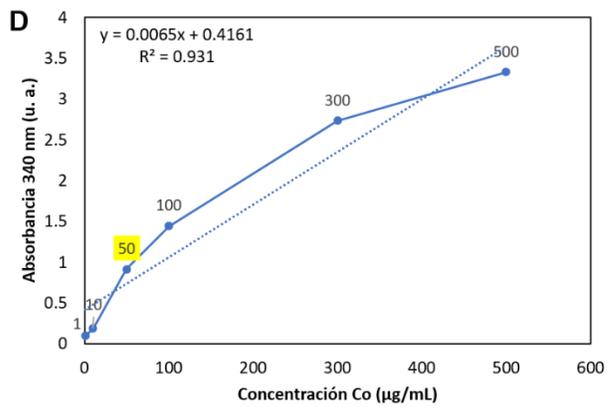
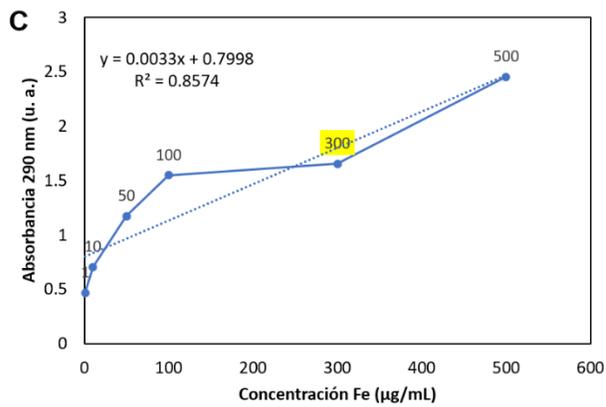
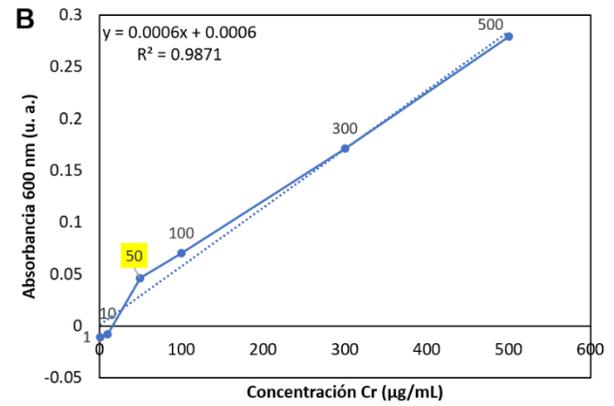
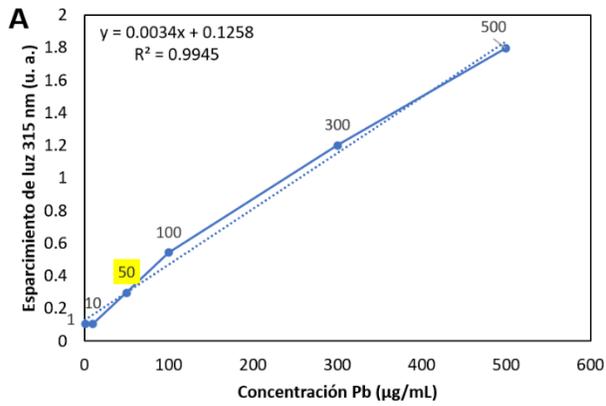




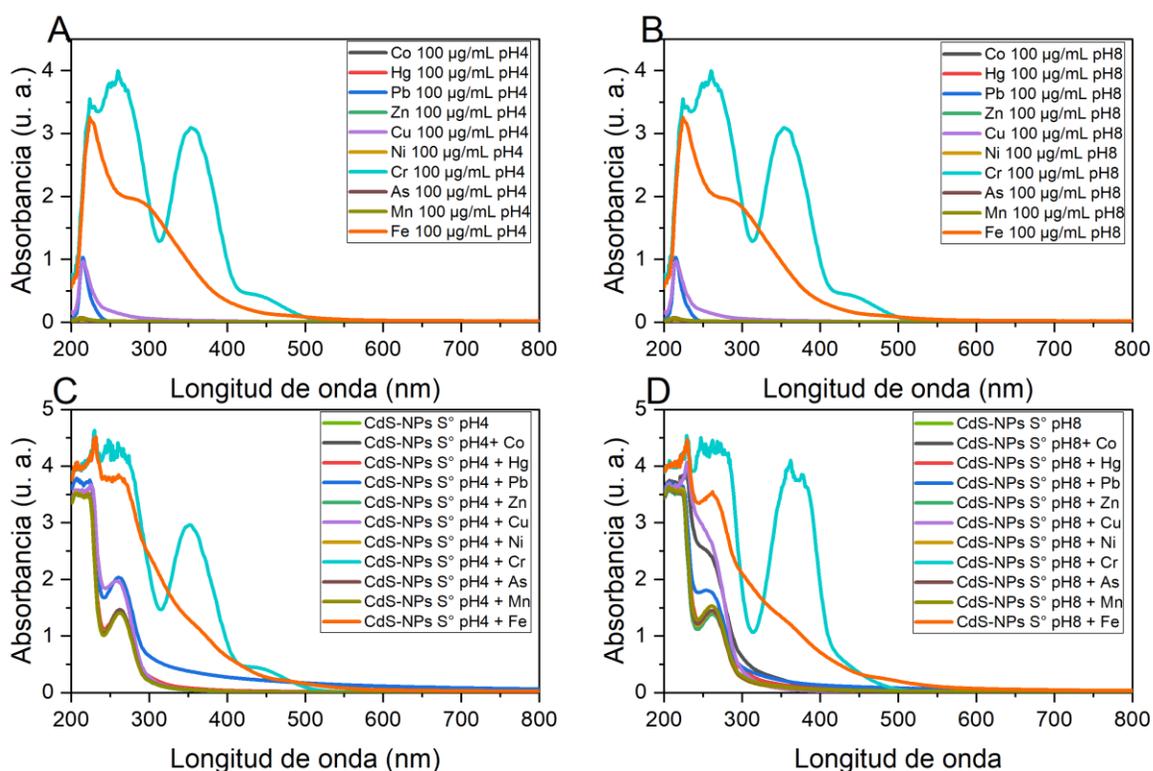
**Anexo B1.** Gráfico de superficie de respuesta para la concentración de NADH, FRAP, Proteínas y -SH de los extractos orgánicos de *Aspergillus niger*. Los gráficos muestran el factor “Estado de la biomasa” y “Solvente” con un tiempo de incubación de 24 h. En puntos color rosa se indica las mediciones por abajo del valor previsto, mientras que en puntos de color rojo se muestran las mediciones por encima del valor previsto.



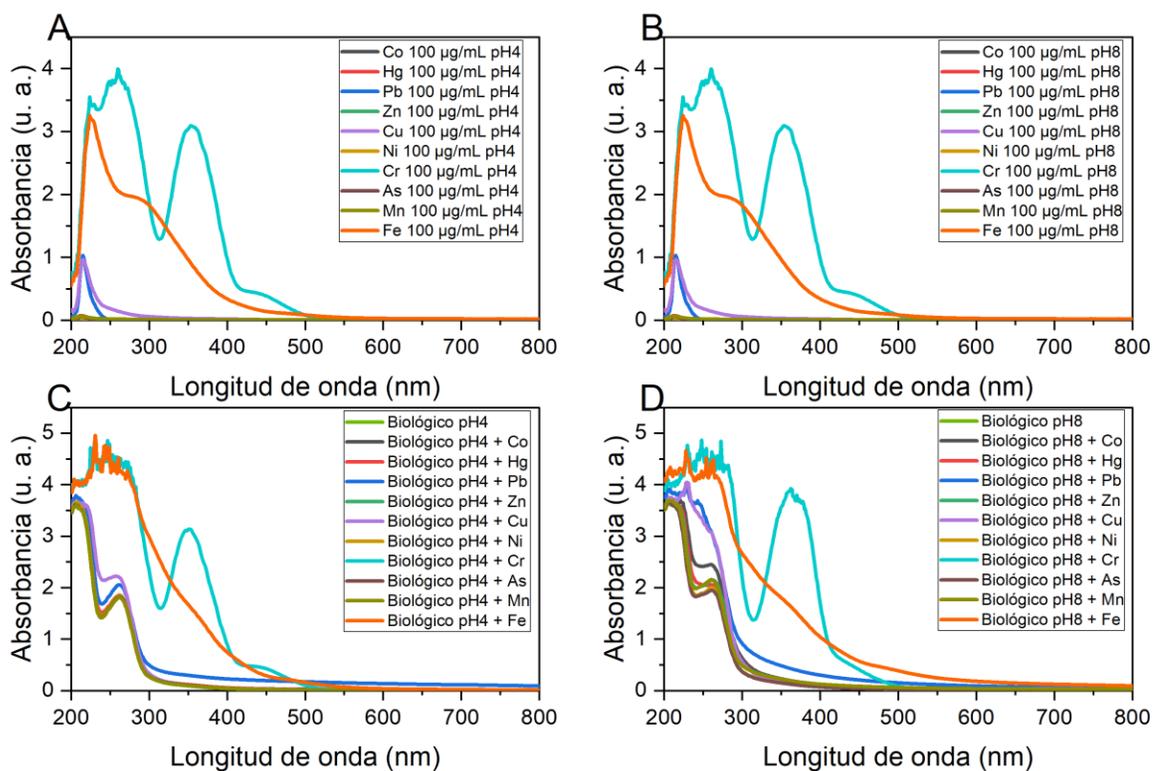
**Anexo B2.** Análisis espectrofotométrico de la interacción de las CdS-NPs sintetizadas a partir de Na<sub>2</sub>SO<sub>3</sub> con los iones metálicos en solución a 100 µg/mL. A; iones metálicos a 100 µg/mL en agua pH 4, B; iones metálicos a 100 µg/mL en agua pH 8. Los iones metálicos son provenientes de diversas sales metálicas descritas en la metodología. C; CdS-NPs sintetizadas a partir de Na<sub>2</sub>SO<sub>3</sub> en presencia de los iones metálicos a 100 µg/mL y pH 4, D; CdS-NPs sintetizadas a partir de Na<sub>2</sub>SO<sub>3</sub> en presencia de los iones metálicos a 100 µg/mL y pH 8.



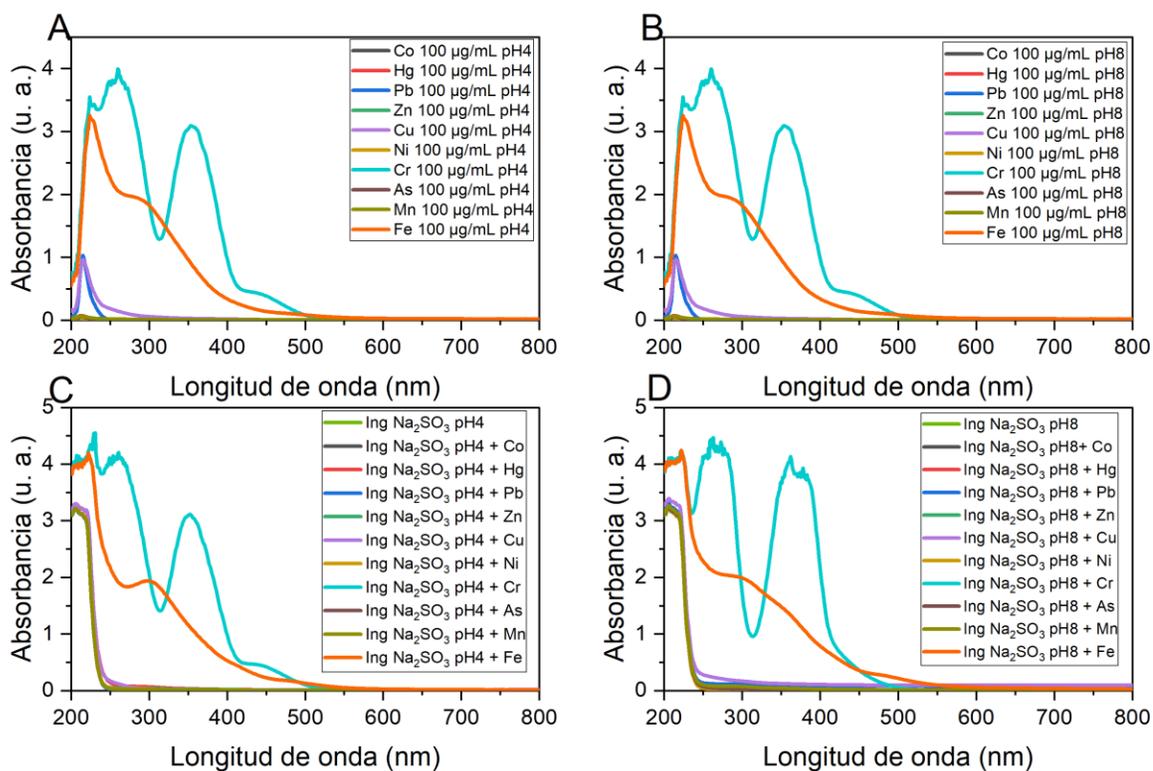
**Anexo B3.** Análisis del límite de detección de A;  $\text{Pb}^{2+}$  (315 nm), B;  $\text{Cr}^{6+}$  (600 nm), C;  $\text{Fe}^{3+}$  (290 nm) y D;  $\text{Co}^{2+}$  (340 nm) a partir de CdS-NPs sintetizadas a partir  $\text{Na}_2\text{SO}_3$  mediante espectrofotometría UV-Vis.



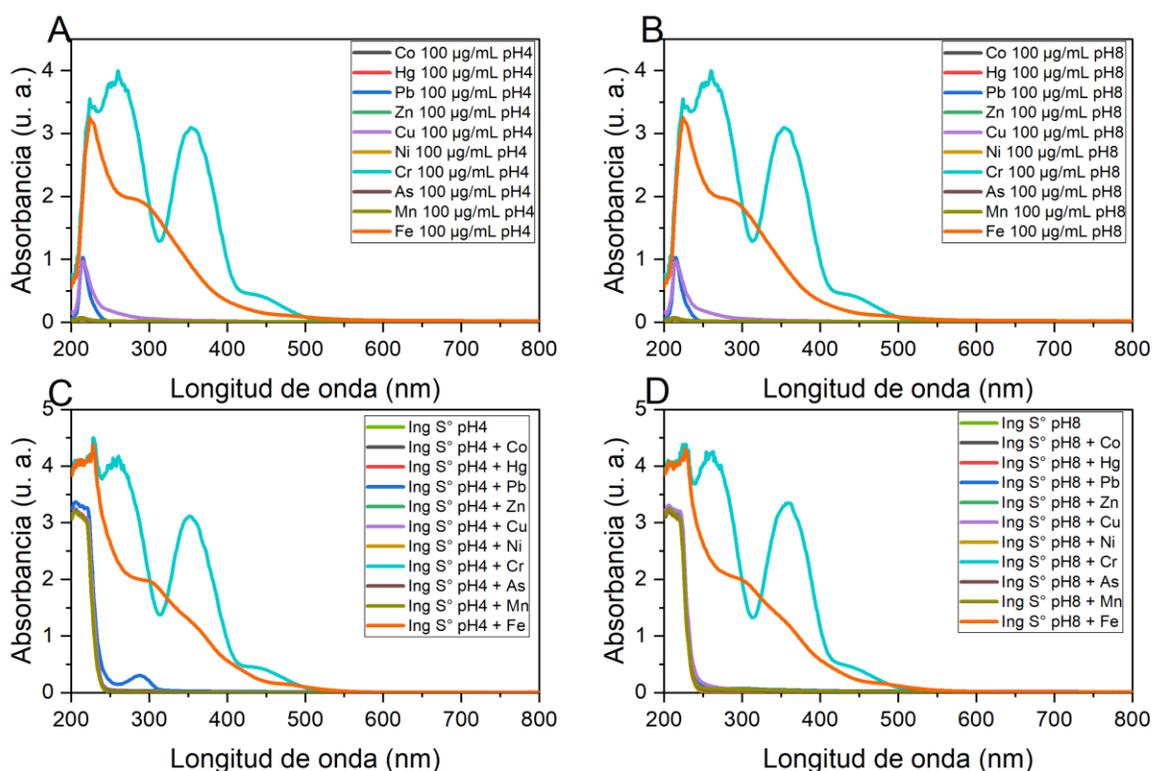
**Anexo B4.** Análisis espectrofotométrico de la interacción de las CdS-NPs sintetizadas a partir de S<sup>2-</sup> con los iones metálicos en solución a 100 µg/mL. A; iones metálicos a 100 µg/mL en agua pH 4, B; iones metálicos a 100 µg/mL en agua pH 8. Los iones metálicos son provenientes de diversas sales metálicas descritas en la metodología. C; CdS-NPs sintetizadas a partir de S<sup>2-</sup> en presencia de los iones metálicos a 100 µg/mL y pH 4, D; CdS-NPs sintetizadas a partir de S<sup>2-</sup> en presencia de los iones metálicos a 100 µg/mL y pH 8.



**Anexo B5.** Análisis espectrofotométrico de la interacción del control biológico de *Aspergillus niger* con los iones metálicos en solución a 100 µg/mL. A; iones metálicos a 100 µg/mL en agua pH 4, B; iones metálicos a 100 µg/mL en agua pH 8. Los iones metálicos son provenientes de diversas sales metálicas descritas en la metodología. C; control biológico de *A. niger* en presencia de los iones metálicos a 100 µg/mL y pH 4, D; control biológico de *A. niger* en presencia de los iones metálicos a 100 µg/mL y pH 8.



**Anexo B6.** Análisis espectrofotométrico de la interacción del control inorgánico de Na<sub>2</sub>SO<sub>3</sub> y Cd(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>\*4H<sub>2</sub>O con los iones metálicos en solución a 100 µg/mL. A; iones metálicos a 100 µg/mL en agua pH 4, B; iones metálicos a 100 µg/mL en agua pH 8. Los iones metálicos son provenientes de diversas sales metálicas descritas en la metodología. C; control inorgánico de Na<sub>2</sub>SO<sub>3</sub> y Cd(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>\*4H<sub>2</sub>O en presencia de los iones metálicos a 100 µg/mL y pH 4, D; control inorgánico de Na<sub>2</sub>SO<sub>3</sub> y Cd(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>\*4H<sub>2</sub>O en presencia de los iones metálicos a 100 µg/mL y pH 8.



**Anexo B7.** Análisis espectrofotométrico de la interacción del control inorgánico de S<sup>2-</sup> y Cd(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>·4H<sub>2</sub>O con los iones metálicos en solución a 100 µg/mL. A; iones metálicos a 100 µg/mL en agua pH 4, B; iones metálicos a 100 µg/mL en agua pH 8. Los iones metálicos son provenientes de diversas sales metálicas descritas en la metodología. C; control inorgánico de S<sup>2-</sup> y Cd(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>·4H<sub>2</sub>O en presencia de los iones metálicos a 100 µg/mL y pH 4, D; control inorgánico de S<sup>2-</sup> y Cd(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>·4H<sub>2</sub>O en presencia de los iones metálicos a 100 µg/mL y pH 8.