

Obtención de nanopartículas y micropartículas orgánicas fluorescentes estabilizadas con almidón de amaranto para su potencial aplicación en bioimagen Obtaining fluorescent organic nanoparticles and microparticles stabilized with amaranth starch for their potential application in bioimaging

T. Iturbide-Pichardo ^a, O. J. Hernández-Ortiz ^{b*}, A. Vargas-Torres ^c, R. A. Vázquez-García ^b, J. E. Muñoz-Pérez ^d
b, R. Leyva López ^d

^a Área Académica de Química, Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo, 42184, Pachuca, Hidalgo, México.

^b Área Académica de Ciencias de la Tierra y Materiales, Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo, 42184, Pachuca, Hidalgo, México.

^c Centro de Investigación en Ciencia y Tecnología de Alimentos, Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo, 43600, Tulancingo de Bravo, Hidalgo, México.

^d Tecnológico Nacional de México/ Instituto Tecnológico Superior de Venustiano Carranza, 73049, Ciudad Lázaro Cárdenas, Puebla, México.

Resumen

En este trabajo se reporta la extracción de almidón a partir de amaranto por un método convencional y su empleo como estabilizador de nanoagregados de derivados de bisquinolinas (BQ1 y BQ2). Las propiedades fisicoquímicas mostradas en el almidón aislado fueron: capacidad de retención de agua $205.6\% \pm 6.1\%$, capacidad de absorción de aceite $208.4\% \pm 3.6\%$, claridad de la pasta $92.7\% \pm 0.99\%$. Se obtuvieron nano y microagregados de BQ1 y BQ2 estabilizados con almidón con diámetros mínimos aproximados de 296 y 68 nm respectivamente obtenidos por DLS. El almidón no afecta a las propiedades fotofísicas de emisión inducida por agregación ni la respuesta no lineal de los compuestos. Por lo que el almidón extraído del amaranto puede ser un biopolímero para la encapsulación de potenciales agentes de contraste para bioimagen.

Keywords: Amaranto, fluorescencia, bioimagen, almidón.

Abstract

This study presents the conventional extraction of starch from amaranth and its utilization as a stabilizing agent for nanoaggregates of bisquinoline derivatives (BQ1 and BQ2). The physicochemical properties of the isolated starch were as follows: water retention capacity ($205.6\% \pm 6.1\%$), oil absorption capacity ($208.4\% \pm 3.6\%$), and paste clarity ($92.7\% \pm 0.99\%$). Starch-stabilized nano- and microaggregates of BQ1 and BQ2 with minimum diameters of approximately 296 and 68 nm, respectively, were obtained by DLS. The results demonstrated that starch does not affect the photophysical properties of aggregation-induced emission or the nonlinear response of the compounds. Consequently, the starch extracted from amaranth can be a biopolymer for encapsulating potential contrast agents for bioimaging.

Keywords: Amaranth, fluorescence, bioimaging, starch.

1. Introducción

En los últimos años las moléculas con sistema π -conjugado han recibido gran atención de la comunidad científica debido a las propiedades ópticas y electrónicas intrínsecas que exhiben, pero principalmente a la modulación de dichas propiedades mediante el diseño molecular racionalizado (Lei *et al.*, 2014; Scharber & Sariciftci, 2021; Shao *et al.*, 2020;

Zhou *et al.*, 2012). Entre las aplicaciones más sobresalientes de este tipo de moléculas de bajo peso molecular (Cao *et al.*, 2019) o copolímeros (Wu *et al.*, 2008) se encuentran las áreas de optoelectrónica (Han *et al.*, 2021; Murad *et al.*, 2020) y la biomédica (Sharath Kumar *et al.*, 2021; Uddin *et al.*, 2020; Zhang *et al.*, 2020).

Dentro de las aplicaciones biomédicas de las moléculas con sistema π -conjugados se encuentra su uso como agentes

*Autor para la correspondencia: javier_hernandez@uaeh.edu.mx

Correo electrónico: it429528@uaeh.edu.mx (Thamara Iturbide-Pichardo), javier_hernandez@uaeh.edu.mx (Oscar Javier Hernández-Ortiz), apolonio@uaeh.edu.mx (Apolonio Vargas-Torres), rosavg@uaeh.edu.mx (Rosa Angeles Vázquez García), ingtelecom617@gmail.com (Josué Esaú Muñoz-Pérez) y leyva.roma11@gmail.com (Román Leyva-López)

terapéuticos (Prieto-Montero *et al.*, 2020) y su empleo como agentes de contraste para la obtención de bioimágenes (Li *et al.*, 2019). El área de bioimagen ha tenido un gran desarrollo, debido a que impacta también en el diagnóstico oportuno de ciertas enfermedades (Li *et al.*, 2021). Los agentes de contraste permiten la obtención de bioimágenes en tejidos profundos, facilitando diagnósticos clínicos precisos. Un buen agente de contraste debe presentar baja toxicidad y vida media de circulación prolongada (Shang *et al.*, 2024). Los compuestos π -conjugados suelen exhibir hidrofobicidad, lo cual representa una limitante para su uso en un medio biológico. Ante ello, el procesamiento de este tipo de compuestos como nanopartículas orgánicas permite el ser dispersadas en un medio acuoso y que sean compatibles con el medio biológico y además debido al tamaño de las partículas permitir su internalización dentro de las células de interés (Kim *et al.*, 2007; Montaseri *et al.*, 2020). La obtención de bioimágenes mediante técnicas como la microscopía confocal requiere de agentes de contraste que exhiban fluorescencia (Hickey *et al.*, 2004), la mayoría de los compuestos fluorescentes presentan un apagamiento de la fluorescencia conforme se van agregando. Sin embargo, algunos compuestos pueden exhibir emisión inducida por agregación (AIE), este debido a la restricción de movimiento vibracional o rotacional de ciertos grupos (Majumder *et al.*, 2023; Sharath Kumar *et al.*, 2021). Nanopartículas de compuestos que exhiben AIE son prometedores agentes de contraste (Hahn *et al.*, 2011; H. Li *et al.*, 2022).

Las nanopartículas orgánicas suelen ser recubiertas con el fin de conferirles mayor estabilidad y reducir drásticamente la citotoxicidad que podrían exhibir los compuestos, para ello se ha reportado el uso de derivados de sílice (Zhao *et al.*, 2004) y de polímeros biocompatibles como el polietilenglicol (PEG) (Neumann *et al.*, 2021), policaprolactona (PCL) y quitosano (Luo *et al.*, 2013; Trejo-Santillan *et al.*, 2022), entre otros.

El almidón es un polisacárido fácilmente disponible, económico, renovable y biodegradable que se utiliza ampliamente en las industrias alimentaria, farmacéutica y otras (Masina *et al.*, 2017 & Su *et al.*, 2020). Está compuesto de dos biopolímeros amilosa y amilopectina, que forman una estructura semicristalina de tamaño variable (Wang & Copeland, 2015). Las propiedades funcionales del almidón están influenciadas por factores como el tamaño de partícula, la relación amilosa: amilopectina y la estructura (Peng & Yao, 2018), que puede variar debido a sus diferentes fuentes (Guo *et al.*, 2017). Entre numerosos almidones, el almidón de amaranto ha ganado una atención significativa debido a su tamaño de gránulo pequeño, alta solubilidad y biocompatibilidad con la fisiología humana (Middlewood & Carson, 2012 & García-Armenta *et al.*, 2021). Almidones de gránulo pequeño contribuyen a la funcionalidad física del almidón, mejora la capacidad de absorción de agua y aceite, el poder de hinchamiento, solubilidad y las propiedades de pegado (Li *et al.*, 2023).

Las propiedades únicas del almidón de amaranto lo hacen adecuado para diversas aplicaciones. Estudios exploraron el uso de biopolímeros a base de amaranto como materiales encapsulantes para compuestos bioactivos (Coelho *et al.*,

2018). Se ha empleado como material encapsulante para producir microcápsulas para transportar probióticos (Cortés *et al.*, 2014) o aceite esencial de limón, un compuesto hidrófobo (Kshirsagar & Singhal, 2008). También hay reportes de la obtención de nanopartículas para uso como aditivo a biopelículas para industria alimentaria (Campelo *et al.*, 2020). Pero la aplicación de las nanopartículas de almidón tiene un alcance mayor. Su posible modificación superficial química o física, así como la inclusión de injertos de otros polímeros dan una gran gama propiedades como tamaño, cristalinidad, hidrofobicidad y potencial zeta (Torres & De la Torre, 2022). Destaca su uso en la encapsulación de compuestos bioactivos donde un reto sigue siendo el tamaño de las partículas por lo general, arriba de los 100 nm (Morán *et al.*, 2021). Y por ello es altamente atractivo su posible uso en la encapsulación de fármacos para su posterior liberación prolongada, en la que las partículas se cargan con el fármaco en cuestión (Troncoso & Torres, 2020). El aprovechar las propiedades mecánicas por la cual se han empleado en aplicaciones de películas alimentarias y la compatibilidad con el medio biológico que requiere las aplicaciones con compuestos bioactivos que han sido reportadas (*vide supra*) se pueden aprovechar en el desarrollo de nanomateriales para bioimagen, donde el almidón actúe como agente encapsulante y le brinde biocompatibilidad y estabilidad al compuesto π -conjugado que brinda sus propiedades fotofísicas de emisión.

En trabajos previos se ha reportado la síntesis y caracterización de bisquinolinas, en este trabajo denominadas bisquinolina 1 (BQ1) (Islas-Rodríguez *et al.*, 2023) y bisquinolina 2 (BQ2) (Esquivel-González *et al.*, 2023). Se ha reportado que BQ2 presenta emisión inducida por agregación y respuesta no lineal. Es este trabajo presentamos el uso de un almidón extraído del amaranto como agente estabilizante o encapsulante de nanoagregados de bisquinolinas que exhiben AIE y que son prometedores agentes de contraste para bioimagen.

2. Metodología

Los reactivos para la síntesis de BQ1 y BQ2 (ver Figura 1) fueron adquiridos de Sigma Aldrich.

2.1. Síntesis de bisquinolinas

La síntesis de BQ1 y BQ2 se llevó a cabo conforme a los reportado por Esquivel-González *et al.*, (2023) & Islas-Rodríguez *et al.*, (2023). De manera general la reacción de condensación se llevó de la siguiente manera: En matraz balón con refrigerante y agitador magnético se adicionan tereftaldehído (para obtener BQ1) o 2,5-tiofenedicarboxaldehído (para obtener BQ2) y 2-metilquinolina en una relación molar de 1:2 (aldehído: quinaldina). Se lleva a reflujo a 120 °C durante 8 h. El crudo de reacción se deja enfriar a temperatura ambiente. Finalmente, la solución se purifica mediante filtración seguida de un lavado minucioso con 100 mL de etanol frío y finalmente por columna cromatográfica. Las estructuras moleculares de las bisquinolinas se muestran en la Figura 1.

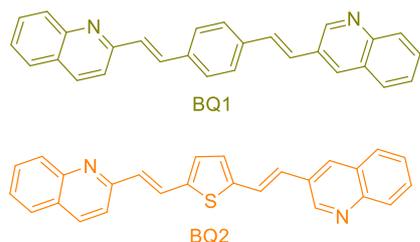


Figura 1: Estructuras moleculares de BQ1 y BQ2.

2.2. Extracción de almidón

Las semillas de amaranto se limpiaron, secaron a 40 °C durante 48 h y molieron. Para la extracción se utilizó agua destilada. La relación grano: agua destilada (1:5) se dejó en remojo a 4 °C durante 20 h. Posteriormente se pasó la muestra por tamices de tamaños de malla 100, 200 y 300 (BSS), respectivamente. El filtrado recolectado después de la filtración se denominó almidón lechoso obtenido en la primera etapa y el residuo retenido en los tamices se recogió y se molió en húmedo con agua fresca (1:5) durante 2.5 minutos y se volvieron a aplicar los procesos de filtración. El filtrado se centrifugó a 3,000× g durante 15 minutos. Se recuperó el precipitado y se realizaron dos lavados con agua destilada y posteriormente se secó a 40 °C durante 24 h y luego se pasó a través de un tamiz de tamaño de malla 100 (BSS) para la formación de polvo.

2.3. Propiedades funcionales del almidón

Color y claridad de pasta. Para la medición de color se utilizó el colorímetro Hunter (Modelo i5 Green Macbeth, EE. UU.) para determinar los valores L^* , a^* y b^* . Para la claridad de la pasta se prepararon suspensiones al 1% con agua destilada, se calentaron en un baño de agua hirviendo durante 1 h con agitación constante y se enfriaron a temperatura ambiente (Sandhu & Singh, 2007). La claridad de la pasta se absorbió como porcentaje de transmitancia a 640 nm frente a agua como blanco con espectrofotómetro UV (Spectronics Genesys 5 UV/Vis, Rochester, NY, EE. UU.).

Amilosa. Se determinó por una modificación de Hoover & Ratnayake (2001) al método propuesto por McGrance et al., (1998). Se disolvieron 20 mg de almidón en 8 mL de una solución de hidróxido de potasio (KOH) 1M, agitando vigorosamente por 12 h a 4 °C, posteriormente se neutralizó el pH y se aforó a 25 mL. Se tomó una alícuota de 0.5 mL y se transfirió a un matraz de 25 mL, se adicionaron 10 mL de agua destilada y 0.5 mL de una solución de yodo/yoduro de potasio (I_2/KI), se aforó con agua destilada y se dejó reposar por 15 min. antes de leer la absorbancia a 600 nm.

Humedad, absorción de agua y aceite. La humedad se determinó de acuerdo con el método 44-16 descrito por la AACC. Se agregó 1 g de almidón en charolas de aluminio y se dejaron a 105 ± 2 °C por 4 h. Para los parámetros de absorción se pesó 1 g de almidón, se agitó con 10 mL de agua y/o aceite de soja en un tubo de centrifuga de 15 mL durante 20 min, después se centrifugaron a 4,000× g durante 15 min. A continuación, se eliminó el sobrenadante. El aceite y el agua restantes se decantaron usando papel de filtro. La capacidad de absorción se calculó como el peso del precipitado húmedo dividido por el peso seco de la muestra (g/g).

Solubilidad (S) y Poder de hinchamiento (SP). Se siguió una metodología de acuerdo con diferentes autores (Adebooye & Singh, 2008; Kong et al., 2009; Wang & Wang, 2004). Se añadieron 0.4 g de almidón en agua destilada y luego se calentaron a diferentes temperaturas 60, 70, 80 y 90 °C con agitación suave durante los primeros 15 min para cada temperatura y después se añadieron 2.5 mL de agua destilada. Seguido de un calentamiento durante 30 min. Posteriormente, las muestras se enfriaron en un baño de hielo por 30 min y se centrifugaron a 5,000 rpm durante 30 min. En charolas para determinar humedad previamente pesadas, se drenó el sobrenadante y luego se secó a 100 °C en un horno de aire caliente y luego se enfrió en un desecador a temperatura ambiente. SP y S se midieron de la siguiente manera:

$$SP (g/g) = \frac{\text{Peso del sedimento (masa húmeda)}}{\text{Peso inicial de almidón}} \quad (1)$$

$$S (\%) = \frac{\text{Masa de sólidos secos}}{\text{Peso inicial de almidón}} \times 100 \quad (2)$$

2.4. Caracterización de partículas

Se emplearon los espectrofotómetros de absorción UV-Vis modelo Lambda XLS y de fluorescencia modelo L55S, ambos marca Perkin Elmer para la caracterización óptica. El estudio de la respuesta de óptica no lineal se llevó a cabo mediante la técnica de Z-scan usando las configuraciones de apertura cerrada y apertura abierta. Se empleó un láser de onda continua ($\lambda = 532$ nm). La transmitancia óptica se midió utilizando un medidor de potencia óptica modelo 2935T-C y un sensor óptico 918- SL, ambos de la marca Newport. Para la determinación de los diámetros de las partículas en suspensión acuosa se empleó la técnica de dispersión de luz láser (DLS) usando un Zetasizer Nano ZS Instrument marca Malvern Panalytical.

2.5. Fabricación de nano y micropartículas

Se preparó una solución acuosa saturada del almidón extraído y aislado. Se prepararon soluciones en THF de BQ1 y BQ2 con una concentración de 1.5×10^{-4} M. Se inyectaron gota a gota 1 mL de la solución de BQ1 y BQ2 a 5 mL de la solución acuosa, mientras se sónica. Terminada la adición de la solución del cromóforo se deja sonicar 30 min más y se inyecta nitrógeno para evaporar el THF presente en la suspensión. Una vez libre de THF se pasa por un filtro de 0.2 micras y se afora a 5 mL.

3. Resultados y discusión

3.1. Caracterización del almidón de amaranto

Color y claridad de pasta. Los parámetros de color (L^* , a^* y b^*) y claridad de la pasta se observan en la Tabla 1, valores similares a lo reportado por Mohammadi et al., 2022 y se pueden relacionar con el método de aislamiento. El aislamiento del almidón de las semillas y la harina de amaranto plantea

algunas dificultades porque la fibra y la proteína pueden sedimentarse con el almidón formando una capa marrón; además, algunas especies de amaranto contienen un nivel de proteína más alto que la mayoría de los cereales (Mérida-López *et al.*, 2024). Varios problemas, incluido el hinchamiento de los gránulos, la lixiviación de amilosa y amilopectina y la longitud de la cadena de amilosa y amilopectina, podrían ser responsables de la disminución de la claridad de la pasta de almidones durante el almacenamiento (Jacobson *et al.*, 1997). Sin embargo, una mayor claridad de la pasta está correlacionada positivamente con el valor de color y transparencia del producto formado a partir de estos almidones (Chandla *et al.*, 2017).

Tabla 1: Parámetros de color y claridad de pasta de almidón de amaranto.

L*	Color		Claridad de pasta (%)
	a*	b*	
85.41 ± 1.52	0.23 ± 0.02	7.96 ± 0.19	92.7% ± 0.99

Los datos de claridad de la pasta y color fueron el promedio de tres y diez repeticiones ± desviación estándar, respectivamente.

Amilosa. El valor fue de 5.43% (ver Tabla 2), similar a lo reportado por otros autores para diferentes genotipos de amaranto (Choi *et al.*, 2004; Hoover *et al.*, 1998). El contenido de amilosa afecta las propiedades fisicoquímicas y funcionales del almidón de amaranto, incluyendo la gelatinización, poder de hinchamiento, viscosidad máxima, cristalinidad y la formación de películas. El valor reportado en este estudio es mucho más bajo que el de los cereales de fuentes convencionales como el maíz, el trigo o el arroz (20-22 %) (Sasaki *et al.*, 2000; Pérez & Bertoft, 2010). Maningat *et al.* (2009) observaron que bajo contenido de amilosa se correlaciona con otras propiedades. En su estudio el poder de hinchamiento del almidón de trigo céreo (bajo en amilosa) a 40-90 °C fue casi el doble que el del almidón de trigo normal, de acuerdo con la correlación negativa del contenido de amilosa con el poder de hinchamiento (a ~100 °C).

Humedad, absorción de agua y aceite. El contenido de humedad fue de 7.8% (ver Tabla 2). Bello-Pérez *et al.* (1998) reportaron un contenido de humedad menor (5.2%). Esto puede ser explicado por las diferencias en los métodos de aislamiento, superficie de adsorción y estructura del almidón resultante. Por otro lado, la capacidad de absorción de agua y aceite de los almidones de amaranto fueron de 205.6% y 208.4%, respectivamente (ver Tabla 2). El tamaño del gránulo podría ser el responsable de este comportamiento. En general, los almidones con gránulos pequeños resultan en una gran área de superficie específica para absorber agua y aceite (Yadav *et al.*, 2023). Chen *et al.* (2019) reportaron valores de poder de hinchamiento de 36.2 g/g y 25.2 g/g; de solubilidad de 13.9% y 9.1% para almidones de papa con tamaños de gránulo de 13.6 µm y 55.86 µm respectivamente. Varios factores pueden explicar las diferencias dependientes del tamaño. Primero, los gránulos más pequeños tienen una mayor área de superficie específica (Chen *et al.*, 2019a) y una vía de difusión más corta para que las moléculas de agua accedan. Segundo, estudios previos han informado que la amilosa y los complejos amilosa-lípido inhiben el hinchamiento de los gránulos de almidón. Por lo tanto, el nivel relativamente bajo de amilosa en los gránulos pequeños puede haber mejorado su capacidad para absorber agua (Chen *et al.*, 2019).

Tabla 2: Propiedades funcionales de almidón aislado de amaranto.

Amilosa (%)	Humedad (%)	Absorción agua (%)	Absorción aceite (%)
5.43 ± 0.44	7.8 ± 0.6	205.6 ± 6.1	208.4 ± 3.7

Los datos son el promedio de tres repeticiones ± desviación estándar.

Solubilidad (S) y Poder de hinchamiento (SP). La Figura 2 muestra los cambios que se producen en los gránulos de almidón en presencia de una cantidad suficiente de agua y calor. Cuando los gránulos de almidón se calientan en agua, los enlaces de hidrógeno molecular se rompen, lo que provoca la destrucción de la estructura cristalina del almidón y la posterior disolución e hinchamiento de los gránulos (Shen *et al.*, 2024). La hinchazón de los gránulos de almidón aumenta después de 75 °C, como ya se observó en almidones céreos y no céreos (Lin *et al.*, 2013). El poder de hinchamiento y solubilidad fue menor a lo reportado por otros autores (Mérida-López *et al.*, 2024). La disminución de estos valores se ha atribuido a la reorganización interna de los gránulos de almidón (Hoover & Manuel, 1996), particularmente amilopectina e interacción entre amilosa-amilopectina, cadenas amilosa-amilosa, dentro de los gránulos de (Gunaratne & Hoover, 2002). Además, Waduge *et al.* (2006) informaron que la creación de complejos amilosa-lípido podría haber resultado en una disminución de la SP. Se ha informado de una disminución similar de la SP para el almidón de trigo sarraceno (Liu *et al.*, 2015).

Un poder de hinchamiento alto puede tener un efecto negativo en el tamaño de las partículas obtenidas por el método de reprecipitación (*vide infra*), debido a que están suspendidas en un medio acuoso.

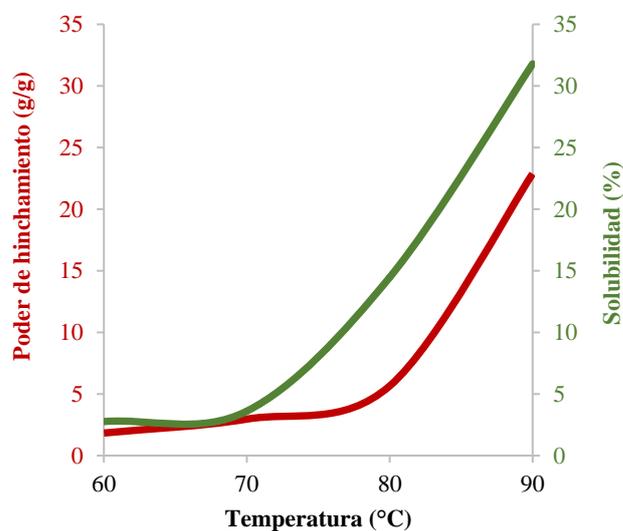


Figura 2: Poder de hinchamiento y solubilidad del almidón de amaranto a diferentes temperaturas.

3.2. Determinación de tamaño de partícula por DLS

La reprecipitación de BQ1 y BQ2 dio como resultado la obtención de suspensiones acuosas. Después de varias repeticiones, las partículas obtenidas eran visiblemente más grandes de lo esperadas. Por medio de DLS se obtuvieron los diámetros hidrodinámicos de ambas suspensiones. Como se

puede observar en la Figura 3a y 3b, BQ1 presenta un diámetro hidrodinámico de partícula por arriba de los 290 nm, es decir, se obtuvieron micropartículas. En el caso de BQ2, como se presentan en la Figura 4a se obtuvieron dos poblaciones de partículas una con un diámetro hidrodinámico de 68 nm y otra de 457 nm, en este caso se obtuvieron tanto nano como micropartículas, es importante señalar que la intensidad no es reflejo del número de partículas de cada tamaño y es más sensible en la presencia de partículas de mayor tamaño. Si vemos la distribución de los diámetros en función de número podemos ver que las partículas obtenidas son en su mayoría nanopartículas con diámetro aproximado de 59 nm.

Se determinó la potencial zeta de las suspensiones acuosas de BQ1 y BQ2, las distribuciones se muestran en la Figura 3c y 4c y los valores se condensan en la Tabla 3. Como se puede observar los valores de potencial zeta son menores de ± 30 mV, lo cual nos indica una tendencia a la aglomeración de las partículas (Bhattacharjee, 2016; Kumar & Dixit, 2017), lo cual también es consistente con el comportamiento de las partículas y su distribución de tamaño obtenidos. El signo negativo del potencial zeta no indica una carga negativa en la superficie de las partículas, lo que provoca la repulsión entre ellas. Una posible modificación en aras de aumentar la estabilidad de los nanoagregados puede ser incluir poloxámeros en la formulación del agente estabilizante, se ha reportado buenos resultados empleando poloxámeros en conjunto con otros polímeros biocompatibles en la fabricación de nanopartículas (Yan *et al.*, 2010).

En la literatura se encuentran reportes de la obtención de nanopartículas de almidón entre 82-92 nm (Putro *et al.*, 2020) consideradas ya partículas de tamaño bajos en comparación con trabajos donde los tamaños se encuentran por arriba de los 100 nm (Morán *et al.*, 2021), como el trabajo de Mahmoudi Najafi *et al.* (2016) en el cual se encuentran entre 221-324 nm. Un desafío es la reducción del tamaño de las partículas. Sin embargo, cabe aclarar que la mayoría de los trabajos el método de reprecipitación se enfoca en la reprecipitación del almidón, para su posterior vaciamiento y carga del compuesto de interés. En nuestro trabajo actúa como agente estabilizador en la reprecipitación de BQ1 y BQ2, con lo que obtenemos en un solo paso la partícula del compuesto de interés recubierta con el almidón. Adicional a ello, la obtención de tamaños de partícula de menores a 100 nm, como fue el caso de las obtenidas con BQ2, es un resultado muy prometedor, que sitúa a nuestras partículas por debajo de las reportadas en la literatura.

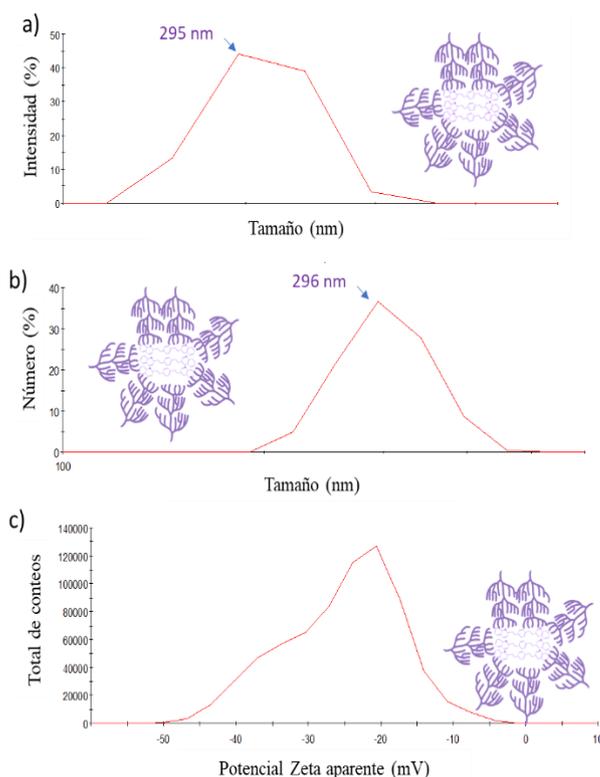


Figura 3: Distribución de diámetros aproximados de partículas determinados por DLS en función de a) intensidad y b) número; c) distribución de potencial zeta de las partículas de BQ1-Almidón.

Tabla 3: Datos obtenidos del análisis de potencial Zeta.

Partícula	Potencial Zeta (mV)	Movilidad electroforética $\mu\text{cm/Vs}$	Conductividad mS/cm
BQ1-Alm	-25.3 \pm 8.08	-1.98	0.0230
BQ2-Alm	-22.5 \pm 5.83	-1.76	0.0334

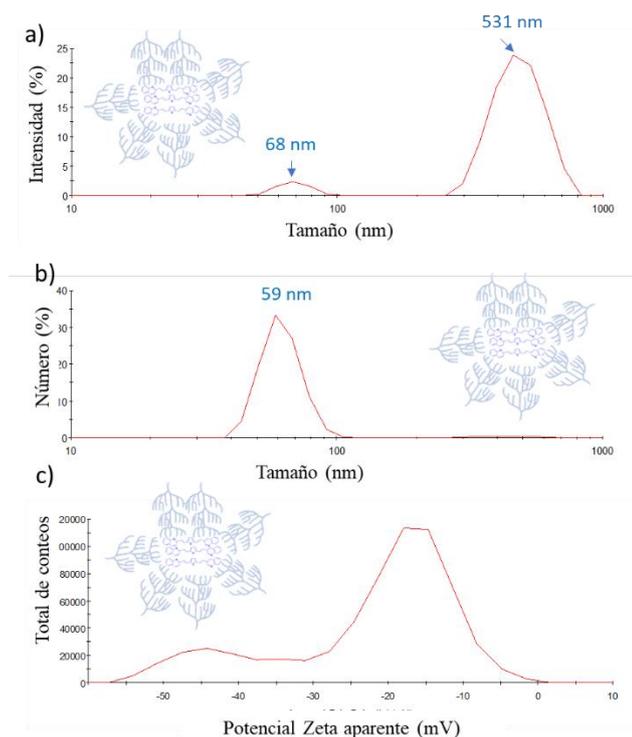


Figura 4: Distribución de diámetros aproximados de partículas determinados por DLS en función de a) intensidad y b) número; c) distribución de potencial zeta de las partículas de BQ2-Almidón.

3.3. Caracterización óptica

Se caracterizó mediante espectroscopia UV-Vis y de fluorescencia las soluciones de BQ1 y BQ2 en tetrahidrofurano (THF) y las suspensiones acuosas obtenidas por el método de reprecipitación. En la Figura 5a se presentan los espectros de absorción de BQ1 en solución de THF, las suspensiones acuosas de las partículas obtenidas usando CTAB (bromuro de cetiltrimetilamonio) y almidón como estabilizantes para la formación de los agregados. La longitud máxima de absorción de BQ1 en THF es de 300 nm, al reprecipitar las partículas con CETAB como surfactante se aprecia un desplazamiento hipsocrómico observándose una longitud máxima de absorción a 356 nm, mientras que la suspensión obtenida usando almidón exhibe una longitud de onda 356 nm. En la Figura 5b se presentan los espectros de emisión normalizados, BQ1 en solución exhibe una longitud de onda máxima de 432 nm, tanto las partículas obtenidas con CTAB como con almidón presentan un desplazamiento batocrómico de su longitud máxima de emisión, siendo mayor en la suspensión de BQ1 con almidón. Como se puede observar en la Figura 5c, las partículas suspendidas en agua exhiben fluorescencia debido a un fenómeno de emisión inducida por agregación de BQ1, lo cual es importante para ser empleadas como agentes de contraste fluorescentes para bioimagen (Sharath Kumar *et al.*, 2021). La longitud máxima de emisión a 432 nm de BQ1 aún se encuentra en el rango de emisión de luz azul, la suspensión con CTAB si bien tiene una longitud máxima en 443 nm, exhibe bandas de emisión a 479 y 522 nm, y la suspensión con almidón tiene una banda de emisión a 574 nm asociadas a diferentes formas agregadas. Esto es consistente le tamaño de partículas de BQ1 altamente disperso (*vide supra*). En ambos

casos esa emisión cae en el verde y dominan la percepción del color bajo la lámpara UV al ser lo suficientemente intensas para desplazar el color observado al verde. Lo anterior también indica que las partículas de BQ1 en presencia de almidón podrían estar experimentando un grado mayor de interacción intermolecular o una reorganización estructural diferente.

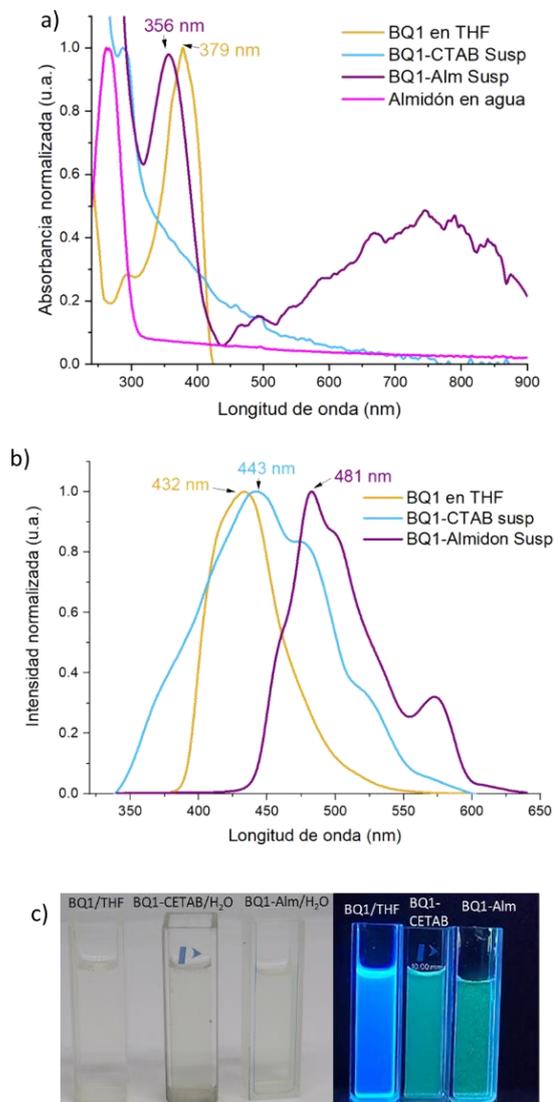


Figura 5: a) Espectros de absorción UV-vis, b) espectros de emisión de fluorescencia y c) fotografías bajo luz natural y bajo lámpara UV de BQ1 disuelto en THF y de las suspensiones acuosas de BQ1 con CTAB y el almidón extraído.

En el caso de BQ2 solo se compararon la solución de THF y la suspensión acuosa de las partículas de BQ2 con almidón. En la Figura 6a se observa una banda de absorción no muy intensa a 450 nm, la que corresponde a la primera banda de emisión observada en 6b, siendo especulares los espectros de absorción y emisión en disolución. Como se puede observar en la Figura 6a, las longitudes de absorción son muy similares de BQ2 en solución como de sus agregados, pero su emisión sí exhibe un cambio. En la Figura 6b se presentan los espectros de emisión normalizados, donde se puede apreciar un cambio en la longitud de onda máxima de emisión, exhibiéndose un desplazamiento hipsocrómico en la misma, lo cual es evidente en las fotografías bajo la lámpara UV, pues el color de emisión pasa de verde a azul.

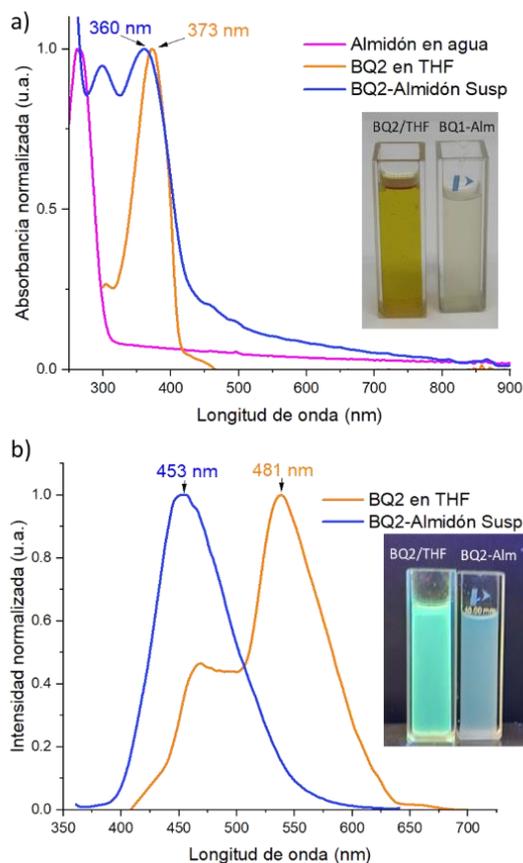


Figura 6: a) Espectros de absorción UV-vis, b) espectros de emisión de fluorescencia de BQ2 disuelto en THF y de las suspensiones acuosas de BQ2 con CETAB y el almidón extraído.

En ambos casos, es relevante que las partículas obtenidas por el método de reprecipitación empleando el almidón extraído del amaranto presentan emisión en estado sólido, lo cual es de suma importancia para una posible aplicación como agente de contraste para bioimagen. Además, es evidente que la presencia del almidón en el recubrimiento de los agregados no interviene en el proceso de AIE antes descrito, lo cual es una característica importante para un polímero empleado para el encapsulamiento de una nanopartícula orgánica (Zhang *et al.*, 2014).

3.4. Respuesta no lineal

Continuando con la caracterización de las propiedades ópticas de los nano y microagregados obtenidos se evaluó la respuesta óptica no lineal de estos. En la Figura 7 se presentan las curvas obtenidas para BQ1. La Figura 7a muestra la transmitancia normalizada para la configuración de apertura abierta de z-scan, la muestra BQ1-Almidón presentan absorción saturable, lo que indica un aumento de la transmitancia con una mayor intensidad óptica. Esta respuesta apunta a una β coeficiente de absorción no lineal negativo, probablemente causada por efectos térmicos inducidos por el láser. Por el contrario, la Figura 7b, que representa los resultados de apertura cerrada, muestra una caída seguida de un pico de transmitancia, que refleja un índice de refracción no lineal positivo (n_2). Lo cual refleja un posible comportamiento óptico no lineal de este compuesto.

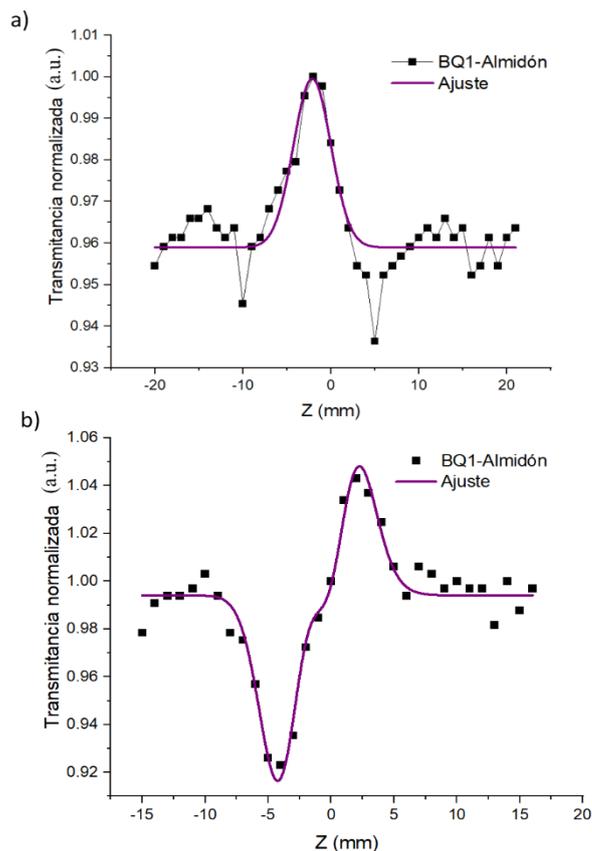


Figura 7: Z-scan de a) apertura abierta y b) apertura cerrada de BQ1.

La Figura 8a presenta la transmitancia normalizada para de apertura abierta, el gráfico muestra una disminución de la transmisión en el punto focal ($z = 0$), formando un valle, lo que indica una absorción saturable reversible con un coeficiente de absorción no lineal positivo ($+\beta$). Este comportamiento puede ser atribuido al fenómeno de absorción de dos fotones (Wang *et al.*, 2010). Para el caso de la Figura 1b, Este compuesto presenta un índice de refracción no lineal positivo (n_2), esto se evidencia en los experimentos de z-scan con apertura cerrada, donde se observa un valle de transmitancia pre-focal seguido de un pico de transmitancia post-focal. Cabe mencionar que las curvas de Figura 8 son consistentes con las reportadas para BQ2 en solución, (Esquivel-González *et al.*, 2023) lo cual nos indica que los agregados obtenidos mediante la estabilización con almidón exhiben la misma respuesta no lineal. Es decir, el almidón tampoco interfiere con la respuesta no lineal de BQ2. Que las partículas exhiban absorción de dos fotones es importante para una posible aplicación como agente de contraste para bioimagen, pues se pueden emplear fuentes de excitación de menor energía (Belfield *et al.*, 2008; Grzybowski *et al.*, 2014; Pawlicki *et al.*, 2009), en este caso como podríamos excitar con un láser verde y obtener la fluorescencia por parte de las partículas. Es de alto atractivo el realizar un estudio mediante microscopio de excitación de dos fotones para corroborar este posible comportamiento de las partículas (Pham *et al.*, 2023; So, 2001).

La microscopía de luz convencional tiene limitaciones para resolver detalles en muestras densas debido al ruido fuera de foco. La microscopía confocal y de dos fotones han mejorado

la capacidad de imagen en 3D. La microscopía confocal usa aperturas conjugadas (pinhole) para iluminar y detectar el mismo volumen, la microscopía de dos fotones emplea longitudes de onda de excitación que son el doble que las de un fotón, esta brecha entre la energía de excitación y la de emisión facilita rechazar el ruido de dispersión Raman y filtrar menos fotones de fluorescencia. Segundo, la radiación de infrarrojo cercano utilizada en la excitación de dos fotones tiene una menor absorción en las muestras biológicas que la luz UV o azul-verde, y la dispersión de la luz se reduce a medida que aumenta la longitud de onda. Aunque la microscopía de dos fotones no requiere una apertura de pinhole, minimizando la pérdida de señal, tiene una resolución espacial menor que la confocal (So, 2001).

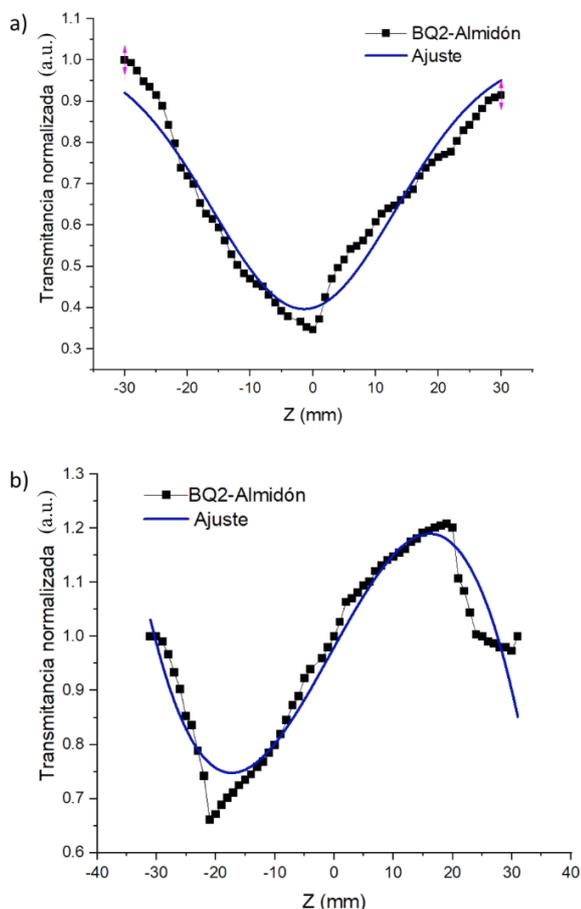


Figura 8: Z-scan de a) apertura abierta y b) cerrada de BQ2.

4. Conclusiones

La solución saturada de almidón permitió la formación de nano y micro agregados. La capacidad de hinchamiento del almidón empleado es relativamente alta, esto explica las distribuciones de tamaño superiores a los 100 nm obtenidas. Sin embargo, es de destacar que, en nuestro estudio, el almidón desempeña un papel clave como agente estabilizador durante la reprecipitación de BQ1 y BQ2. Lo que nos permitió obtener en un solo paso partículas recubiertas de almidón del compuesto de interés. Además, la obtención de partículas con tamaños menores a 100 nm, como en el caso de BQ2, representa un avance prometedor, ya que estos tamaños son

inferiores a los reportados previamente en la literatura, lo que subraya el potencial de nuestro enfoque. Las propiedades ópticas, en especial la emisión inducida por agregación (AIE) que es atractiva para ser empleado como agente de contraste. BQ2 exhibe además absorción de dos fotones, lo cual es bastante atractivo para ser empleado en muestras *in vitro* y en *in vivo* para obtención de bioimágenes. El almidón es un prominente almidón para ser empleado como agente encapsulante de potenciales agentes de contraste como BQ1 y BQ2. Es atractivo estudiar el efecto de la temperatura, potencia de baño ultrasónico y la relación entre cromóforo y almidón durante el proceso de reprecipitación con el fin de reducir los tamaños de partículas. También es atractivo ver el impacto en el tamaño de partícula al usar un almidón con menor capacidad de hinchamiento, almidones modificados e incluso el injertar polímeros, estos últimos incluso podrían mejorar la estabilidad coloidal. Como trabajo futuro es sumamente importante el realizar estudios de viabilidad celular y citotoxicidad de las partículas estabilizadas con el almidón.

Agradecimientos

Los autores agradecen a los laboratorios de Polímeros II en Ciudad del Conocimiento y al Laboratorio de Microbiología del Rancho Universitario por las facilidades para la realización del proyecto.

Referencias

- Belfield, K. D., Yao, S., & Bondar, M. V. (2008). Two-photon absorbing photonic materials: From fundamentals to applications. *Advances in Polymer Science*, 213(1), 97–156. https://doi.org/10.1007/12_2007_126
- Bhattacharjee, S. (2016). DLS and zeta potential - What they are and what they are not? In *Journal of Controlled Release* (Vol. 235, pp. 337–351). Elsevier B.V. <https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2016.06.017>
- Campelo, P. H., Sant'Ana, A. S., & Pedrosa Silva Clerici, M. T. (2020). Starch nanoparticles: production methods, structure, and properties for food applications. *Current Opinion in Food Science*, 33, 136–140. <https://doi.org/10.1016/j.cofs.2020.04.007>
- Cao, D., Liu, Z., Verwilt, P., Koo, S., Jangjili, P., Kim, J. S., & Lin, W. (2019). Coumarin-Based Small-Molecule Fluorescent Chemosensors [Review-article]. *Chemical Reviews*, 119(18), 10403–10519. <https://doi.org/10.1021/acs.chemrev.9b00145>
- Chen, L., Ma, R., McClements, D. J., Zhang, Z., Jin, Z., & Tian, Y. (2019). Impact of granule size on microstructural changes and oil absorption of potato starch during frying. *Food Hydrocolloids*, 94, 428–438. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2019.03.046>
- Chen, L., Ma, R., Zhang, Z., Huang, M., Cai, C., Zhang, R., McClements D. J., Tian, Y. & Jin, Z. (2019). Comprehensive investigation and comparison of surface microstructure of fractionated potato starches. *Food Hydrocolloids*, 89, 11–19. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2018.10.017>
- Esquivel-González, O., Vázquez-García, R. A., Veloz-Rodríguez, M. A., Muñoz-Pérez, J. E., Rueda-Soriano, E., & Hernández-Ortiz, O. J. (2023). Synthesis, photophysical properties and nonlinear response of a bisquinoline A-D-A with aggregation-induced emission for potential application in optoelectronic devices. *Chemical Physics Impact*, 7. <https://doi.org/10.1016/j.chphi.2023.100398>
- Grzybowski, M., Hugues, V., Blanchard-Desce, M., & Gryko, D. T. (2014). Two-Photon-Induced Fluorescence in New π -Expanded Diketopyrrolopyrroles. *Chemistry - A European Journal*, 20(39), 12493–12501. <https://doi.org/10.1002/chem.201402569>
- Hahn, M. A., Singh, A. K., Sharma, P., Brown, S. C., & Moudgil, B. M. (2011). Nanoparticles as contrast agents for in-vivo bioimaging: Current status and future perspectives. In *Analytical and Bioanalytical Chemistry* (Vol. 399, Issue 1, pp. 3–27). <https://doi.org/10.1007/s00216-010-4207-5>

- Han, Y., Bai, L., Lin, J., Ding, X., Xie, L., & Huang, W. (2021). Diarylfluorene-Based Organic Semiconductor Materials toward Optoelectronic Applications. *Advanced Functional Materials*, *2105092*, 1–28. <https://doi.org/10.1002/adfm.202105092>
- Hickey, P. C., Swift, S. R., Roca, M. G., & Read, N. D. (2004). *Live-cell Imaging of Filamentous Fungi Using Vital Fluorescent Dyes and Confocal Microscopy* (pp. 63–87). [https://doi.org/10.1016/S0580-9517\(04\)34003-1](https://doi.org/10.1016/S0580-9517(04)34003-1)
- Islas-Rodríguez, N., Muñoz, R., Vázquez-García, R. A., Rodríguez, J. A., Reyes-Pérez, M., & Hernández-Ortiz, O. J. (2023). Selective colorimetric detection of cysteine based on phenylvinylbisquinoline for its potential implementation in optoelectronic sensors. *Journal of Materials Science: Materials in Electronics*, *34*(13). <https://doi.org/10.1007/s10854-023-10538-z>
- Kim, S., Ohulchanskyy, T. Y., Pudavar, H. E., Pandey, R. K., & Prasad, P. N. (2007). Organically mod silica nanoparticle co-encapsulating photosensitizing drug & aggregation-enhanced 2-photon absorbing fluorescent dye aggregate for TPA two-photon photodynamic therapy. *Journal of the American Chemical Society*, *129*(9), 2669–2675. <https://doi.org/10.1021/ja0680257>
- Kumar, A., & Dixit, C. K. (2017). Methods for characterization of nanoparticles. In *Advances in Nanomedicine for the Delivery of Therapeutic Nucleic Acids* (pp. 43–58). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-08-100557-6.00003-1>
- Lei, T., Wang, J. Y., & Pei, J. (2014). Design, synthesis, and structure-property relationships of isoindigo-based conjugated polymers. *Accounts of Chemical Research*, *47*(4), 1117–1126. <https://doi.org/10.1021/ar400254j>
- Li, H., Kim, H., Han, J., Nguyen, V. N., Peng, X., & Yoon, J. (2021). Activity-based smart AIEgens for detection, bioimaging, and therapeutics: Recent progress and outlook. In *Aggregate* (Vol. 2, Issue 4). John Wiley and Sons Inc. <https://doi.org/10.1002/agt2.51>
- Li, H., Kim, H., Zhang, C., Zeng, S., Chen, Q., Jia, L., Wang, J., Peng, X., & Yoon, J. (2022). Mitochondria-targeted smart AIEgens: Imaging and therapeutics. In *Coordination Chemistry Reviews* (Vol. 473). Elsevier B.V. <https://doi.org/10.1016/j.ccr.2022.214818>
- Li, M., Daygon, V. D., Solah, V., & Dhital, S. (2023). Starch granule size: Does it matter?. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, *63*(19), 3683–3703. <https://doi.org/10.1080/10408398.2021.1992607>
- Li, W., Wang, L., Tang, H., & Cao, D. (2019). Diketopyrrolopyrrole-based fluorescent probes for detection and bioimaging: Current progresses and perspectives. In *Dyes and Pigments* (Vol. 162, pp. 934–950). Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/j.dyepig.2018.11.023>
- Luo, Y., Wang, T. T. Y., Teng, Z., Chen, P., Sun, J., & Wang, Q. (2013). Encapsulation of indole-3-carbinol and 3,3'-diindolylmethane in zein/carboxymethyl chitosan nanoparticles with controlled release property and improved stability. *Food Chemistry*, *139*(1–4), 224–230. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.01.113>
- Mahmoudi Najafi, S. H., Baghaie, M., & Ashori, A. (2016). Preparation and characterization of acetylated starch nanoparticles as drug carrier: Ciprofloxacin as a model. *International Journal of Biological Macromolecules*, *87*, 48–54. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2016.02.030>
- Majumder, R., Dey, S., Jana, D., & Ghorai, B. K. (2023). Donor-acceptor cyanostilbene based nano-AIEgens: Synthesis and properties. *Results in Chemistry*, *5*. <https://doi.org/10.1016/j.rechem.2023.100856>
- Maningat, C. C., Seib, P. A., Bassi, S. D., Woo, K. S., & Lasater, G. D. (2009). Wheat starch: production, properties, modification and uses. In *Food Science and Technology, Starch* (Third Edition), (pp. 441–510). Academic Press. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-746275-2.00010-0>
- Mohammadi, S., Alimi, M., Shahidi, S. A., & Shokoohi, S. (2022). Physicochemical and functional properties of modified amaranth starch with adipic acid and acetic anhydride mixture. *Journal of food science and technology (Iran)*, *19*(130), 197–212. <https://doi.org/10.22034/FSCT.19.130.197>
- Montaseri, H., Kruger, C. A., & Abrahamse, H. (2020). Review: Organic nanoparticle based active targeting for photodynamic therapy treatment of breast cancer cells. In *Oncotarget* (Vol. 11, Issue 22). www.oncotarget.com
- Morán, D., Gutiérrez, G., Blanco-López, M. C., Marefati, A., Rayner, M., & Matos, M. (2021). Synthesis of starch nanoparticles and their applications for bioactive compound encapsulation. *Applied Sciences (Switzerland)*, *11*(10). <https://doi.org/10.3390/app11104547>
- Murad, A. R., Iraqi, A., Aziz, S. B., Abdullah, S. N., & Brza, M. A. (2020). Conducting polymers for optoelectronic devices and organic solar cells: A review. *Polymers*, *12*(11), 1–47. <https://doi.org/10.3390/polym12112627>
- Neumann, P. R., Erdmann, F., Holthof, J., Hädler, G., Green, M., Rao, J., & Dailey, L. A. (2021). Different PEG-PLGA Matrices Influence In Vivo Optical/Photoacoustic Imaging Performance and Biodistribution of NIR-Emitting π -Conjugated Polymer Contrast Agents. *Advanced Healthcare Materials*, *10*(4). <https://doi.org/10.1002/adhm.202001089>
- Pawlicki, M., Collins, H. A., Denning, R. G., & Anderson, H. L. (2009). Two-photon absorption and the design of two-photon dyes. *Angewandte Chemie - International Edition*, *48*(18), 3244–3266. <https://doi.org/10.1002/anie.200805257>
- Pham, T. C., Lee, D. J., Kim, D. H., Yoon, J., Lam, T. D., Kim, H. M., & Lee, S. (2023). Imidazole-carbazole conjugate for two-photon-excited photodynamic therapy and fluorescence bioimaging. *Chemical Communications*, *59*(30), 4503–4506. <https://doi.org/10.1039/d3cc00108c>
- Prieto-Montero, R., Prieto-Castañeda, A., Sola-Llano, R., Agarrabeitia, A. R., García-Fresnadillo, D., López-Arbeloa, I., Villanueva, A., Ortiz, M. J., de la Moya, S., & Martínez-Martínez, V. (2020). Exploring BODIPY Derivatives as Singlet Oxygen Photosensitizers for PDT. *Photochemistry and Photobiology*, *96*(3), 458–477. <https://doi.org/10.1111/php.13232>
- Putro, J. N., Ismadij, S., Gunarto, C., Soetaredjo, F. E., & Ju, Y. H. (2020). A study of anionic, cationic, and nonionic surfactants modified starch nanoparticles for hydrophobic drug loading and release. *Journal of Molecular Liquids*, *298*, 112034. <https://doi.org/10.1016/j.molliq.2019.112034>
- Scharber, M. C., & Sariciftci, N. S. (2021). Low Band Gap Conjugated Semiconducting Polymers. *Advanced Materials Technologies*, *6*(4). <https://doi.org/10.1002/admt.202000857>
- Shang, K., Xu, C., Cao, Z., Cui, M., Sun, J., Xiao, H., Zhang, L., Wang, Y., & Han, H. (2024). Polymer-based delivery systems with metal complexes as contrast agents for medical imaging. In *Coordination Chemistry Reviews* (Vol. 518). Elsevier B.V. <https://doi.org/10.1016/j.ccr.2024.216071>
- Shao, W., Yang, C., Li, F., Wu, J., Wang, N., Ding, Q., Gao, J., & Ling, D. (2020). Molecular Design of Conjugated Small Molecule Nanoparticles for Synergistically Enhanced PTT/PDT. *Nano-Micro Letters*, *12*(1). <https://doi.org/10.1007/s40820-020-00474-6>
- Sharath Kumar, K. S., Girish, Y. R., Ashrafzadeh, M., Mirzaei, S., Rakesh, K. P., Hossein Gholami, M., Zabolian, A., Hushmandi, K., Orive, G., Kadumudi, F. B., Dolatshahi-Pirouz, A., Thakur, V. K., Zarrabi, A., Makvandi, P., & Rangappa, K. S. (2021). AIE-featured tetraphenylethylene nanoarchitectures in biomedical application: Bioimaging, drug delivery and disease treatment. In *Coordination Chemistry Reviews* (Vol. 447). Elsevier B.V. <https://doi.org/10.1016/j.ccr.2021.214135>
- So, P. T. (2001). Two-photon Fluorescence Light Microscopy. *ELS*, 1–5. <https://doi.org/10.1038/npg.els.0002991>
- Torres, F. G., & De-la-Torre, G. E. (2022). Synthesis, characteristics, and applications of modified starch nanoparticles: A review. *International Journal of Biological Macromolecules*, *194*, 289–305. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2021.11.187>
- Trejo-Santillan, I., Mendoza-Guevara, C. C., Ramos-Godinez, M. D. P., & Ramon-Gallegos, E. (2022). Synthesis of Chitosan Nanoparticles Conjugated with Protoporphyrin IX and Vitamin B9 for Their Application in Photodynamic Therapy. *IEEE Transactions on Nanobioscience*, *21*(4), 490–495. <https://doi.org/10.1109/TNB.2021.3137276>
- Troncoso, O. P., & Torres, F. G. (2020). Non-conventional starch nanoparticles for drug delivery applications. *MEDICAL DEVICES & SENSORS*, *3*(6). <https://doi.org/10.1002/mds3.10111>
- Uddin, M. N., Ahmed, S. S., & Alam, S. M. R. (2020). REVIEW: Biomedical applications of Schiff base metal complexes. In *Journal of Coordination Chemistry* (Vol. 73, Issue 23, pp. 3109–3149). Taylor and Francis Ltd. <https://doi.org/10.1080/00958972.2020.1854745>
- Wang, J., Gu, B., Wang, H. T., & Ni, X. W. (2010). Z-scan analytical theory for material with saturable absorption and two-photon absorption. *Optics Communications*, *283*(18), 3525–3528. <https://doi.org/10.1016/j.optcom.2010.05.007>
- Wu, P. T., Kim, F. S., Champion, R. D., & Jenekhe, S. A. (2008). Conjugated Donor - Acceptor copolymer semiconductors. Synthesis, optical properties, electrochemistry, and field-effect carrier mobility of pyridopyrazine-based copolymers. *Macromolecules*, *41*(19), 7021–7028. <https://doi.org/10.1021/ma801348b>
- Yan, F., Zhang, C., Zheng, Y., Mei, L., Tang, L., Song, C., Sun, H., & Huang, L. (2010). The effect of poloxamer 188 on nanoparticle morphology,

- size, cancer cell uptake, and cytotoxicity. *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology, and Medicine*, 6(1), 170–178. <https://doi.org/10.1016/j.nano.2009.05.004>
- Zhang, X., Zhang, X., Yang, B., Hui, J., Liu, M., Liu, W., Chen, Y., & Wei, Y. (2014). PEGylation and cell imaging applications of AIE based fluorescent organic nanoparticles via ring-opening reaction. *Polymer Chemistry*, 5(3), 689–693. <https://doi.org/10.1039/c3py01272g>
- Zhang, Y., Fang, F., Li, L., & Zhang, J. (2020). Self-Assembled Organic Nanomaterials for Drug Delivery, Bioimaging, and Cancer Therapy. In *ACS Biomaterials Science and Engineering* (Vol. 6, Issue 9, pp. 4816–4833). American Chemical Society. <https://doi.org/10.1021/acsbiomaterials.0c00883>
- Zhao, X., Bagwe, R. P., & Tan, W. (2004). Development of organic-dye-doped silica nanoparticles in a reverse microemulsion. *Advanced Materials*, 16(2), 173–176. <https://doi.org/10.1002/adma.200305622>
- Zhou, H., Yang, L., & You, W. (2012). Rational Design of High Performance Conjugated Polymers for Organic Solar Cells. *Macromolecules*, 45, 607–632. <https://doi.org/10.1021/ma201648t>

↑