

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 596 218**

51 Int. Cl.:

G01N 21/65 (2006.01)

G01N 33/28 (2006.01)

G01N 33/532 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **18.05.2010 PCT/US2010/035300**

87 Fecha y número de publicación internacional: **25.11.2010 WO10135354**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **18.05.2010 E 10778274 (0)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **06.07.2016 EP 2433131**

54 Título: **Partículas para una SERS con largas longitudes de onda, método para su producción y método para marcar un material**

30 Prioridad:

18.05.2009 US 179281 P
27.05.2009 US 181598 P

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
05.01.2017

73 Titular/es:

SICPA HOLDING SA (100.0%)
Avenue de Florissant 41
1008 Prilly, CH

72 Inventor/es:

NATAN, MICHAEL J.;
FREEMAN, RICHARD GRIFFITH;
PIOTTI, MARCELO EDUARDO;
DOERING, WILLIAM E. y
TAM, FELICIA

74 Agente/Representante:

CARVAJAL Y URQUIJO, Isabel

ES 2 596 218 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín Europeo de Patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre Concesión de Patentes Europeas).

DESCRIPCIÓN

Partículas para una SERS con largas longitudes de onda, método para su producción y método para marcar un material.

CAMPO TÉCNICO

- 5 La presente solicitud se dirige a unos métodos de espectroscopia Raman intensificada por superficie, del inglés Surface Enhanced Raman Spectroscopy (con el acrónimo SERS), y a unas partículas, más particularmente a partículas que intensifican a la dispersión Raman con largas longitudes de onda.

ANTECEDENTES

10 Cuando se dirige luz sobre una molécula, la enorme mayoría de los fotones incidentes son dispersados elásticamente sin ningún cambio en la frecuencia. Esto es denominado dispersión de Rayleigh. Sin embargo, la energía de algunos de los fotones incidentes (aproximadamente 1 entre cada 10^7 fotones incidentes) es acoplada para establecer distintos modos de vibración de los enlaces de las moléculas. Dicho acoplamiento da lugar a que algo de la luz incidente sea dispersada inelásticamente por la molécula con una región de frecuencias que difiere de la región de la luz incidente. Esto se denomina "el efecto Raman". Representando gráficamente la frecuencia de
15 dicha luz dispersada inelásticamente en función de su intensidad, se obtiene el espectro Raman singular de la molécula o material que está sometido a observación. Un análisis del espectro Raman de una muestra desconocida puede proporcionar información acerca de la composición molecular de la muestra.

La intensidad de la radiación dispersada según Raman puede ser aumentada significativamente llevando a la(s)
20 molécula(s) o material(es) activa/o(s) en Raman a una proximidad muy estrecha (por ejemplo $\leq 20 \text{ \AA}$) con respecto a ciertos tipos de superficies metálicas nanoestructuradas. Por ejemplo, unas moléculas adsorbidas a oro, plata o cobre asperizado u otras superficies metálicas con electrones libres, pueden experimentar unos aumentos por un múltiplo de millones en la intensidad Raman. Este efecto, denominado dispersión Raman intensificada por superficie y alternativamente espectroscopia Raman intensificada por superficie (en ambos casos citada como SERS) se puede observar con partículas coloidales metálicas, películas metálicas o sustratos dieléctricos, con unas matrices
25 de partículas metálicas ordenadas o desordenadas, y en una variedad de otras superficies nanoscópicas, mesoscópicas, microscópicas o macroscópicas.

El mecanismo mediante el que se realizan los fenómenos de SERS u otros fenómenos espectroscópicos intensificados por superficie (SES = acrónimo de surface enhanced spectroscopic) se comprende, y se cree que resulta de una combinación de efectos electromagnéticos (p.ej. de un campo local) y químicos (p.ej. transferencia de
30 cargas). Unas técnicas de SES representativas incluyen, pero no se limitan a una espectroscopia Raman intensificada por superficie (SERS) y a una espectroscopia Raman de resonancia intensificada por superficie (SERRS = acrónimo de surface enhanced resonance Raman spectroscopy). En una SERS o SERRS, el metal u otra superficie intensificadora se acoplará electromagnéticamente a una radiación electromagnética incidente y creará un campo electromagnético amplificado localmente, que conducirá a unos aumentos en un múltiplo de 10^2 hasta 10^9
35 veces o mayores en la dispersión Raman de una molécula activa en SERS situada en o cerca de la superficie intensificadora.

La solicitud de patente internacional WO2008/122035 A1 divulga unas nanopartículas de SERS biocompatibles para representar en imágenes células. Las marcaciones para SERS comprenden un núcleo activo en SERS, una
40 molécula reportera inmovilizada sobre la superficie del núcleo y un material encapsulador que está dispuesto sobre el núcleo y la molécula reportera. Las partículas del núcleo se seleccionan entre una gran diversidad de tipos y formas de partículas, que incluyen partículas esféricas y nanovarillas. Las partículas pueden ser partículas rellenas o huecas. Las moléculas reporteras no están limitadas particularmente e incluyen unos compuestos que absorben radiación IR.

Tal como se ha señalado con anterioridad, se realiza una dispersión Raman cuando una molécula es iluminada con
45 una luz incidente. Típicamente, la fuente de luz incidente es un láser monocromático. La selección correcta de la longitud de onda del láser incidente puede ser una consideración importante para una espectroscopia Raman. Por ejemplo, muchas muestras, especialmente las de naturaleza orgánica o biológica serán (o contendrán) especies fluorescentes. El hecho de excitar estas muestras con un láser en la región del verde (532 nm) puede favorecer la fluorescencia, que encenagará a cualquier espectro Raman subyacente en una extensión tal que éste ya no sea
50 detectable.

Correspondientemente, las técnicas de espectroscopia Raman tales como SERS y SERRS tienen como característica con frecuencia el uso de un láser en la región del rojo, 633 nm, o del infrarrojo próximo (NIR =
acrónimo de near infrared), por ejemplo, unas porciones de 785 nm o 1.064 nm del espectro. Puesto que estas fuentes tienen una energía fotónica algo más baja que las fuentes de longitudes de onda verdes o más cortas, un

láser rojo o NIR puede no favorecer las transiciones electrónicas que darán como resultado una fluorescencia, dando como resultado una dispersión Raman que es más fácil de detectar.

Desafortunadamente, cuando la longitud de onda incidente es aumentada desde la región del verde pasando por la del rojo hasta la del NIR, disminuye la eficiencia de una dispersión Raman, puesto que ella varía como $(1/\text{longitud de onda})^4$. Por lo tanto son necesarios unos tiempos de integración más largos y unos láseres de mayor potencia para adquirir una señal apropiada según aumente la longitud de onda incidente. Típicamente, unos láseres que emiten una luz que tiene una longitud de onda no más larga que aproximadamente 1.064 nm se usan para una espectroscopia Raman. Unas longitudes de onda más largas dan como resultado una eficiencia de dispersión disminuida, de tal manera que es impracticable el uso de fuentes de longitudes de onda más largas.

Ciertas preocupaciones acerca de la seguridad se presentan cuando se usan unos láseres de longitud de onda más corta. En particular, unos láseres que emiten a 1.064 nm, 785 nm y a longitudes de onda más cortas son potencialmente peligrosos si son dirigidos a los ojos humanos. La máxima exposición segura para los ojos a una luz láser aumenta espectacularmente a 1.400 nm y a longitudes de onda más largas, como se muestra en los gráficos 100 y 102 de la Fig. 1, tomados de la norma Z136.1-2.007 del American National Standards Institute (ANSI). De manera correspondiente, los microscopios Raman o espectrómetros Raman que usan unos láseres que emiten a 1.064 nm o a longitudes de onda más cortas o bien deben de ser unos dispositivos estacionarios que no puedan iluminar inadvertidamente a los ojos de un técnico, o estos dispositivos deben de incluir unos complejos mecanismos de seguridad, para evitar la posibilidad de un daño accidental para los ojos de un técnico. Las preocupaciones de seguridad limitan por lo tanto la factibilidad de unas fuentes de láser manejadas a mano u otras que pueden ser ejecutadas en una diversidad de situaciones que no son de laboratorio incontroladas. Una radiación de longitud de onda más larga puede ser relativamente segura para los ojos; sin embargo, como más arriba se ha descrito, unas fuentes de luz de longitud de onda más larga dan como resultado una dispersión ineficaz cuando se usan estrategias de intensificación conocidas.

Generalmente, la idoneidad de una superficie intensificadora basada en partículas, destinada a su uso a longitudes de onda más largas, puede ser mejorada haciendo que las partículas sean más grandes, puesto que unas partículas más grandes exhibirán típicamente unos desplazamientos de bandas plasmónicas más dentro del NIR en comparación con las partículas más pequeñas. Muchos marcadores activos para SES están diseñados para el uso o la dispersión en fluidos y por consiguiente son mejor ejecutados con partículas o marcaciones que están dimensionadas y tienen una densidad apropiada para permanecer suspendidas en el líquido seleccionado sin sedimentarse. Por lo tanto, es particularmente problemático el diseño de unas partículas que puedan ser interrogadas a longitudes de onda más largas, seguras para los ojos y que también sean suspendibles en un líquido.

El presente invento se dirige hacia la superación de uno o más de los problemas que más arriba se han debatido.

SUMARIO

Una forma de realización incluye una partícula que comprende un núcleo activo en espectroscopia intensificada por superficie (SES) y una molécula reportera activa en SES que está asociada con el núcleo activo en SES, en donde dicha partícula tiene un espectro SES mensurable cuando es excitada por una luz incidente que tiene una longitud de onda de por lo menos de 1.400 nm. La partícula de esta forma de realización puede incluir un núcleo activo en SES que soporta la resonancia plasmónica a una longitud de onda de por lo menos 1.400 nm. La partícula puede comprender un núcleo anisotrópico. Por ejemplo la partícula puede incluir, pero no está limitada a, unas ejecuciones con núcleos huecos, núcleos de varilla hueca, núcleos de varilla de Cu hueca, núcleos de nanoanillos entrelazados, un núcleo con una o más envolturas huecas o un núcleo que comprende un conglomerado de nanopartículas.

La partícula puede ser suspendible en un disolvente líquido. Una suspensión de partículas puede ser mejorada o conseguida de una manera apropiada, por ejemplo, se puede emplear un revestimiento orgánico, que rodea a otras estructuras de partículas.

La partícula puede incluir una molécula reportera activa en SES que es resonante en una o más longitudes de onda que son mayores que o iguales a 1.400 nm. La molécula reportera puede ser, pero no está limitada a, un complejo de un metal de transición, un complejo d^8 octaédrico de un metal de transición, un compuesto aromático (AZP) o un complejo con transferencia intervalencias.

Una forma de realización alternativa incluye un método de producir una partícula como más arriba se ha descrito, cuya partícula produce un espectro de SES mensurable cuando es excitado por una luz incidente que tiene una longitud de onda de por lo menos 1.400 nm.

Una forma alternativa de realización incluye un método de marcar a un material, que comprende proporcionar una partícula como más arriba se ha descrito que tiene un espectro de SES mensurable cuando es excitada por una luz

incidente que tiene una longitud de onda de por lo menos 1.400 nm, y asociar a la partícula con un material que interesa.

5 Una forma alternativa de realización incluye un sistema de detección que comprende una partícula como más arriba se ha descrito y un detector que tiene una fuente de iluminación que proporciona iluminación a una longitud de onda de por lo menos 1.400 nm.

BREVE DESCRIPCIÓN DE LOS DIBUJOS

La Fig. 1 es una representación gráfica de la exposición permisible máxima a una radiación láser monocromática en función de la longitud de onda.

La Fig. 2 es una representación esquemática de una nanomarcación para SERS de la técnica anterior.

10 La Fig. 3 es una representación esquemática de una marcación que tiene un núcleo de nanotubo hueco.

La Fig. 4 es un diagrama que representa un método de producir nanoanillos entrelazados.

La Fig. 5 es una imagen obtenida en microscopio electrónico de nanoprismas y nanoanillos.

La Fig. 6 es una representación esquemática de una partícula de envoltura hueca con unas moléculas reporteras situadas dentro de la envoltura.

15 La Fig. 7 es una representación esquemática de una partícula que tienen múltiples envolturas concéntricas.

La Fig. 8 es una representación gráfica de los resultados de una simulación que predice la resonancia plasmónica de una partícula que tiene un núcleo de nanopartículas conglomeradas.

La Fig. 9 es una representación gráfica de los espectros SERS de una nanomarcación usando una molécula reportera AZP cuando es excitada a 785 nm (Fig. 9A), a 1.064 nm (Fig. 9B) y a 1.546 nm (Fig. 9C).

20 La Fig. 10 es una representación gráfica del espectro de absorbencia de una molécula reportera de metal de transición de valencia mixta, seleccionada.

DESCRIPCIÓN

25 A menos que se indique otra cosa distinta, todos los números que expresan cantidades de ingredientes, dimensiones, condiciones de reacción, etcétera, usadas en la memoria descriptiva y las reivindicaciones, han de ser entendidos como modificados en todos los casos por el término "aproximadamente".

En esta solicitud y en las reivindicaciones, el uso del singular incluye el plural a menos que se indique específicamente otra cosa distinta. Además, el uso de "o" significa "y/o" a menos que se indique otra cosa distinta. Por lo demás, el uso del término "que incluye", así como otras formas, tales como "incluye" e "incluido", no es limitativo. También, unos términos tales como "elemento" o "componente" abarca tanto elementos y componentes
30 que comprenden una unidad como elementos y componentes que comprenden más de una unidad a menos que se señale específicamente otra cosa distinta.

En general, los marcadores son materiales, sustancias, moléculas, iones, polímeros, nanopartículas, micropartículas u otra materia, que se han incorporado dentro sobre, o se han asociado de otro modo con, unos objetos para las finalidades de identificación o cuantificación. Más específicamente, los marcadores se usan en unas actividades y
35 unos productos que incluyen pero no se limitan a detección, análisis y/o mediciones de cuantificación que se relacionan con la seguridad de marcas de fábrica, la protección de marcas de fábrica, la protección de marcas registradas, la seguridad de productos, la identificación de productos, la diversión de marcas de fábrica, la codificación por barras, la remediación de un "mercado gris", el análisis de "amigo o enemigo", el análisis de ciclo de vida de productos, la falsificación, las medidas contra la falsificación, un análisis forense de la autenticidad, la
40 autenticación, la biometría, el seguimiento de objetos, el análisis de una cadena de custodia, la manipulación indebida de productos, las medidas contra el contrabando, la detección del contrabando, el seguimiento de una cadena de suministro, el seguimiento de productos, la recuperación de la pérdida de ingresos, la serialización de productos, autenticación serializada, el seguimiento de la frescura, el seguimiento de las fechas de caducidad, el seguimiento de las fechas límites de utilización y la detección o identificación de empates o alejamientos.

45 Unos marcadores pueden ser añadidos a todas las formas de materiales, incluyendo, pero sin limitarse, a sólidos, líquidos, gases, geles, espumas, semisólidos, vidrios, plasmas, cristales líquidos, sólidos amorfos y ordenados magnéticamente, superconductores, superfluidos, condensados de Bose-Einstein y supersólidos.

Se reconoce que la adición de marcadores a unos líquidos y en particular a unos hidrocarburos líquidos tales como combustibles, aceites diesel, gasolinas, querosenos, etanol, biodiesel, metanol, petróleos crudos, aditivos para
50 combustibles, etc., es útil por las razones que más arriba se han descrito. Similarmente, la adición de un marcador permite una protección contra la falsificación, o un uso del hidrocarburo en un escenario impropio (es decir, diversión de marcas de fábrica). Similarmente, la capacidad de medir la concentración de un marcador en un hidrocarburo permite realizar una determinación de la pureza: si la concentración es más baja que la añadida, esto sugiere que la muestra ha sido manipulada indebidamente (por ejemplo por adición de un hidrocarburo menos valioso). Con
55 frecuencia, esta manipulación indebida puede estar al nivel de un 1-5%, por lo que se requieren unas mediciones exactas y precisas de marcadores. El hecho de medir la concentración de un marcador puede también ser inválido para la vigilancia de un proceso, cuando un petróleo crudo (por ejemplo) está mezclado frecuentemente con lodo,

vapor de agua, agua y otras impurezas, y cuando el conocimiento de la concentración real del petróleo tiene impacto sobre cómo se llevan a cabo unos procesos seleccionados. En otro ejemplo, cuando unos productos combustibles de diferentes propietarios comparten la misma infraestructura (p.ej., un oleoducto), un combustible marcado permite a los operarios conocer qué combustible está en qué lugar y en qué momento

5 Similarmente, la adición de un marcador proporciona también seguridad contra la responsabilidad legal. Por ejemplo, la ausencia de un marcador en una muestra derramada de petróleo o gasolina permite que estén exentos de responsabilidad los propietarios del combustible que han añadido un marcador a su petróleo o gasolina. En muchos casos, el uso de los marcadores conocidos da como resultado una insuficiente precisión, exactitud de detección u otros problemas.

10 Se pueden usar también marcadores para una diversidad de otros líquidos, incluyendo pero sin limitarse a, medicaciones líquidas, productos farmacéuticos líquidos y medicinas líquidas. Se pueden usar también marcadores para ayudar a la vigilancia de los tratamientos para otros líquidos. Por ejemplo, el crecimiento de bacterias E.coli podría ser sometido a seguimiento usando un marcador. Similarmente, se podrían usar unos marcadores para vigilar el consumo de un material, p.ej. un combustible en un depósito. Esto podría ser efectivo para un líquido o un combustible sólido.

Los marcadores pueden ser también útiles para el seguimiento de materiales sólidos, p.ej. productos químicos y materiales a granel, polvos, mezclas, polímeros, etc. Por ejemplo, se podrían usar marcadores para materiales que se piense se usen en el desarrollo de explosivos.

Se pueden usar también marcadores para el seguimiento de plantas y otros objetos, p.ej. animales.

20 Se pueden usar marcadores también para el seguimiento de moléculas, biomoléculas, macromoléculas, biopolímeros, células y conjuntos macromoleculares, en otras palabras, para cualquier número de aplicaciones en las ciencias de la vida, incluyendo, pero sin limitarse a, diagnósticos in vitro e in vivo. En estas aplicaciones, los marcadores se refieren típicamente como "marcaciones de detección óptica" o "marcaciones de cuantificación óptica". Por las mismas razones que se han descrito más arriba, unos marcadores o unas marcaciones que se pudieran usar con largas longitudes de onda de excitación serían útiles para el seguimiento de otros líquidos, sólidos, objetos vivos, y para aplicaciones de las ciencias de la vida.

30 Muchos métodos conocidos de detectar marcadores utilizan una de varias técnicas espectroscópicas, por ejemplo unas técnicas de espectroscopia intensificada por superficie (SES), tales como una SERS o SERRS. Existe un número extraordinariamente grande de materiales activos en SERS. Hablando en términos generales, los materiales apropiados caen dentro de dos categorías: los que tienen un tamaño a la nano-/micro-escala y los macroscópicos. Por ejemplo se conocen ciertos tamaños y ciertas formas de nanopartículas de Ag y Au, y conglomerados de las mismas, que soportan una SERS. Similarmente, se han descrito en la bibliografía una gran variedad de substratos para SERS macroscópicos, incluyendo electrodos, películas depositadas por evaporación, películas de Langmuir-Blodgett, matrices planas bidimensionales (= de 2 dimensiones), etcétera.

35 Unos conocidos métodos de marcación de la técnica anterior, que utilizan marcaciones activas en SERS, incluyen típicamente una molécula o un tinte reportera/o que tiene conocidas características activas en SERS. Por ejemplo, un conocido producto químico activo en SERS puede ser añadido en forma de un tinte para marcar a un combustible y a un subsiguiente espectro de SERS obtenido cuando el tinte activo en SERS es asociado con una partícula o un substrato de un metal activo en SERS.

40 Varios de los materiales y métodos que se divulgan tienen como particularidad el uso de un marcador activo en espectroscopia intensificada por superficie (SES). Unas técnicas de SES representativas incluyen, pero no se limitan a, una SERS, una SERRS y otras. La intensificación por superficie ha sido observada en otros diversos métodos o sistemas de espectroscopia. Las que se han estudiado con mayor amplitud han sido la dispersión Raman intensificada por superficie y la fluorescencia intensificada por superficie (SEF). Sin embargo, se han observado una

45 diversidad de otros fenómenos intensificados por superficie, incluyendo la hiper dispersión Raman intensificada por superficie (SEHRS), la hiper dispersión por resonancia Raman intensificada por superficie (SEHRRS), la dispersión de Rayleigh intensificada por superficie, la generación de segundo armónico intensificado por superficie (SHG), la reflectancia por absorción de infrarrojos intensificada por superficie (SEIRA), y la ionización por desorción de un láser intensificada por superficie (SELDI). Estos son una parte de un sector más amplio conocido como

50 espectroscopia por intensificación por plasmones o espectroscopia intensificada por plasmones que, además de los fenómenos antes mencionados, incluye una emisión intensificada por plasmones superficiales (tales como SPASERS, acrónimo de surface plasmon amplification of spontaneous emission of radiation = amplificación por plasmones superficiales de una emisión espontánea de radiación), difracción intensificada por plasmones y transmisión óptica intensificada por plasmones. La intensificación por plasmones es también un método para

55 aumentar la eficiencia de celdas solares. Como se usa a lo largo de esta divulgación y de las reivindicaciones, una SES incluye la tecnología espectroscópica más arriba enumerada y cualquiera que esté relacionada o sea similar.

Muchos de los ejemplos aquí dados se describen con respecto a una SERS. Se debe señalar sin embargo que los métodos, las composiciones y las partículas que aquí se divulgan son aplicables igualmente a SERRS, SEHRS, SEF, SEHRS, SHG, SEIRA, SPASERS o a otra tecnología SES intensificada por superficie o intensificada por plasmones.

5 Tal como se ha señalado más arriba un tipo de nanopartícula activa en SERS conocida es una nanomarcación para SERS como se describe en las patentes de los EE.UU. N° 6.514.767, N° 6.861.263, N° 7.443.489 y en cualquier otra. Todas las materias divulgadas en las patentes de los EE.UU. N° 6.514.767, N° 6.861.263 y N° 7.443.489 se incorporan aquí en su totalidad para todas las materias aquí divulgadas. En una convencional composición de
10 nanomarcación para SERS, una molécula reportera es adsorbida a una superficie activa en SERS, y tanto la superficie activa en SERS como la molécula reportera son encapsuladas típicamente con sílice. Una ventaja de un revestimiento con sílice reside en que él impide que la molécula adsorbida se difunda alejándose, y también evita que otras moléculas se adsorban a la superficie. Esto confiere un cierto nivel de robustez e insensibilidad al medio ambiente a las partículas de nanomarcación para SERS, esto es, una característica deseable para muchas aplicaciones. Una típica nanomarcación para SERS puede ser excitada por una radiación incidente en las porciones del rojo o del NIR del espectro electromagnético, por ejemplo una luz incidente a 633 nm. Como se ha descrito más
15 arriba, la eficiencia de una dispersión Raman disminuye cuando aumenta la longitud de onda de la luz incidente.

Una típica nanomarcación para SERS puede ser construida como la partícula con un tamaño a la nanoescala de tres componentes 200 que se ilustra en la Figura 2. El primer componente es un núcleo metálico intensificador para SERS generalmente esférico 202. El núcleo puede ser, pero no se limita a, una esfera de oro (Au) sólida con un
20 diámetro de aproximadamente 90 nm, pero son posibles otros metales, otras formas y otros tamaños. El cometido del núcleo 202 consiste en acoplarse electromagnéticamente con una radiación láser incidente y crear un campo electromagnético amplificado localmente, que conduce a unos aumentos en un múltiplo de 10^2 hasta 10^9 en la intensidad de dispersión Raman. El segundo componente es una "reportera" activa en SES, 204, una molécula u otro material activo espectroscópicamente en estrecha proximidad (e idealmente en forma adsorbida) a la superficie del núcleo. La salida en un experimento de SERS es el espectro vibracional, similar a una huella digital, de la reportera, cuya intensidad es proporcional a la polarizabilidad. El tercer componente de una convencional marcación para longitud de onda corta es un encapsulante 206. Típicamente, el encapsulante es SiO_2 , un polímero u otro material apropiado. Los cometidos principales del encapsulante 206 consisten en impedir que la reportera 204 se difunda alejándose de la superficie del núcleo y evitar que otras especies (que pudieran generar "huellas digitales" desconcertantes) lleguen a la superficie.
30

Tal como se ha descrito en las patentes de los EE.UU. N° 6.514.767, N° 6.861.263 y N° 7.443.489, unas conocidas nanomarcaciones para SERS son excitadas usando una luz láser en las porciones del rojo o del infrarrojo próximo del espectro. Por ejemplo, están comercialmente disponibles unos láseres Raman que emiten a 633 nm, 785 nm o 1.064 nm y que son apropiados para su uso con convencionales partículas activas en SERS. Como se ilustra en la Fig. 1, estas longitudes de onda no son seguras para los ojos. Como se ha definido en el presente caso, cualquier
35 longitud de onda de excitación de menos de 1.400 nm no es "segura para los ojos". Unas longitudes de onda mayores que 1.400 nm son definidas como seguras para los ojos. En particular unos láseres comercialmente disponibles que emiten a 1.432 nm y a aproximadamente 1.550 nm son definidos como seguros para los ojos. Unas nanomarcaciones para SERS que se describen en las patentes de los EE.UU. N° 6.514.767, N° 6.861.263 y N° 7.443.489 no son apropiadas para su uso con una fuente de láser segura para los ojos de potencia razonable puesto que la eficiencia de la dispersión Raman usando las configuraciones de núcleos y los tipos de reporteras que en ellas se divulgan, es reducida espectacularmente a longitudes de onda más largas, que son seguras para los ojos. Como se ha descrito más arriba, muchas formas de realización de marcadores requieren unas marcaciones o unas partículas que puedan ser suspendidas durante un período de tiempo seleccionado, o indefinidamente, en una matriz líquida. Una excitación segura para los ojos favorece a las partículas más grandes, mientras que la idoneidad para el dispersamiento suspendido a largo plazo en una matriz líquida favorece a las partículas más pequeñas. Correspondientemente, es particularmente problemático el diseño de una marcación suspendible para SERS que se pueda usar a unas longitudes de onda que sean seguras para los ojos.
40
45

El desafío de producir unos marcadores para SERS que sean útiles a unas longitudes de onda de excitación que sean seguras para los ojos, por ejemplo a aproximadamente 1.432 nm y aproximadamente 1.550 nm, no puede ser subestimado. Actualmente no hay ninguna bibliografía que describa unas SERS a dichas longitudes de onda. La mayor parte de cualquier tipo de intensificación de SES procede de resonancias electromagnéticas debidas a un plasmón superficial localizado de la superficie metálica. Para las nanopartículas metálicas esféricas más corrientes, Ag y Au, el plasmón superficial de partículas individuales está situado cerca de 400 y 530 nm, respectivamente. Por
50 producción de unos conglomerados de las partículas, o por producción de unas partículas no esféricas, el plasmón puede ser desplazado más hacia el rojo y el infrarrojo. Un Au esférico no soporta resonancias plasmónicas significativas a 1.550 nm, ni siquiera aunque esté fuertemente conglomerado. Por lo tanto, el hecho de moverse a una excitación de 1.550 nm requerirá típicamente unas nuevas configuraciones de los núcleos; lo que se hace más desafiante si se requiere que la partícula permanezca también suspendida en un disolvente. Un enfoque de estas metas tiene como particularidad unos núcleos de partículas anisotrópicas y, posiblemente, a unas estructuras de núcleo y envolvente, como se describirá con detalle más adelante.
55
60

Una forma de realización alternativa de una partícula que puede ser excitada eficientemente a unas longitudes de ondas seguras para los ojos incorpora nuevas moléculas reporteras, ya sea con un núcleo esférico convencional o con un núcleo anisotrópico. Es importante señalar que la meta de una partícula o un marcador activa en SES, que se puede excitar a longitudes de onda seguras para los ojos, se puede conseguir con una nueva configuración del núcleo, con una nueva reportera o con una combinación de estas técnicas.

Partículas para longitudes de onda largas con núcleos anisotrópicos

A. Nanotubos huecos

La aptitud de una partícula para permanecer suspendida en un líquido puede ser aumentada reduciendo la masa de esta partícula. Se pueden producir unas partículas huecas que tienen como particularidad unos núcleos de masa reducida, al mismo tiempo que se retienen la mayor parte de las propiedades ópticas de los núcleos más grandes. Por ejemplo se espera que una varilla metálica hueca tenga una resonancia plasmónica en el IR próximo. Se han sintetizado unos nanotubos de Au por reemplazo galvánico comenzando con varillas de Ag. *Nanovarillas metálicas huecas con dimensiones modulables, porosidad, y propiedades fotónicas*, Nathanael R. Sieb, Nien-chen Wu, Elham Majidi, Richa Kukreja, Neil R. Branda y Byron D. Gates, ACS Nano, Article ASAP • DOI: 10.1021/nn900099t • Fecha de publicación (Web): 13 de Mayo de 2009. Este ejemplo particular muestra un desplazamiento del plasmón de Au a 750 nm. Por construcción de nanotubos con Cu se debería desplazar la banda plasmónica más hacia longitudes de onda más largas. Se han producido también nanotubos de oro fusionando unas nanoesferas de Au *Alineación de nanopartículas de cobalto como plantillas* Adam M. Schwartzberg, Tammy Y. Olson, Chad E. Talley y Jin Z. Zhang J. Phys. Chem. C, 2007, 111 (44), 16080-16082 • DOI: 10.1021/jp076034b • Fecha de publicación (Web): 5 de Octubre de 2007.

Alternativamente, se podrían producir tubos directamente por deposición de un metal, por ejemplo Au, Ag o Cu, en el interior de una plantilla tal como una membrana de alúmina que ha crecido anódicamente o una matriz de tubos de vidrio. La membrana sería entonces disuelta, dando como resultado un nanotubo metálico liberado.

Como se muestra en la Fig. 3, el interior de un nanotubo 300 puede ser revestido con una molécula reportera para SERS 302. Una capa protectora 304 tal como de sílice u otro óxido metálico, se puede hacer crecer o depositar sobre el exterior de la estructura para proporcionar un aislamiento con respecto al medio ambiente. Finalmente, una molécula orgánica o un revestimiento orgánico 306 se puede sujetar a la capa protectora 304 para proporcionar una solubilidad mejorada en disolventes no polares.

B. Nanoanillos entrelazados

Una configuración alternativa de un núcleo anisotrópico, que puede ser apropiada para partículas SERS seguras para los ojos tiene como particularidad un núcleo de nanoanillos entrelazados. La producción de anillos de oro entrelazados se puede conseguir mediante el uso de una plantilla de catenano orgánico. Con el fin de producir anillos con dimensiones nanométricas es necesario trabajar con unos catenanos poliméricos. Se puede producir un catenano polimérico como se muestra en la Fig. 4 derivatizando un compuesto complejo de metal y ligando tetracoordinado con un polímero de amino poliacrilato seguido por la amidación de los grupos de éster con etilendiamina en exceso, como se describe en C. O. Dietrich-Buchecker, J.-P. Sauvage, J. P. Kintzinger, Tetrahedron Lett. 1983, 24, 5095; C. O. Dietrich-Buchecker, J.-P. Sauvage, J. M. Kern, J. Am. Chem. Soc. 1984, 106, 3043 y J.-P. Sauvage, Acc. Chem. Res. 1990, 23, 319. El tamaño de los anillos se puede gobernar mediante el peso molecular del polímero. El catenano poliaminado se puede usar entonces como plantilla para la formación de los anillos de oro. Unas pequeñas nanopartículas de oro monofuncionalizadas se pueden enlazar covalentemente a los grupos amino del polímero, formando una ristra de nanopartículas; D. Qiu, J. G. Worden, J. Trullinger, Q. Huo, J. Am. Chem. Soc. 2005, 127, 8008. El crecimiento de oro alrededor de la ristra de nanopartículas podría proporcionar unos anillos de oro entrelazados. La descomplejación desde el átomo de Cu se puede hacer antes o después del crecimiento del oro.

Alternativamente, se puede usar un reemplazo galvánico para crear nanopartículas de Au huecas a partir de plantillas de nanopartículas de Ag. En esta forma de realización, como se muestra en la Fig. 5, se pueden crear unos anillos de Au 500 a partir de unos nanoprismas de Ag 502. Las nanoprismas de Ag son unas nanopartículas de Ag cuya forma varía desde la de triángulos a la de hexágonos a la de discos. Cuando se introducen iones de Au en la solución de nanoprismas de Ag, al Ag es reemplazada por Au, creando unos anillos huecos de Au que están configurados de una manera similar a la de la plantilla de partida. ACS Nano, 2009, 3 (6), páginas 1365-1372

C. Esferas y cubos huecos/os

Se pueden producir partículas esféricas huecas siguiendo un enfoque de "plantilla de crecimiento y envoltura". La plantilla de crecimiento puede ser no metálica (de poliestireno, sílice, etc.), en cuyo caso la envoltura es añadida al exterior por un mecanismo de crecimiento sembrado. Unos primeros coloides de siembra pequeños (con frecuencia

de Au) son sujetos al exterior de una perla de sílice o un polímero. Luego se deja crecer Au adicional dando como resultado una envoltura continua. Puesto que la envoltura se puede producir con algunos poros, la partícula de la plantilla de crecimiento es entonces retirada con facilidad disolviendo la plantilla que ha crecido con el producto químico apropiado. Como un ejemplo, Tam y colaboradores han producido unas partículas huecas relativamente grandes con resonancias plasmónicas a 1.900 nm. *Nanoenvolturas mesoscópicas: Resonancia plasmónica dependiente de la forma geométrica más allá del límite cuasiestático*, Felicia Tam, Allen L. Chen, Janardan Kundu and Hui Wang, Naomi J. Halas J. Chem. Phys. 127, 204703, 2007. Alternativamente, si una partícula de Ag se usa como la plantilla de crecimiento, el desplazamiento galvánico de la Ag por el Au se ha usado para producir tanto esferas huecas como cubos huecos. Como se muestra en la Fig. 6, una vez que se ha producido una envoltura hueca 600 se pueden insertar unas moléculas reporteras 602 en el interior de la partícula, seguido por una reacción para cerrar herméticamente el interior.

D. Esferoides oblatos huecos

Un enfoque de "plantilla de crecimiento y envoltura" como se ha descrito con anterioridad con respecto a esferas, se puede adoptar con núcleos no esféricos. Un ejemplo de este tipo de partículas tiene un núcleo de hematita, una envoltura de Au de 9,8 nm y un máximo de extinción a 1.250 nm. *Nanoarroz: Una nanoestructura plasmónica híbrida*, Hui Wang, Daniel W. Brandl, Fei Le, Peter Nordlander y Naomi J. Halas Nano Lett., 2006, 6 (4), 827-832 • DOI: 10.1021/n1060209w • Fecha de publicación (Web): 11 de Marzo de 2006.

E. Partículas de envolturas múltiples

Varios artículos teóricos han informado de que unas partículas de capas múltiples tienen resonancias plasmónicas estrechas con grandes intensificaciones de los campos electromagnéticos. Un núcleo de nanopartícula activa en SERS que tiene características de plasmones sintonizados finamente puede estar compuesto, por lo tanto, de múltiples envolturas. El núcleo intensificador para SERS puede incluir tanto el metal que se usa para la plasmónica como unas capas (por ejemplo de materiales dieléctricos) que se pueden usar como espaciadores para crear unos intersticios bien definidos entre las capas metálicas. Por ejemplo, como se muestra en la Fig. 7, un núcleo intensificador para SERS 700 que se compone de múltiples envolturas metálicas 702, 704, debería proporcionar una intensificación SERS adicional y la capacidad de modular la resonancia plasmónica al infrarrojo. El campo electromagnético experimentado entre las capas metálicas debería ser similar al encontrado en las uniones entre dos partículas adyacentes, puesto que la respuesta óptica de ambos sistemas es impulsada por la interacción de dos plasmones distintos. Controlando el espesor y la composición de cada capa, debería ser posible una modulación exacta de la respuesta óptica.

La envoltura interna podría consistir en cualquiera de las partículas de núcleo hueco y envoltura que más arriba se han descrito. Una capa de material dieléctrico dopado con una reportera 706, por ejemplo de sílice o un polímero, se podría entonces hacer crecer sobre esta partícula. Por ejemplo, una molécula reportera, tal como un tiol aromático, puede ser enlazada a la envoltura y luego una capa de sílice se puede hacer crecer sobre ella por medio del procedimiento de Stöber. La capa dieléctrica 606 sería entonces modificada para el crecimiento de la envoltura exterior. Por ejemplo, en el caso de una capa dieléctrica de sílice, se puede usar el mismo procedimiento que más arriba se ha descrito para una partícula con una única envoltura. Alternativamente, si se usa un polímero cargado positivamente en la capa dieléctrica, podrían ser enlazadas al polímero electrostáticamente, tal como se ha descrito por Sanles-Sobrido, y colaboradores, JACS. 2009, 131, 2699-2705, unas partículas de siembra de Au que entonces serían utilizadas para el subsiguiente crecimiento mediado por siembra de la envoltura metálica.

Sería ventajoso tener unos metales depositados sobre otros materiales de núcleo con unas tolerancias de espesor de 2-5 nm con el fin de ajustar a medida unas respuestas plasmónicas suficientemente bien definidas. El espesor de la capa tiene un mayor impacto sobre el comportamiento óptico para partículas de envolturas múltiples que para metales macizos. Esto es demostrado por los perfiles de extinción de unas envolturas de Au sobre núcleos de hematita, de los que se observa que son desplazados hacia el rojo en aproximadamente 200 nm cuando las envolturas de Au aumentan desde 9,3 a 27,5 nm. Usando los métodos existentes, las envolturas de oro más delgadas serán definidas parcialmente por el tamaño y la densidad de los revestimientos "cebadores" de nanopartículas de Au, y es probable que sean casi de 10 nm. No obstante, unas envolturas más gruesas pueden ser atacadas químicamente para definir una construcción final relativamente delgada. Un agente de ataque químico tal como KCN se puede usar en conjunción con una vigilancia en tiempo real del perfil de extinción, y se puede extinguir en el punto final deseado.

Como se ha descrito más arriba, unas envolturas o capas inorgánicas o poliméricas se pueden usar para controlar el intersticio entre dos envolturas metálicas. Por ejemplo, unas envolturas de SiO₂ químicamente resistentes, que tienen solamente un espesor de 2-3 nm, han sido construidas sobre un núcleo metálico. La deposición de otra capa metálica sobre estas envolturas impulsará la respuesta plasmónica más hacia el NIR y creará un intersticio bien definido entre los dos metales, de modo similar a la creación de conglomerados de nanopartículas. Por imbibición de una reportera para Raman dentro de esta capa se espera un aumento mayor en la intensificación electromagnética. El espesor del espaciador dieléctrico tiene incluso más impacto sobre la respuesta plasmónica del núcleo

intensificador global, de esta manera, idealmente, las capas dieléctricas se harán crecer y se atacarán químicamente con una precisión de 1 nm. Similarmente, unas candidatas para el desarrollo de espaciadores dieléctricos son unas capas de un polímero con carga alternante. Dichas estrategias de deposición a razón de capa por capa (LBL, acrónimo de layer by layer) deberían permitir un control de magnitud sub-nanométrica del espesor de la envoltura.

- 5 Una ventaja principal de las nanopartículas de núcleo y envoltura reside en que la plantilla de crecimiento se puede retirar selectivamente. Unos núcleos con plantilla de crecimiento de SiO₂ se pueden retirar por ataque químico con HF y el hueco subsiguiente puede ser reemplazado por una molécula reportera o por otros materiales de densidad más baja para aumentar la capacidad de estas partículas para permanecer suspendidas en una matriz líquida. El uso de unas envolturas de Au/Ag mixtas (o de otras aleaciones) permite también la producción de unas envolturas perforadas por ataque químico selectivo de Ag, con lo que se facilitan la retirada y el reemplazo de la plantilla. Similarmente, se ha demostrado la formación de nanopartículas de Au sobre la superficie interna de una envoltura de sílice por lo demás hueca, que puede ser seguida por una inserción de materiales activos en Raman. Es posible expandir este método y permitir que unos grandes excesos de la reportera se difundan dentro de la envoltura, seguido por un crecimiento adicional del metal para cerrar herméticamente la reportera en el interior. La posible adición de otro núcleo metálico intensificador de SES dentro de esta construcción podría intensificar aún más la respuesta de SERS a unas longitudes de onda seguras para los ojos.

F. Conglomerados de partículas más pequeñas

- Además de la creación directa de construcciones de núcleos intensificadores para SES que poseen ideales propiedades electromagnéticas, el rendimiento global de una partícula activa en SES puede ser afectado controlando la conglomeración, o el ensamble de partículas isotrópicas o anisotrópicas. Por ejemplo, se han mostrado diferencias espectaculares en los perfiles de extinción entre nanovarillas de oro que están alineadas de modo yuxtapuesto por los extremos en vez de yuxtapuesto por los lados.

- Por lo tanto, puede ser posible usar unos conglomerados de pequeñas partículas y obtener una respuesta de SERS con una longitud de onda de excitación de aproximadamente 1.550 nm. Por ejemplo, unas simulaciones por el método de elementos finitos muestran que es posible crear un conglomerado de pequeñas nanopartículas de Au, que es resonante en el IR. Unas simulaciones realizadas con el paquete de software COMSOL Multiphysics 3.4 muestran que un conglomerado de cinco coloides de Au con un diámetro de 20 nm puede tener una resonancia plasmónica de aproximadamente 1.450 nm, como se muestra en los gráficos de la Fig. 8. La simulación supone que las nanopartículas deberían estar en contacto físico entre ellas y dispuestas en una configuración lineal que sea paralela a la polarización de la luz entrante. En estas condiciones, la resonancia plasmónica de esta estructura es desplazada a unas longitudes de onda mucho más largas que la resonancia plasmónica a 520 nm de las partículas individuales. Se demuestra también que dichos conglomerados serían eficaces para una SERS a longitudes de onda largas, puesto que ellos crean unas altas intensificaciones del campo electromagnético próximo en su resonancia plasmónica.

- El desarrollo de nuevos diseños del núcleo, como más arriba se han descrito, puede afrontar las preocupaciones de la plasmónica que se usa a longitudes de onda más largas, que son seguras para los ojos, pero estos diseños del núcleo pueden no ser conducentes a un uso con partículas activas en SES, de las que se requiere que permanezcan suspendidas en un líquido durante un extenso período de tiempo. Unos materiales orgánicos se pueden sujetar, depositar o hacer crecer sobre el exterior de las partículas descritas con el fin de mejorar la capacidad de estas partículas para permanecer suspendidas en un líquido.

- El Au y la Ag son los metales discutidos predominantemente para núcleos de partículas activas en SES. El Au y la Ag han recibido tradicionalmente la máxima atención puesto que la respuesta plasmónica de estos materiales se empareja bien con normales longitudes de onda de excitación en el rojo y estos materiales son razonablemente estables. Unos materiales alternativos, tales como Cu, deberían poseer unas excelentes propiedades plasmónicas para una excitación a longitudes de onda más largas, que sean seguras para los ojos, pero el Cu es muy propenso a la oxidación. Además existen otros materiales intensificadores de SES que se pueden usar para núcleos intensificadores anisotrópicos incluyendo, pero sin limitarse a Pd, Pt, Co y metales similares. Estos materiales de núcleo alternativos pueden poseer interesantes perfiles de extinción en el NIR, o ser útiles para revestimientos adicionales.

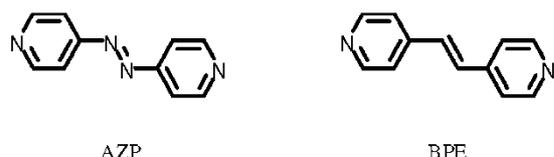
50 Reporteras activas en SERS para su uso con longitudes de onda de excitación que son seguras para los ojos

- La idoneidad de una partícula activa en SES para una excitación eficaz a unas longitudes de onda que son seguras para los ojos se puede determinar también por medio de la reportera activa en SES que se escoja, o una combinación de la configuración de reportera y núcleo intensificador. Por ejemplo, unas reporteras resonantes apropiadas para partículas pueden ser excitadas a unas longitudes de ondas que son seguras para los ojos, pueden estar basadas en unos compuestos complejos de metales de transición, en donde son posibles tres tipos de resonancia centrada en la reportera a aproximadamente 1.550 nm. En primer lugar, es conocido que unos compuestos complejos d⁸ octaédricos de metales de transición (p.ej. sales de Ni²⁺) exhiben unas absorbencias

5 mensurables con facilidad en el IR próximo, que emanan de transiciones ópticas ${}^3A_{2g} \rightarrow {}^3T_{2g}$. Puesto que estas transiciones están entre orbitales d, ellas son rechazadas por simetría y por lo tanto son débiles, con unas absorbencias molares (ϵ) típicas situadas en el intervalo de $0,5 - 50 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$. No obstante, ellas son unos objetivos de síntesis atractivos, toda vez que ellas pueden ser muy estables. Por ejemplo, por uso de NH_3 como un ligando, se puede evitar el uso de carbono. Similarmente, se puede hacer que ellas se adsorban a un núcleo metálico intensificador de SERS usando simples consideraciones de cargas.

10 Alternativamente, se conocen también en la química de los metales de transición unas transiciones ópticas con transferencia de cargas desde el metal al ligando (MLCT = acrónimo de metal to ligand charge transfer) o las correspondientes transiciones LMCT inversas, en donde en ambos casos la densidad de electrones es parcialmente deslocalizada entre orbitales moleculares de los metales y los ligandos (siendo un ejemplo de las primeras el $[\text{Ru}(\text{bpy})_3]^{2+}$). Estas transiciones implican unos orbitales de simetría par (M) o impar (L) y son por lo tanto permitidas, y pueden tener unos valores de ϵ situados en el intervalo de $5.000-50.000 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$. En compuestos complejos de metales de transición estas transiciones están típicamente en la región visible de longitudes de onda. Se pueden encontrar unas transiciones MLCT o LMCT entre reporteras y núcleos intensificadores cerca de 1.550 nm . Una evidencia de esto ha sido demostrada, como se describirá más adelante, a 1.064 nm , en donde la reportera AZP muestra unos espectros de SERS anómalamente intensos comparados con los de otras reporteras, como se evidencia por las relaciones relativas de intensidades de SERS a 785 nm y a 1.064 nm , que se hubiera esperado que siguiesen la relación de aproximadamente $[1064/785]^4$.

20 En particular las Figs. 9A, 9B y 9C muestran los espectros de SERS de nanomarcaciones para SERS de 4,4'-azopiridina (AZP) y 1,2-bis(4-piridil)etileno (BPE) a 3 diferentes longitudes de onda de excitación: 785 nm , 1.064 nm y 1.546 nm . Ambos tipos de nanomarcaciones para SERS tienen unos núcleos de oro de 90 nm . La AZP y el BPE tienen una estructura molecular muy similar, como se muestra más abajo, incluyendo el mismo tamaño de la trayectoria conjugada y los mismos grupos de fijación a un metal.



25 La obvia diferencia entre las dos moléculas reporteras es la naturaleza del grupo que puentea a los anillos aromáticos, lo que da como resultado diferentes niveles de energía de sus orbitales HOMO y LUMO, como se demuestra por el diferente color de estos compuestos. La intensificación desacomodadamente alta para marcaciones con AZP a longitudes de onda más largas, como se muestra comparando la intensidad de dispersión representada gráficamente en la Fig. 9A, correspondiente a una excitación a 785 nm , y en la Fig. 9B, correspondiente a una excitación a 1.064 nm , correspondiendo la Fig. 9C a una excitación a 1.546 nm , puede ser debida a una transferencia de cargas del metal al ligando o del ligando al metal entre la AZP y el metal, que es hecha posible por sus características energías de orbitales moleculares.

35 Otros compuestos aromáticos de tipo azoico que pueden ser igualmente eficientes como moléculas reporteras a longitudes de onda más seguras para los ojos incluyen, pero no se limitan a 4,4'-dinitilazobenceno, 4-(4-quinolilazo)piridina, 4-(4-etinilfenilazo)piridina, 5-(4-piridilazo)imidazol, 3-(4-piridilazo)tiofeno, 5-(4-piridilazo)tiazol y compuestos similares.

40 Un tercer interesante compuesto complejo de metal de transición incluye unos compuestos complejos de valencia mixta o de transferencia intervalencias (IT), que exhiben unas absorbencias amplias, muy intensas, en la región del IR próximo o del IR del espectro. Estas absorbencias resultan de unos electrones que son compartidos entre dos o más metales puenteados por un ligando orgánico tal como $-\text{CN}$ o pirazina. Este emborronamiento de la densidad de electrones conduce a una alta polarizabilidad, que es un factor clave para una emisión Raman. Unos simples ejemplos de compuestos de valencia mixta incluyen el clásico ion de Creutz-Taube, para el que se ha publicado un espectro Raman de resonancia en solución usando una excitación a 1.320 nm , y el Azul Prusia, incluso más simple.

45 Una serie de compuestos de metales de transición de valencia mixta con intensas bandas de IT en el IR próximo pueden ser apropiados para reporteras en marcaciones para SES útiles a unas longitudes de onda que son seguras para los ojos. Estos incluyen unos compuestos complejos que contienen 2-6 iones de los metales Ru, Os o Fe, con unos ligandos escogidos de tal manera que ellos se adsorberán a las superficies de núcleos metálicos intensificadores. Por ejemplo, se puede producir el anión trinuclear $[(\text{CN})(\text{bpy})_2\text{Ru}-\text{CN}-\text{Ru}(\text{dcbpy})_2-\text{NC}-\text{Ru}(\text{bpy})_2(\text{CN})]^-$ (en donde bpy = 2,2'-bipiridina y dcbpy = 4,4'-dicarboxi-2,2'-bipiridina), que tiene el espectro óptico mostrado en la Fig. 10. Esta molécula tiene una ϵ a una λ_{max} (1.280 nm) de $4.600 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$ que se extiende claramente más allá de 1.500 nm , y tiene cuatro carboxilatos libres que se pueden usar para anclarla a superficies metálicas.

Una serie de ferrocenos enlazados a olefinas, de valencia mixta, que exhiben una ϵ , a una λ_{\max} entre 1.500 y 1.800 nm, de aproximadamente $2.000 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$, se pueden producir también introduciendo grupos -SH o -NH₂ para inducir la fijación a un núcleo metálico intensificador. Alternativamente, se describen en (*Angew. Chem. Int. Ed.* **2007**, *46*, 1778-1796 y las referencias que allí se citan), unos compuestos complejos de valencia mixta con la estructura general mostrada seguidamente, que incluyen especies formadas por 2 o más átomos metálicos en donde M^{II} and M^{III} son Ru, Os o Fe en el estado de oxidación +2 y +3. BL es un ligando de puente conjugado que incluye pirazina, 4,4'-bipiridilo, 1,2-bis(4-piridil)etileno, 1,4-bis(4-piridil)benzeno, 1,4-bis-[(4-piridil)etenil]benzeno, acetileno, diacetileno, triacetileno, tetraacetileno, 1,2-dietinilbenzeno, 4,4'-dietinil-bifenilo, 4,4''dietinil-p-terfenilo, 4-etinilpiridina, 4-(4-etinilfenil)piridina, 1-(4-piridil)-2-(4-etinilfenil)etileno o compuestos similares. Los L_n son unos ligandos mono- o multi-dentados que completan la esfera de coordinación del metal y contienen unos grupos funcionales que se fijan al núcleo metálico, que incluyen 2,2'-dipiridilo, ácido 2,2'-bipiridina-4,4'-dicarboxílico, 2,2':6',2''-terpiridina, 1,10-fenantrolin-5-amina, y compuestos similares.



Como se ha descrito más arriba, unas marcaciones para SERS que pueden ser excitadas a longitudes de onda relativamente largas que son seguras para los ojos, son útiles puesto que los dispositivos láser usados para detectar dichas marcaciones son excepcionalmente seguros. Existe también un fuerte mercado comercial para la instrumentación con el fin de intensificar la visión durante la noche. Dicha instrumentación puede variar en complejidad desde unos aparatos manejados manualmente, por ejemplo unos binoculares de visión nocturna, hasta una instrumentación más complicada que está montada en una posición estacionaria o incluso en un vehículo en movimiento para muchos usos, incluyendo, pero sin limitarse a, una batalla nocturna. En todos los casos, estos instrumentos usan una detección en el IR próximo en la forma de un diferencial de calor entre objetos o lugares. Las partículas descritas en el presente contexto, que emiten unas firmas de SERS a longitudes de onda de infrarrojos más largas, pueden ser detectadas por unos instrumentos para visión nocturna basados en una SERS, o unos instrumentos híbridos que detectan unas firmas tanto de calor como de SERS.

Una forma de realización alternativa incluye un método de producir una partícula como se ha descrito más arriba, cuya partícula produce un espectro de SES mensurable cuando es excitada por una luz incidente que tiene una longitud de onda de por lo menos 1.400 nm.

Una forma de realización alternativa incluye un sistema de detección que comprende una partícula como se ha descrito más arriba y un detector que tiene una fuente de iluminación que proporciona una iluminación a una longitud de onda de por lo menos 1.400 nm.

Una forma de realización alternativa incluye un método de marcar a un material, que comprende proporcionar una partícula como se ha descrito más arriba, que tiene un espectro de SES mensurable cuando es excitada por una luz incidente que tiene una longitud de onda de por lo menos 1.400 nm, y asociar a la partícula con un material que interesa. Por ejemplo, la naturaleza pequeña, robusta, no tóxica y fácilmente sujetable de las partículas seguras para los ojos, que aquí se describen, permite su uso para marcar virtualmente cualquier objeto deseado. El objeto sometido a seguimiento puede estar hecho de un material sólido, líquido o en fase gaseosa, o en cualquier combinación de fases. El material puede ser un objeto sólido discreto, tal como un recipiente, una píldora o una pieza de joyería, o un material continuo o granular, tal como una pintura, una tinta, un combustible o una pieza alargada de, p.ej., un material textil, un papel o un material plástico, en cuyo caso las partículas están distribuidas típicamente a lo largo del material.

Unos ejemplos de materiales u objetos específicos que pueden ser marcados con las partículas seguras para los ojos que aquí se describen, o dentro de las que se pueden incorporar estas partículas, incluyen, pero no se limitan a:

Materiales para envasar, incluyendo adhesivos, papel, materiales plásticos, etiquetas y cierres herméticos

Productos agroquímicos, semillas y plantas útiles

45 Obras de arte

Chips de ordenadores

Cosméticos y perfumes

Discos compactos (CDs), disco de video digitales (DVDs) y cintas de video

Documentos, dinero y otros productos de papel (p.ej. etiquetas, pasaportes, certificados de derechos y acciones)

Tintas, pinturas, barnices, lacas, recubrimientos superiores, capas de acabado y tintas

Dispositivos electrónicos

Explosivos y armas

Alimentos y bebidas, así como tabaco,

5 Materiales textiles, ropa, calzado, productos de diseño y etiquetas para vestimenta

Polímeros

Insectos, pájaros, reptiles y mamíferos

Polvos

Artículos de lujo

10 Otras sustancias u otros materiales contra la falsificación, tales como hologramas, dispositivos variables ópticamente, tintas para desplazamiento del color, hilos y partículas ópticamente activas

Residuos peligrosos

Accesorios y cosas memorables de películas de cine, y cosas memorables y vestimenta para deportes

Piezas de fabricación, piezas de automóviles, piezas de aviones, piezas de camiones.

15 Petróleo, combustibles, lubricantes, gasolinas, petróleo crudo, combustibles diesel, paquetes de aditivos para combustibles, aceites crudos

Productos farmacéuticos, fármacos con receta, medicinas sin receta y vacunas

20 Las partículas seguras para los ojos que aquí se describen pueden ser asociadas con el material de cualquier manera que mantenga su asociación, al menos hasta que las partículas sean leídas. Dependiendo de cuál sea el material que haya de ser marcado, las partículas pueden ser incorporadas durante la producción o asociadas con un producto acabado. Puesto que ellas son tan pequeñas, es improbable que las partículas tengan un efecto perjudicial sobre ya sea el proceso de fabricación o el producto acabado. Las partículas pueden ser asociadas con, o sujetas al, material a través de cualquier medio químico o físico que no interfiera inherentemente con la funcionalidad de las partículas. Por ejemplo, las partículas pueden ser mezcladas con, y distribuidas a lo largo de, una sustancia basada en un líquido, tal como una pintura, un aceite o una tinta, y luego aplicadas a una superficie. Ellas pueden ser enrolladas dentro de fibras de un género textil, un papel u otro producto fibroso o tejido, o pueden quedar atrapadas entre las capas de una etiqueta de capas múltiples. Las partículas pueden ser incorporadas durante la producción de un material polimérico o suspendido, y fijadas durante la polimerización o desecación del material. Adicionalmente, las superficies de las partículas pueden ser derivatizadas químicamente con grupos funcionales de cualquier característica deseada, para la sujeción por enlaces covalentes o no covalentes con el material. Cuando las partículas son aplicadas a un producto acabado, ellas pueden ser aplicadas manualmente, p.ej. por una pipeta, o automáticamente por una pipeta, una boquilla de atomización o medios similares. Las partículas pueden ser aplicadas en solución en un disolvente apropiado (p.ej. etanol), que luego se evapora.

35 Las partículas seguras para los ojos que aquí se han divulgado tienen un cierto número de propiedades inherentes que son ventajosas para aplicaciones de marcación y seguimiento. Ellas ofrecen un número muy grande de códigos posibles. Por ejemplo, si se construye un conjunto de partículas con 20 espectros Raman distinguibles, y un objeto se marca con dos partículas, hay $20 \times 19 / 2 = 190$ códigos diferentes. Si el número de partículas por objeto es aumentado a 5, hay 15.504 códigos posibles. Diez partículas por objeto proporcionan $1,1 \times 10^6$ códigos diferentes. Un monocromador más sofisticado aumenta el número de espectros distinguibles a, p.ej., 50, aumentando grandemente el número de códigos posibles. Alternativamente se pueden usar diferentes cantidades de partículas para generar un número aumentado exponencialmente de códigos posibles. Por ejemplo, con solamente cuatro diferentes tipos de partículas ($N = 4$) presentes a tres diferentes niveles de intensidad (p.ej. alta, mediana, baja) ($L = 3$), cuando se escogen tres cada vez ($P = 3$), se pueden generar 58 códigos diferentes. Con $N = 10$, $P = 3$, $L = 1$, el número de códigos es de 175. Con $N = 50$, $P = 5$, $L = 4$, son posibles más de mil millones de códigos.

45 En algunas formas de realización, las partículas pueden ser aplicadas a un documento u otro artículo en una tinta u otro material de marcación. Las tintas incluyen, pero no se limitan a, una tinta para flexografía, una tinta para

litografía, una tinta para serigrafía, una tinta para grabado, una tinta corrida, una tinta invisible reactiva con monedas, una tinta borrrable, una tinta reactiva para plumas, una tinta reactiva por calor, una tinta infrarroja visible, una tinta variable ópticamente, y una tinta penetrante, una tinta fotocromica, una tinta reactiva con disolventes y productos químicos, una tinta termocrómica y una tinta deleble con agua. Una PSP puede ser aplicada también a máquinas electrofotográficas y de impresión por chorros de tinta y otros sistemas, que incluyen litografía offset, tipografía, grabado, heliogrado, xerografía, fotografía, sistemas de serigrafía, sistemas para la deposición en forma de imágenes de cantidades discretas de un material de marcación sobre la superficie de un sustrato, tal como sistemas de deposición de pinturas, productos químicos y películas; y sistemas para la integración de materiales colorantes en una superficie expuesta de un sustrato fibroso, tales como sistemas para la estampación de géneros textiles.

Debería señalarse que se pueden incluir o utilizar unas características de seguridad adicionales junto con las marcas divulgadas para un artículo o documentos particulares. Una de dichas características de seguridad adicionales puede ser una tinta de seguridad separada, tal como una tinta corrida, una tinta invisible reactiva con monedas, una tinta borrrable, una tinta reactiva para plumas, una tinta reactiva por calor, una tinta infrarroja visible, una tinta variable ópticamente, una tinta penetrante, una tinta fotocromica, una tinta reactiva con disolventes y productos químicos, una tinta termocrómica o una tinta deleble con agua. Las marcas pueden ser aplicadas con una parte de la tinta o en una etapa por separado. Otras características de seguridad que no están basadas en tintas, que se pueden utilizar, por añadidura a las marcas divulgadas, para la marcación de documentos o artículos incluyen el uso de un número de serie ascendente (en un formato horizontal y/o vertical), un código de barras y números, fibras coloreadas, un hilo de seguridad embebido, un dispositivo de registro óptico delantero-trasero (registro transparente), improntas de hojas, hologramas, impresiones latentes, una impresión micrométrica, dispositivos variables ópticamente (OVD, acrónimo de optical variable devices), tabilllas, marcas resaltadas, hilos de seguridad segmentados y marcas de agua o filigranas.

Las partículas divulgadas pueden ser aplicadas revistiendo una imagen, que incluye, pero no se limita a, una imagen de holograma, producida con composiciones de tóner o de tinta conocidas en la especialidad, tal como un barniz de revestimiento superior, o un revestimiento superior con almidón.

En el caso de documentos con otras características de seguridad, tales como los que incluyen hilos poliméricos o hojas metálicas, las partículas pueden ser aplicadas a una característica adicional, tal como el hilo o la lámina. Se pueden considerar unas marcas singulares para representar un bitio de datos que puede ser cambiable de acuerdo con los métodos que aquí se describen. Así, unos grupos de partículas seguras para los ojos distinguibles, que aquí se divulgan, se pueden aplicar para constituir un "alfabeto" y combinar en forma de palabras o de una información codificada, que puede ser variable selectivamente, o variable a lo largo del tiempo.

Típicamente, si se proporciona una guía de ondas apropiada (p. ej. una fibra óptica) para transmitir luz hacia y desde el objeto, la fuente de excitación y el detector pueden estar alejadas/os físicamente del objeto que está siendo verificado. Esto permite que las partículas divulgadas se usen en unos lugares en donde sea difícil colocar unas fuentes de luz o unos detectores convencionales. La naturaleza de la dispersión Raman y la excitación monocromática basada en un láser, es tal que no es necesario colocar la fuente de excitación en estrecha proximidad con la especie activa para Raman. Más aun, las partículas seguras para los ojos, que aquí se divulgan, están sujetas a su uso con todas las formas conocidas de espectrómetros Raman, incluyendo algunas ejecuciones más recientes, incluyendo espectrómetros Raman desfasados espacialmente, espectrómetros de absorción Raman, instrumentos para medir la actividad óptica de Raman etcétera, con la condición de que estos dispositivos han de estar configurados para emitir luz de una longitud de onda apropiadamente larga.

Otra característica de partículas seguras para los ojos consiste en que la medición de sus espectros no necesita estar confinada estrictamente a una detección en la " línea de visión", tal como con, p.ej., marcas fluorescentes. De esta manera su espectro puede ser adquirido sin retirar las partículas desde el objeto marcado, con la condición de que el material ha de ser parcialmente transparente tanto para la longitud de onda de excitación como para el fotón Raman. Por ejemplo, el agua tiene una despreciable actividad en Raman y no absorbe radiación visible, permitiendo que las partículas aquí divulgadas sean detectadas en agua. Las partículas seguras para los ojos pueden ser también detectadas cuando están embebidas en, p. ej., un material plástico transparente, un papel, o ciertas tintas.

Las partículas divulgadas permiten también una verificación cuantitativa, puesto que la intensidad de la señal es una función aproximadamente lineal del número de moléculas de un analito. Para partículas normalizadas (con distribución uniforme del analito), la intensidad medida de una señal refleja el número o la densidad de las partículas. Si las partículas son añadidas en una concentración conocida, la intensidad medida de la señal puede ser usada para detectar una dilución indeseada de materiales líquidos o granulares.

Diversas formas de realización de la divulgación podrían incluir también permutaciones de los diversos elementos citados en las reivindicaciones como si cada reivindicación dependiente fuese una reivindicación dependiente múltiple que incorporase las limitaciones de cualquiera de las precedentes reivindicaciones dependientes así como

de las reivindicaciones independientes. Dichas permutaciones están expresamente dentro del alcance de esta divulgación.

5 Aunque las formas de realización aquí divulgadas han sido mostradas y descritas particularmente con referencia a un cierto número de ejemplos, se podría entender por los expertos en la especialidad que se pueden hacer cambios en la forma y en los detalles para las diversas formas de realización aquí divulgadas, sin apartarse del espíritu ni del alcance de la divulgación, y no se piensa que las diversas formas de realización aquí divulgadas actúen como limitaciones sobre el alcance de las reivindicaciones.

Todas las referencias aquí situadas se incorporan en su totalidad por referencia a todas las materias aquí divulgadas.

REIVINDICACIONES

1. Una partícula que comprende:
un núcleo activo en espectroscopia intensificada por superficie (SES) que comprende una varilla hueca; y
una molécula reportera activa para SES asociada con dicho núcleo activo en SES, en donde dicha molécula
reportera activa en SES comprende por lo menos uno de los compuestos 4,4'azopiridina, 4,4'-dietinilazobenceno,
4-(4-quinolilazo)piridina, 4-(4-etinilfenilazo)piridina, 5-(4-piridilazo)imidazol y 3-(4-piridilazo)tiofeno,
5-(4-piridilazo)tiazol,
en donde dicha partícula tiene un espectro de SES mensurable cuando es excitada por una luz incidente que tiene
una longitud de onda de por lo menos 1.400 nm.
2. La partícula de la reivindicación 1 en donde el núcleo activo en SES comprende una varilla de Cu hueca.
3. La partícula de la reivindicación 1 que comprende además un revestimiento orgánico que rodea a la partícula.
4. Un método de marcar un material que comprende:
proporcionar una partícula de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1-3; y
asociar la partícula con un material que interesa.
5. El método de marcar un material de la reivindicación 4, que comprende además obtener un espectro de SES a
partir de la partícula en asociación con el material que interesa usando una fuente de luz que emite una luz que tiene
una longitud de onda de por lo menos 1.400 nm.
6. Un sistema de detección que comprende:
una partícula de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1-3; y
un detector que comprende una fuente de iluminación que proporciona una iluminación que tiene una longitud de
onda de por lo menos 1.400 nm.
7. Un método de producir una partícula de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1-3, que comprende:
proporcionar un núcleo metálico activo en espectroscopia intensificada por superficie (SES) que comprende una
varilla hueca, y
asociar una reportera activa en SES, que comprende por lo menos uno de los compuestos 4,4'azopiridina,
4,4'-dietinilazobenceno, 4-(4-quinolilazo)piridina, 4-(4-etinilfenilazo)piridina, 5-(4-piridilazo)imidazol y
3-(4-piridilazo)tiofeno, 5-(4-piridilazo)tiazol, con dicho núcleo metálico activo para SES
en el que dicha partícula tiene un espectro de SES mensurable cuando es excitada por una luz incidente que tiene
una longitud de onda de por lo menos 1.400 nm.
8. El método de producir una partícula de la reivindicación 7, en el que la partícula es suspendible en un disolvente
líquido, y/o que comprende además rodear el encapsulante con un revestimiento orgánico.

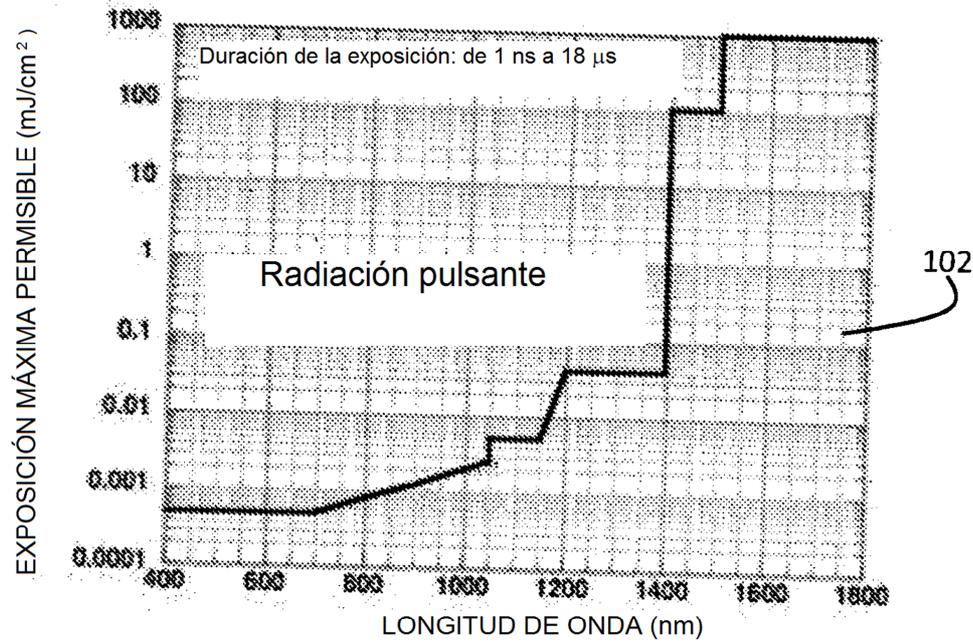
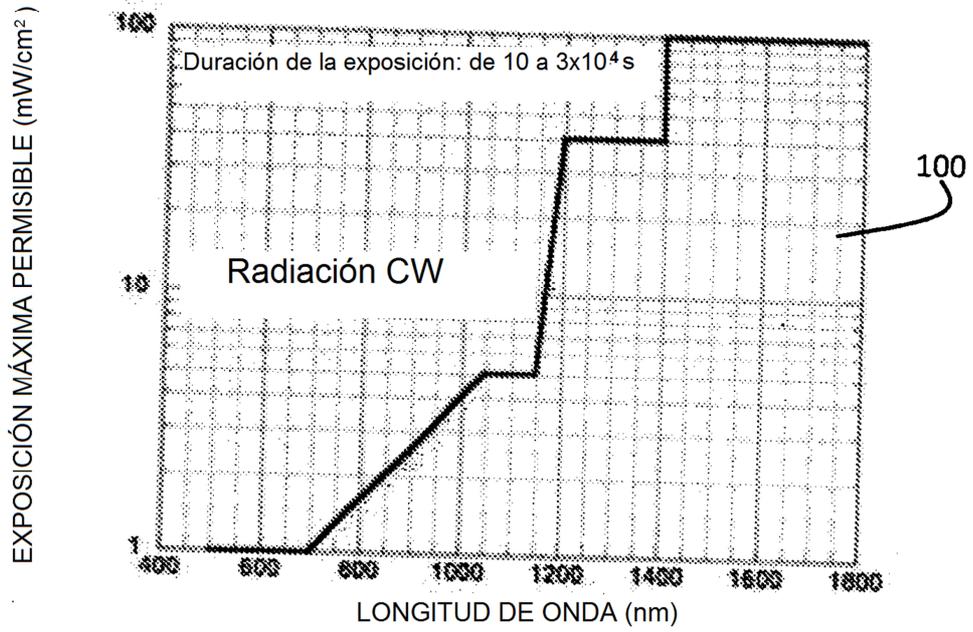
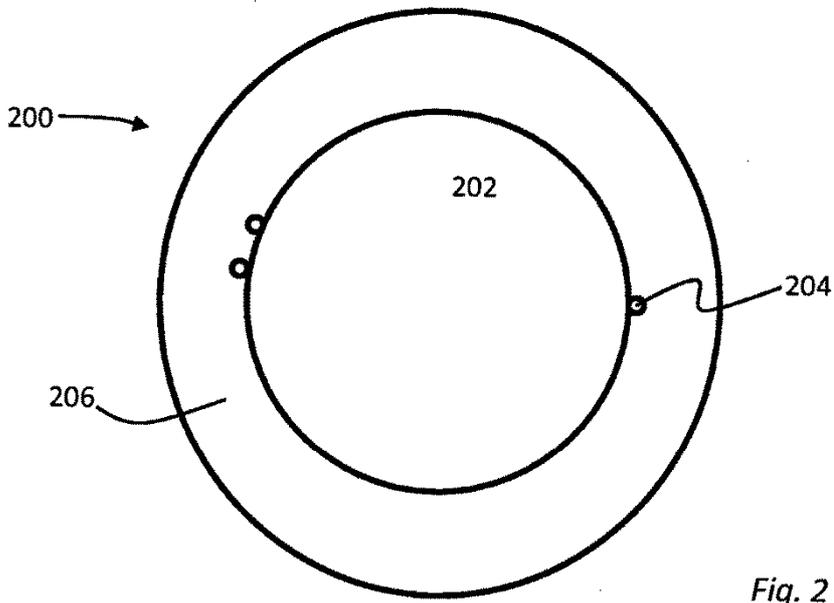


Fig. 1



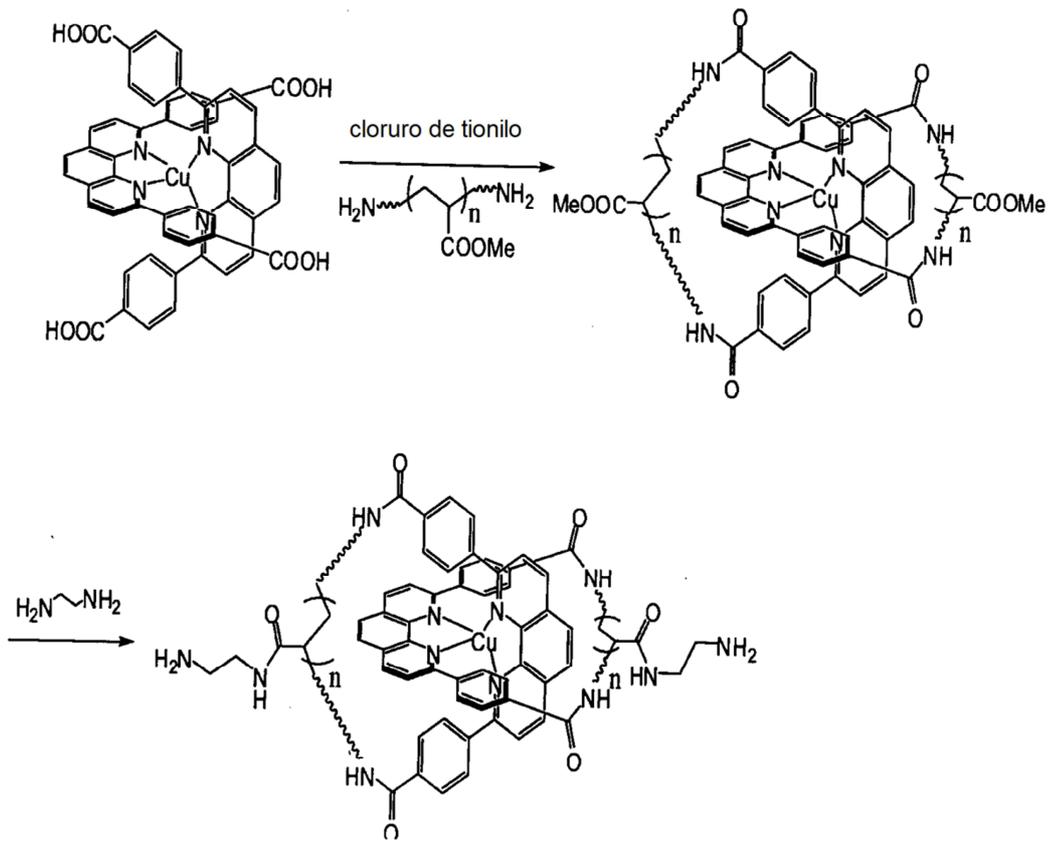


Fig. 4

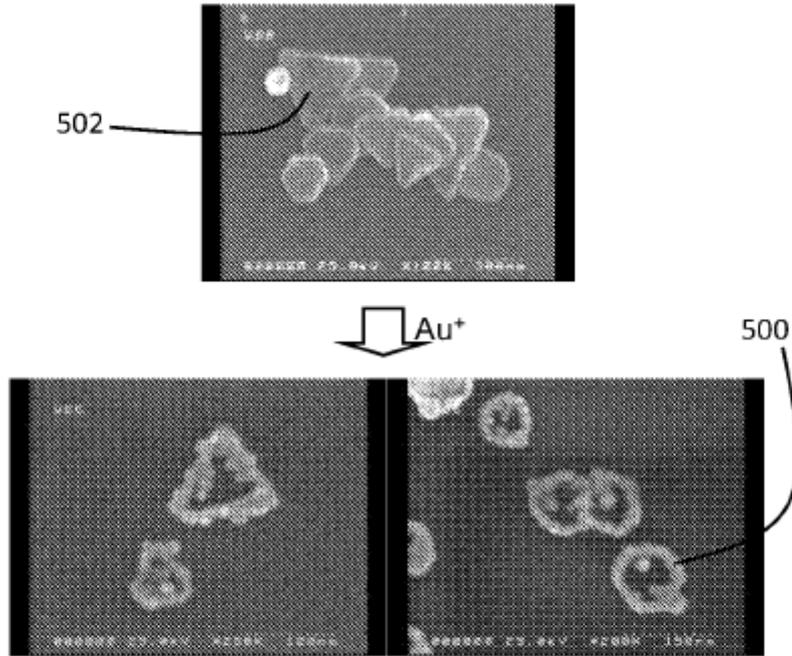


Fig. 5

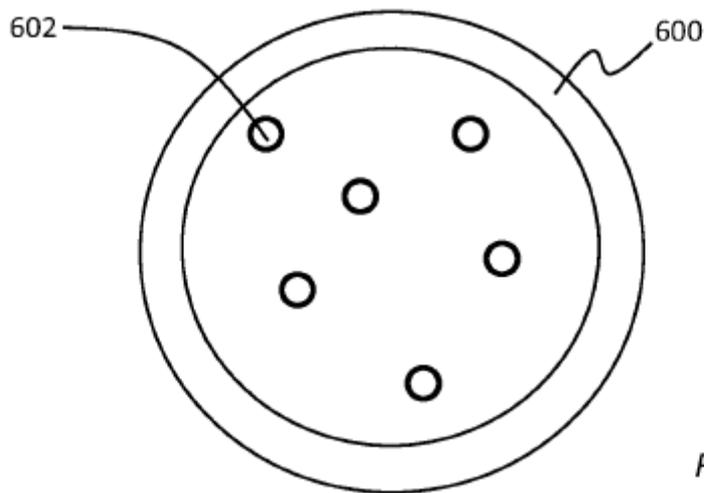


Fig. 6

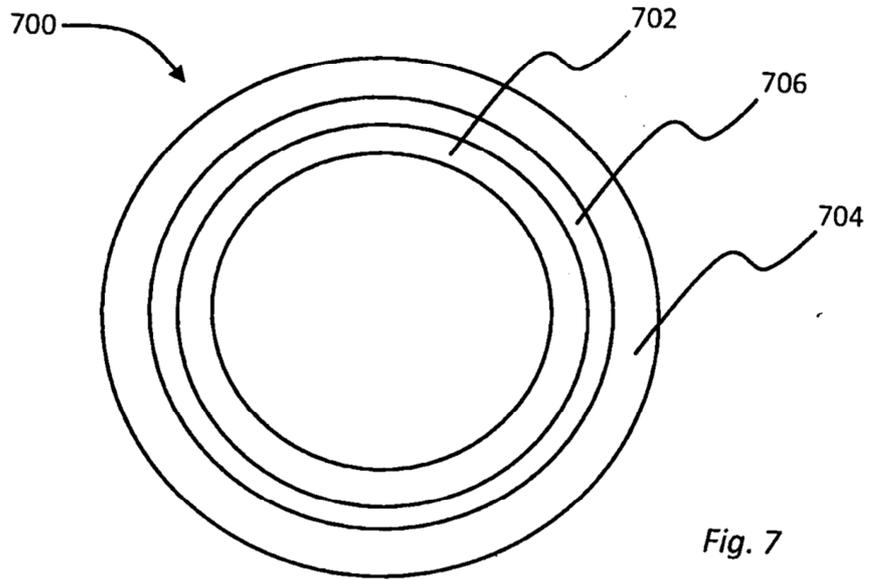


Fig. 7

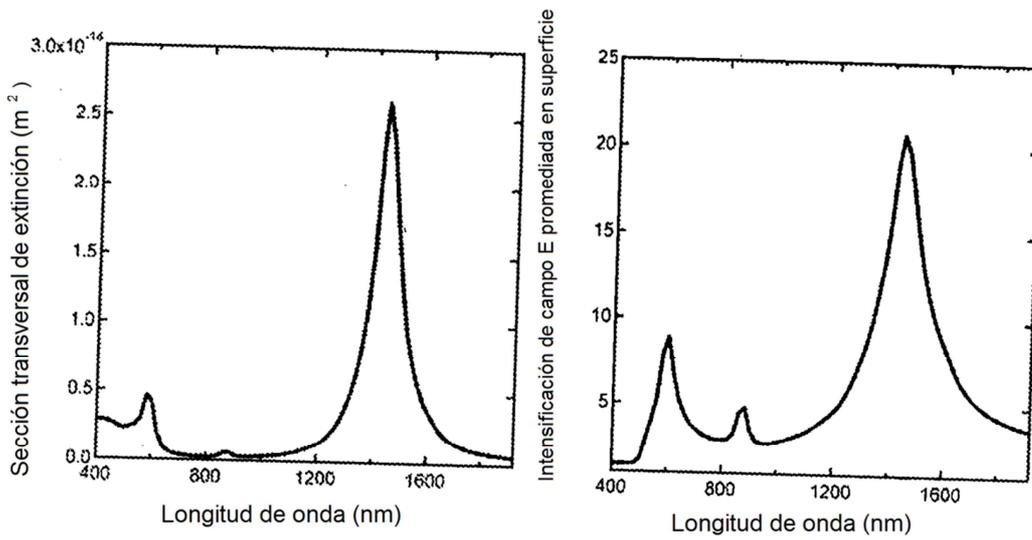


Fig. 8

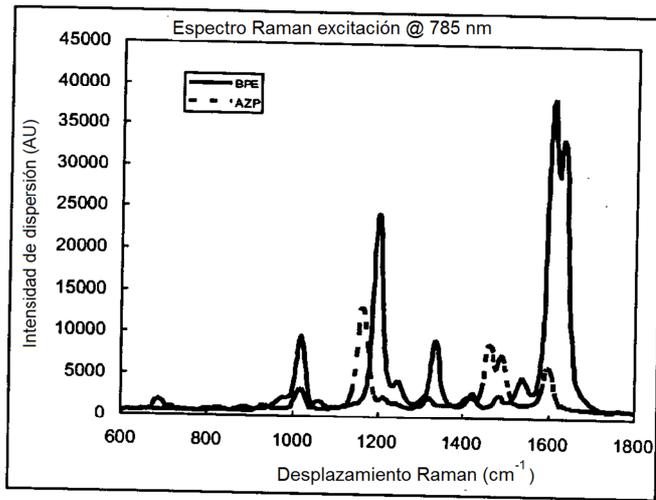


Fig. 9A

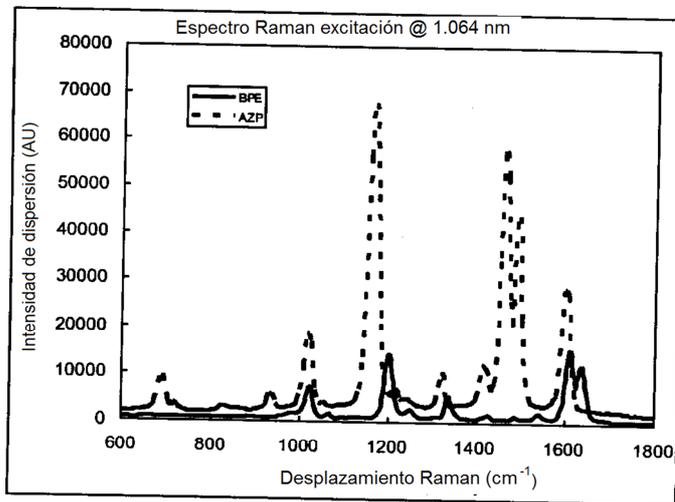


Fig. 9B

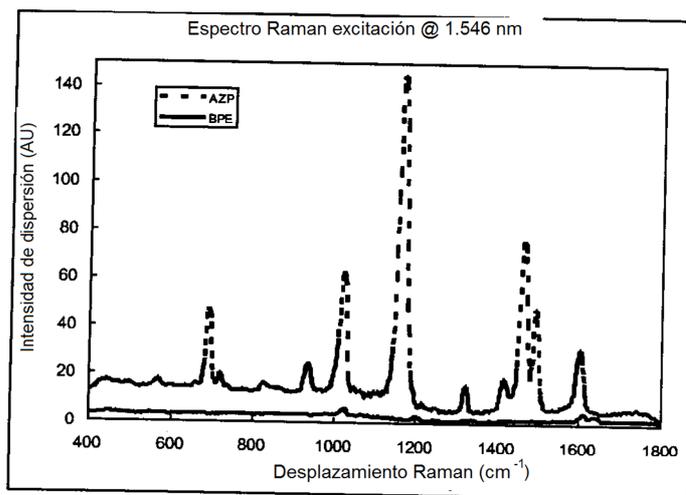


Fig. 9C

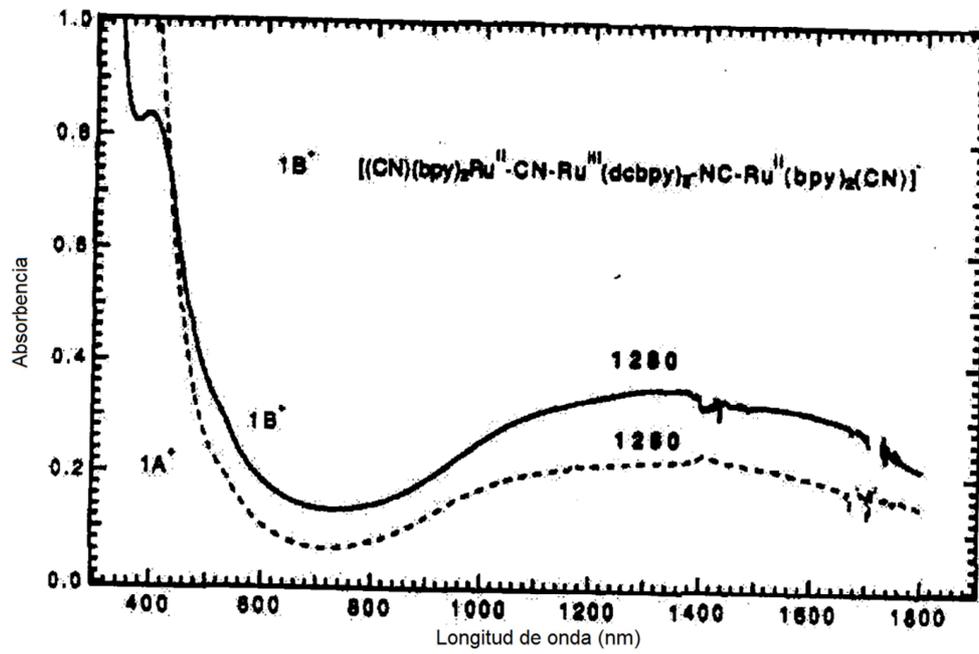


Fig. 10