

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 618 869**

51 Int. Cl.:

G01N 21/65 (2006.01)

G01J 3/44 (2006.01)

B82Y 30/00 (2011.01)

B82Y 20/00 (2011.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **22.03.2011 PCT/US2011/029395**

87 Fecha y número de publicación internacional: **29.09.2011 WO2011119589**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **22.03.2011 E 11760056 (9)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **21.12.2016 EP 2550513**

54 Título: **Una nanoetiqueta de SERS de longitud de onda selectiva**

30 Prioridad:

22.03.2010 US 316284 P

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

22.06.2017

73 Titular/es:

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

72 Inventor/es:

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

74 Agente/Representante:

CARVAJAL Y URQUIJO, Isabel

ES 2 618 869 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

Una nanoetiqueta de SERS de longitud de onda selectiva

Antecedentes

5 Las nanoetiquetas SERS han demostrado ser útiles para la marcación de objetos para identificación y rastreo. Las nanoetiquetas SERS son marcas de detección óptica en nanopartículas que funcionan a través de la dispersión Raman mejorada en superficie (SERS). SERS es una espectroscopía óptica basada en láser que, para moléculas u otros materiales, genera un espectro vibratorio similar a una huella dactilar con características que son mucho más específicas que la fluorescencia típica.

10 Típicamente, una molécula activa SERS asociada con una etiqueta es excitada por luz láser a una longitud de onda de excitación específica. Muchas moléculas activas en SERS pueden excitarse a varias longitudes de onda alternativas con cada longitud de onda causando la emisión de un espectro SERS característico. En algunos usos de marcación, la capacidad de una nanoetiqueta SERS conocida para ser interrogada en múltiples longitudes de onda de interrogación adecuadas es una ventaja. En otras implementaciones, como la marcación encubierta de artículos, la capacidad de excitar una nanoetiqueta de SERS en múltiples longitudes de onda es potencialmente una desventaja, ya que esto hace que las etiquetas encubiertas sean más fáciles de detectar por terceros. Sin embargo, es difícil fabricar una nanoetiqueta de SERS que pueda ser interrogada en un número limitado de longitudes de onda adecuadas de otro modo con las moléculas informadoras SERS convencionales.

Las realizaciones descritas en el presente documento están dirigidas a superar estos u otros problemas asociados con las partículas conocidas de espectroscopia mejorada de superficie.

20 El documento WO 2008/116093 A2 describe ensayos de diagnóstico que usan partículas activas de espectroscopía Raman mejoradas en superficie (SERS), incluyendo ensayos basados en líquidos; ensayos de captura magnética; estructuras de satélite de micropartículas y nanopartículas para la amplificación de señal en un ensayo; partículas activas SERS compuestas útiles para la detección mejorada de dianas; y tubos de muestra y procesos para su utilización.

25 El documento US 2009/0140206 A1 describe nanopartículas, métodos de preparación de las mismas y métodos para detectar una molécula diana usando formas de realización de la nanopartícula. Una realización de una nanopartícula de ejemplo, entre otros, incluye una nanoestructura compuesta con actividad espectroscópica Raman mejorada en superficie. La nanoestructura compuesta con actividad espectroscópica Raman mejorada en superficie incluye un núcleo, al menos una molécula informadora y un material encapsulante. La molécula informadora está unida al núcleo. La molécula informadora se selecciona entre: un colorante isotiocianato, un colorante orgánico multiazufrado, un colorante orgánico multiheterozufrado, un colorante benzotriazol y combinaciones de los mismos. El material de encapsulación está dispuesto sobre el núcleo y la molécula informadora. Después de la encapsulación con el material encapsulante, la molécula informadora tiene una firma espectroscópica Raman específica mejorada en superficie.

35 Resumen de las realizaciones

Las realizaciones seleccionadas incluyen partículas selectivas de longitud de onda tales como nanopartículas SERS modificadas como se ha descrito. Tal como se utiliza en el presente documento, una partícula selectiva en longitud de onda de onda es una que no puede ser excitada o interrogada eficazmente en una o más longitudes de onda en las que una molécula informadora asociada con la partícula producirá normalmente un espectro SERS. Por ejemplo, una nanoetiqueta SERS selectiva en longitud de onda de onda puede ser activa en SERS cuando se usa una longitud de onda de excitación de 1064 nm pero inactiva a 785 nm, donde se esperaría una actividad a 785 nm basándose en la molécula informadora presente en la nanoetiqueta SERS o en las propiedades plasmónicas de la nanopartícula metálica.

45 Una realización de la nanoetiqueta de SERS que es selectiva en longitud de onda de onda incluye un núcleo de mejora SERS y una molécula informadora activa SERS asociada con el núcleo. La etiqueta SERS selectiva en longitud de onda de onda también incluye un encapsulante que rodea la asociación núcleo/indicador. La selectividad de la longitud de onda puede impartirse mediante un material de bloqueo asociado con el encapsulante que bloquea total o parcialmente el paso de la energía luminosa a una longitud de onda específica a la molécula informadora y la partícula plasmónica. Alternativamente, el material de bloqueo podría bloquear total o parcialmente la radiación de energía luminosa a una longitud de onda seleccionada de la molécula informadora o partícula plasmónica.

50 El material de bloqueo podría ser una nanobarra, por ejemplo, una nanobarra de oro asociada con el encapsulante. Alternativamente, el material de bloqueo podría ser una molécula de cualquier tipo que sirva para bloquear selectivamente una longitud de onda relevante. Por ejemplo, el material de bloqueo podría ser un colorante orgánico o inorgánico o una partícula cuántica. Alternativamente, el material de bloqueo podría ser un óxido metálico, sulfuro metálico, nitruro metálico u otro material similar.

En realizaciones en las que el material de bloqueo es una nanobarra, la nanobarra puede estar asociada

electrostáticamente con el encapsulante. Por ejemplo, la nanobarra puede estar recubierta con un polímero cargado y la nanoetiqueta SERS recubierta con un polímero de carga opuesta. Alternativamente, la nanobarra puede ser covalente unida al encapsulante.

5 En realizaciones en las que el material de bloqueo es una molécula tal como un colorante, puede asociarse una cantidad aumentada de material de bloqueo al encapsulante formando el encapsulante como una superficie porosa o mesoporosa.

10 Una realización alternativa incluye una nanoetiqueta SERS como se describe anteriormente con un material de enmascaramiento asociado con el encapsulante. Un material de enmascaramiento enmascarará total o parcialmente la energía lumínica emitida en una longitud de onda dada por la molécula informadora. En una realización de enmascaramiento, el informador asociado con la nanoetiqueta de SERS seguirá emitiendo un espectro Raman cuando se excita, pero la emisión se enmascara o de otro modo se hace indetectable. Por ejemplo, puede seleccionarse una molécula fluorescente asociada con la nanoetiqueta de SERS para fluorescer a una longitud de onda particular, enmascarando así el espectro de SERS a esa longitud de onda.

15 Realizaciones alternativas incluyen métodos de fabricación de una nanoetiqueta de SERS selectiva a una longitud de onda como se describe anteriormente. Los métodos alternativos también incluyen el uso de una nanoetiqueta de SERS selectiva a una longitud de onda para la marcación o la etiquetación de un artículo, sustancia, documento o artículo, de tal manera que la etiqueta pueda ser detectada a menos frecuencias de interrogación de lo que se esperaría basándose en la naturaleza de la molécula informadora usada con la nanoetiqueta de SERS.

Breve descripción de los dibujos

20 La figura 1 es una representación gráfica de la actividad y absorbancia SERS de la mezcla de nanoetiquetas de SERS y de las nanobarras de Au del Ejemplo 1.

La figura 2 es un COMPUESTO de varias imágenes TEM de las partículas del Ejemplo 2 que presentan nanobarras de Au electrostáticamente asociadas con nanoetiquetas SERS.

25 La figura 3 es una representación gráfica de las características de extinción de luz UV-visible y respuestas SERS normalizadas a longitudes de onda seleccionadas de las partículas del Ejemplo 2.

La figura 4 es un compuesto de múltiples imágenes SEM de las partículas del Ejemplo 3.

La figura 5 es una representación gráfica de las características de extinción de la luz UV-visible y de la actividad SERS a longitudes de onda seleccionadas para las partículas del Ejemplo 3.

La figura 6 es una representación gráfica de la actividad SERS de las partículas del ejemplo 4.

30 La figura 7 es una imagen SEM de las partículas del Ejemplo 4.

La figura 8 es una representación gráfica de la actividad SERS de las partículas del Ejemplo 5.

La figura 9 es una representación gráfica de la actividad SERS a longitudes de onda seleccionadas para las partículas del Ejemplo 6.

35 La figura 10 es una imagen de SEM de nanoetiquetas SERS que caracteriza un encapsulante de sílice mesoporoso como se describe en el Ejemplo 7.

La figura 11 es una representación gráfica de los espectros Raman en longitudes de onda seleccionadas de nanoetiquetas SERS después de mezclar con un agente de enmascaramiento fluorescente como se describe en el Ejemplo 8.

Descripción detallada

40 Las realizaciones descritas en el presente documento se refieren a partículas que son espectroscópicamente activas. En particular, las partículas y métodos descritos son espectroscopía mejorada en superficie (SES) activa. Las técnicas SES representativas incluyen pero no se limitan a SERS, SERRS y otras. Se ha observado la mejora de la superficie en diversos otros métodos o sistemas de espectroscopía. Los estudios más ampliamente estudiados han sido la dispersión Raman mejorada en superficie y la fluorescencia mejorada en superficie (SEF). Sin embargo,
45 se ha observado una variedad de otros fenómenos mejorada en superficie incluyendo dispersión hiper Raman mejorada en superficie (SERHS), dispersión hiper Raman mejorada en superficie de resonancia (SEHRS), dispersión de Rayleigh mejorada en superficie, generación de segundo armónico mejorado en superficie (SHG), reflectancia de absorción infrarroja mejorada en superficie (SEIRA), y ionización de desorción por láser mejorada en superficie (SELDI). Estos son parte de un campo más amplio conocido como la mejora de plasmón o espectroscopía de plasmón mejorada, que además de los fenómenos mencionados anteriormente incluye emisión mejorada de plasmón en superficie (como SPASERS - amplificación por plasmón en superficie de emisión espontánea de radiación), difracción de plasmón mejorada, y plasmón de transmisión óptica mejorada. La mejora en plasmón es
50

también un método para aumentar la eficiencia de las células solares. Como se usa a lo largo de esta descripción, SES incluye las técnicas espectroscópicas listadas anteriormente y cualquier técnica espectroscópica relacionada o similar.

5 Muchos de los ejemplos aquí descritos se describen con respecto a SERS. Sin embargo, debe tenerse en cuenta que los métodos, composiciones y partículas descritos en el presente documento son igualmente aplicables a SERRS, SEHRS, SEF, SEHRRS, SHG, SEIRA, SPASERS u otra técnica de SES mejorada en superficie o plasmón.

En general, los marcadores son materiales, sustancias, moléculas, iones, polímeros, nanopartículas, micropartículas u otras materias, incorporados, sobre o asociados de otro modo a objetos con fines de identificación o cuantificación. Más específicamente, los etiquetadores se usan en actividades y productos que incluyen, pero no se limitan a, medidas de detección, análisis y/o cuantificación relacionadas con la seguridad de marca, protección de marca, protección de marca comercial, seguridad de producto, identificación de producto, desviación de marca, código de barras, remediación del mercado gris, análisis de amigos o enemigos, análisis del ciclo de vida del producto, falsificación, lucha contra la falsificación, análisis forense de la autenticidad, autenticación, biometría, seguimiento de objetos, análisis de cadena de custodia, manipulación de productos, anti-contrabando, detección de contrabando, seguimiento de la cadena de suministro, seguimiento de productos, recuperación de ingresos perdidos, serialización de productos, autenticación serializada, seguimiento de la frescura, seguimiento de la fecha de caducidad, seguimiento de la fecha de uso y detección/identificación de punto muerto.

Pueden añadirse etiquetadores a todas las formas de materia, incluyendo pero sin limitarse a sólidos, líquidos, gases, geles, espumas, semisólidos, vidrios, plasmas, cristales líquidos, sólidos amorfos y magnéticamente ordenados, superconductores, superfluidos, condensados de Bose-Einstein y supersólidos.

Muchos métodos conocidos de detección de etiquetadores utilizan una de varias técnicas espectroscópicas, por ejemplo, técnicas de espectroscopía mejorada en superficie (SES) tales como SERS o SERRS. Hablando en términos generales, los materiales adecuados caen en dos categorías: nano/microescala y macroscópica. Por ejemplo, se sabe que ciertos tamaños y formas de nanopartículas de Ag y Au y sus agregados soportan SERS. Del mismo modo, se han descrito en la bibliografía una gran variedad de sustratos macroscópicos de SERS, incluyendo electrodos, películas evaporadas, películas de Langmuir-Blodgett, matrices planas bidimensionales, etc.

Los procedimientos de marcación conocidos de la técnica anterior que utilizan etiquetas activas de SERS incluyen típicamente una molécula informadora o un colorante con características Activa para SERSs conocidas. Por ejemplo, se puede añadir un agente químico SERS conocido como colorante para la marcación de un combustible y un espectro SERS posterior obtenido cuando el colorante SERS activo es asociado con una partícula o sustrato de metal activo SERS. Sólo se conocen un número limitado de productos químicos activos en SERS.

Muchas de las realizaciones descritas en el presente documento incluyen el uso de un marcador activo de espectroscopía mejorada en superficie (SES). Los estudios más ampliamente estudiados han sido la dispersión Raman mejorada en superficie y la fluorescencia mejorada en superficie (SEF). Sin embargo, se ha observado una variedad de otros fenómenos de mejora en superficie incluyendo hiper mayor superficie de dispersión Raman (SERHS), hiper mayor superficie de dispersión Raman de resonancia (SEHRRS), una mayor superficie de dispersión de Rayleigh, generación de segundo armónico de superficie mayor (GAA), la superficie (SEIRA), y la ionización de desorción por láser (SELDI), mejorada por superficie. Estos son parte de un campo más amplio conocido como la mejora de plasmón o espectroscopía de plasmón mejorada, que además de los fenómenos mencionado anteriormente incluye plasmón de superficie de emisión mejorada (como SPASERS - amplificación de plasmón de superficie de la emisión espontánea de radiación), difracción de plasmón mejorada, y plasmón de transmisión óptica mejorada. La mejora de plasmón es también un método para aumentar la eficiencia de las celdas solares. Como se usa a lo largo de esta descripción, SES incluye la técnica espectroscópica mencionada anteriormente y cualquier técnica espectroscópica relacionada o similar.

45 Muchos de los ejemplos aquí descritos se describen con respecto a SERS. Sin embargo, debe tenerse en cuenta que los métodos, composiciones y partículas descritos en el presente documento son igualmente aplicables a SERRS, SEHRS, SEF, SEHRRS, SHG, SEIRA, SPASERS u otra técnica de SES mejorada en superficie o plasmón.

Las partículas activas de dispersión Raman (SERS) mejoradas en superficie son útiles en una variedad de aplicaciones. Una aplicación interesante es la lucha contra la falsificación, y más específicamente para verificar la autenticidad, origen, edad y/o ruta de distribución de los billetes, sellos fiscales, banderolas, pasaportes, tarjetas de identificación, licencias de conducir, permisos de trabajo, documentos fiduciarios, acciones y bonos certificados y otros documentos valiosos que contienen tinta. Igualmente, las partículas activas de SERS se pueden usar con fines similares para la marcación o la etiquetación de una variedad de otros materiales que contienen impresión o letras compuestas de tinta o laca, incluyendo pero no limitándose a software, partes de máquinas tales como partes de avión o partes de automóviles, instrumentación, productos farmacéuticos y de diagnóstico, dispositivos médicos, artículos de lujo, bienes de consumo de movimiento rápido, CDs, DVDs y otros componentes de almacenamiento electrónico, entre otros. Además, cualquier envase que contenga tinta o laca para cualquier tipo de producto en un lugar viable para la introducción de partículas activas de SERS para fines de lucha contra la falsificación o autenticación. Las aplicaciones adicionales estrechamente relacionadas con las partículas activas de SERS

incluyen: seguridad de la marca, protección de la marca, protección de la marca comercial, seguridad del producto, identificación del producto, desviación de la marca, código de barras, remediación del mercado gris, análisis amigo-enemigo, análisis del ciclo de vida del producto, falsificación, análisis forense, análisis de autenticidad, biometría, seguimiento de documentos, análisis de cadena de custodia, manipulación de productos, anticontrabando, detección de contrabando, seguimiento de la cadena de suministro, seguimiento de productos, recuperación de ingresos perdidos, serialización de productos, autenticación serializada, seguimiento de frescura, seguimiento de fechas de venta, el seguimiento de fechas de uso, seguimiento de objetos, la detección de punto muerto y/o identificación de punto muerto. Además, las partículas activas de SERS se pueden utilizar para combinaciones de estas aplicaciones, incluyendo pero no limitándose a una combinación de autenticación y seguimiento de venta por fecha. Colectivamente, estas aplicaciones se denominan Seguridad Industrial.

Un tipo no exclusivo y no limitativo de etiqueta que se describe en el presente documento y que puede modificarse de acuerdo con los métodos descritos y con los materiales descritos es una nanoetiqueta SERS también denominada etiqueta SERS. Las nanoetiquetas SERS son marcas de detección óptica en nanopartículas que funcionan a través de la dispersión Raman mejorada en superficie (SERS). SERS es una espectroscopía óptica basada en láser que, para moléculas, genera un espectro vibratorio similar a una huella dactilar con características que son mucho más específicas que la fluorescencia típica.

Una nanoetiqueta SERS típica incluye un núcleo de nanopartículas de metal y un SiO₂ (vidrio) u otro encapsulante que contiene silicio. Otros materiales incluyendo pero no limitados a varios tipos de polímeros también pueden usarse como un encapsulante o cubiertas. Los detalles relativos al uso, fabricación y características de una nanoetiqueta SERS típica están incluidos en la Patente de Estados Unidos No. 6,514,767, titulada "Surface Enhanced Spectroscopy-Active Nanoparticles Composite"; Patente de Estados Unidos No. 7,192,778, titulada "Surface Enhanced Spectroscopy - Active Composite Nanoparticles "; La Patente de Estados Unidos No. 7,443,489, titulada "Surface Enhanced Spectroscopy - Active Nanoparticles Composite"; y la Solicitud de Patente publicada US No. 2006-0054506, titulada "Surface Enhanced Spectrometry - Active Nanoparticles Composite".

Aunque las realizaciones descritas aquí se describen en términos de nanopartículas de SERS preparadas a partir de núcleos de nanopartículas individuales, debe entenderse que pueden utilizarse grupos o agregados de núcleo de nanopartículas en la preparación de nanoetiquetas de SERS. Los métodos para la preparación de grupos de agregados de coloides metálicos son conocidos por los expertos en la técnica. También se contempla el uso de partículas de tipo sándwich como se describe en la Patente de Estados Unidos No. 6,861,263, titulada "Surface Enhanced Spectroscopy - Active Sandwich Nanoparticles".

El núcleo de nanopartículas puede ser de cualquier material que se sabe que mejora en Raman, a través de factores plasmónicos (electromagnéticos), factores químicos o una combinación de factores. Los núcleos de nanopartículas pueden ser isotrópicos o anisotrópicos. Las nanopartículas adecuadas para ser el núcleo de una nanoetiqueta SERS incluyen metal coloidal, nanobarras huecas o rellenas, nanopartículas magnéticas, paramagnéticas, conductoras o aislantes, partículas sintéticas, hidrogeles (coloides o barras) y similares. Las nanopartículas pueden existir como nanopartículas individuales, o como grupos o agregados de las nanopartículas.

Las nanopartículas pueden existir en una variedad de formas, incluyendo, pero sin limitarse a, esferoides, barras, discos, pirámides, cubos, cilindros, nanohélices, nanorresortes, nanoanillos, nanopartículas en forma de barra, nanopartículas en forma de flecha, nanopartículas en forma de lágrima, nanopartículas en forma de tetrápodos, nanopartículas en forma de prismas y una pluralidad de otras formas geométricas y no geométricas. Otra clase de nanopartículas que se ha descrito incluye aquellas con área de superficie interna. Estos incluyen partículas huecas y partículas porosas o semiporosas. Aunque se reconoce que la forma de las partículas y la relación de aspecto pueden afectar las características físicas, ópticas y electrónicas de las nanopartículas, la forma específica, la relación de aspecto o la presencia/ausencia del área de superficie interna no afectan a la calificación de una partícula como una nanopartícula. Una nanopartícula como se define aquí también incluye una nanopartícula en la que la porción metálica incluye un componente adicional, tal como en una partícula de núcleo-cubierta.

Cada nanoetiqueta de SERS se codifica típicamente con uno o múltiples informadores únicos, que comprenden una molécula orgánica o inorgánica o un material orgánico o inorgánico en la interfaz entre el núcleo de nanopartículas encapsulado de vidrio u otro encapsulante adecuado. Esta aproximación a las etiquetas de detección aprovecha las ventajas de la dispersión Raman como una herramienta de espectroscopía molecular de alta resolución y las mejoras asociadas con SERS, al tiempo que se superan las deficiencias que se encuentran frecuentemente al hacer sustratos SERS autónomos tales como la reproducibilidad y la falta de selectividad. Las nanoetiquetas SERS exhiben espectros intensos (factores de mejora superiores a 10⁶) a 633 nm, 785 nm, 1064 nm u otras longitudes de onda de excitación adecuadas, cuyas longitudes de onda pueden seleccionarse para evitar la fluorescencia intrínseca de fondo en muestras biológicas tales como sangre completa y en matrices como vidrio y el plástico.

El encapsulante, que es esencialmente SERS-inactivo o débilmente SERS-activo relativamente, estabiliza las partículas contra la agregación, evita que el informador se difunda lejos, evita la adsorción competitiva de especies no deseadas y proporciona una superficie excepcionalmente bien establecida. El vidrio, sílice, silicatos u otras especies que contienen silicio son bien adecuados como encapsulantes.

Las nanoetiquetas SERS típicas no muestran respuesta dependiente de la longitud de onda. Por lo tanto, las etiquetas conocidas devolverán un espectro identificable cuando se excitan en una de varias longitudes de onda de excitación. Por ejemplo, una etiqueta conocida puede ser excitable y devolver un espectro de SERS detectable a ambas longitudes de onda de excitación de 785 nm y 1064 nm. Una etiqueta selectiva en longitud de onda de onda sería útil para muchos propósitos, incluyendo, pero sin limitarse a, la marcación encubierta de materiales o documentos. Tal como se usa en el presente documento, una partícula selectiva en longitud de onda es una que no puede ser excitada o interrogada eficazmente en una o más longitudes de onda donde la combinación de molécula informadora/nanopartícula metálica seleccionada normalmente produciría un espectro SERS.

Por ejemplo, una nanoetiqueta de SERS de longitud de onda selectiva podría ser activa para SERS cuando se usa una longitud de onda de excitación de 1064 nm pero inactiva a 785 nm, donde se esperaría una actividad a 785 nm basada en el informador. Es importante observar que muchos de los ejemplos discutidos en el presente documento tienen etiquetas que no serían activas con SERS a 785 nm, pero se reconocerían fácilmente usando excitación de 1064 nm. Esta selectividad en longitud de onda particular es sólo representativa. Los procedimientos divulgados o similares podrían usarse para fabricar la etiqueta inversa, mostrando un espectro a 785 nm pero ninguno a 1064 nm. Además, los métodos y materiales descritos pueden ser adaptables a otras longitudes de onda adecuadas. Además, se pueden utilizar combinaciones de efectos (o materiales) para generar perfiles de respuesta de longitud de onda más complejos. Por ejemplo, una etiqueta SERS puede excitarse a 633, 785 y 1064 nm. La partícula se recubre entonces con materiales que adsorben ligeramente la luz a 633 y 1064 nm, pero no a 785 nm. La excitación en cualquiera de las frecuencias anteriores no produciría un espectro, pero la excitación en este último lo haría. Alternativamente, el perfil podría ser invertido de modo que los espectros de SERS se puedan obtener a excitación de 633 nm y 1064 nm pero no a excitación de 785 nm. Todas las permutaciones de la selectividad de la longitud de onda están dentro del alcance de esta descripción.

Un método para impartir la selectividad de longitud de onda a una etiqueta no selectiva de otro modo es añadir un recubrimiento a una etiqueta que bloquee la luz que de otro modo causaría excitación. Por ejemplo, el revestimiento de una nanoetiqueta SERS típica como se ha descrito anteriormente puede complementarse con nanobarras de Au que bloquean la luz a 785 nm, pero no a 1064 nm. Este método se discute más detalladamente en los Ejemplos 1-5 a continuación.

Un enfoque similar para ajustar la selectividad de longitud de onda de una etiqueta SERS en una aplicación de autenticación es revestir una capa de nanoetiquetas SERS con una segunda capa de material que bloquea la absorción a una longitud de onda dada. Por ejemplo, si una etiqueta SERS que responde a una excitación de 785 y 1064 nm se coloca en un barniz y se recubre sobre un trozo de papel, la interrogación en cualquier longitud de onda producirá un espectro SERS. Sin embargo, si se aplica una capa de tinta negra que absorbe fuertemente a 785 nm pero se transmite completamente a 1064 nm sobre el recubrimiento de etiqueta SERS, no se verá ningún espectro de SERS a excitación de 785 nm, pero se verá un espectro normal a 1064 nm de excitación .

Otro enfoque consiste en utilizar un informador que tiene una extinción no nula a la longitud de onda de excitación, dando lugar a una espectroscopía Raman de resonancia mejorada en superficie (SERRS). Si bien es cierto que absorbancias mayores de la molécula informadora a la longitud de onda de excitación dan lugar a mayores mejoras resonantes, también es cierto que mayores absorbancias también conducen necesariamente a una mayor probabilidad de procesos de desactivación irreversibles desde el estado excitado, lo que podría conducir a una disminución de la estabilidad de la etiqueta.

Ejemplo 1 - Nanobarras de Au asociado con nanoetiquetas SERS

Se prepararon varias mezclas físicas de nanoetiquetas de SERS y nanobarras de Au. La extinción de luz UV-visible y el comportamiento SERS de la mezcla a 785 y 1064 nm se representan gráficamente en la Fig. 1. En particular, se ilustran los espectros Raman de las mezclas de nanoetiqueta/ nanobarra de Au se SERS con datos adquiridos a 785 nm (gráfico 102) y 1064 nm (gráfico 104). Las concentraciones de nanoetiqueta de SERS se mantuvieron constantes y las concentraciones de nanobarra se variaron como se indica en los gráficos 102 y 104. Los espectros de extinción UV-visible de las muestras también se muestran en el gráfico 106, así como un gráfico de respuesta SERS frente a concentración de nanobarra en el gráfico 108. Puede observarse una supresión completa de la señal a 785 nm, mientras que la señal a 1064 nm no es afectada relativamente. También puede observarse que la muestra que contiene la mayoría de las nanobarras no pudo ser medida por UV-visible porque su extinción era demasiado alta para que el instrumento pudiera leer.

Ejemplo 2 - Nanobarras de Au asociadas electrostáticamente con nanoetiquetas SERS

Mientras que los resultados obtenidos en el Ejemplo 1 demuestran que el primer método descrito para impartir la selectividad de longitud de onda es conceptualmente sólido, la adsorción de una cantidad adecuada de nanobarras de Au a las nanoetiquetas es un desafío. Se han hecho progresos convincentes para superar el desafío de la adsorción usando métodos electrostáticos para unir nanobarras a las nanoetiquetas encapsuladas en vidrio. Generalmente, la técnica de adsorción mejorada implica asociar un recubrimiento cargado con las nanobarras y un revestimiento cargado de forma opuesta con las nanoetiquetas SERS. Por ejemplo, tal como se produjo inicialmente, las nanobarras usadas en el Ejemplo 1 pueden estabilizarse mediante una bicapa cargada positivamente de CTAB

(bromuro de cetiltrimetilamonio). Sin embargo, la eliminación del exceso de CTAB (que impide la adsorción) puede desestabilizar las barras y causar agregación. El recubrimiento de las nanobarras con polímeros cargados negativamente, permite una limpieza más completa. Para implementar completamente este método, las nanoetiquetas de SERS deben ser recubiertas con un polímero cargado positivamente, también.

5 Además, los métodos de combinación electrostática pueden ser mejorados mediante la asociación de las nanobarras con otra molécula. En el Ejemplo 2, las nanobarras se mezclaron con una pequeña cantidad de un informador SERS resonante, identificado como SERS-817. Posteriormente, las nanobarras se estabilizaron mediante un polímero cargado negativamente y se limpiaron extensivamente. Se preparó una mezcla física con nanoetiquetas de SERS que habían sido recubiertas previamente con un polímero cargado positivamente, promoviendo cierta adsorción de las barras a partículas SERS. Después de un período de incubación suficiente, la mezcla se estabilizó mediante la adición de un exceso de polímero cargado negativamente ("encapsulando" los conjuntos de nanoetiqueta/nanobarra y permitiendo que se limpiaran más fácilmente). Los ensamblajes se limpiaron brevemente para eliminar la mayoría de nanobarras no unidas y polímeros en exceso, después de lo cual se encapsularon en vidrio. Los ensamblajes de partículas resultantes se muestran en las imágenes TEM de la Fig. 2. Se observa que las partículas son bastante gruesas y no muestran una señal SERS particularmente fuerte a 1064 nm. Como se muestra en la Figura 3, estas partículas tienen sin embargo firmas distintas y únicas en 785 (traza de gráfico 302) y 1064 nm (traza de gráfico 304), con la firma de 1064 nm correspondiente al informador BPE en las nanoetiquetas SERS y con el espectro 785 correspondiente al SERS espectro del informador SERS-817 que se añadió a las nanobarras en una etapa inicial. Por lo tanto, este resultado, como se ilustra en la Figura 3 demuestra que a 785 nm, los fotones no están alcanzando el núcleo interno o la molécula informadora interna. Si la luz de excitación de 785 nm llegaba al núcleo de las nanoetiquetas de SERS, estaría presente un espectro intenso del informador de BPE.

Ejemplo 3 - Nanobarras de Au como absorbentes de plasmón

Las características de adsorción de nanobarras asociadas con nanoetiquetas de SERS se pueden mejorar para aumentar la selectividad de longitud de onda de las partículas resultantes. Las imágenes TEM de la Figura 4 son de una muestra de nanoetiqueta que fue recubierta con nanobarras (vía adsorción electrostática, según lo descrito previamente). Sin embargo, esta muestra utilizó nanobarras que debido a la forma, tamaño o relación de aspecto de la nanobarra son inherentemente más adecuadas para bloquear energía de excitación de 785 nm. Por consiguiente, como se muestra en la Figura 5, las nanoetiquetas de SERS del Ejemplo 3 muestran una respuesta significativamente menor de SERS a 785 nm que las etiquetas originales (véase el trazado de gráfico 502). Todos los datos de la Figura 5 se adquirieron a una concentración de oro de 12.5 µg/ml. La reducción observada en la señal es aproximadamente diez veces menor que las etiquetas no modificadas. Sin embargo, la extinción de la nanobarra parece haberse ampliado, probablemente debido a la agregación, haciendo que la señal en 1064 nm sea afectada perceptiblemente (traza del gráfico 504). Este resultado es una evidencia adicional de que los absorbentes de plasmón pueden utilizarse eficazmente para amortiguar la respuesta de SERS a una longitud de onda dada, y así crear partículas selectivas de longitud de onda.

Ejemplo 4 - Nanobarras de Au revestidas con vidrio como absorbentes de plasmón

Las propiedades plasmónicas de nanobarras asociadas con las nanoetiquetas de SERS pueden estabilizarse antes de la asociación con las nanoetiquetas de SERS para evitar cambios en las propiedades plasmónicas causadas por las interacciones nanobarra-nanobarra. En este ejemplo, las nanobarras de oro se recubrieron primero con una fina envoltura de vidrio. Esta envoltura de vidrio previene los cambios plasmónicos causados por la agregación o coalescencia de las nanobarras antes o durante su adsorción a las nanoetiquetas de SERS. De este modo, se conservan las propiedades ópticas de las nanobarras de oro y se observa una respuesta de longitud de onda mucho más específica. Como se ha descrito anteriormente, las nanobarras recubiertas de vidrio pueden ser fácilmente adsorbidas directamente a las nanoetiquetas SERS usando métodos electrostáticos. La Figura 6 muestra los espectros Raman de nanoetiquetas SERS antes y después del tratamiento con nanobarras recubiertas con sílice. La intensidad de SERS a 785 nm frente a 1064 nm se reduce aproximadamente 8 veces después del tratamiento. La Figura 7 muestra una SEM de las partículas compuestas nanobarra-nanoetiqueta.

Ejemplo 5 - Carcasas de plasmón como absorbentes de plasmón

Pueden diseñarse estructuras núcleo-carcasa con núcleos dieléctricos rodeados por carcasas metálicas a nanoescala para tener resonancias de plasmón en el IR cercano. Véase, por ejemplo, el espectro de absorbancia de una partícula de núcleo de sílice-AG de la Figura 8. En particular, las dimensiones relativas del núcleo y la carcasa pueden diseñarse para producir una resonancia plasmónica alrededor de 785 nm. Tal estructura atenuaría la respuesta de SERS de una nanoetiqueta de SERS incrustada dentro de la estructura ya que la resonancia del plasmón de la carcasa impediría que la luz del láser de excitación alcanzara la nanoetiqueta, y también evitar que la luz dispersada de Raman escapara. Dado que la resonancia de plasmón puede ser diseñada para absorber mínimamente a 1064 nm, la geometría de partícula puede ajustarse para impactar mínimamente la señal SERS de la nanoetiqueta a 1064 nm.

Métodos alternativos de creación de partículas de SERS selectivas de longitud de onda

A. Absorbentes moleculares

5 Pueden utilizarse absorbentes moleculares para bloquear una longitud de onda seleccionada, por ejemplo bien la fuente de excitación de 785 nm (u otra longitud de onda), o la emisión resultante de SERS. Sin embargo, la sección transversal de los absorbentes químicos típicos será mucho menor que la de las nanobarras de Au, requiriendo así que esté presente una cantidad significativamente mayor de la molécula. Esto, sin embargo, puede ser ventajoso ya que muchos de estos absorbentes moleculares exhiben fluorescencia débil. A altas concentraciones, esta fluorescencia puede ser anulada, dando como resultado una partícula con una emisión mínima, sin rasgos distintivos.

10 Un método que puede proporcionar altos niveles de dopaje es crear una carcasa de vidrio poroso que tenga una superficie muy alta. Si los absorbentes de IR cercanos pueden adsorberse físicamente al vidrio, la partícula entera podría ser tapada con una capa de sílice adicional. La presencia de tensoactivos en el proceso de crecimiento del vidrio puede conducir a revestimientos mesoporosos, con áreas superficiales muy elevadas. Además, los métodos de transformación pseudomórficos pueden permitir que las nanoetiquetas de SERS ya preparadas se conviertan en etiquetas con cubiertas mesoporosas. Los poros pueden entonces, opcionalmente, ser tapados para evitar el escape del colorante o la molécula de bloqueo.

15 Alternativamente, un absorbente puede unirse covalentemente a la superficie de sílice de una nanoetiqueta de SERS a través de un reactivo de silano tal como 3-aminopropiltrimetoxisilano (APTMS) o cualquier otro agente de acoplamiento. De esta manera, las moléculas se pueden incorporar a través de la sílice a medida que se forman capas de vidrio más gruesas.

20 Cualquier material que absorba luz a una longitud de onda de interés puede usarse potencialmente para una aplicación de absorbente molecular. Por ejemplo, las etiquetas pueden ser incorporadas en una tinta que absorbe a la longitud de onda deseada.

Ejemplo 6 - Nanoetiquetas SERS rodeadas por absorbentes moleculares

25 Los datos representados en la Figura 9 demuestran que los absorbentes moleculares pueden usarse para enmascarar la señal de una nanoetiqueta de SERS utilizando una excitación de 785 nm, dejando inalterada la señal desde la excitación de 1064 nm. Para el Ejemplo 6, las nanoetiquetas de SERS se suspendieron en soluciones acuosas que no contenían ningún absorbente molecular, y 10 y 100 µg/ml de un absorbente molecular identificado como IRA-800. La concentración de nanoetiquetas SERS fue la misma en todos los casos. A 10 µg/ml del absorbente molecular, la señal de SERS a 785 nm de la nanoetiqueta de SERS no es fácilmente evidente, aunque se observa fluorescencia débil del absorbente molecular. Sin embargo, a una concentración de absorbente de 100 µg/ml, no sólo la señal de SERS está completamente enmascarada, sino que la fluorescencia del absorbente molecular también se apaga, dando como resultado una emisión débil y sin rasgos en 785. En contraste, la respuesta de SERS a 1064 nm virtualmente no tiene cambios en estas soluciones.

Ejemplo 7 - Nanoetiquetas SERS con encapsulante mesoporoso

35 Las partículas del Ejemplo 7 presentan un recubrimiento de vidrio adicional hecho en presencia de un tensoactivo, CTAB, para preparar un encapsulante mesoporoso como se ha descrito anteriormente. Aunque es difícil determinar si el vidrio es realmente poroso, como se muestra en la Figura 10, el recubrimiento claramente difiere de los recubrimientos lisos que se obtienen a partir de procesos de encapsulación de nanoetiqueta SERS típicos. Se espera que estos poros tengan un tamaño <5 nm.

40 B. Ajuste del plasmón de superficie

Un método alternativo para impartir la selectividad de longitud de onda a una nanoetiqueta de SERS es producir marcadores de mejora con una respuesta inherentemente mejor a 1064 nm que a 785 nm (por ejemplo). Esta afinación puede lograrse mediante una elección juiciosa del material, forma, tamaño o grado de agregación de la etiqueta.

45 C. Uso de informadores resonantes

Las moléculas con características de absorción próximas a 1064 nm pueden proporcionar mejora de resonancia. Por ejemplo, el colorante IR-1048 (Sigma-Aldrich) tiene una fuerte absorción molecular centrada a 1048 nm mientras que el colorante IR-27 tiene una absorbancia máxima a 988 nm.

D. Resonancia de transferencia de carga

50 Otras clases de moléculas que dan respuesta mejorada a 1064 nm frente a otras longitudes de onda incluyen azopiridina, diversas AZP/benzocinolininas (moléculas específicamente mejores a 1064 nm que 785 nm), complejos fluoróforos/metál, moléculas fotocromáticas/termocromáticas (espiropiranos) y otros.

E. Enmascaramiento de la señal SERS

Algunos ejemplos detallados anteriormente imparten la selectividad de la longitud de onda a una nanoetiqueta de SERS bloqueando la incidencia de una longitud de onda de excitación o bloqueando la emisión de un espectro de SERS causado por la excitación a la longitud de onda seleccionada. Alternativamente, la señal SERS de una nanoetiqueta SERS puede ser generada, pero efectivamente enmascarada antes de la detección. Por ejemplo, una molécula o material puede estar asociado con un encapsulante que es fuertemente fluorescente usando excitación de 785 nm. La detección de SERS puede entonces ocurrir con excitación de 1064 nm.

Ejemplo 8 - Señal SERS enmascarada por fluorescencia

La Figura 11 muestra dos espectros obtenidos a partir de una mezcla que contiene el colorante IR-140 (100 nM) y una muestra de etiquetas SERS. Cuando se excita a 785 nm se observa un fuerte espectro 1102 de emisión de fluorescencia debido a IR-140 y no se puede detectar la presencia de la etiqueta SERS. La fluorescencia enmascara efectivamente el hecho de que está presente un marcador Raman. Cuando se excita a 1064 nm, se detecta el espectro Raman de la etiqueta SERS 1104. Este resultado se obtuvo mezclando físicamente las dos sustancias. Alternativamente, se podría incorporar un material fluorescente en la estructura de la etiqueta SERS.

Obsérvese que el SERS a 785 nm está completamente oscurecido por fluorescencia, pero no hay fluorescencia cuando se excita a 1064 nm. La cantidad de colorante añadido a las partículas corresponde a mucho menos que la cobertura de monocapa, lo que implica que muy pocos fluoróforos tendrían que ser incorporados en la etiqueta SERS para una etiqueta selectiva en longitud de onda efectiva.

F. Métodos alternativos de lectura

Pueden usarse métodos de lectura alternativos para impartir la selectividad de longitud de onda a las nanoetiquetas de SERS. Normalmente la dispersión Raman ocurre en la escala de tiempo de picosegundos mientras que la fluorescencia como muy rápido ocurre en el régimen del nanosegundo y otros procesos luminiscentes pueden ser mucho más lentos. Debido a esta diferencia en el comportamiento temporal es posible detectar la dispersión Raman incluso cuando la luminiscencia está ocurriendo en las mismas longitudes de onda. La detección resuelta en el tiempo se puede utilizar excitando tanto la dispersión Raman como la luminiscencia con impulsos de luz que son mucho más cortos que la vida luminiscente. La detección temporizada puede usarse entonces para medir la dispersión Raman mientras se rechaza la mayor parte de la luminiscencia. Alternativamente, en el dominio de la frecuencia, la amplitud de la fuente de excitación puede ser modulada a alta frecuencia. De esta manera, los procesos con respuesta rápida (es decir, dispersión Raman) siguen la frecuencia de modulación y pueden detectarse con un detector sensible a la frecuencia y la fase. La señal de procesos con respuesta más lenta puede ser rechazada por el detector sensible a la frecuencia. Por lo tanto, el material que posee fluorescencia no resuelta espectralmente y dispersión Raman se puede usar como una etiqueta Raman.

G. Fotorreducción transitoria

Es posible utilizar fuertes impulsos de luz que causan la absorción de una molécula para saturarla. Esto sucede cuando la velocidad a la que los fotones son absorbidos excede la velocidad a la cual el estado excitado puede ser desdoblado. En ese punto los fotones entrantes estarían libres para excitar la dispersión Raman y SERS. Un sistema de lectura adecuado requeriría una fuente de luz pulsada y sistemas de detección rápida.

Formas de realización alternativas incluyen procedimientos para fabricar una nanoetiqueta de SERS de longitud de onda como se ha descrito anteriormente.

Métodos alternativos incluyen también el uso de una nanoetiqueta de SERS selectiva de longitud de onda para la marcación o la etiquetación de un artículo, sustancia, documento o artículo, de manera que la etiqueta pueda detectarse con menos frecuencias de interrogación de las que se esperaría basándose en la naturaleza de la molécula informadora utilizada con la nanoetiqueta SERS. Los métodos de etiquetado comprenden proporcionar una partícula activa SERS como se ha descrito anteriormente y asociar la partícula con un material u objeto de interés. El método de marcación puede incluir además la obtención de un espectro de SERS y otra información de identificación de la partícula en asociación con el material de interés y, de este modo, identificar el objeto o sustancia marcada. Se puede asociar información de identificación suplementaria con la etiqueta o el objeto, tal como se describe en el presente documento.

La naturaleza pequeña, robusta, no tóxica y fácilmente acoplable de las partículas descritas en el presente documento permite su uso para etiquetar virtualmente cualquier objeto deseado. El objeto marcado puede estar hecho de material sólido, líquido o en fase gaseosa o cualquier combinación de fases. El material puede ser un objeto sólido discreto, tal como un recipiente, píldora o pieza de joyería, o un material continuo o granular, tal como pintura, tinta, combustible o pieza extendida de, por ejemplo, textil, papel o plástico, en cuyo caso las partículas están típicamente distribuidas a través del material.

Ejemplos de materiales u objetos específicos que pueden ser marcados con las partículas descritas en el presente documento, o en los que las partículas pueden incorporarse incluyen, pero no se limitan a:

Embalaje, incluyendo adhesivos, papel, plásticos, etiquetas y sellos

- Agroquímicos, semillas y cultivos
- Obra de arte
- Chips de ordenador
- Cosméticos y perfumes
- 5 Discos compactos (CD), discos de vídeo digital (DVD) y cintas de video
- Documentos, dinero y otros productos de papel (por ejemplo, etiquetas, pasaportes, certificados de acciones)
- Tintas, pinturas, barnices, lacas, recubrimientos, acabados y tintes
- Dispositivos electrónicos
- Explosivos y armas
- 10 Alimentos y bebidas, tabaco
- Textiles, ropa, calzado, productos de diseño y etiquetas de prendas de vestir
- Polímeros
- Insectos, aves, reptiles y mamíferos
- Polvos
- 15 Productos de lujo
- Otras sustancias o materiales antifalsificación, tales como hologramas, dispositivos ópticamente variables, tintas que cambian de color, hilos y partículas ópticamente activas
- Residuos peligrosos
- Objetos de publicidad y conmemorativos de cine, objetos conmemorativos y prendas de vestir deportivos
- 20 Fabricación de partes, partes de automóviles, partes de aviones, partes de camiones
- Petróleo, combustible, lubricantes, gasolina, petróleo crudo, combustible diesel, paquetes de aditivos para combustibles, petróleo crudo
- Productos farmacéuticos, medicamentos recetados, medicamentos de venta libre y vacunas
- 25 Las partículas aquí descritas pueden estar asociadas con el material de cualquier manera que mantenga su asociación, al menos hasta que se lean las partículas. Dependiendo del material que va a ser marcado, las partículas pueden incorporarse durante la producción o asociarse con un producto acabado. Debido a que son tan pequeñas, es poco probable que las partículas tengan un efecto perjudicial en el proceso de fabricación o en el producto acabado. Las partículas pueden estar asociadas o unidas al material a través de cualquier medio químico o físico que no interfiera inherentemente con la funcionalidad de las partículas. Por ejemplo, las partículas se pueden
- 30 mezclar y distribuir a través de una sustancia líquida tal como pintura, aceite o tinta y luego aplicarse a una superficie. Pueden enrollarse dentro de fibras de un textil, papel u otro producto fibroso o tejido, o atrapadas entre capas de una etiqueta multicapa. Las partículas se pueden incorporar durante la producción de un material polimérico o en suspensión y se unen durante la polimerización o secado del material. Adicionalmente, las superficies de las partículas pueden formar derivados químicamente con grupos funcionales de cualquier
- 35 característica deseada, para la unión covalente o no covalente al material. Cuando las partículas se aplican a un producto acabado, pueden aplicarse manualmente mediante, por ejemplo, una pipeta, o automáticamente mediante una pipeta, boquilla de pulverización o similar. Las partículas se pueden aplicar en disolución en un disolvente adecuado (por ejemplo, etanol), que luego se evapora.
- 40 Las partículas descritas en la presente invención tienen un número de propiedades inherentes que son ventajosas para etiquetar, rastrear e identificar aplicaciones. Ofrecen un gran número de códigos posibles. Por ejemplo, si un panel de partículas está construido con 20 espectros Raman distinguibles, y un objeto está etiquetado con dos partículas, hay $20 \times 19/2 = 190$ códigos diferentes. Si el número de partículas por objeto se incrementa a 5, hay 15.504 códigos posibles. Diez partículas por objeto producen 1.1×10^6 códigos diferentes. Un monocromador más sofisticado aumenta el número de espectros distinguibles a, por ejemplo, 50, aumentando grandemente el número
- 45 de códigos posibles. Alternativamente, pueden usarse diferentes cantidades de partículas para generar un número aumentado exponencialmente de códigos posibles. Por ejemplo, con sólo cuatro tipos diferentes de partículas (N=4), presentes en tres niveles de intensidad diferentes (por ejemplo, Alto, Medio, Bajo) (L=3), elegidos tres a la vez (P=3), pueden generar 58 diferentes códigos. Con N=10, P=3, L=1, el número de códigos es 175. Con N=50, P=5, L=4,

más de mil millones de códigos son posibles.

En algunas realizaciones, las partículas se pueden aplicar a un documento u otro artículo en una tinta u otro material de marcación. Las tintas incluyen, pero no se limitan a, tinta flexográfica, tinta litográfica, tinta de serigrafía, tinta de huecograbado, tinta de sangrado, tinta reactiva a monedas, tinta borrable, tinta reactiva para pluma, tinta reactiva al calor, tinta infrarroja visible, tinta ópticamente variable y tinta penetrante, tinta fotocromática, tinta reactiva solvente/agente químico, tinta termocrómica y tinta fugitiva de agua. Una partícula también se puede aplicar en máquinas electrofotográficas y de impresión por chorro de tinta y otros sistemas que incluyen litografía *offset*, tipografía, huecograbado, heliograbado, xerografía, fotografía, sistemas de grabado en seda, sistemas para depositar en forma de imágenes cantidades discretas de un material de marcación sobre una superficie de sustrato, tales como sistemas de deposición de pintura, agentes químicos y película; y sistemas para la integración de materiales colorantes en una superficie expuesta de un sustrato fibroso, tales como sistemas de impresión textil.

Debe observarse que pueden incluirse o utilizarse características de seguridad adicionales junto con las etiquetas descritas para un artículo o documentos particulares. Una de estas características de seguridad adicional puede ser una tinta de seguridad separada, tal como tinta de sangrado, tinta reactiva a monedas, tinta borrable, tinta reactiva de pluma, tinta reactiva al calor, tinta infrarroja visible, tinta ópticamente variable, tinta penetrante, tinta fotocromática, tinta reactiva solvente/agente químico, tinta termocrómica o tinta fugitiva de agua. Las etiquetas se pueden aplicar como parte de la tinta, o en una etapa separada. Otras características de seguridad no basadas en tinta que pueden utilizarse además de las etiquetas descritas para la marcación de documentos o artículos incluyen el uso de un número de serie ascendente (formato horizontal y/o vertical), código de barras y números, fibras coloreadas, hilo de seguridad incorporado (registro transparente), impresiones de lámina, hologramas, impresiones latentes, microimpresión, dispositivos ópticos variables (OVD), planchetas, marcas elevadas, hilos de seguridad segmentados y marcas de agua.

Las partículas descritas pueden aplicarse recubriendo una imagen, incluyendo pero sin limitarse a una imagen de holograma, hecha con composiciones de tóner o tinta conocidas en la técnica, como con un barniz de recubrimiento, o un revestimiento de almidón.

En el caso de documentos con otras características de seguridad, tales como aquellas que incluyen hilos de polímero o láminas metálicas, las partículas pueden aplicarse a una característica adicional, tal como el hilo o la lámina. Se pueden considerar marcas únicas para representar una pequeña cantidad de datos que pueden ser cambiables de acuerdo con los métodos descritos en el presente documento. Por lo tanto, los grupos de partículas distinguibles descritos en el presente documento se pueden aplicar para constituir un "alfabeto" y combinarse como palabras o información codificada, que puede ser selectivamente variable o variable en el tiempo.

Las partículas aquí descritas pueden identificarse utilizando un espectrómetro convencional, por ejemplo un espectrómetro Raman. De hecho, uno de los beneficios de utilizar partículas SERS es la versatilidad de las fuentes de excitación y la instrumentación de detección que puede emplearse para la espectroscopía Raman. Para generar espectros Raman se pueden utilizar láseres visibles o de IR cercano de diferentes tamaños y configuraciones. Los instrumentos portátiles, de tamaño de mano y estuche son comunes. Al mismo tiempo, los monocromadores más sofisticados con mayor poder de resolución espectral permiten un aumento en el número de etiquetas únicas que se pueden emplear dentro de una región espectral dada. Por ejemplo, la capacidad de distinguir entre dos picos Raman cuyos máximos difieren sólo en 3 cm^{-1} es rutinario.

Típicamente, si se proporciona una guía de ondas adecuada (por ejemplo, fibra óptica) para transmitir luz hacia y desde el objeto, la fuente de excitación y el detector pueden estar físicamente alejados del objeto que se está verificando. Esto permite que las partículas descritas se utilicen en lugares en los que es difícil colocar fuentes de luz o detectores convencionales. La naturaleza de la dispersión Raman y la excitación monocromática basada en láser es tal que no es necesario situar la fuente de excitación muy cerca de las especies activas en Raman. Además, las partículas descritas en la presente invención son susceptibles de ser utilizadas con todas las formas conocidas de espectrómetros Raman, incluyendo algunas implementaciones más recientes, incluyendo espectros de absorción Raman separados espacialmente, espectrómetros Raman de absorción, instrumentos para medir la actividad óptica Raman y así sucesivamente.

Otra característica de las partículas reveladas es que la medición de sus espectros no necesita limitarse estrictamente a la detección de "línea de visión", como sucede con, por ejemplo, marcadores fluorescentes. Así, su espectro puede ser adquirido sin retirar las partículas del objeto marcado, con la condición de que el material sea parcialmente transparente tanto a la longitud de onda de excitación como al fotón Raman. Por ejemplo, el agua tiene una actividad Raman despreciable y no absorbe radiación visible, permitiendo que las partículas aquí descritas en agua sean detectadas. Las partículas también pueden detectarse cuando están embebidas en, por ejemplo, plástico, papel o ciertas tintas transparentes.

Las partículas divulgadas también permiten la verificación cuantitativa, porque la intensidad de la señal es una función aproximadamente lineal del número de moléculas del analito. Para las partículas estandarizadas (distribución uniforme del analito), la intensidad de la señal medida refleja el número o la densidad de las partículas. Si las partículas se añaden a una concentración conocida, la intensidad de señal medida puede usarse para detectar

dilución no deseada de materiales líquidos o granulares.

5 En otra realización, las partículas SERS en elementos marcados se detectan con un instrumento capaz de medir luz dispersada de forma no elástica y determinar la identidad de las partículas SERS y por extensión el elemento marcado. En una realización, el instrumento requiere una fuente de excitación que ilumine el elemento marcado. Se recoge la luz dispersada de forma no elástica de las partículas de SERS. Se analiza el espectro de luz dispersada y se determina la identidad de las partículas, y por lo tanto el elemento. El lector puede ser un espectrómetro Raman. El instrumento para recoger y analizar el espectro Raman (el lector) puede ser tan pequeño como 1 milímetro cúbico y tan grande como 1000 metros cúbicos.

10 La fuente de luz utilizada para excitar las partículas puede ser una luz monocromática de un láser que funciona en estado sólido, gaseoso o líquido. El láser puede ser continuo o pulsado. Un láser continuo puede tener potencias desde 01. femtovatios hasta 1 megavatio. Un láser pulsado puede tener potencia total similar con pulsos tan cortos como menos de 1 femtosegundo, y con una tasa de repetición de impulsos de hasta 1 terahertz. Alternativamente, se pueden usar múltiples fuentes de luz. En una realización, se utilizan longitudes de onda de excitación separadas múltiples para determinar la presencia o ausencia de partículas selectivas de longitud de onda como se ha descrito anteriormente o para compensar detectores que tienen bajas eficiencias de conversión de fotones a electrones en
15 ciertas regiones espectrales, usando una longitud de onda de excitación para cubrir una cierta porción de la ventana de desplazamiento Raman (por ejemplo, $100\text{-}1800\text{ cm}^{-1}$), y la segunda para cubrir otra (por ejemplo, $1801\text{-}3600\text{ cm}^{-1}$).

20 Además de los láseres, la luz puede provenir de un material electroluminiscente tal como un diodo emisor de luz. Alternativamente, la luz de excitación puede provenir de una fuente de luz incandescente o fluorescente. En todas las realizaciones, el intervalo de longitud de onda de excitación puede ser de 100 nm a 100 micras. La luz de excitación se puede filtrar espectralmente con filtros discretos o elementos espacialmente dispersantes.

25 En una realización, la anchura espectral de la luz monocromática es inferior a 0,5 nm. En otras realizaciones, la anchura espectral es de 0,01 nm de ancho de banda a 100 nm de ancho de banda. La excitación y la luz recogida pueden dirigirse hacia y desde el objeto bajo interrogación con lentes, espejos, tubos de luz, rejillas, guías de ondas, fibra óptica o cualquier otro componente. Todos los elementos ópticos y mecánicos pueden, pero no necesitan, ser integrados en una sola plataforma.

30 En una realización, la fuente de excitación y el sistema de recolección están conectados a la óptica de suministro de muestras con tubos de luz o fibras ópticas. En otras realizaciones, elementos ópticos discretos conectan la fuente de excitación y el elemento de detección. La óptica discreta incluye lentes, espejos u otras guías de ondas. En otras realizaciones, la fuente de excitación, el espectrómetro de recolección o todos los artículos se fabrican utilizando técnicas de microfabricación tales como LIGA, moldeo, grabado, MEMS, NEMS, litografía, fotolitografía u otros métodos monolíticos. El punto iluminado de la fuente de excitación puede ser mayor de 100 micrómetros de diámetro. En otras realizaciones, el punto iluminado puede ser tan pequeño como 100 nanómetros cuadrados y tan
35 grande como 1 metro cuadrado.

40 En una realización la luz recolectada se analiza mediante un espectrómetro. El espectrómetro utiliza una rejilla para dispersar la luz recolectada sobre un detector de arreglo de área, preferiblemente un dispositivo acoplado de carga (CCD). El CCD divide el espectro en compartimientos, con cada compartimiento correspondiente a un determinado rango de longitud de onda. El número de contenedores utilizados puede variar de 1 bandeja a muchos miles de bandejas. En una realización, el número de bandejas es mayor que 20.

La óptica del espectrómetro tiene típicamente una resolución espectral específica. Por ejemplo, la resolución puede ser inferior a 10 nm o entre 1 nm a 4 nm. En otras realizaciones, la resolución es de 0,01 nm a 5000 nm. La resolución seleccionada puede ser de $0,01\text{ cm}^{-1}$ a 40000 cm^{-1} expresada como número de onda.

45 En una realización, el método de separación óptica de luz en bandejas usa cualquier forma de dispersión de luz con un prisma, rejilla o cualquier elemento espacialmente dispersante. En otras realizaciones, se utiliza un arreglo de microespejos digitales para dispersar espacialmente la luz. Se usan otros filtros espectrales sintonizables, incluyendo filtros sintonizables acústico-ópticos, filtros sintonizables de electro-óptica, filtros sintonizables de cristal líquido. Cualquier forma de análisis espectral de barrido se puede utilizar así como la espectroscopia de correlación con Transformadas de Fourier. En otra realización, se puede usar un único elemento de detección o una matriz de
50 elementos de detección. El espectro se analiza con filtros ópticos discretos o con los otros métodos de filtrado espectral antes mencionados.

55 En una realización, el elemento detector es una matriz CCD o fotodiodo hecha de silicio, InGAs o cualquier otro semiconductor. Recientemente, se han descrito detectores hechos de materiales orgánicos (por ejemplo, polímeros conductores) y de compuestos a base de carbono. En otras realizaciones, el elemento de detección es cualquier elemento que convierte energía electromagnética, es decir fotones en electrones u otra energía eléctrica o energía térmica o energía sonora.

La energía eléctrica convertida se analiza mediante un circuito eléctrico. El circuito típicamente, si es necesario, convierte la señal analógica del detector en una señal digital que es almacenada o analizada por un ordenador. La

señal digital se puede analizar para determinar la presencia de la etiqueta. La señal digital puede ser un nivel de señal discreta o una corriente de niveles de señal correspondiente a un espectro. En otras realizaciones, el circuito puede usar elementos lógicos analógicos para determinar el nivel de señal de la etiqueta y si el elemento está marcado o no.

5 En una realización, el espectro adquirido es analizado por un ordenador para determinar la presencia de las partículas de SERS después de tener en cuenta la presencia de otros materiales que contribuyen al espectro, es decir, otras tintas, materiales que ensucian etc. Por ejemplo, partículas SERS con un Espectrómetro Raman disponible comercialmente, como el Delta Nu Reporter. El espectrómetro Raman puede ser controlado por un pequeño ordenador en un teléfono u otro asistente de datos personales. El pequeño ordenador puede comunicarse con el Espectrómetro Raman a través de una conexión inalámbrica, ya sea Bluetooth o wi-fi u otro protocolo inalámbrico. En esta realización, el pequeño ordenador puede recibir el espectro adquirido del Espectrómetro Raman, analiza el espectro e identifica el elemento.

10 En otra realización, el sistema lector es parte de otra máquina. El lector utiliza una señal de la máquina para iniciar la detección de la etiqueta y realizar la clasificación en tiempo real. La máquina contiene un procesador central que identifica el elemento etiquetado y toma una decisión sobre el elemento si es real o no y si la etiqueta es correcta. La máquina puede ser utilizada en el procesamiento, emisión, clasificación, recuento, criba, rastreo o autenticación de billetes o divisas, o para cualquier otra aplicación de seguridad industrial, y donde los artículos marcados pueden ser pastillas, balas, prendas de vestir, partes de máquinas, software, alimentos, bebidas o cualquier otro elemento al que se apliquen partículas SERS.

20 En otras realizaciones, la máquina es una prensa de impresión de moneda o sellos o de documentos o impresora de inyección de tinta o impresora digital o cualquier otro tipo de instrumentación de impresión donde se usa el lector para la monitorización del proceso. En otras realizaciones, la máquina es parte de una línea de envasado o etiquetado final en la que las etiquetas se comprueban como una etapa final.

25 Además del análisis espectral Raman, la instrumentación o el lector puede realizar otras funciones. Por ejemplo, el instrumento puede medir dispersión de luz elástica o no elástica. Alternativamente, el instrumento puede adquirir una imagen óptica de un elemento así como una firma espectral. Del mismo modo, el instrumento puede medir un espectro de fluorescencia en una ventana espectral y un espectro Raman en otra ventana espectral.

30 El espectro puede ser analizado para picos, anchuras, alturas y posiciones espectrales, números de picos, relaciones de picos, o combinaciones de los mismos. El espectro puede analizarse por cualquier número de métodos matemáticos, incluyendo, pero sin limitarse a, análisis de ondículas, análisis de componentes principales, regresión lineal y no lineal, o combinaciones de los mismos. Además, las transformadas de Fourier, las transformadas de Laplace, las transformadas de Hildebrand, las transformadas de Hadamard o cualquier otro método matemático, es decir, desde primeras a derivadas de orden superior, integrales de primer o de orden superior o cualquier otro análisis, pueden usarse para manipular la información espectral. Todos los métodos anteriores pueden usarse para eliminar cualquier señal interferente o extraña o no deseada, incluyendo pero sin limitarse a: (a) interferencias estándar, incluyendo pero no limitadas a la luz del día, impurezas, papel, tinta, hilo, fibra, metal, líquidos, sólidos, disolventes, humedad, (b) señales relacionadas con el uso, incluyendo las de suciedad, manchas (por ejemplo, café, cerveza, líquidos para la piel), polvo, carbón, trazas de drogas (por ejemplo, cocaína), y (c) señales ópticas de interferencia, incluidas pero sin limitarse a fluorescencia, luminiscencia, absorbancia, dispersión, fosforescencia y quimioluminiscencia.

40 En una realización, las partículas de SERS selectivas de longitud de onda se usan solas o en combinaciones para hacer códigos. Las etiquetas y sus combinaciones están organizadas en una base de datos que puede ser correlacionada con productos, números de lote u otros atributos. Se pueden usar bibliotecas de espectros de marcación conocida para encontrar los espectros de etiquetas deseados. Las bibliotecas pueden incluir todos los demás compuestos, imitaciones o cualquier otro material anticipado. Los fondos y otros componentes se pueden separar usando los mismos métodos. Los fondos y otros contaminantes pueden ser modelados sintéticamente usando un polinomio u otra función matemática, substracción del círculo de rodadura y filtración espectral.

50 La información de la base de datos se puede almacenar en el dispositivo de detección o almacenarse en un ordenador remoto. El equipo remoto podría ser parte de un teléfono celular u otro dispositivo móvil que esté vinculado a un solo o múltiples instrumentos. El ordenador remoto podría ser un ordenador personal, un ordenador portátil o una nube de computación central que se comunique con una variedad de instrumentos, de 1 a 2 millones, a través de la conexión a Internet u otro protocolo de comunicación. Los instrumentos y los ordenadores se pueden conectar a través de una red inalámbrica.

55 Pueden usarse múltiples atributos de las partículas SERS para determinar la identidad de un elemento marcado. Estos atributos incluyen la cantidad de material y la calidad del espectro, la cantidad de material con respecto a otro material, los espectros relativos a otros espectros.

La clasificación de un código o combinación de partículas SERS se puede realizar utilizando métodos estadísticos, tales como los métodos Bayesianos. Estos métodos se pueden utilizar para asignar probabilidades de que la

muestra contiene el código. En otros métodos se establece un umbral para un atributo.

5 Aunque los ejemplos antes mencionados están dirigidos a la selectividad de la longitud de onda en las etiquetas SERS, los expertos en la técnica reconocerán que la incorporación de características selectivas de longitud de onda puede ser introducida en partículas diseñadas para otros métodos de detección óptica, incluyendo pero no limitándose a fluorescencia, luminiscencia, fosforescencia, (Rayleigh) dispersión de luz, conversión ascendente, conversión descendente y procesos de fotones múltiples. A menos que se indique otra cosa, todos los números que expresan cantidades de ingredientes, dimensiones, condiciones de reacción, etc., utilizados en la especificación y en las reivindicaciones, deben entenderse como modificados en todos los casos por el término "aproximadamente".

10 En esta solicitud y en las reivindicaciones, el uso del singular incluye el plural a menos que se indique específicamente lo contrario. Además, el uso de "o" significa "y/o" a menos que se indique lo contrario. Además, el uso del término "incluyendo", así como otras formas, tales como "incluye" e "incluido", no es limitante. Además, términos tales como "elemento" o "componente" abarcan elementos y componentes que comprenden una unidad y elementos y componentes que comprenden más de una unidad a menos que se indique específicamente lo contrario.

15 Diversas realizaciones de la descripción podrían incluir también permutaciones de los diversos elementos enumerados en las reivindicaciones como si cada reivindicación dependiente fuera una reivindicación dependiente múltiple que incorpora las limitaciones de cada una de las reivindicaciones dependientes precedentes así como las reivindicaciones independientes. Tales permutaciones están expresamente dentro del alcance de esta descripción.

20 Aunque las realizaciones se han mostrado y descrito en particular con referencia a una serie de ejemplos, los expertos en la técnica entenderían que pueden hacerse cambios en la forma y detalles en las diversas realizaciones descritas en el presente documento sin apartarse del alcance de la invención de acuerdo con las reivindicaciones adjuntas y que las diversas realizaciones descritas en el presente documento no pretenden actuar como limitaciones en el alcance de las reivindicaciones.

25 La descripción se ha presentado con fines de ilustración y descripción, pero no pretende ser exhaustiva o limitante de la invención a la forma descrita. El alcance de la presente invención está limitado solamente por el alcance de las siguientes reivindicaciones. Muchas modificaciones y variaciones serán evidentes para los expertos en la técnica. La realización descrita y mostrada en las figuras se eligió y describió con el fin de explicar mejor los principios de la invención, la aplicación práctica, y para permitir que otros expertos en la técnica entiendan la invención para diversas realizaciones con diversas modificaciones como son adecuadas para el uso particular contemplado.

30

REIVINDICACIONES

1. Una nanoetiqueta SERS selectiva en longitud de onda de onda que comprende:
un núcleo de mejora de SERS;
una molécula informadora activa en SERS asociada con el núcleo;
- 5 un encapsulante que encapsula el núcleo y la asociación informadora; y bien:
- 1) un material de bloqueo asociado con el encapsulante que bloquea total o parcialmente el paso de energía luminosa a una longitud de onda seleccionada hacia la molécula informadora, o bloquea total o parcialmente la radiación de energía luminosa a una longitud de onda seleccionada desde la molécula informadora, o
- 10 2) un material de enmascaramiento asociado con el encapsulante que enmascara total o parcialmente la energía luminosa irradiada a una longitud de onda seleccionada desde la molécula informadora.
2. La nanoetiqueta de SERS selectiva en longitud de onda de la opción 1 de la reivindicación 1, en la que el material de bloqueo comprende una nanobarra asociada con el encapsulante.
3. La nanoetiqueta de SERS selectiva en longitud de onda de la reivindicación 2, en la que la nanobarra es una nanobarra de Au.
- 15 4. La nanoetiqueta de SERS selectiva en longitud de onda de la reivindicación 2, en la que la nanobarra está asociada electrostáticamente con el encapsulante.
5. La nanoetiqueta SERS selectiva en longitud de onda de la reivindicación 4, que comprende además un polímero cargado asociado con la nanobarra; y un polímero de carga opuesta asociado con la nanoetiqueta de SERS.
- 20 6. La nanoetiqueta de SERS selectiva en longitud de onda de la opción 1 de la reivindicación 1, en la que el material de bloqueo es un tinte.
7. La nanoetiqueta de SERS selectiva en longitud de onda de la reivindicación 6, en la que el encapsulante comprende una superficie mesoporosa.
8. La nanoetiqueta de SERS selectiva en longitud de onda de la reivindicación 6, en la que el material de bloqueo es un tinte fluorescente.
- 25 9. Un método para fabricar una nanoetiqueta de SERS selectiva en longitud de onda que comprende:
proporcionar un núcleo de mejora de SERS;
asociar una molécula informadora activa en SERS con el núcleo;
encapsular el núcleo y la asociación informadora con un encapsulante; y bien
- 30 1) asociar un material de bloqueo con el encapsulante que bloquea total o parcialmente el paso de energía luminosa a una longitud de onda seleccionada hacia la molécula informadora, o bloquea total o parcialmente el paso de energía luminosa a una longitud de onda seleccionada irradiada desde la molécula informadora; o 2) asociar un material de enmascaramiento con el encapsulante que enmascara total o parcialmente la energía luminosa irradiada a una longitud de onda seleccionada desde la molécula informadora.

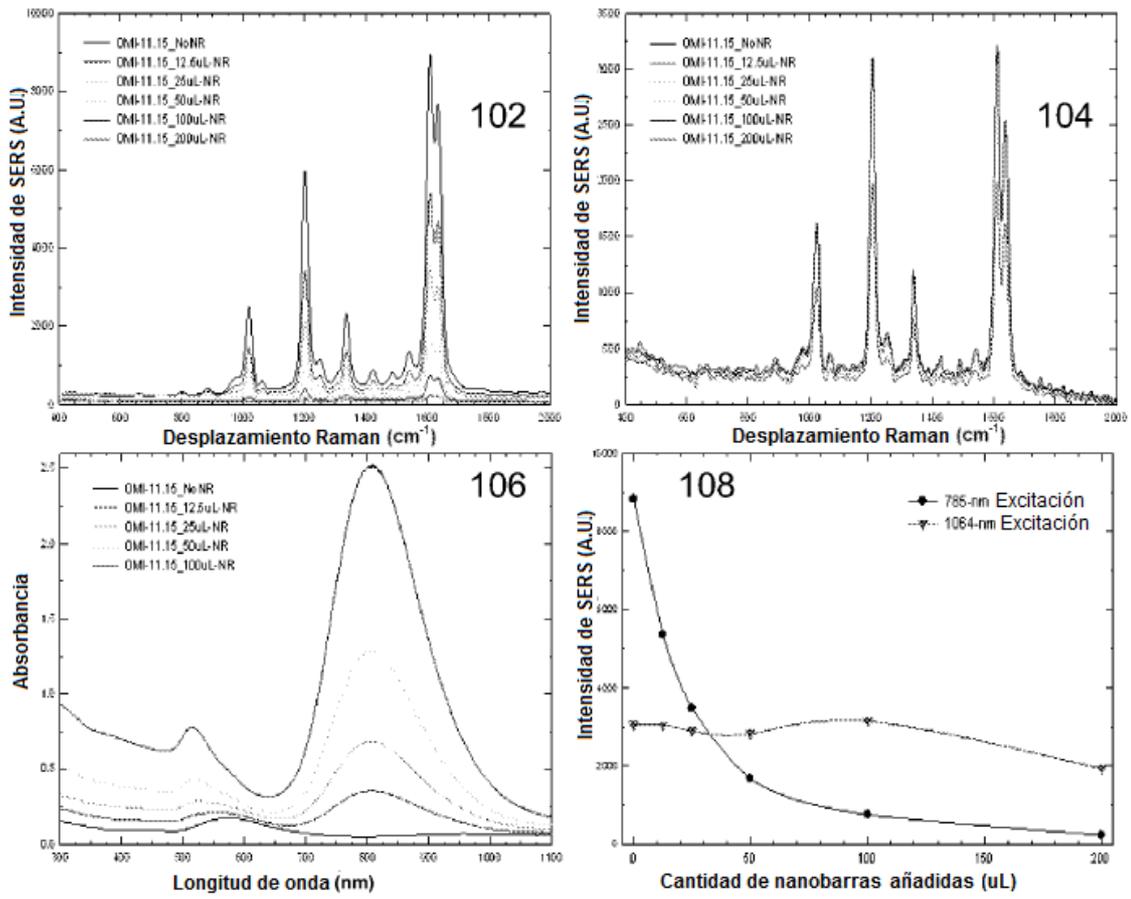


Fig. 1

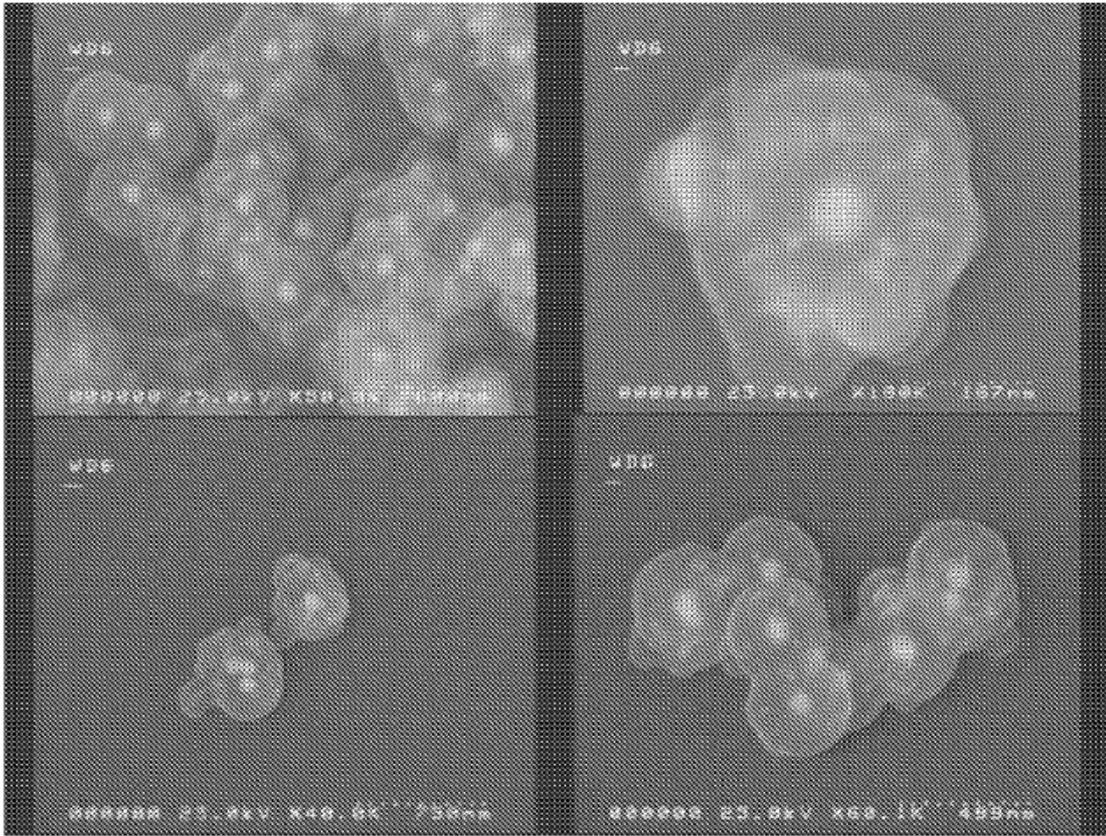


Fig. 2

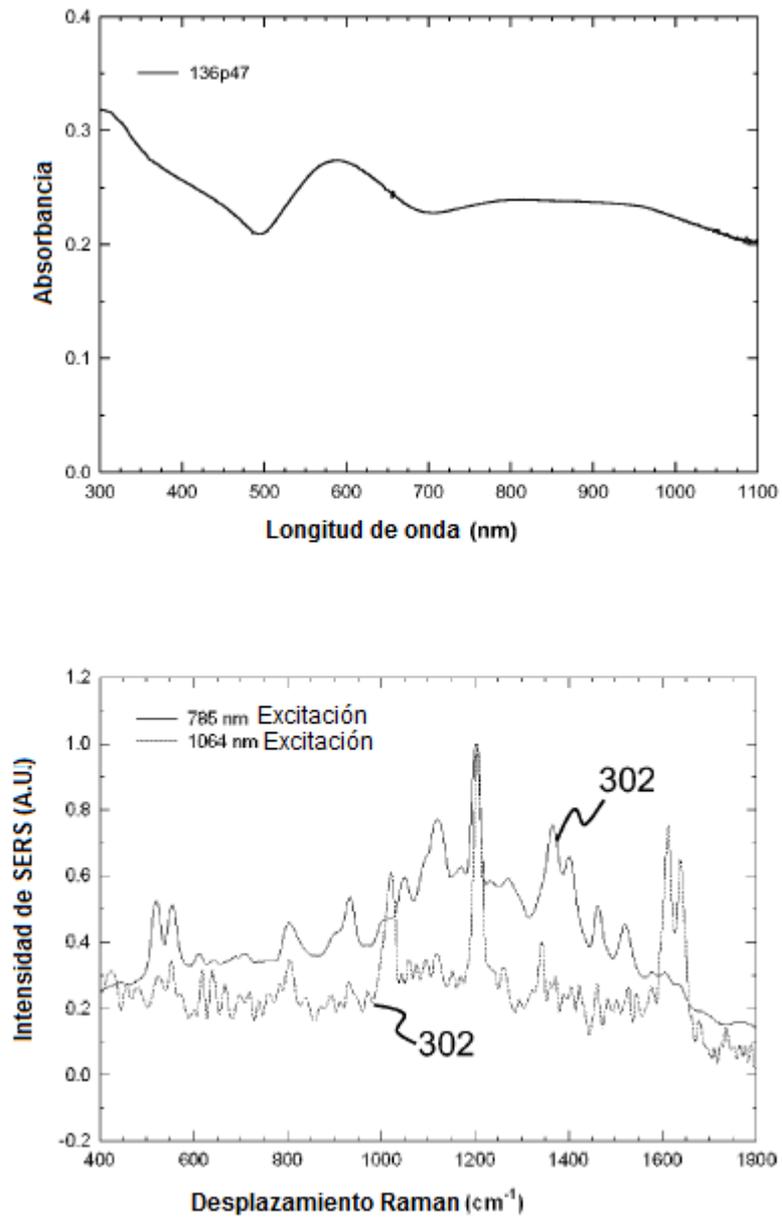


Fig. 3

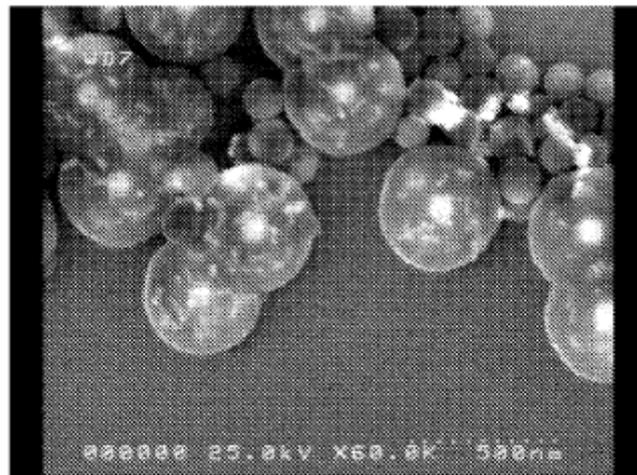
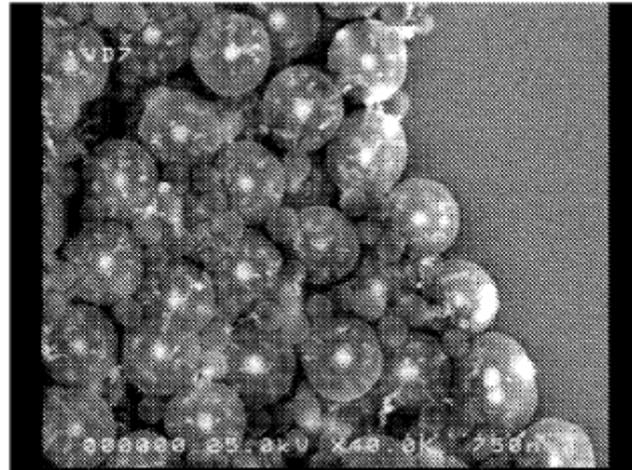


Fig. 4

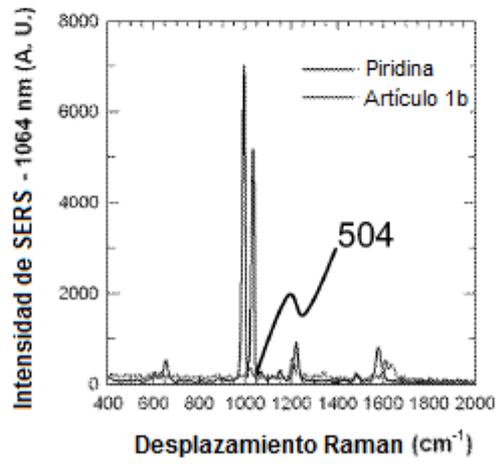
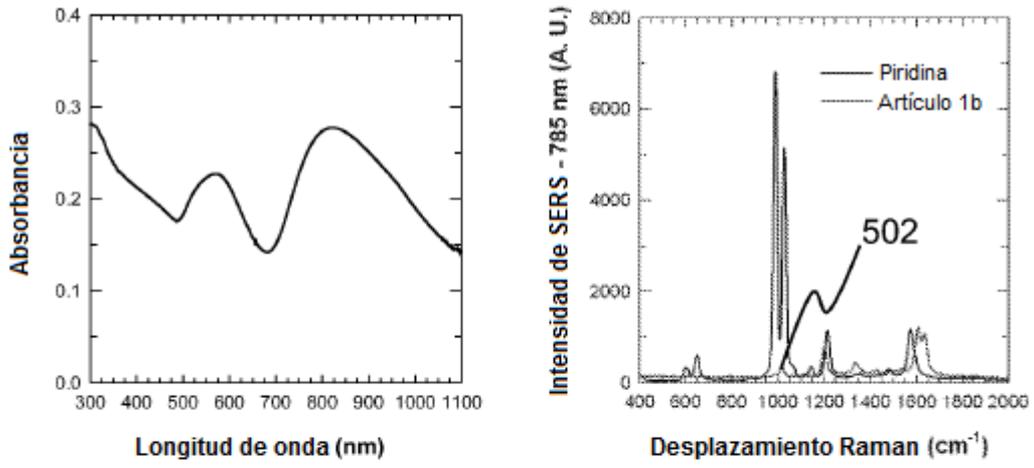


Fig. 5

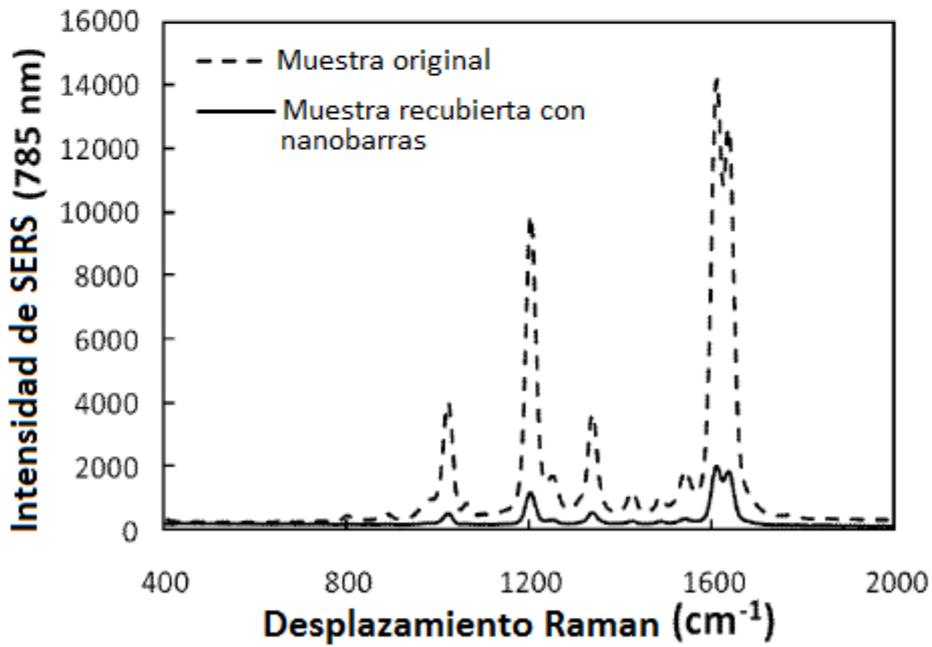
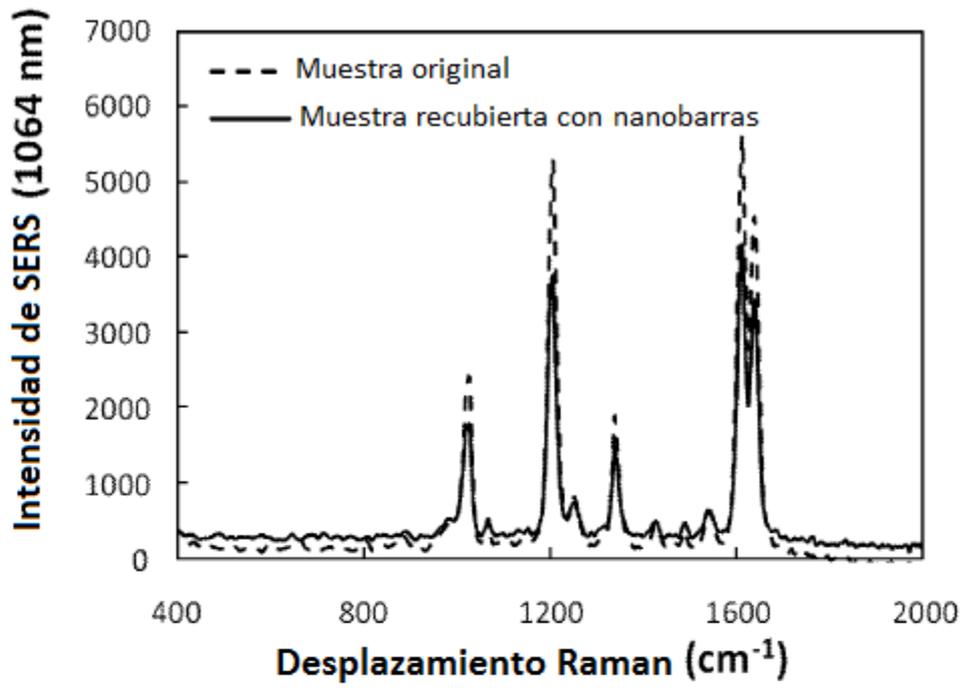


Fig. 6

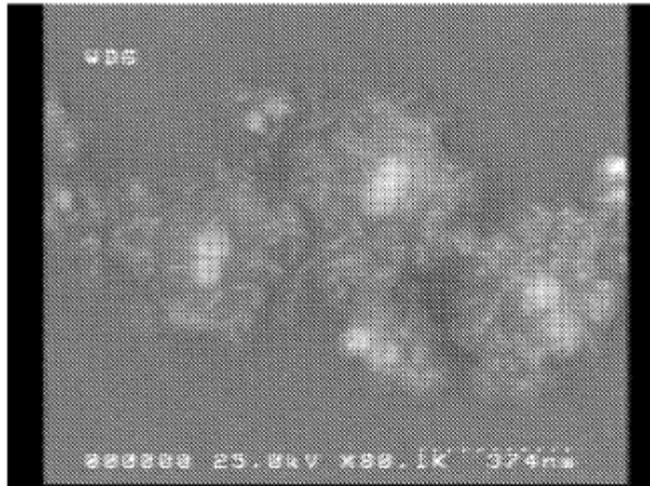


Fig. 7

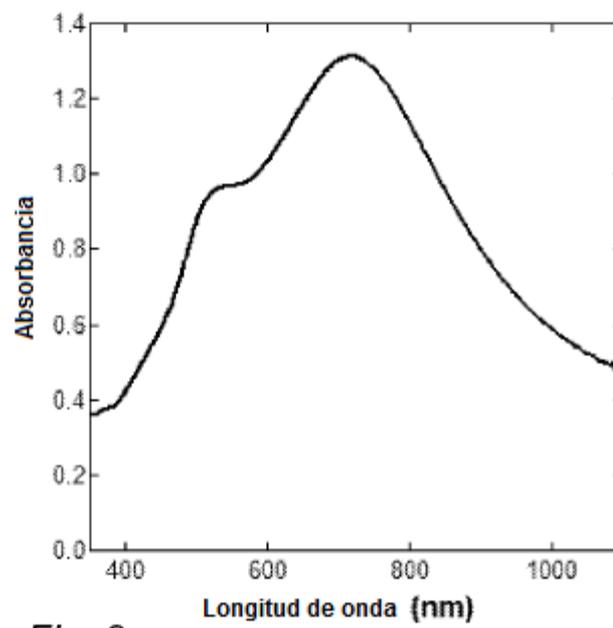


Fig. 8

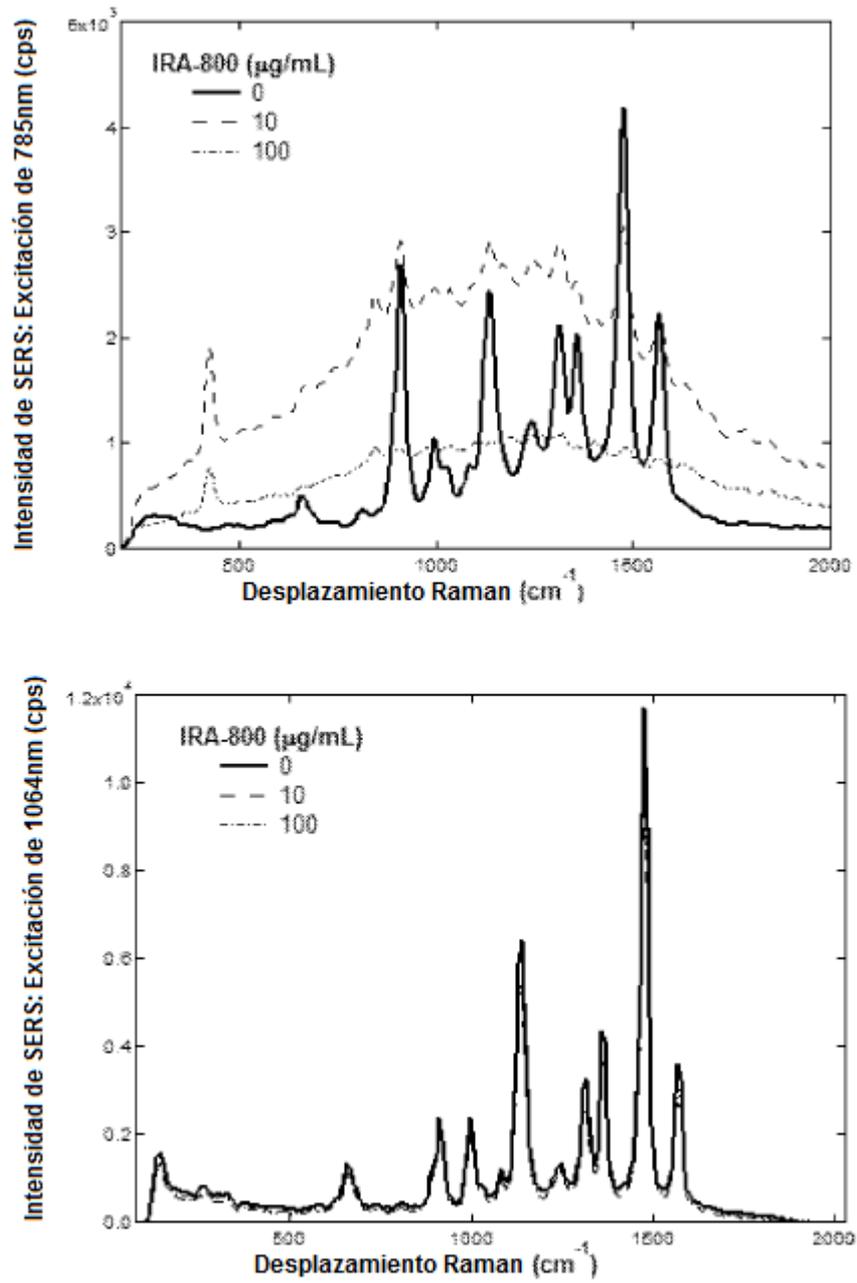


Fig. 9

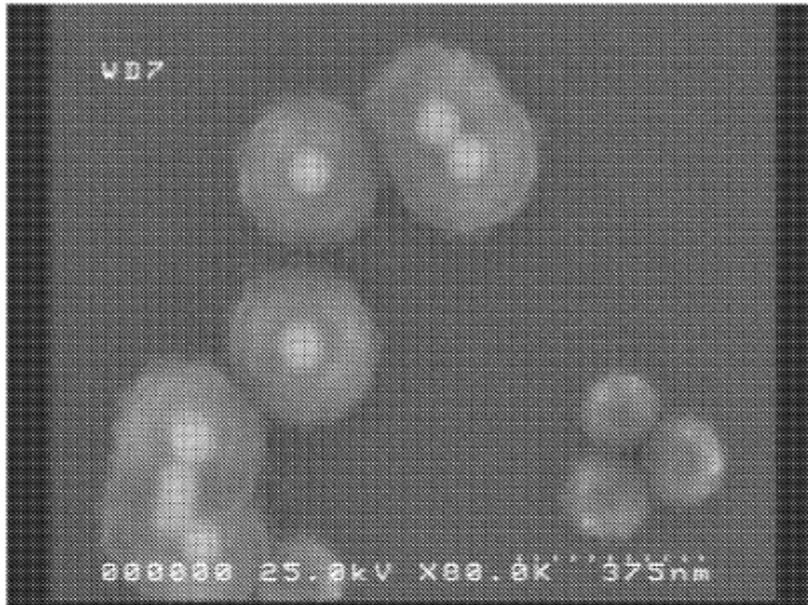


Fig. 10

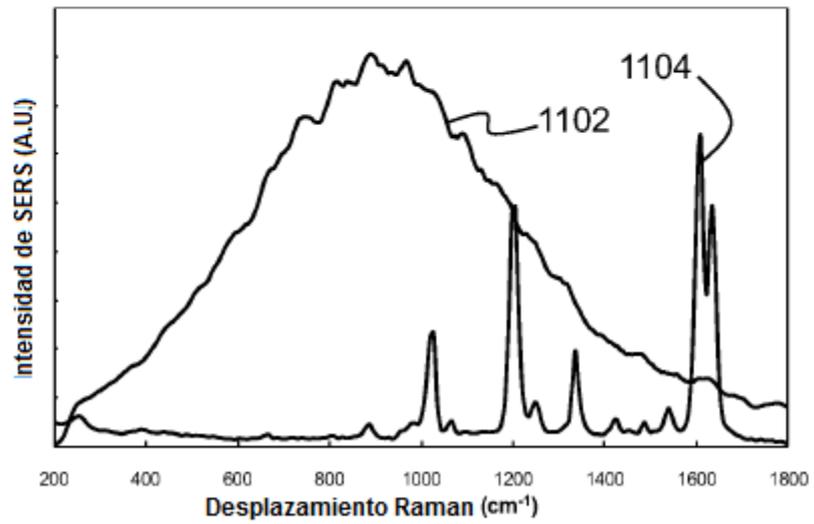


Fig. 11