

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 820 248**

51 Int. Cl.:

C30B 7/14 (2006.01)

C30B 29/02 (2006.01)

C30B 29/60 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **11.10.2017 PCT/FR2017/052798**

87 Fecha y número de publicación internacional: **19.04.2018 WO18069646**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **11.10.2017 E 17794372 (7)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **24.06.2020 EP 3526375**

54 Título: **Síntesis de nanopartículas núcleo-cubierta y aplicaciones de estas nanopartículas para la espectroscopia Raman con superficie mejorada**

30 Prioridad:

13.10.2016 FR 1659934

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
20.04.2021

73 Titular/es:

UNIVERSITÉ DE PARIS (33.3%)

85 Boulevard Saint-Germain

75006 Paris, FR;

**CENTRE NATIONAL DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE (33.3%) y**

**INSTITUT DE PHYSIQUE DU GLOBE DE PARIS
(33.3%)**

72 Inventor/es:

H Aidar, ISRAA;

Neuville, DANIEL;

Boubekeur, Léïla y

Felidj, NORDIN

74 Agente/Representante:

LEHMANN NOVO, María Isabel

ES 2 820 248 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

Síntesis de nanopartículas núcleo-cubierta y aplicaciones de estas nanopartículas para la espectroscopia Raman con superficie mejorada

5

Campo técnico

La invención se refiere a la síntesis de nanopartículas metálicas del tipo núcleo-cubierta, mediante un enfoque de tipo ascendente (tipo bottom-up), a partir de una solución coloidal.

10

La invención encuentra aplicaciones ventajosas para la realización de sustratos para espectroscopia Raman con superficie mejorada (*Surface Enhanced Raman Scattering* SERS).

Definiciones

15

Por "sustrato para espectroscopia Raman con superficie mejorada" se designa aquí un soporte, por ejemplo, de silicio, sobre el cual se coloca una solución que contiene nanopartículas metálicas.

20

Por "nanopartícula" se designa aquí un conjunto de estructuras poliatómicas de tamaño nanométrico, que típicamente varían entre 1 y 200 nm, sea cual sea una de las tres dimensiones.

Por "nanopartículas metálicas" se designan en este documento especialmente las nanopartículas de metales nobles, y en particular oro y plata.

25

Por "nanopartículas metálicas del tipo núcleo-cubierta" se designan en este documento nanopartículas formadas a partir de un núcleo de un primer metal noble, en particular oro, recubierto con una cubierta de un segundo metal noble, en particular plata.

Estado de la técnica

30

Los métodos de síntesis de nanopartículas metálicas se pueden clasificar en dos grupos: "de arriba hacia abajo" (top-down) y "de abajo hacia arriba" (bottom-up).

35

Los enfoques de arriba hacia abajo (top-down) permiten partir del material macizo, y después reducirlo a compuestos cada vez más finos, por ejemplo, por vía electroquímica, ablación láser en fase acuosa, trituración de polvos, litografía. Las nanopartículas de oro se han producido mediante ablación láser en el agua, o incluso en acetona, tolueno, tetrahidrofurano, acetonitrilo. Amendola *et al.* (*Synthetic metals*, Vol. 155, Número 2, 2005, p. 283-286) describen la ablación láser en dimetilsulfóxido (DMSO, CAS 67-68-5), que permite la funcionalización de nanopartículas de oro mediante derivados fullereno.

40

Los enfoques de abajo hacia arriba (bottom-up) parten de las entidades químicas más pequeñas posibles, como los átomos o las moléculas, que se ensamblan para formar gradualmente una nanopartícula. Los enfoques de abajo hacia arriba (bottom-up) realizan típicamente reacciones de reducción o descomposición, en fase gaseosa, líquida o sólida, por vía física (pirólisis láser, depósito de CVD) o por vía química (reducción química, electroquímica, fotoquímica, procedimiento sol-gel).

45

La espectroscopia Raman potenciada en superficie (SERS) se basa principalmente en el uso de sustratos SERS (a base de metales, en general: Au, Ag, Cu) que tienen propiedades ópticas singulares, relacionadas con la excitación por la luz de plasmones de superficie localizados (*Localized Surface Plasmon Resonance* LSPR).

50

Típicamente, un sustrato SERS se presenta en forma de nanopartículas metálicas (en solución o depositadas sobre un soporte sólido) o de una película metálica rugosa depositada sobre una superficie plana (lámina de vidrio, silicio).

55

Los sustratos de SERS pueden ser activos o pasivos, permitiendo los sustratos activos una selectividad del sustrato, mediante una funcionalización, por ejemplo, el uso de un antígeno para la detección de un anticuerpo.

Las características vibratorias de las moléculas obtenidas por difusión Raman son generalmente muy bajas, pero en presencia de nanopartículas de metales nobles, estas señales se amplifican considerablemente.

60

Las moléculas adsorbidas en la superficie de las nanopartículas metálicas sufren un efecto SERS, debido al fuerte campo electromagnético que sufren las moléculas en las proximidades de la superficie metálica. El confinamiento del campo más próximo al metal resulta de la excitación de los plasmones de superficie localizados.

65

La espectroscopia Raman potenciada en superficie (SERS) se ha convertido así en una espectroscopia vibratoria ineludible, abriéndose a campos tan variados como la biología, la química analítica, la identificación, la conservación y la restauración de obras de arte, o la criminalística.

Las aplicaciones de la SERS son típicamente aquellas en las que la concentración del compuesto a detectar es baja con respecto a la sensibilidad Raman (por ejemplo, identificación de contaminantes, agentes contaminantes, fluidos biológicos durante investigaciones de la policía científica), o cuando los análisis son difíciles sin preparación (identificación de microorganismos para la industria agroalimentaria o la higiene médica, imagenología celular), o incluso para diagnósticos médicos.

A título de ilustración, se propone así la SERS para la detección del consumo de drogas (por ejemplo Nuntawong *et al.*, Detection of methamphetamine/amphetamine in human urine based on surface-enhanced Raman spectroscopy and acidulation treatments, Sensors and Actuators B: Chemical, Volumen 239, 2017, páginas 139-146), la detección de explosivos, de agentes contaminantes tales como pesticidas o metales pesados (por ejemplo el mercurio, Sun *et al.*, Recent progress in detection of mercury using surface enhanced Raman spectroscopy- A review, Journal of Environmental Sciences, Volumen 39, 2016, páginas 134-143).

La SERS, considerada durante mucho tiempo como un fenómeno físico destacable, pero puramente fundamental, se ha impuesto poco a poco como una herramienta analítica robusta y eficaz para potenciar (en el sentido de amplificar) en varios órdenes de magnitudes (10^3 - 10^7) la señal Raman de las moléculas.

Problemas técnicos

La realización de sustratos SERS es compleja.

Como se ha mencionado anteriormente, la potenciación Raman se rige por la excitación de los plasmones LSPR, lo que supone una buena adecuación entre la longitud de onda de excitación láser (Raman) y la posición de la resonancia plasmón.

Para las nanopartículas metálicas esféricas, la posición y la anchura de la banda plasmón está influenciada por el tamaño de las nanopartículas. Por otro lado, el modo de oscilación de los electrones de superficie de una partícula es propio su geometría. Una partícula isotrópica, como por ejemplo una partícula esférica, tendrá solo un modo, mientras que una partícula compleja o anisotrópica (por ejemplo, un bastoncillo) tendrá más de un modo de resonancia plasmón. Una partícula en forma de bastoncillo o elipsoidal tendrá dos modos de resonancia de los electrones: un componente transversal, relacionado con el diámetro, y un componente longitudinal, relacionado con la longitud del bastoncillo. Para las nanopartículas metálicas en forma de bastoncillo, la relación de aspecto de las nanopartículas (longitud/diámetro) tiene una influencia sobre la banda plasmón que corresponde a la componente longitudinal. La dispersión de las nanopartículas también tiene una influencia, al acoplarse entre los modos resonantes de las nanopartículas vecinas.

La generación de plasmones de superficie localizados, responsables del aumento de la interacción entre la luz monocromática generada por un láser y una molécula sonda, está relacionada con la presencia en el sustrato de "puntos calientes", designando esta expresión unas zonas espaciales de dimensiones menores que la longitud de onda, pudiendo producirse un punto caliente en las proximidades de dos nanopartículas muy próximas (de 1 a 4 nm) en el que el campo electromagnético es localizado e intenso.

La posibilidad de producir y controlar unos puntos calientes está, por tanto, vinculada con la realización de sustratos SERS que presenta nanoestructuras controladas.

La calidad de un sustrato SERS se mide no solo por sus rendimientos de amplificación de señal Raman (cuantificados por el factor de potenciamiento EF), sino también por su reproducibilidad de fabricación y respuesta, así como por su estabilidad en el transcurso del tiempo.

La búsqueda de sustratos SERS optimizados es sumamente activa, ya que, a pesar de los grandes avances en el campo, aún quedan muchos desafíos por superar en términos de (i) cualidades intrínsecas y (ii) versatilidad.

La fabricación de sustratos SERS mediante depósito de coloides y después por secado es una experiencia en sí misma. En efecto, la utilización de protocolos abundantemente descritos en la bibliografía para la preparación de coloides SERS activos no garantiza en modo alguno poder reproducir el tamaño o las formas de los objetos. Existe una necesidad imprescindible para los usuarios finales del SERS como técnica analítica, de disponer de sustratos listos para usar, en los que bastará con depositar una gota de la solución a analizar.

El desarrollo de sustratos SERS eficaces sobre una amplia gama de longitudes de onda de excitación forma parte también de desafíos en el campo.

Los procedimientos de síntesis de las nanopartículas metálicas conocidos en la técnica anterior presentan numerosos inconvenientes, que no permiten un uso óptimo en la realización de sustratos para la espectrometría Raman con superficie mejorada.

Los sustratos obtenidos por litografía y grabado en capas delgadas son reproducibles y estables en el tiempo, pero su fabricación es compleja y muy costosa.

5 Las soluciones coloidales (oro, plata) o los sol-geles son menos costosas, pero pueden dar lugar a dificultades, especialmente en vida útil antes de su uso y en reproducibilidad. Los coloides pueden flocular y después resuspenderse, pero también precipitar y agregar de manera irreversible.

10 La reducción electroquímica implica unas condiciones restrictivas, tales como el uso de ultrasonidos y de corriente constante de electrólisis, y es difícil controlar la uniformidad de las nanopartículas obtenidas por estos procedimientos.

Se han sintetizado por vía electroquímica unas nanopartículas de oro de diferentes formas en presencia de un agente de superficie.

15 Huang *et al.* (Electrochemical synthesis of gold nanocubes, *Materials Letters*. Julio de 2006 60 (15):1896-1900) describen la síntesis de nanopartículas de oro de forma cúbica, por electrólisis (ánodo de Au, cátodo de Pt) de una solución que contiene acetona y dos agentes de superficie: CTAB (bromuro de hexadeciltrimetilamonio o bromuro de cetrimonio): $(\text{CH}_3)_3\text{N}(\text{CH}_2)_{15}\text{CH}_3\text{Br}$, CAS 57-09-0) y TTAB (bromuro de tetradeciltrimetilamonio $\text{C}_{17}\text{H}_{38}\text{BrN}$, CAS 1119-97-7).

20 Ma *et al.* (Synthesis of silver and gold nanoparticles by a novel electrochemical method, *Chemphyschem*. 23 de enero de 2004; 5(1):68-75), describen la síntesis de nanopartículas de oro de forma esférica por electrólisis de una solución acuosa que contiene PVP (polivinilpirrolidona, CAS 9003-39-8).

25 Sharma *et al.* (Electrochemical synthesis of gold nanorods in track-etched polycarbonate membrane using removable mercury cathode, *Journal of Nanoparticle Research*. 2012, Vol. 14 Issue 9, p1-10) describen la síntesis de nanopartículas de oro en forma de bastoncillos, por depósito sobre una membrana nanoporosa de policarbonato.

30 Yu *et al.* (Gold nanorods: electrochemical synthesis and optical properties, *The journal of physical chemistry*, 101, 34, p. 6661-6664) describen la síntesis de nanopartículas de oro en forma de bastoncillos por electrólisis (ánodo de Au, cátodo de Pt) de una solución que contiene acetona, y dos agentes de superficie (CTAB y TC8AB bromuro de tetraoctilamonio CAS 14866-33-2).

35 Las síntesis por irradiación de microondas, radiólisis, fotoquímica y sonoquímica son complejas y costosas, y requieren un importante aporte de energía. La radiólisis requiere el uso de un acelerador de partículas.

40 Se han propuesto un gran número de síntesis por reducción química, con la ayuda de una mezcla de sal metálica/disolvente/reductor/surfactante, sin que sea posible controlar eficazmente la geometría de las nanopartículas obtenidas. En estas mezclas, la sal es el precursor que contiene el metal, el disolvente es polar, acuoso u orgánico (poliol, tolueno), siendo el momento dipolar del disolvente lo suficientemente alto como para romper las uniones de la sal y disolverla, el reductor reduce las especies metálicas disueltas para que precipiten, y el surfactante protege las partículas adsorbiéndose en su superficie para evitar su aglomeración.

45 En las síntesis de tipo Turkevich, que permiten producir nanopartículas de oro de forma cuasi esférica y mono-dispersas en suspensión en agua, el ácido tetracloroáurico se reduce por el citrato, que desempeña a la vez el papel de reductor y de agente de superficie.

En las síntesis de tipo Brust, el ácido cloroáurico reacciona con el bromuro de tetraoctilamonio (agente de transferencia) en tolueno (disolvente) y el borohidruro de sodio (reductor).

50 La invención se refiere más específicamente a la síntesis de nanopartículas metálicas, del tipo núcleo-cubierta, mediante un enfoque de tipo "bottom-up" (ascendente), por vía química coloidal, presentándose el núcleo en forma de bastoncillos.

55 La producción de nanopartículas metálicas, en particular oro, en forma de bastoncillos, es de por sí conocida. Se puede hacer referencia, por ejemplo, al mecanismo de crecimiento llamado zipping, descrito en el documento "Hébié Etudes électrochimiques des nanoparticules d'or corrélation structure/activité", 2013.

60 La invención tiene como objetivo, en particular, proporcionar unas nanopartículas metálicas de oro/plata, del tipo núcleo-cubierta, mediante un enfoque de tipo "bottom-up" (ascendente), mediante vía química coloidal, presentándose el núcleo en forma de bastoncillos, en particular de bastoncillos de oro, siendo la cubierta de plata monocristalina.

En los siguientes documentos se presentan unos ejemplos de síntesis de nanopartículas núcleo-cubierta de oro-plata:

65 Bai *et al.*, *Acs Applied Materials & Interfaces* 2014, 6 (5), 3331-3340;

Cho *et al.* *Advanced Materials* 2010, 22 (6), 744;

Zhang *et al.* Chemistry of Materials 2016, 28 (8), 2728-2741;

Jing, H *et al.* Nano Letters 2014, 14 (6), 3674-3682;

Pastoriza-Santos, Langmuir 2002, 18 (7), 2888-2894;

Zhuo *et al.* Acs Nano 2015, 9 (7), 7523-7535;

Liu *et al.* Physical Chemistry Chemical Physics 2015, 17 (10), 6819-6826;

Yang *et al.* Journal of the American Chemical Society 2014, 136 (23), 8153-8156;

Yang *et al.* Chemistry European Journal 2015, 21 (3), 988-992;

Zhang *et al.* Chemistry European Journal 2013, 19 (38), 12732-12738.

Khlebtsov *et al.* (Au@Ag core/shell cuboids and dumbbells: Optical properties and SERS response, Journal of Quantitative Spectroscopy and Radiative Transfer, Volumen 167, 2015, páginas 64-75) describen la síntesis de nanopartículas núcleo-cubierta de oro/plata, para la realización de sustratos de SERS, bastoncillos de oro colocados en una solución de CTAC (cloruro de hexadeciltrimetilamonio $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{15}\text{N}(\text{Cl})(\text{CH}_3)_3$, CAS 112-02-7), que forma el núcleo, obteniéndose el depósito de la cubierta de plata mediante adición de nitrato de plata, ácido ascórbico y sosa.

El documento WO 2016/046645 describe la síntesis de nanopartículas de oro asimétricas, por reacción de bastoncillos de oro en presencia de un disolvente tal como el agua, de un precursor (HAuCl_4), de un ligando tal como un tiol (4-mercaptofenol) y un agente reductor (ácido ascórbico), inhibiendo una concentración elevada de ligando el crecimiento de oro por epitaxia en los bastoncillos y favoreciendo un crecimiento asimétrico. Las aplicaciones mencionadas son la captación de la energía solar y la realización de sustratos para las SERS.

Objetos de la invención

Un primer objeto de la invención es resolver los problemas presentados anteriormente, ofreciendo una vía de síntesis original de nanopartículas metálicas núcleo-cubierta, en particular de oro/plata, siendo esta síntesis económica, y permitiendo la producción de una gran variedad de formas de nanopartículas de manera controlada.

Otro objeto de la invención es proporcionar una solución coloidal de nanopartículas metálicas, adecuada para la producción de sustratos para espectroscopia Raman con superficie mejorada SERS.

Otro objeto de la invención es proporcionar un sensor SERS, especialmente para un agente contaminante como la atrazina.

Presentación general de la invención

Para estos fines, se propone, según un primer aspecto, un procedimiento para sintetizar nanopartículas núcleo-cubierta de oro-plata, a partir de una solución acuosa coloidal de semillas de oro con tensioactivo, realizándose las nanopartículas núcleo-cubierta de oro-plata a partir de semillas de oro anisotrópicas, comprendiendo este procedimiento la adición en la solución acuosa coloidal de un precursor de plata y un reductor, con el fin de realizar el depósito de plata sobre las semillas de oro en una etapa denominada principal, presentando el procedimiento una etapa de incubación de la solución acuosa coloidal que contiene las semillas de oro con tensioactivo en una mezcla de agua + DMSO antes de la etapa principal realizada con la solución acuosa coloidal de oro resultante (semillas de oro + agua + DMSO + tensioactivo).

Se propone así un procedimiento de síntesis de nanopartículas núcleo-cubierta de oro-plata a partir de una solución acuosa coloidal de semillas de oro con tensioactivo según la reivindicación 1.

En algunas realizaciones, el tercer periodo varía desde unos pocos minutos hasta una veintena de horas.

El DMSO (dimetilsulfóxido, CAS 67-68-5) es un disolvente aprótico dipolar. Este tipo de disolvente presenta unas cargas por efecto mesomérico y se coordina en una malla CFC (111) de oro. En consecuencia, esta capa puede contaminar la superficie del oro, inhibiendo así el crecimiento de la plata. Las puntas de las nanobarras, esencialmente constituidas por facetas (111), pueden ser coordinadas con el codisolvente, perturbando así significativamente la difusión hacia la superficie y el depósito de plata sobre estas facetas.

Un disolvente aprótico no tiene átomo de hidrógeno ácido. Un disolvente aprótico dipolar no puede formar un enlace de hidrógeno y sus moléculas actúan como dipolos.

Los disolventes apróticos dipolares son, por ejemplo, DMSO (dimetilsulfóxido, CAS 67-68-5), DMF (Dimetilformamida CAS 68-12-2), acetonitrilo (CH₃CN, CAS 75-05-8), NMP (N-metil-2-pirrolidona, CAS 872-50-4).

Según varias realizaciones, el procedimiento presenta las siguientes características, si es necesario, combinadas:

- 5
- la relación entre el volumen de DMSO y el volumen total de agua es inferior a 2; por volumen total de agua se entiende el volumen aportado por la solución acuosa coloidal que contiene las semillas de oro con tensioactivo y por el agua presente en la mezcla de agua + DMSO;
- 10
- la relación entre el volumen de DMSO y el volumen total de agua es inferior o igual a 0,33; ventajosamente, la relación es alrededor de o igual a 0,33, lo que esencialmente permite tener semillas de oro bien dispersas e incorporar una sola semilla de oro en una cubierta de plata;
- 15
- la relación entre el volumen de DMSO y el volumen total de agua está comprendida entre 0,33 y 1; ventajosamente, la relación es alrededor de o igual a 1, lo que esencialmente permite tener ensamblajes de semillas de oro punta con punta (cabeza con cabeza) y después envueltas por una cubierta de plata;
- 20
- la relación entre el volumen de DMSO y el volumen total de agua está comprendida entre 1 y 1,5; ventajosamente, la relación es de alrededor de o igual a 1,5, lo que permite incorporar semillas de oro cara con cara FF en una cubierta de plata;
- 25
- la relación entre el volumen de DMSO y el volumen total de agua es superior a 1,5; lo que permite de nuevo tener semillas de oro esencialmente bien dispersas e incorporar una única semilla de oro por cubierta de plata, como se representa en la figura 9;
- 30
- el procedimiento comprende sucesivamente
 - o la etapa de incubar la solución acuosa coloidal que contiene las semillas de oro con tensioactivo en DMSO, durante un primer período dado;
 - o una etapa de adición de otro tensioactivo;
 - o una etapa de calentamiento, durante un segundo periodo dado;
 - o la etapa principal de reacción de las semillas de oro con el precursor de plata y el reductor en la solución acuosa coloidal de las semillas de oro;
 - o después de un tercer periodo dado, una etapa de centrifugación de la mezcla;
- 35
- la etapa de reacción comprende la adición de un tensioactivo con el reductor;
 - el tensioactivo puede ser cloruro de cetiltrimetilamonio (CTAC) y/o de bromuro de cetiltrimetilamonio (CTAB);
 - el reductor es el ácido ascórbico (AA);
- 40
- el precursor de plata es el nitrato de plata.
- 45

Se proponen, según un segundo aspecto, nanopartículas núcleo-cubierta de oro-plata realizadas a partir de semillas de oro de forma alargada, obtenidas por el procedimiento tal como se ha presentado anteriormente, presentando las nanopartículas núcleo-cubierta de oro-plata al menos dos semillas de oro por núcleo para una cubierta de plata que envuelve el núcleo.

En una realización, las semillas de oro se colocan cabeza con cabeza (TT) en la cubierta de plata.

55 En otra realización, las semillas de oro se colocan cara con cara (FF) en la cubierta de plata.

Ventajosamente, las semillas de oro son nanobarras.

60 Se propone, según otro aspecto, una solución coloidal que comprende nanopartículas núcleo-cubierta de oro-plata tales como se han presentado anteriormente.

Se propone, según otro aspecto, un sustrato para espectroscopia Raman con superficie mejorada (SERS) que comprende nanopartículas núcleo-cubierta de oro-plata tales como se han presentado anteriormente.

65 Ventajosamente, tal sustrato se aplica a la detección de agentes contaminantes orgánicos.

En una realización, el agente contaminante orgánico es la atrazina (CAS 217-617-8).

Lista de las Figuras

- 5 Otros objetos y ventajas de la invención aparecerán a la luz de la descripción de un modo de realización, hecha a continuación con referencia a los dibujos anexos, en los que:
- la figura 1 es una vista de microscopía electrónica de barrido de nanopartículas de oro, en forma de nanobarras de diferentes relaciones de aspecto (relación de la dimensión más grande a la dimensión más pequeña);
 - 10 - las figuras 2-A y 2-B presentan una vista de microscopía electrónica de barrido de nanopartículas núcleo-cubierta de oro/plata, según una realización del procedimiento según la invención;
 - la figura 3 es una vista de microscopía electrónica de barrido de nanopartículas núcleo-cubierta de oro/plata que resulta del crecimiento excesivo de plata sobre nanopartículas núcleo-cubierta de oro/plata, según otra realización del procedimiento según la invención;
 - 15 - la figura 4 es un espectro de absorción de las soluciones de nanopartículas de oro para diferentes adiciones de DMSO;
 - 20 - La figura 5-A es un gráfico que representa la evolución del espectro de absorción de las soluciones coloidales a lo largo del tiempo después de la adición de nitrato de plata y ácido ascórbico; La figura 5-B es un gráfico que representa la evolución de la longitud de onda del máximo de la resonancia longitudinal en función del tiempo, tras la adición de nitrato de plata y ácido ascórbico en soluciones que contienen nanopartículas de oro, con el uso de diferentes codisolventes (MeCN, DMSO, EtOH), o sin el uso de codisolventes;
 - 25 - las figuras 6 y 7 son unas vistas en microscopía electrónica de barrido de disposiciones de nanopartículas obtenidas según un procedimiento de síntesis según la invención;
 - 30 - La figura 8 es una representación esquemática del procedimiento de síntesis según las proporciones de DMSO en el medio de reacción y las partículas núcleo-cubierta resultantes;
 - La figura 9 es una representación esquemática del efecto del DMSO sobre las propiedades de las nanopartículas de oro, aquí $DMSO = \frac{\text{volumen de DMSO}}{\text{volumen total}}$ con $\text{volumen total} = \text{volumen de agua} + \text{volumen de DMSO}$.
 - 35

Descripción detallada de los modos de realización

- 40 En una primera etapa, se efectúa una síntesis de nanobarras de oro, según un método convencional.
- Como se ha indicado, la síntesis de nanobarras de oro, en solución coloidal, es conocida en sí misma, y no se describe nuevamente en este documento.
- 45 Las nanobarras de oro tienen la forma general representada en la figura 1. A título indicativo, tres familias de nanobarras utilizadas en las síntesis se presentan de izquierda a derecha en la Figura 1 para relaciones de aspecto de 4,0 (55x14 nm), 2,0 (76x37 nm) y 2,4 (96x40 nm). Las cantidades entre paréntesis expresadas en nanómetros representan, en el orden, la longitud media según el eje mayor del bastoncillo y según el eje menor.
- 50 Las nanobarras de oro se incuban en un disolvente aprótico dipolar.
- En una realización, este disolvente es el dimetilsulfóxido DMSO.
- A modo de ejemplo, las nanobarras de oro (120 µl a 1,82 nM) se incuban en 100 µl de dimetilsulfóxido DMSO durante 30 min.
- 55 Después, las nanobarras de oro se transfieren en una solución de CTAC (cloruro de cetiltrimetilamonio) y se calientan.
- A modo de ejemplo, las nanobarras se transfieren en una solución de CTAC (26 mg en 3,8 ml de agua) y se calientan a 60°C durante 20 min.
- 60 El depósito de plata se inicia mediante adición a la preparación anterior de una solución de nitrato de plata AgNO₃ y una solución que contiene ácido ascórbico AA y CTAC.
- A título de ejemplo, el depósito de plata se inicia mediante adición de una solución de nitrato de plata AgNO₃ (2 mM, 1,2 ml) y de una solución que contiene ácido ascórbico (AA, 45 mM, 1,2 ml) y CTAC (40 mM).
- 65

Un protocolo de preparación completo **P** es el siguiente, en una realización.

5 En un tubo que contiene 300 μ l de nanobarras de oro ($C = 0,15$ nM), se introducen 100 μ l de DMSO, y la solución se deja en reposo durante 5 minutos, después se agrega a una solución acuosa de CTAC (26 mg de CTAC en 4,6 ml de agua Milli-Q) previamente calentada a 60°C. La solución resultante se agita en un baño maría a 60°C durante 20 min. La etapa de depósito se inicia mediante la adición de 1,2 ml de una solución de AgNO_3 a 2 mM y 1,2 ml de una solución AA (44 mM)/CTAC (40 mM) protegida de la luz. La adición se realiza gota a gota con agitación moderada. El depósito de plata se detiene después de 100 min, centrifugando a 6000 rpm durante 8 min.

10 Otro protocolo de preparación permite trabajar a mayor escala, como primer paso hacia la industrialización del procedimiento de síntesis. Este procedimiento, que permite en una realización producir hasta 1000 veces más partículas núcleo-cubierta de oro-plata, es el siguiente:

15 En 16 tubos que contienen cada uno 150 μ l de nanobarras de oro ($C = 17$ nM), se introducen 1,15 ml de DMSO, y la solución se deja reposar durante 10 minutos. El recipiente de los 16 tubos se agrega a una solución acuosa de CTAC (320 mg de CATC en 22 ml de agua) previamente calentada a 60°C. La solución resultante se mantiene a 60°C y con agitación durante 20 min. La etapa de depósito se inicia agregando 10 ml de una solución de AgNO_3 a 4 mM y 10 ml de una solución AA (100 mM)/CTAC (80 mM) protegida de la luz. La adición se realiza gota a gota con agitación moderada. El depósito de plata se detiene después de un período comprendido entre 90 min y 20 horas (según la forma de partícula deseada), centrifugando a 6000 rpm durante 5 min.

La forma del objeto final y el grosor de la plata depositada están modulados por la proporción de DMSO en la mezcla, la cantidad de precursor de plata y el tiempo de reacción antes de la centrifugación de la mezcla.

25 La forma de las nanopartículas núcleo-cubierta de oro/plata es la de una ojiva, como se muestra en la figura 2.

30 El depósito de plata tiene lugar esencialmente según el eje menor y las puntas de los bastoncillos de oro afloran a la superficie de los núcleo-cubierta. Estos depósitos anisotrópicos en las dos direcciones generan una disminución de la relación de aspecto, que es de 1,4 para las nanopartículas núcleo-cubierta, en comparación con la relación de 3,9 para las nanobarras de oro iniciales.

El depósito de plata sobre oro se sigue mediante espectroscopia de extinción UV-visible, con un desplazamiento progresivo de la resonancia plasmón longitudinal hacia el azul.

35 Las propiedades ópticas de las nanopartículas núcleo-cubierta obtenidas, correspondiendo la posición de la banda de extinción a la resonancia plasmón longitudinal de las nanopartículas, es modulable entre 510 y 800 nm, según el grosor del depósito de plata y la relación de aspecto de la semilla de oro de partida.

40 Aprovechando la resonancia plasmón de superficie localizada de las nanopartículas de oro/plata sintetizadas y del mejor potenciamiento para la plata (en comparación con el oro solo), se llevaron a cabo caracterizaciones en espectroscopia Raman con superficie mejorada (SERS) en solución en presencia de sondas moleculares.

45 Los espectros muestran una potenciación de la señal Raman entre 4 y 100 veces, con respecto a la registrada para nanopartículas núcleo-cubierta de oro/plata obtenidas en agua sin codisolvente.

Mediante esta síntesis, las nanopartículas núcleo-cubierta de oro/plata obtenidas mediante el procedimiento según la invención contienen trazas de DMSO visibles por espectroscopia.

50 Una vez aisladas y depositadas sobre un soporte sólido (hoja de silicio, por ejemplo), los núcleos-cubierta obtenidos se autoorganizan espontáneamente en una red 3D, estructura 2D o cadena 1D, con longitudes (o superficies) superiores a 1 micrómetro, según la concentración de la solución depositada y la forma de las nanopartículas núcleo-cubierta. Las figuras 6 y 7 muestran algunos ejemplos de disposición obtenida.

55 Como se ilustra en las Figuras 6 y 7, las redes de nanopartículas (NP) núcleo-cubierta de oro/plata organizadas en 1D, 2D o 3D presentan un orden a larga distancia que varía de unas pocas micras a unas pocas decenas de micras. Para las disposiciones 2D y 3D, pueden presentar superficies de al menos 10 micrómetros cuadrados, ventajosamente de 40 micrómetros cuadrados, o incluso mayores, y que se repiten en el sustrato. Estas grandes superficies obtenidas pueden explicarse especialmente por el hecho de la gran homogeneidad de forma de las NP obtenidas por el procedimiento.

60 Como se ilustra en la estructura 3D de la Figura 6, los NP presentan colores blancos, un poco grises o más grises, en función de su distancia al microscopio.

65 Estas redes se obtienen en particular con las nanopartículas núcleo-cubierta de oro/plata que tienen una única semilla de oro rodeada por una cubierta de plata.

En función especialmente de las concentraciones utilizadas de tensioactivos, de nanopartículas núcleo-cubierta de oro-plata, del grosor de la capa de plata, del tamaño de las semillas de oro, se obtienen ciertas disposiciones. Por ejemplo, las semillas de oro recubiertas con un reducido depósito de plata (menos de 5 nm) proporcionan más bien cadenas 1D, mientras que las partículas núcleo-cubierta de oro/plata con una capa de plata más gruesa (10 nm y más) se organizan más bien en redes 2D o 3D. Por otro lado, estos dominios ordenados estarán distantes sobre el sustrato de silicio si el depósito se realiza a partir de soluciones diluidas de nanopartículas núcleo-cubierta de oro-plata en agua.

Influencia de la cantidad de codisolvente

Se han realizado unos ensayos,

- manteniendo el tipo de semilla de oro de partida y su cantidad, la cantidad de reductor y de precursor de plata, el tiempo de reacción antes de la centrifugación;
- variando la relación DMSO/H₂O

Según la proporción de DMSO añadida al medio, se identificaron tres comportamientos límites en la solución, por espectroscopia de absorción, como se ilustra en la Figura 4.

Para unas relaciones DMSO/H₂O inferiores a 0,33 (en este documento, relación en volumen = Volumen DMSO/volumen total de agua), la estabilidad de las nanobarras de oro se mantiene en solución y permanecen a distancia los unos de los otros.

Para una relación de DMSO/H₂O de 1 en la solución de partida, se pone en evidencia un ensamblaje en la solución punta con punta de las nanobarras de oro (Figura 9). Este ensamblaje se detecta por la aparición a corto plazo de una banda, desplazada hacia el rojo con respecto a la banda de resonancia plasmón longitudinal de las nanobarras de partida. Por ensamblaje punta con punta (o cabeza con cabeza TT) se designa en este documento la observación del acercamiento de las nanobarras por sus partes extremas, alineándose las nanobarras contiguas entre sí o formando un ángulo entre sí.

Finalmente, para una mayor relación de DMSO/H₂O (1,5) en la solución de partida, el seguimiento cinético por espectroscopia de absorción a lo largo del tiempo, muestra un desplazamiento creciente hacia el azul de la resonancia longitudinal y un desplazamiento creciente hacia el rojo de la resonancia transversal. Estas modificaciones espectrales son características de un ensamblaje cara con cara (FF) de las nanopartículas (Figura 9). Por ensamblaje cara con cara, se designa en este documento la observación del acercamiento de las nanobarras por sus caras laterales, siendo las direcciones de alargamiento de las nanobarras contiguas sustancialmente paralelas.

La figura 9 ilustra los diferentes estados de las nanobarras de oro, en función del porcentaje de DMSO (proporción de DMSO en la mezcla de agua + DMSO).

A un valor del 50% de DMSO, las nanobarras de oro se ensamblan en una solución punta con punta.

Con un valor del 60% de DMSO, las nanobarras de oro aparecerán ensamblados en solución en pares cara con cara.

A un valor del 25% (o inferior al 25%) de DMSO, las nanobarras de oro aparecerán dispersas en solución. Para proporciones de DMSO comprendidas entre estos valores característicos, las nanobarras de oro se presentan en forma de poblaciones de dos tipos, por ejemplo, ensambladas cara con cara y punta con punta, para proporciones de DMSO comprendidas entre el 50 y el 60%.

Para unos porcentajes de DMSO en la mezcla comprendidos entre el 80 y el 95%, las nanobarras de oro aparecerán nuevamente dispersas en solución y las nanopartículas realizadas posteriormente presentan una sola semilla de oro por cubierta de plata.

Así, el uso de una mezcla de agua-DMSO como se describe en la invención permite:

- orientar selectivamente el crecimiento de la plata en la superficie del oro, y/o
- ensamblar las semillas de oro en una solución cara con cara (FF) o de cabeza con cabeza (TT), o dejarlas aisladas las unas de las otras, antes de hacer crecer la capa de plata alrededor.

Las partículas después de la incubación en la mezcla agua-DMSO conservan su capa de tensioactivos sin la cual las partículas precipitarían irreversiblemente, haciendo que la mezcla sea inutilizable. Agregar DMSO tiene dos funciones. El DMSO permite, por un lado, modificar la organización del tensioactivo (jugando con el potencial zeta de la suspensión coloidal) sobre la superficie de las semillas de oro y, por otro lado, se adsorbe en determinadas facetas

de las semillas de oro según lo revelado por los estudios de SERS. Los tensioactivos (CTAB, CTAC) siempre están presentes en la superficie de las semillas, pero adoptan una organización diferente en presencia de DMSO.

El origen de los fenómenos observados no está completamente dilucidado, adelantándose las siguientes hipótesis.

El DMSO es un disolvente aprótico dipolar, de naturaleza altamente disociable y capaz de solubilizar unos compuestos polarizables, polares e iónicos.

Este tipo de disolvente presenta unas cargas por efecto mesomérico y se coordina en una cara particular (111) del monocristal de oro (CFC) de oro, por interacción iónica entre su oxígeno cargado negativamente y uno o dos adátomos de oro cargados positivamente. En consecuencia, esta capa podrá contaminar la superficie del oro, inhibiendo así el crecimiento de plata. Las puntas de las nanobarras, esencialmente constituidas por facetas (111) pueden ser coordinadas por DMSO, perturbando así significativamente la difusión hacia la superficie y el depósito de plata en estas facetas. La coordinación de DMSO sobre el oro intervendría mediante los dos posibles modos de coordinación para este ligando (donante S o donante O).

Comparación de los efectos de diferentes codisolventes

Se han realizado ensayos a fin de comparar los efectos del DMSO con los de otros codisolventes:

- acetonitrilo (MeCN, CAS 75-05-8), disolvente polar aprótico;
- etanol (EtOH, CAS 64-17-5), disolvente prótico polar;
- tetrahidrofurano (THF, CAS 109-99-9), disolvente polar aprótico.

El protocolo **P** presentado anteriormente se ha aplicado sustituyendo DMSO con etanol, o sustituyendo el volumen de DMSO con 75 μ l de MeCN y 25 μ l de agua Milli-Q, o sustituyendo el volumen de DMSO con agua Milli-Q.

Se realizaron diferentes depósitos de plata sobre semillas de oro preincubadas en una mezcla de agua/codisolvente (posteriormente identificadas como NRsEtOH, NRsMeCN y NRsDMSO respectivamente para una mezcla con EtOH, MeCN y DMSO).

Estos depósitos se compararon con el mismo depósito de plata en nanobarras de oro incubadas solo en agua.

El seguimiento cinético de los medios de reacción se realizó mediante espectroscopia de absorción UV-visible, tal como se presenta en la Figura 5-A.

Las variaciones de la longitud de onda del máximo de la banda de resonancia longitudinal (Δ LLSP) en función del tiempo muestran un desplazamiento hacia el azul de esta banda, correlacionado con un depósito de plata según el pequeño eje del bastoncillo.

Después de 45 min, se registra el desplazamiento LLSP más significativo para las nanobarras de oro incubadas en DMSO (Δ LLSP) DMSO = 227nm, (Δ LLSP) H₂O, MeCN = 197nm, (Δ LLSP) EtOH = 183nm); como se representa en la figura 5-B.

La velocidad de depósito de plata en estos NRsDMSO es más rápida que la de depositar plata en NRsMeCN, NRsEtOH y NRsH₂O (usados como referencia).

La perturbación de la capa de tensioactivo, mediante la adición de un disolvente orgánico tal como el etanol o el acetonitrilo, no afecta directamente a la forma de los núcleos-cubierta finales. Las modificaciones se limitan a ligeras diferencias a nivel de la cinética del depósito de plata sobre oro y en la longitud de onda de la resonancia longitudinal de los objetos, atribuidas a la diferencia de solubilidad del tensioactivo presente en la superficie del oro en el agua, etanol y acetonitrilo.

Por el contrario, para DMSO, el seguimiento cinético muestra un desplazamiento hacia el azul de las resonancias longitudinales y transversales, y unas resonancias más estrechas y más intensas. Estas modificaciones espectrales pueden deberse a un mayor depósito de plata o a diferencias morfológicas de los objetos obtenidos.

Ensayos de sobrecrecimiento de la plata en el núcleo-cubierta de oro/plata para dar formas particulares a las nanopartículas

Se llevaron a cabo unos ensayos de sobrecrecimiento de la plata en las núcleo-cubierta incubadas en DMSO. Se observa un desplazamiento hacia el azul de la longitud de onda de resonancia longitudinal de los objetos de partida. Las imágenes SEM muestran que el depósito se realiza principalmente según el pequeño eje y en un solo sentido, y los objetos finales se parecen a pirámides, cuya base es un nanobarras de oro, como se muestra en la figura 3.

Depósito de plata sobre dímeros

5 Se ha puesto en evidencia el papel del DMSO en el ensamblaje de nanobarras de oro en dímeros cara contra cara FF para una relación agua/DMSO muy específica, así como su efecto en la forma final de las partículas núcleo-cubierta. Por lo tanto, agregar DMSO a la solución coloidal para que la relación DMSO/H₂O sea igual a 1,5, genera este conjunto FF de las nanobarras de oro de partida.

10 Cabe señalar que la adición de tensioactivo durante la etapa de incubación permite detener el ensamblaje de las semillas de oro, ya sea cabeza con cabeza (TT) o cara con cara (FF) (en función de la relación de volumen DMSO sobre volumen de agua). Así, en función del momento escogido para esta adición, es posible realizar ensamblajes con dos, tres, cuatro, etc., semillas de oro para el núcleo, envueltas después por la cubierta de plata.

15 Este ensamblaje se pone en evidencia por un desplazamiento creciente hacia el azul de la resonancia longitudinal y un desplazamiento creciente hacia el rojo de la resonancia transversal.

20 El ensamblaje de los NRs Au en configuración FF se debe probablemente a fuerzas de depleción (atrayerentes), que desestabilizan la solución coloidal. Es el poder disolubilizante del DMSO que está implicado en este fenómeno de desorción parcial del tensioactivo de la bicapa del surfactante alrededor de las partículas.

La disminución de la repulsión electrostática entre los bastoncillos, además de las interacciones atrayerentes de Van der Waals entre las cadenas hidrófobas así expuestas, será la fuerza motriz del ensamblaje en dímero en un primer tiempo, después en oligómeros a largo plazo.

25 Para paralizar el sistema en el estado de dímero y evitar la formación de oligómeros, la concentración de surfactante CTAC en el medio aumenta repentinamente más allá de la CMC_{CTAC}.

30 En efecto, la adición de CTAC en exceso reforma la bicapa de CTAC con las cadenas hidrófobas expuestas alrededor de los dímeros y evita cualquier agregación por repulsión electrostática.

La encapsulación de los dímeros FF en una capa de plata se realizó mediante la reducción del precursor AgNO₃ con el ácido ascórbico AA en la solución de dímero a 60°C.

35 Un protocolo para la fabricación de nanopartículas diméricas núcleo-cubierta es el siguiente, en una realización: a 100 µl de una solución de nanobarras de oro NRsAu (4 nM), se agrega un volumen de 150 µL de DMSO y el ensamblaje cara contra cara de las nanobarras de oro se detiene agregando 800 µl de CTAC 8 mM. La solución se centrifuga y se redispersa en 5 ml de CTAC 16 mM. Para iniciar el depósito, 1,2 ml de la solución acuosa de AgNO₃ a 2 mM y se añaden 1,2 ml de la solución acuosa AA (44 mM)/CTAC (40 mM), protegida de la luz. La adición se lleva a cabo gota a gota con agitación moderada. El depósito se detiene después de 60 minutos centrifugando a 6000 rpm durante 8 minutos.

40 El depósito de plata se revela durante el seguimiento mediante espectroscopia de absorción, mediante un desplazamiento de al menos 100 nm hacia el azul de la resonancia LLSF después de sólo 3 minutos de reacción.

45 Las partículas núcleo-cubierta obtenidas se presentan en forma de octaedros, con puntas más pronunciadas, lo que les confiere propiedades de potenciación más interesantes, como se representa en la figura 3.

Aplicaciones

50 Los estudios comparados por SERS de partículas obtenidas por esta nueva vía de síntesis muestran un aumento de la ganancia SERS, con respecto a las partículas cuboides obtenidas convencionalmente en agua. Los sustratos SERS de la invención presentan una mayor homogeneidad en términos de respuesta con respecto a los del estado de la técnica, debido a la mayor homogeneidad de disposición de las nanopartículas núcleo-cubierta de oro-plata depositadas.

55 Las nanopartículas núcleo-cubierta de oro-plata obtenidas (NRsAu@Ag) que presentan extremos más puntiagudos inducirán un mayor confinamiento del campo en las puntas.

60 Aplicación a la detección de atrazina (ATR)

65 A 183 µl de agua Milli-Q básica (pH igual a 6 ajustado mediante la adición de NaOH 0,1 M), se añade un volumen x de ATR (1, 0,1, 0,01, 0,001 mM en acetonitrilo) e y de β-CD o β-ciclodextrina (6, 0,66, 0,066, 0,0066 mM en agua). Las soluciones preparadas previamente se añaden a 100 µl de NRsAu@Ag. Los valores de x e y (comprendidos entre 4 y 16 µl), así como las concentraciones de β-CD y de ATR se escogen de manera que las concentraciones finales de ATR y β-CD sean iguales a 0,05, 1, 3, 6, 12,5, 25, 100, 200 µM. Las soluciones se incuban durante 1 hora antes de caracterizarlas mediante SERS. También se puede usar alfa-ciclodextrina para detectar atrazina.

Ventajas de la invención

- 5 La invención presenta muchas ventajas.
- 10 La invención permite la modulación de las formas y el autoensamblaje de nanopartículas núcleo-cubierta de oro-plata, por una vía de síntesis original en un medio agua/codisolvente orgánico.
- 15 Este procedimiento de síntesis permite incluir una o más semillas de oro de forma alargada (nanobarra de dimensión comprendido entre 15 y 150 nm), en una matriz de plata monocristalina.
- 20 Es posible incorporar más de una semilla de nanobarra de oro. En efecto, las proporciones relativas de agua/DMSO inducen, para ciertas composiciones, un ensamblaje de nanobarras de oro cara contra cara, durante la etapa de incubación.
- 25 Este procedimiento es notablemente más sencillo que los comúnmente utilizados en la bibliografía, para obtener formas más exóticas que los cuboides clásicos.
- 30 Durante el sobrecrecimiento de plata sobre oro, la forma de las partículas núcleo-cubierta está controlada por la cinética de depósito de átomos de plata en la superficie del oro.
- 35 La invención presenta varias ventajas para la fabricación de sustratos de SERS.
- 40 El enfoque "bottom-up" (ascendente) de preparación permite modular el tamaño, la forma y, por tanto, la posición de la resonancia plasmón del sustrato, permitiendo considerar varias longitudes de onda de excitación láser (532, 632,8 y 785 nm).
- 45 Además, la cubierta de las nanopartículas de plata es una ventaja en términos de factor de potenciación, ya que se sabe que la plata es más eficaz que el oro (interbanda responsable de las pérdidas por amortiguamiento del plasmón situado en lo visible para el oro y en el UV para la plata).
- 50 Además, el autoensamblaje sobre un sustrato sólido de nanopartículas obtenidas por el procedimiento de síntesis, se abre hacia unas aplicaciones de sensores SERS.
- 55 Un enfoque "bottom-up" (ascendente) para fabricar estos sustratos SERS a partir de coloides constituye una alternativa a los enfoques "top-down" (descendente) mediante litografía física, que, aunque son costosos, siguen siendo los preferidos actualmente para sustratos comerciales (mejor reproducibilidad). Uno de los inconvenientes de los coloides, con respecto a los sustratos litográficos, es el carácter más aleatorio y no reproducible de la ubicación de los puntos calientes. Los mecanismos de autoensamblaje de las nanopartículas permiten una mayor consistencia de las propiedades de los sustratos.
- Las disposiciones espontáneas en la superficie de las nanopartículas núcleo-cubierta permiten desarrollar nuevos sustratos de SERS, para aplicaciones de sensores, por ejemplo, para las siguientes aplicaciones:
- industria alimentaria: por ejemplo, para la detección de melamina en la leche;
 - policía científica/seguridad: drogas, veneno, explosivos;
 - análisis medioambiental de contaminantes en el agua: PCB, atrazina, pesticida, hormonas;
 - biosensores (diagnóstico precoz de marcadores).
- Las aplicaciones consideradas se encuentran en el campo de los sensores químicos que utilizan la espectroscopia Raman con superficie mejorada, como herramienta para cuantificar e identificar el analito de interés.

REIVINDICACIONES

- 5 1. Procedimiento de síntesis de nanopartículas núcleo-cubierta de oro-plata a partir de una solución acuosa coloidal de semillas de oro con un tensioactivo, realizándose las nanopartículas núcleo-cubierta de oro-plata a partir de semillas de oro anisotrópicas. caracterizado por que el procedimiento comprende sucesivamente:
- 10 - una etapa de incubación de la solución acuosa coloidal que contiene semillas de oro con un tensioactivo, en una mezcla de disolvente, agua y DMSO, durante un primer periodo dado; para modificar la organización del tensioactivo y el ensamblaje de semillas de oro;
- 15 - una etapa de adición de un tensioactivo a la mezcla resultante anterior;
- una etapa de calentamiento de la mezcla resultante durante un segundo periodo dado;
- una etapa de adición en la mezcla resultante de un precursor de plata y un reductor, para realizar el depósito de plata sobre las semillas de oro, en una etapa denominada principal, durante un tercer periodo dado;
- 20 - una etapa de extracción de nanopartículas.
2. Procedimiento según la reivindicación 1, caracterizado por que la relación entre el volumen de DMSO y el volumen total de agua es inferior a 2 y superior a 0,1, siendo el volumen total de agua el volumen aportado por la solución acuosa coloidal de semillas de oro con un tensioactivo y por el agua presente en la mezcla de disolventes agua + DMSO de incubación.
- 25 3. Procedimiento según una de las reivindicaciones 1 a 2, caracterizado por que la relación entre el volumen de DMSO y el volumen total de agua es inferior o igual a 0,33, siendo el volumen total de agua el volumen aportado por la solución acuosa coloidal de semillas de oro con un tensioactivo y por el agua presente en la mezcla de disolvente agua + DMSO de incubación.
- 30 4. Procedimiento según una de las reivindicaciones 1 a 2, caracterizado por que la relación entre el volumen de DMSO y el volumen total de agua es 1, siendo el volumen total de agua el volumen aportado por la solución acuosa coloidal de semillas de oro con un tensioactivo y por el agua presente en la mezcla de disolvente agua + DMSO de incubación.
- 35 5. Procedimiento según una de las reivindicaciones 1 a 2, caracterizado por que la relación entre el volumen de DMSO y el volumen de agua total es 1,5, siendo el volumen de agua total el volumen aportado por la solución acuosa coloidal de semillas de oro con un tensioactivo y por el agua presente en la mezcla de disolvente agua + DMSO de incubación.
- 40 6. Procedimiento según la reivindicación 1, caracterizado por que la relación entre el volumen de DMSO y el volumen total de agua es inferior a 10 y superior a 2, siendo el volumen total de agua el volumen aportado por la solución acuosa coloidal de semillas de oro con un tensioactivo y por el agua presente en la mezcla de disolventes agua + DMSO de incubación.
- 45 7. Procedimiento según la reivindicación 6, caracterizado por que la relación entre el volumen de DMSO y el volumen total de agua es superior o igual a 4, siendo el volumen total de agua el volumen aportado por la solución acuosa coloidal de semillas de oro con un tensioactivo y por el agua presente en la mezcla de disolventes agua + DMSO de incubación.
- 50 8. Procedimiento de síntesis de nanopartículas núcleo-cubierta según una de las reivindicaciones anteriores 1 a 7, caracterizado por que la etapa de adición de un tensioactivo tiene lugar después de un primer periodo óptimo de incubación que oscila de unos minutos a una hora y determinada por espectroscopia, permitiendo controlar el ensamblaje de las semillas de oro y obtener una semilla de oro por cubierta de plata o bien dos semillas de oro por cubierta de plata.
- 55 9. Procedimiento según una de las reivindicaciones 1 a 8, caracterizado por que la etapa de extracción se realiza mediante centrifugación.
- 60 10. Procedimiento según una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, caracterizado por que el tensioactivo se selecciona de la siguiente lista: cloruro de cetiltrimetilamonio (CTAC), bromuro de cetiltrimetilamonio (CTAB) o cloruro de bencildimetilhexadecilamonio (BDAC).
- 65 11. Procedimiento según una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, caracterizado por que, después de la etapa de extracción, el procedimiento presenta una nueva etapa de adición de un precursor de plata y de un reductor, sobre las nanopartículas, para realizar un sobrecrecimiento de plata.

12. Procedimiento según una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, caracterizado por que el reductor es una solución de ácido ascórbico (AA) y de tensioactivo, y por que el precursor de plata es el nitrato de plata.
- 5 13. Nanopartículas núcleo-cubierta de oro-plata realizadas a partir de semillas de oro de forma alargada, obtenidas por el procedimiento definido según una de las reivindicaciones anteriores 1 a 12, y que presentan trazas de DMSO visibles por espectroscopia.
- 10 14. Nanopartículas núcleo-cubierta de oro-plata según la reivindicación 13, caracterizadas por que las nanopartículas núcleo-cubierta de oro-plata presentan cada una al menos dos semillas de oro por núcleo, encapsuladas en la misma cubierta de plata que envuelve el núcleo.
- 15 15. Nanopartículas núcleo-cubierta de oro-plata según la reivindicación 14, caracterizadas por que, para cada nanopartícula, las semillas de oro se colocan cabeza contra cabeza en la misma cubierta de plata.
- 15 16. Nanopartículas núcleo-cubierta de oro-plata según la reivindicación 14, caracterizadas por que, para cada nanopartícula, las semillas de oro se colocan cara contra cara en la misma cubierta de plata.
- 20 17. Nanopartículas núcleo-cubierta de oro-plata según una de las reivindicaciones 14 a 16, caracterizadas por que las semillas de oro son unas nanobarras.
- 20 18. Nanopartículas núcleo-cubierta de oro-plata según la reivindicación 17, caracterizadas por que las nanobarras tienen una relación de aspecto media entre 2 y 5.
- 25 19. Sustrato sólido para espectroscopia Raman con superficie mejorada (SERS) que comprende nanopartículas núcleo-cubierta de oro-plata procedentes de una cualquiera de las reivindicaciones 13 a 18, siendo las nanopartículas autoensambladas en una red 3D, una estructura 2D, en superficies mayores que $10 \mu\text{m}^2$, ventajosamente mayores que $40 \mu\text{m}^2$, para cada red 2D o 3D.
- 30 20. Sustrato sólido para espectroscopia Raman con superficie mejorada (SERS) que comprende nanopartículas núcleo-cubierta de oro-plata procedentes de una cualquiera de las reivindicaciones 13 a 18, estando las nanopartículas autoensambladas en cadena 1D, presentando las cadenas 1D unas dimensiones características que oscilan de 2 a 3 μm .
- 35 21. Aplicación del sustrato según una de las reivindicaciones 19 o 20 para detectar analitos, tales como agentes contaminantes orgánicos.
22. Aplicación según la reivindicación 21, siendo el analito atrazina, utilizándose las nanopartículas núcleo-cubierta de oro-plata con beta-ciclodextrina (CAS 7585-39-9) o alfa-ciclodextrina (CAS 10016-20-3).
- 40 23. Aplicación según la reivindicación 21, seleccionándose el analito de la siguiente lista: tiram (CAS 137-26-8), fosmet (CAS 732-11-6), malation (CAS 121-75-5), (4,4')-BPE (CAS 13362-78-2), ácido 4-mercaptobenzoico (CAS 1074-36-8).

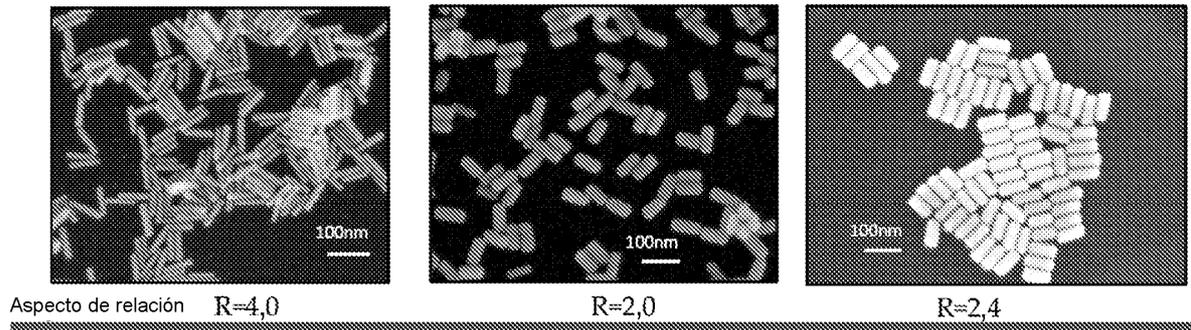


Fig. 1

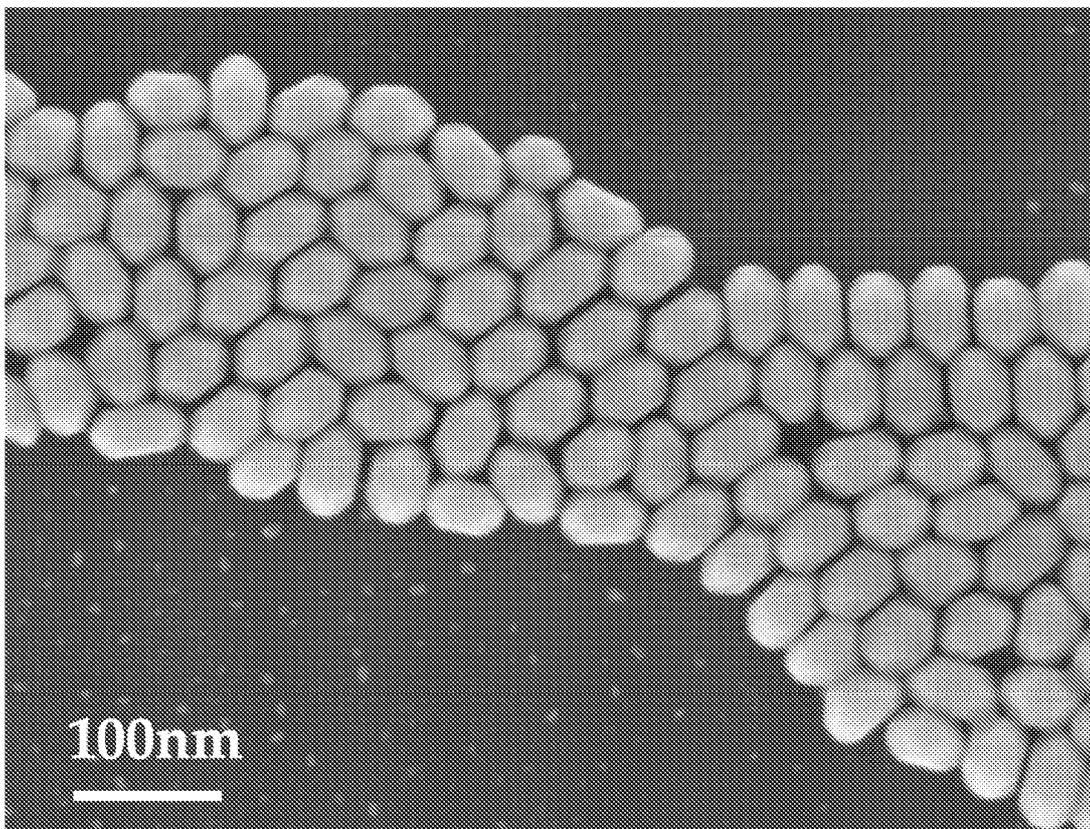


Fig. 2-A

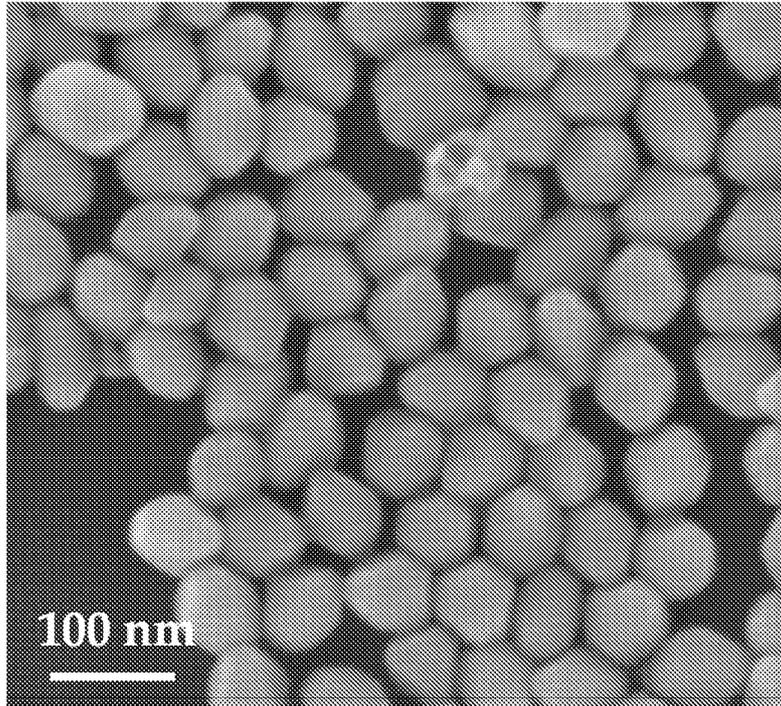


Fig. 2-B

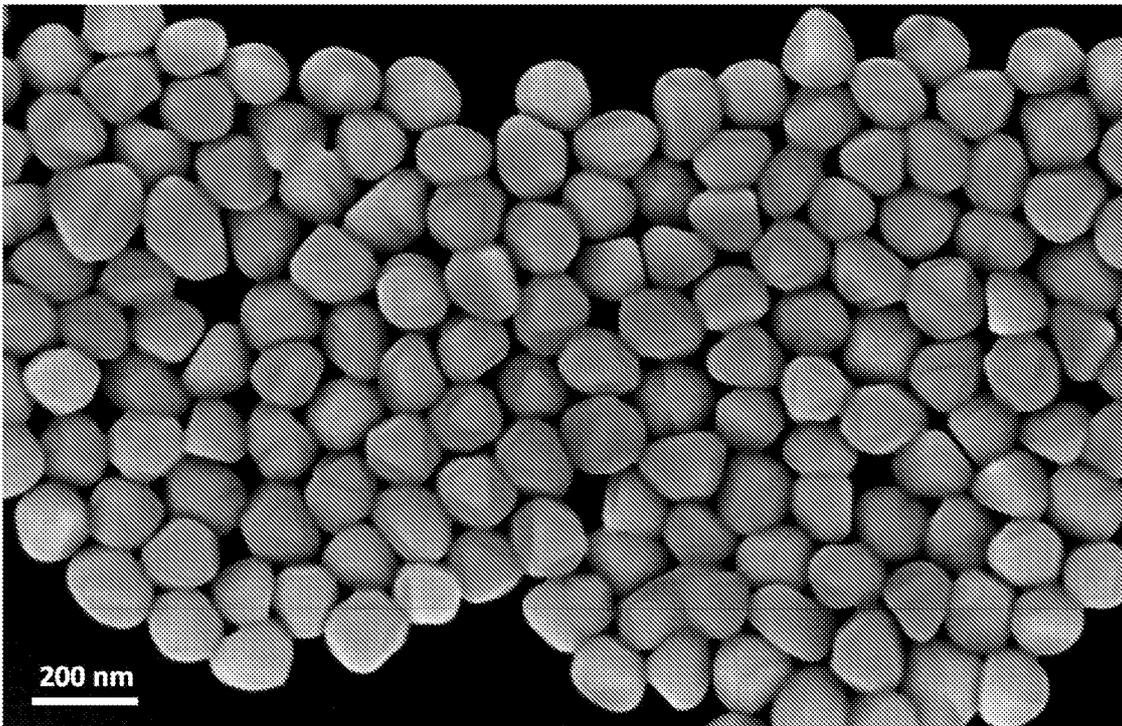


Fig. 3

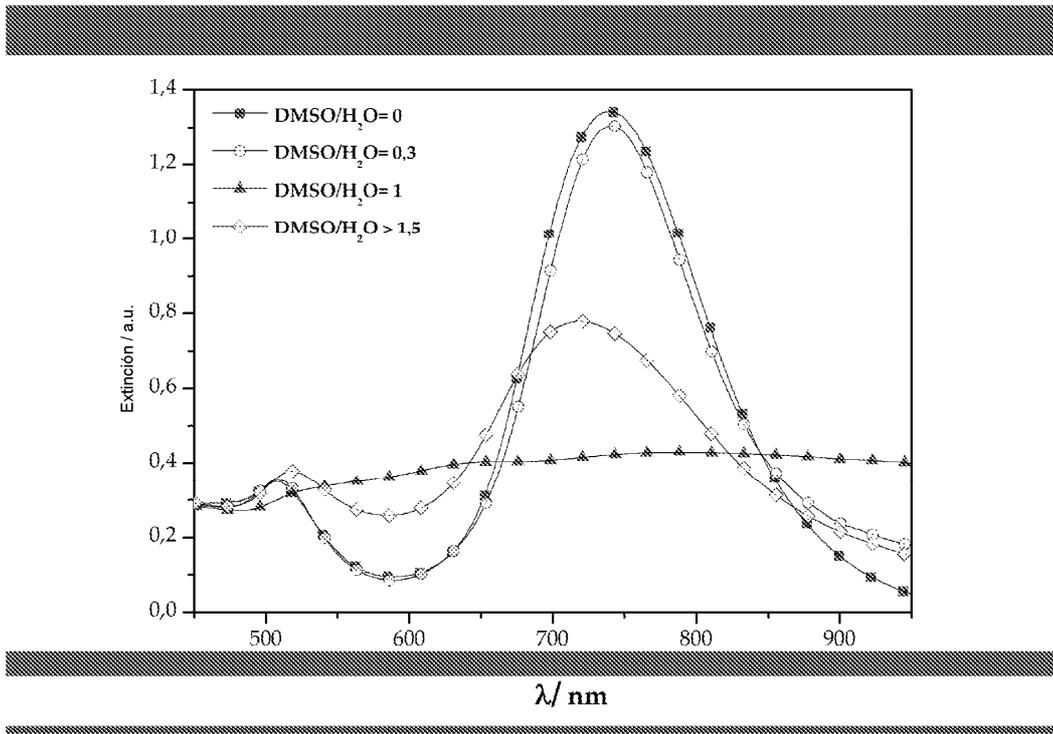


Fig. 4

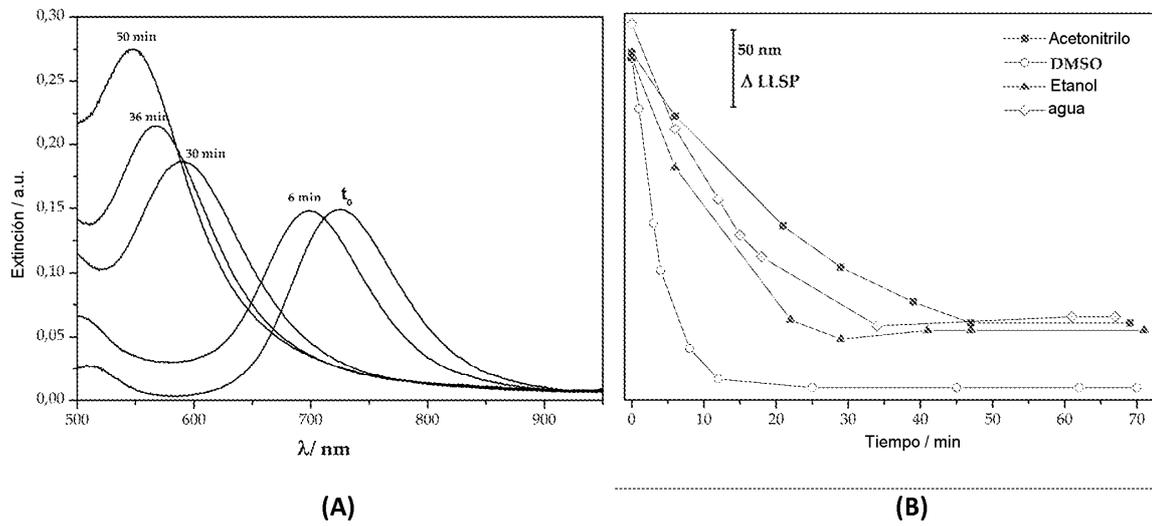


Fig. 5

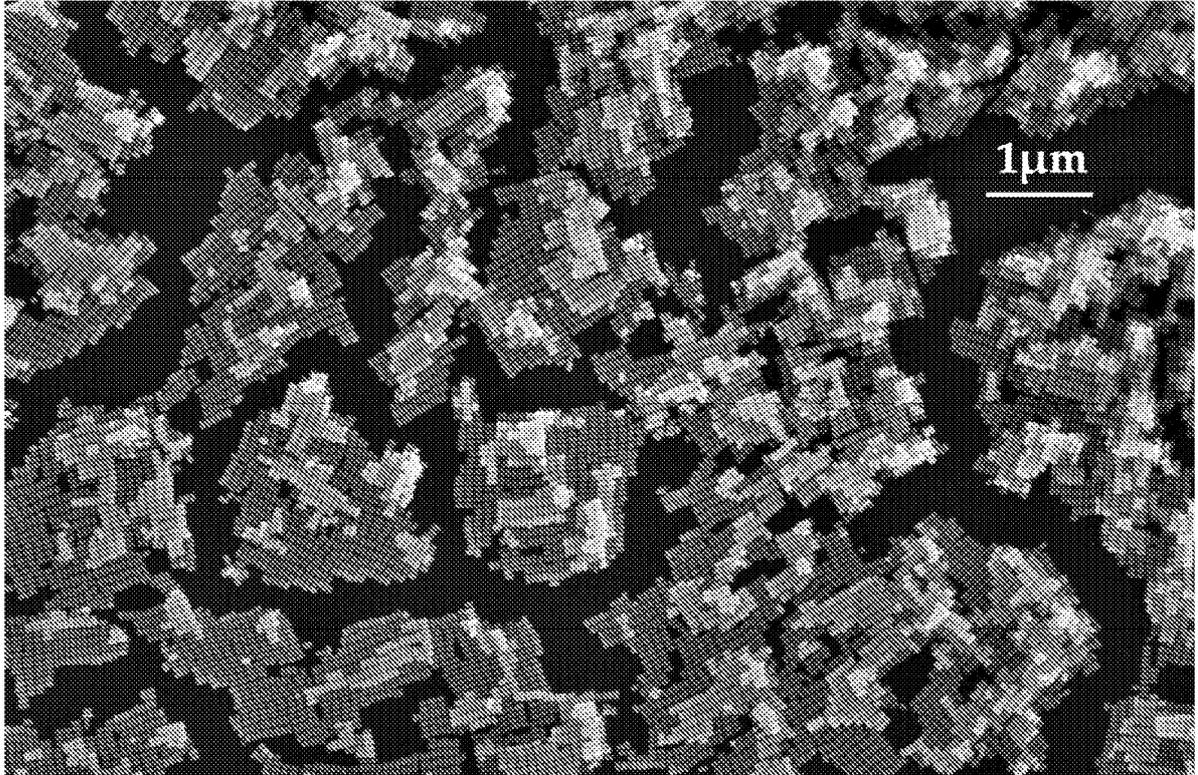


Fig. 6

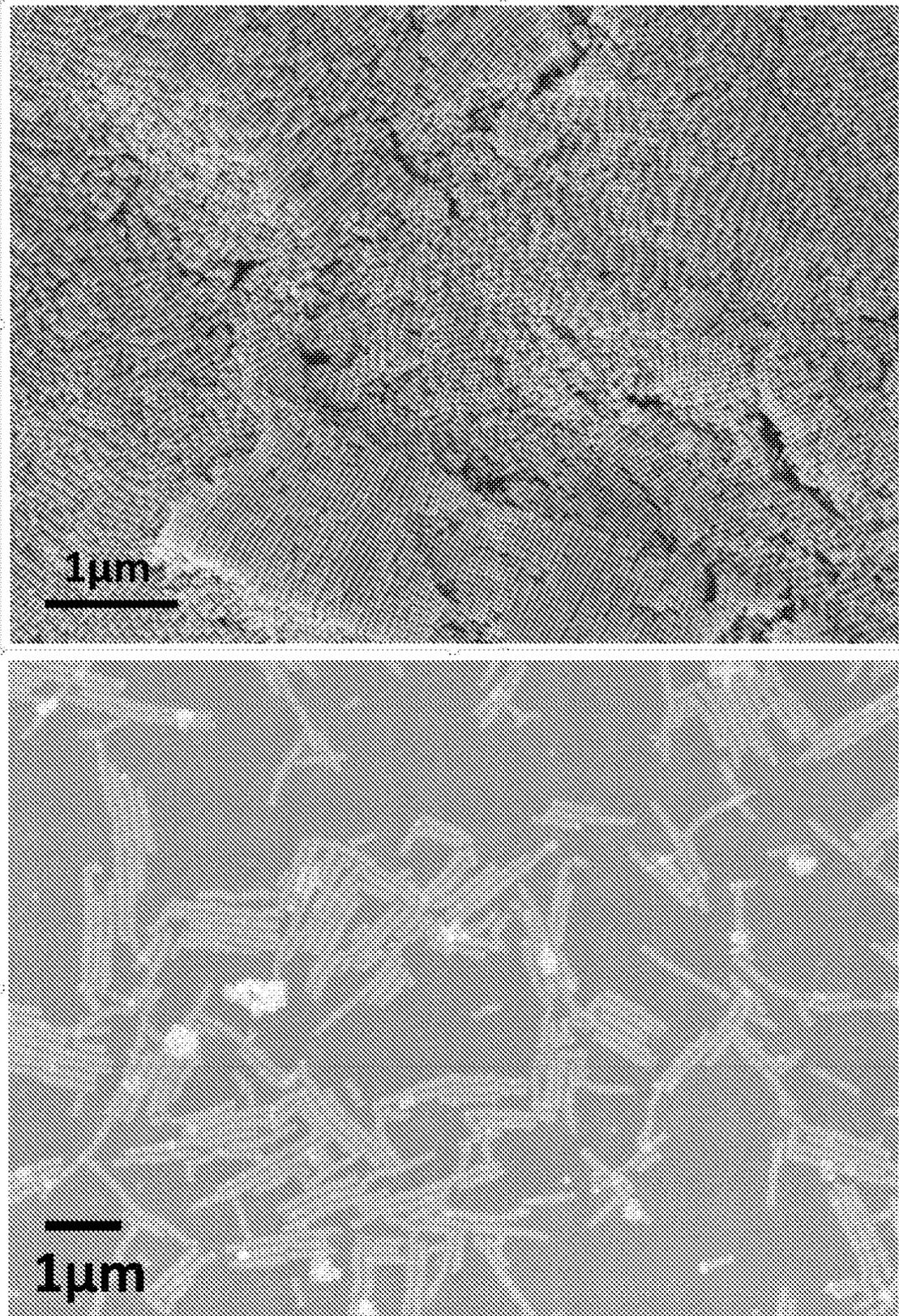


Fig. 7

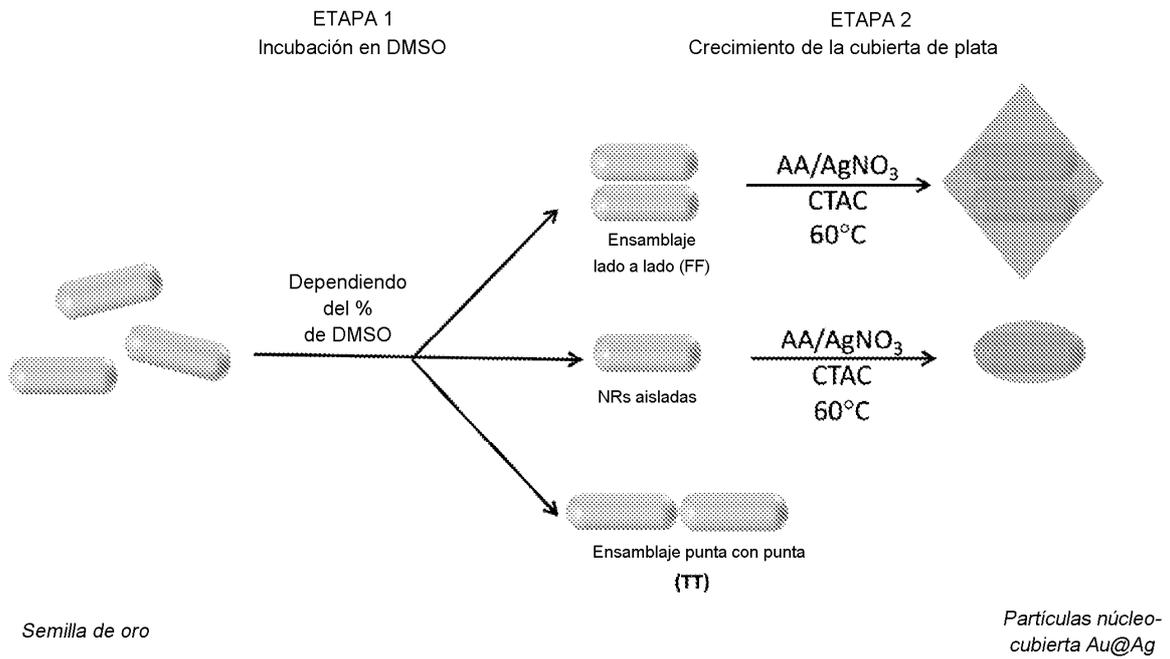


Fig. 8

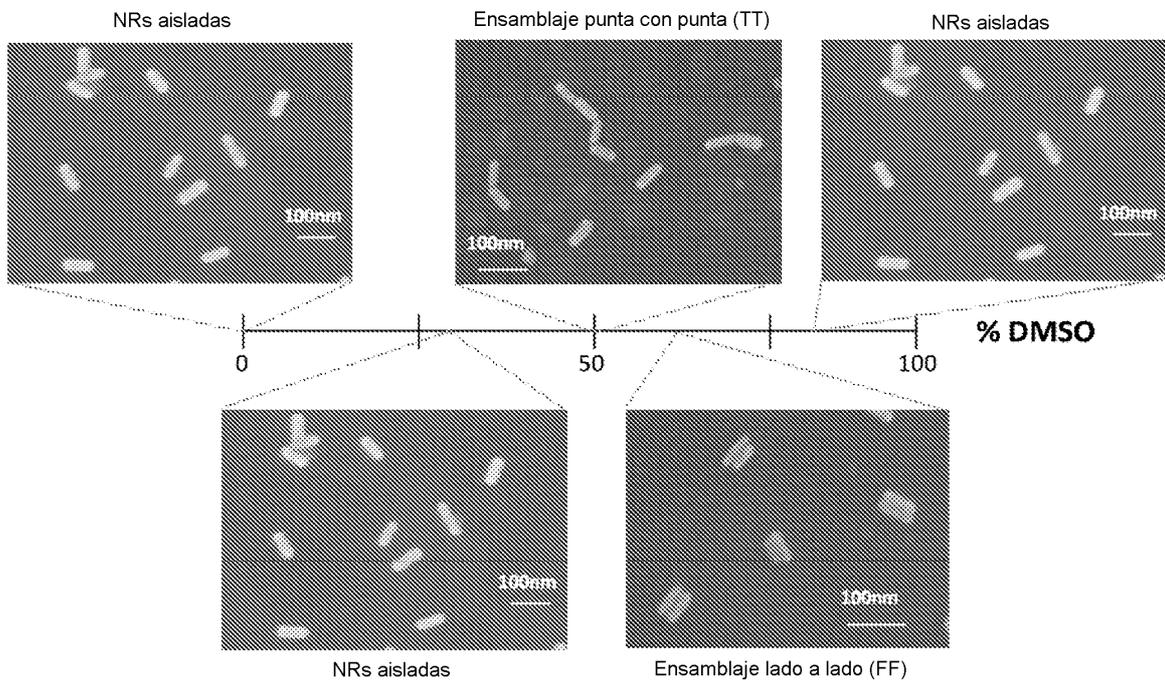


Fig. 9