



19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

11 Número de publicación: **2 343 594**

51 Int. Cl.:
B01J 13/00 (2006.01)
C22B 11/00 (2006.01)
B22F 1/00 (2006.01)
B22F 9/24 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Número de solicitud europea: **07733563 .6**
96 Fecha de presentación : **21.03.2007**
97 Número de publicación de la solicitud: **2007513**
97 Fecha de publicación de la solicitud: **31.12.2008**

54 Título: **Preparación de coloides de plata estables.**

30 Prioridad: **23.03.2006 GB 0605752**

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:
04.08.2010

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:
04.08.2010

73 Titular/es: **The University of Lincoln
Faculty of Health, Life & Social Science
Lincoln, Lincolnshire LN6 7TS, GB**

72 Inventor/es: **White, Peter, Cyril y
Hjortkjær, Jakob, Howie**

74 Agente: **Tomás Gil, Tesifonte Enrique**

ES 2 343 594 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

Preparación de coloides de plata estables.

5 Campo de la invención

La presente invención se refiere a los métodos para hacer coloides de plata estables y a los coloides producidos por el método. Los coloides son especialmente útiles para la espectroscopia Raman.

10 Antecedentes de la invención

Los químicos analíticos durante muchos años no hicieron uso de la espectroscopia Raman ya que no proporcionaba la sensibilidad requerida para la detección de trazas de analitos. Esto se debía principalmente a niveles muy altos de fondo de fluorescencia que derivan tanto de la muestra o sustrato que abruma las débiles señales Raman. En 1974 Fleischman descubrió mientras utilizaba la espectroscopia Raman para estudiar las reacciones electroquímicas de la piridina en un electrodo de plata, que había un incremento enorme de las señales Raman de piridina con la plata extinguiendo una gran cantidad de la fluorescencia de fondo. Este incremento de la superficie sólo se podía conseguir si la superficie de plata era rugosa y no lisa.

Posteriormente, se ha descubierto que se pueden conseguir efectos de incremento de la superficie iguales o incluso más altos con coloides de plata. Un coloide es una suspensión de las partículas metálicas en una solución. A fin de conseguir el efecto óptimo, se requiere la agregación controlada de las partículas de coloide de plata, utilizando típicamente compuestos inorgánicos (p. ej. cloruro o nitrato) u orgánicos (p. ej. poli-L-lisina o espremina) como reactivos de agregación. Para la mayoría de analitos, las partículas de plata coloidal deben ser de aproximadamente 20-50 nm, antes de la agregación, y tener una distribución de tamaños de las partículas reducida.

Con el aumento enorme en sensibilidad que se puede conseguir utilizando este efecto de realce de la superficie, las técnicas analíticas de la espectroscopia de dispersión incrementada Raman de la superficie (SERS) y espectroscopia de dispersión resonante incrementada Raman de la superficie (SERRS) se han desarrollado desde entonces. El crecimiento en el uso de estas técnicas ha sido exponencial pero el mayor problema es producir coloides estables con buenas propiedades de dispersión de la luz y capaz de extinguir la fluorescencia de fondo. Para un coloide estable, las partículas de plata deben permanecer suspendidas indefinidamente pero, en muchas ocasiones, la agregación ocurre y la plata se cae de la solución.

Los coloides de plata se pueden preparar por reducción química bien con borohidruro de sodio o citrato de sodio. Las coloides reducidos con citrato son más estables y muchos analistas los han preparado utilizando un método publicado por P. C. Lee y O. Meisel (J. Phys. Chem., 1982, 86, 3391-3395). La reproductibilidad de lote a lote es difícil de conseguir por este método y la estabilidad, es decir, la vida útil, es variable. La preparación requiere el uso de artículos de vidrio ultra limpios y temperaturas controladas con precisión, velocidad de agitación, etc.

Una modificación publicada del método original (C.H. Munro, W. E. Smith y P. C. White, Analyst 1993, Vol. 118, 733-735) ha dado lugar a algunas mejoras en las propiedades del coloide de plata, pero la estabilidad a largo plazo todavía puede ser un problema. Para un producto comercial, no obstante, todavía se requiere mayor estabilidad y los estudios han demostrado que incluso el material utilizado en el recipiente de almacenamiento pueden afectar la estabilidad de algunos lotes de coloides de plata.

Los coloides de plata preparados según estos métodos previos conocidos, producen partículas de plata con una capa de citrato negativo sobre su superficie, y para efectos máximos de incremento de la superficie, los analitos deben estar en proximidad de la superficie de plata agregada. Para analitos catiónicos esto se puede conseguir ya que son atraídos a la superficie de plata con carga negativa. Con los analitos aniónicos sólo se consigue un efecto muy débil SER(R)S debido a la repulsión de la superficie de plata. Los autores del método de preparación del coloide modificado resuelven este problema utilizando poli-L-lisina como el agente de agregación, pero añadiendo ácido ascórbico para controlar el pH y protonar el agente de agregación, que entonces actúa como un puente entre la superficie del coloide y el analito.

En la búsqueda para conseguir coloides de plata estables con buenas propiedades de dispersión de la luz, otros métodos de preparación han sido estudiados por el solicitante. Como resultado de estos estudios un método nuevo, basado en el conocimiento de las propiedades químicas de materiales inorgánicos, ha resultado en producir soluciones de coloides de plata estables con las propiedades analíticas deseadas.

60 Resumen de la invención

Conforme a la presente invención, un método para producir una solución coloidal de plata comprende reducir nitrato de plata con citrato de litio.

La invención también proporciona una solución de coloides de plata hecha al reducir el nitrato de plata con citrato de litio.

ES 2 343 594 T3

El método incluye preferiblemente las fases de (a) calentar una primera cantidad de agua a una primera temperatura predeterminada; (b) añadir una segunda cantidad de nitrato de plata al agua; (c) calentar la mezcla a una segunda temperatura predeterminada; (d) añadir una tercera cantidad de una solución acuosa de citrato de litio a la mezcla; (e) mantener la mezcla a la segunda temperatura predeterminada durante un tiempo predeterminado; y (f) enfriar la mezcla.

El proceso de mezcla se lleva a cabo convenientemente en un recipiente de tres cuellos.

En el método, preferiblemente la primera temperatura predeterminada es de 45°C, la segunda temperatura predeterminada es de 98°C, la primera cantidad es de 500 ml de agua de pureza alta, la segunda cantidad es de 90 mg de nitrato de plata de 99,9999% de pureza, la tercera cantidad es de 10 ml de solución acuosa de citrato de litio, la solución acuosa de citrato de litio comprende 227 mg de citrato de litio en 25 ml de agua de pureza alta, y el agua y la mezcla se agitan constantemente a lo largo de las fases (a) a (f). El tiempo predeterminado es preferiblemente de 90 minutos.

Breve descripción del dibujo

Formas de realización preferidas de la invención se describirán a continuación con referencia al dibujo anexo, en el que:

La Figura 1 es el espectro UV/visible que muestra la estabilidad de un coloide de plata producido por un método conforme a la invención;

La Figura 2 es un gráfico que muestra los análisis de tamaño de partículas de coloides de plata de litio y citrato de sodio; y

La Figura 3 es un gráfico de la intensidad Raman contra el número de onda comparando un coloide de plata de citrato de litio y de citrato de sodio utilizado para el análisis SERRS de Rodamina 6G.

Descripción detallada de las formas de realización ilustradas

Al considerar las propiedades químicas del sodio (utilizado en forma de citrato sódico) para reducir el nitrato de plata para producir el coloide, como en la técnica anterior, se creía que la naturaleza iónica del sodio es responsable de la dificultad de producir partículas coloidales, que da lugar a la desestabilización de la solución coloidal.

El litio encabeza el grupo 1 de elementos y manifiesta unas propiedades muy diferentes al sodio. El litio es muy electropositivo y, como resultado de su pequeño radio atómico, tiene una alta carga electrostática y por lo tanto alta energía de solvatación. Adicionalmente, los compuestos de litio tienden a formar enlaces covalentes en vez de iónicos y, además, el litio es mucho más grande en comparación con el sodio una vez hidratado. Se consideró por lo tanto por el solicitante que estas propiedades podrían proporcionar coloides de plata de tamaño de partícula más pequeño y mejor estabilidad en recipientes hechos de varios materiales diferentes, que habían demostrado ser problemáticos en el pasado.

Los anteriores intentos de producción de coloides de plata fueron decepcionantes y había poco estímulo para ir en contra de la percibida sabiduría de que la naturaleza iónica del sodio en nitrato de plata (mencionado anteriormente) era responsable de los intentos fallidos de obtener coloides de plata con una vida útil/estabilidad lo suficientemente larga.

No obstante, ahora se ha descubierto por el solicitante que el sodio tradicional se puede sustituir por litio. Los experimentos iniciales que utilizaban citrato de litio para reducir nitrato de plata resultaron ser prometedores. Los lotes de coloide producidos utilizando estos materiales resultaron tener propiedades de dispersión superiores (señales Raman más intensas-indicando un tamaño de partícula más pequeño y mejor distribución de tamaños de las partículas), la fluorescencia de fondo de analitos considerablemente reducida (indicando un nivel realzado de extinción de la fluorescencia), y buena estabilidad.

Estos lotes de coloide se han mantenido estables, es decir las partículas de plata todavía están en suspensión, durante un periodo prolongado. Pruebas recientes confirman que las partículas todavía están dispersas. Cuando se compara con muestras más recientes de coloides de citrato sódico, las muestras del coloide de plata del citrato de litio antiguas todavía muestran propiedades superiores de dispersión de la luz, es decir un espectro SERRS más intenso, en comparación a los coloides de plata producidos según la técnica anterior utilizando citrato sódico como el agente reductor.

También se estableció que muchos de los coloides de plata producidos utilizando citrato sódico sólo se podrían utilizar si se utilizasen agentes de agregación inorgánicos, no funcionando la mayoría con reactivos de agregación orgánicos. No obstante, con los coloides de citrato de litio, la agregación controlada se podría obtener bien con agentes de agregación orgánicos o inorgánicos. Esta última observación, junto con la estabilidad mejorada, indica claramente que el uso de litio está jugando un papel importante en el control de las propiedades químicas de las partículas de coloide de plata.

ES 2 343 594 T3

El método de preparación de estas soluciones coloidales con citrato de litio reducido se describirá a continuación.

Método para la preparación de soluciones coloidales de plata estables

5 Se puso agua de pureza alta (500 ml-BDH; 18 m Ω) en un matraz de tres cuellos, de un litro, de fondo redondo. Una varilla de agitación de vidrio, que pasa por el cuello central, se fijó a un motor del agitador de techo, que se estableció a una velocidad de agitación de 550 rpm. Un termómetro (gama 0-110°C) se fijó en uno de los cuellos laterales del matraz. Mientras se agitaba, la temperatura del agua se elevó y, al alcanzar 45°C, se añadió nitrato de plata (90 mg-99,9999%; Aldrich Chemicals) a través del tercer cuello del matraz. La temperatura del contenido del matraz se elevó
10 rápidamente a 98°C y luego se añadió 10 ml de solución de citrato de litio acuoso (227 mg en 25 ml de BDH agua de alta pureza) a la mezcla reactiva.

La agitación se mantuvo a esta temperatura durante unos 90 minutos adicionales y luego se retiró el calor. La solución coloidal se dejó enfriar a temperatura ambiente y se agitó continuamente durante este periodo.

15 La resultante solución coloidal de plata exhibe una reducida distribución de tamaños, y es altamente estable en vidrio y una amplia gama de materiales poliméricos para recipientes. Además, la solución coloidal de plata exhibe altas propiedades de dispersión de la luz y espectros de SERS y SERRS particularmente intensos con niveles de fluorescencia de fondo muy bajos. La solución coloidal de plata se puede agregar con reactivos de agregación tanto orgánicos como inorgánicos utilizados en la espectroscopia Raman. Ante todo, la solución coloidal de plata es increíblemente estable y tiene una larga vida útil.

La Figura 1 muestra un gráfico del espectro UV/visible de un coloide de plata preparado por el método que se describe. La espectroscopia UV/visible proporciona un método para la caracterización del coloide de la plata. La medición del ancho de banda a la altura media máxima da una indicación de la distribución del tamaño de las partículas de las partículas de coloide-el tamaño más uniforme de las partículas da lugar a un ancho de banda más reducido. Valores de típicamente 60-70 nm se obtienen para coloides reducidos con citrato sódico, y estos dan propiedades de SERRS razonables, pero con coloides reducidos con citrato de litio se han obtenido por debajo de 60 nm. El ancho de banda para el ejemplo que se describe es 46 nm.

30 El valor λ_{\max} se refiere a la distribución de tamaño de las partículas y propiedades de dispersión del coloide. Los coloides con un valor de 390-400 nm han resultado dar las mejores propiedades de SERRS, y con coloides reducidos con citrato sódico es difícil conseguir frecuentemente un valor por debajo de 400 nm; la gama típica es de 400-41 nm. El valor λ_{\max} para el ejemplo que se describe es 399 nm.

35 La mayor parte de coloides reducidos con citrato sódico producen un valor de absorbancia en la gama de 0.25 a 0.30 en el λ_{\max} del coloide, y este disminuye rápidamente durante 3-6 meses en almacenamiento. La absorbancia es una indicación de la concentración de partículas de plata y generalmente, cuanto más alta es la absorbancia, más alta es la intensidad de una señal de SERR. Con coloides reducidos con citrato de litio, se obtienen valores de absorbancia por encima de 0.30. El valor de absorbancia para el ejemplo que se describe es de 0.36.

40 La figura 1 muestra también que no hay prácticamente ningún cambio en las propiedades espectrométricas durante un periodo de 5 meses, indicando así la estabilidad de los coloides de plata producidos según la invención. Lotes de estos coloides han resultado ser estables durante este periodo extendido en vidrio y recipientes hechos de materiales poliméricos incluyendo, polietileno de densidad alta y baja, tereftalato de polipropileno y de polietileno.

45 Un análisis del tamaño de la partícula de un coloide de plata producido conforme a la invención como se muestra en la figura 2, indica que, en comparación con un coloide de plata producido por el método que se describe en la técnica anterior, el anterior tiene una distribución más reducida de partículas más pequeñas con tamaño medio similar de las partículas (4 nm comparado con 4.5 nm) pero sin un número significativo de partículas mayores de 11 nm. No obstante, el coloide de plata con citrato sódico muestra otra distribución de partículas en la gama de 18-23 nm. Las diferencias aquí observadas justifican el valor más alto de absorbancia, anchos de banda inferiores y valores λ_{\max} inferiores observados en los espectros visibles de los coloides de plata con citrato de litio es decir, un mayor número de partículas coloidales de plata más pequeñas con la producción de un tamaño de partículas más uniforme. Éstas son propiedades de un coloide de plata que en agregación se esperarían producirían un efecto de dispersión de la superficie más intensa y por lo tanto señales SERRS más fuertes. Además, con los coloides producidos conforme a la invención, su estabilidad superior sobre coloides de plata con citrato sódico se puede atribuir a su uniformidad de tamaño de partícula y distribución.

60 La solución de coloide de plata producida conforme a la invención, como se había predicho anteriormente, sí produce espectros SERS y SERRS intensos. Con Rodamina 6G, un colorante estándar comúnmente utilizado para la evaluación de la actividad SERRS de coloides, un coloide debería poder producir un espectro SERRS fuerte de una solución 10⁻⁹ M del colorante, utilizando un agente de agregación que es bien inorgánico, tal como el cloruro sódico, o orgánico, como por ejemplo poli-L-lisina. Estos criterios se cumplen por el coloide de plata producido por el método de la invención, y la figura 3 proporciona un espectro SERR del colorante (traza inferior) que se ha obtenido utilizando cloruro sódico como el reactivo de agregación a una concentración óptima de 0.0125M. La traza superior en la figura 3 muestra el espectro SERRS conseguido utilizando un coloide de plata con citrato sódico bajo las mismas condiciones analíticas óptimas. Estos resultados muestran la reducción significativa en fluorescencia de fondo y la

ES 2 343 594 T3

aumentada sensibilidad que se puede conseguir con coloides de plata producidos según el método que se describe en esta invención. Utilizando datos sustraídos con precisión del fondo de estos espectros, se puede conseguir un aumento en la intensidad de casi el 70% para la banda más intensa a 1650 cm^{-1} .

5

Referencias citadas en la descripción

Esta lista de referencias citada por el solicitante ha sido recopilada exclusivamente para la información del lector. No forma parte del documento de patente europea. La misma ha sido confeccionada con la mayor diligencia; la OEP sin embargo no asume responsabilidad alguna por eventuales errores u omisiones.

10

Bibliografía de Patentes citada en la descripción

- P. C. Lee O. Meisel *J. Phys. Chem.*, 1982, vol. 86, 3391-3395 [0005]
- C. H. Munro W. E. Smith P. C. White *Analyst*, 1993, vol. 118, 733-735 [0006].

15

20

25

30

35

40

45

50

55

60

65

ES 2 343 594 T3

REIVINDICACIONES

- 5 1. Método para la producción de una solución coloidal de plata por la reducción de nitrato de plata con citrato de litio.
2. Método según se reivindica en la reivindicación 1, que comprende las fases de:
- (a) calentar una primera cantidad de agua a una primera temperatura predeterminada;
- 10 (b) añadir una segunda cantidad de nitrato de plata al agua;
- (c) calentar la mezcla a una segunda temperatura predeterminada;
- 15 (d) añadir una tercera cantidad de una solución acuosa de citrato de litio a la mezcla;
- (e) mantener la mezcla a la segunda temperatura predeterminada durante un tiempo predeterminado; y
- (f) enfriar la mezcla.
- 20 3. Método según se reivindica en la reivindicación 2, en donde el proceso de mezcla se lleva a cabo en un recipiente de tres cuellos.
4. Método según se reivindica en la reivindicación 2 o 3, en donde la primera temperatura predeterminada es de 45°C.
- 25 5. Método según se reivindica en la reivindicación 4, en donde la segunda temperatura predeterminada es de 98°C.
6. Método según se reivindica en cualquiera de las reivindicaciones 2 a 5, en donde la primera cantidad es 500 ml de agua de alta pureza.
- 30 7. Método según se reivindica en cualquiera de las reivindicaciones 2 a 6, en donde la segunda cantidad es de 90 mg de dicho nitrato de plata de un 99,9999% de pureza;
8. Método según se reivindica en cualquiera de las reivindicaciones 2 a 7, en donde la tercera cantidad es de 10 ml de dicha solución acuosa de citrato de litio.
- 35 9. Método según se reivindica en la reivindicación 8, en donde la solución acuosa de citrato de litio comprende 227 mg de citrato de litio en 25 ml de agua de alta pureza.
- 40 10. Método según se reivindica en cualquiera de las reivindicaciones 2 a 9, en donde el agua y la mezcla se agitan constantemente a lo largo de las fases (b) a (f).
11. Método según se reivindica en la reivindicación 10, en donde la agitación se lleva a cabo utilizando un agitador rotado a 550 rpm.
- 45 12. Método según se reivindica en cualquiera de las reivindicaciones 2 a 11, en donde en la fase (e) el tiempo predeterminado es de 90 minutos.
13. Método según se reivindica en cualquier reivindicación precedente, en donde el coloide de plata resultante tiene una distribución reducida de tamaño de las partículas.
- 50 14. Método según se reivindica en la reivindicación 13, en donde el tamaño medio de la partícula es de 4 nm.
15. Método según se reivindica en cualquiera de las reivindicaciones 2 a 12, en donde la solución coloidal de plata resultante se agrega con reactivos de agregación orgánicos o inorgánicos para su uso en la espectroscopia SERS y SERRS.
- 55 16. Solución coloidal de plata formada por la reducción de nitrato de plata con citrato de litio.
- 60 17. Solución coloidal de plata según se reivindica en la reivindicación 16, que tiene altas propiedades de dispersión de la luz y produce espectros SERS y SERRS intensos.
- 65

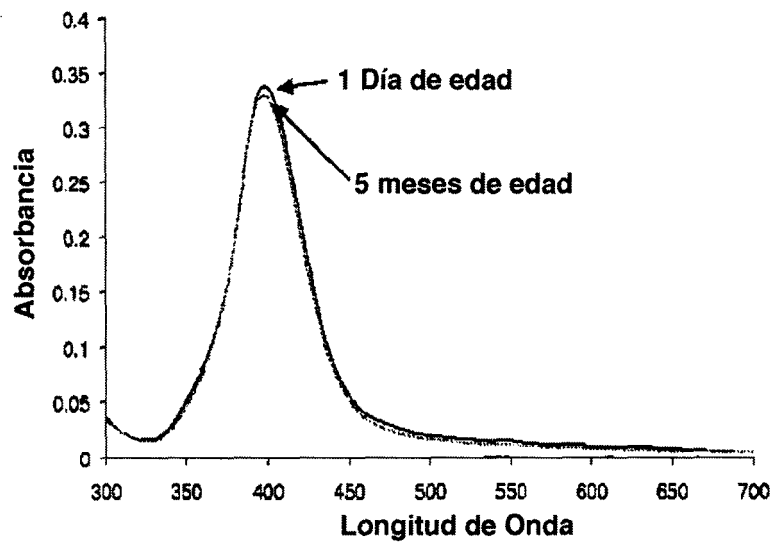


Fig 1

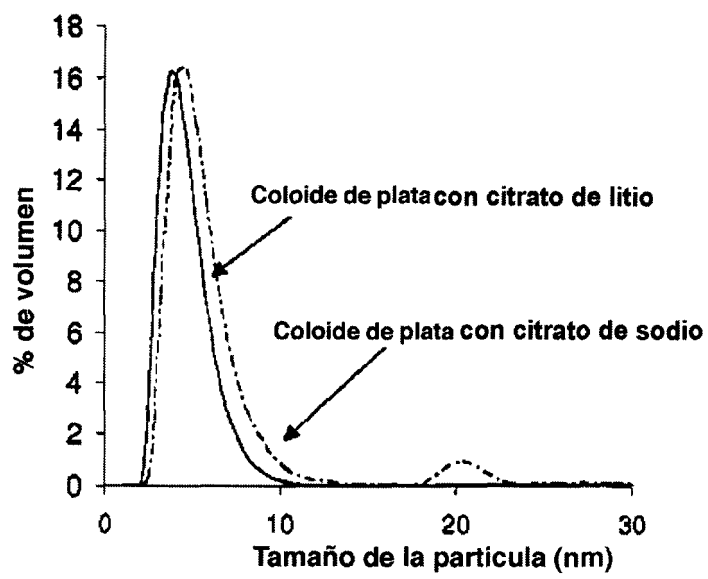


Fig 2

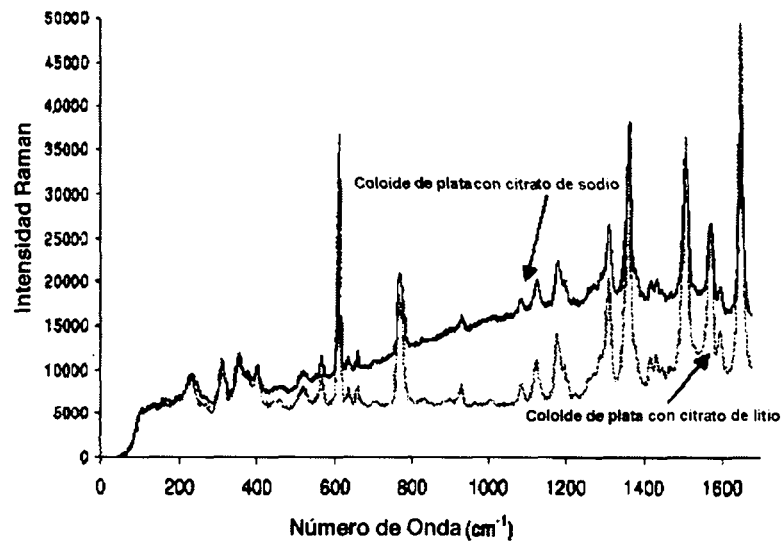


Fig 3