نانوذرات مغناطیسی: کاربردها و اهمیت آن‌ها در زیست فناوری

حسین صالحی زاده *، **لیلا بایندری**
دانشگاه اصفهان، دانشکده فنی و مهندسی، گروه بیوتکنولوژی
پست الکترونیکی: H_salehizadeh@eng.ui.ac.ir

چکیده

نانوذرات مغناطیسی دسته-ای از نانومواد معدنی در ارتباط نزدیک با سیستم‌های زیستی و اجزای آن‌ها هستند. اندازه نانوذرات مغناطیسی در محدوده ۱۰ تا ۱۰۰ نانومتر و سازگار با مقیاس سلولی و اجزای آن است. در حال حاضر طیف وسیعی از کاربردهای نانوذرات مغناطیسی در عرصه‌های مختلف زیست فناوری و علوم زیستی نظیر حسگرهای زیستی، جداسازی ترکیبات فعال زیستی، تثبیت و تصحیح این ترکیبات، شناسایی و جداسازی سلول‌ها و اجزای سلولی مانند جداسازی گلبول‌های قرمز خون، ردیابی رادیونوکلوئیدها و داروها و جداسازی ایزوتوپ‌های رادیواکتیو از محصولات غذایی و غیره شناخته شده است. توسعه و استفاده از روش‌های جداسازی ملکول‌ها و ماکروملکول‌های زیستی باکمک نانوذرات مغناطیسی مورد توجه روزافزون محققان بوده و تحقیقات در این زمینه با جدیت ادامه دارد. استخراج فاز جامد مغناطیسی، روشی نوین در زمینه تغلیظ و جداسازی ماکروملکول‌های زیستی از حجم بالای محلول است که با استفاده از جاذب‌های مغناطیسی یا با قابلیت مغناطیس انجام می‌شود. این مقاله به معرفی نانوذرات مغناطیسی، سنتز و تولید نانوذرات، روش‌های جداسازی زیست ملکول‌ها باکمک نانوذرات مغناطیسی و مقایسه این روش با سایر روش‌های معمول جداسازی ماکروملکول‌های زیستی، و کاربرد آن‌ها در عرصه فناوری زیستی می‌پردازد.

واژگان کلیدی: نانوذرات، نانوذرات مغناطیسی، مغناطیس، جداسازی مغناطیسی، نانو زیست فناوری

۱- مقدمه

سابقه آشنایی انسان با مغناطیس به هزاران سال پیش برمی‌گردد و برای قرن‌ها مغناطیس منشاء پیشرفت‌های شگرف در علم و فناوری بوده است. درگذشته توجه محققین بر روی مغناطیس در مقیاس ماکروسکوپی بود تا این که پدیده مغناطیس در مقیاس اتمی نظیر تغییرات مکانیکی-کوانتومی، اثرات متقابل فضای کریستالی در اوایل نیمه اول قرن بیستم کشف شد [۴-۱]. خواص زیست‌مغناطیسی با مشاهده نانوذرات مغناطیسی اکسید آهن[1] در باکتری‌ها، نرم‌تنان، حشرات و جانوران عالی مورد توجه قرار گرفت [۵]. در سال ۱۹۶۰، نانوذرات مغناطیسی لازم برای تولید سیال مغناطیسی پایدار تهیه و ارایه شد [۶]. لونستام برای نخستین بار در سال ۱۹۶۲، ذرات مغناطیسی رسوب داده شده به شیوه بیوشیمیایی را کشف کرد [۷]. در سال ۱۹۷۵ بلک مور باکتری‌های مغناطیسی را گزارش نمود [۵]. این باکتری‌ها در محیط‌های تاریک عمل می‌کنند و شامل رشته‌هایی از ذرات مغناطیسی با طول ۴۰ تا ۱۰۰ نانومتر برای جهت‌یابی هستند [۸]. ذرات مغناطیسی در مغز زنبورها، کبوترها و ماهی‌ها کشف شده است که نقش حسگرهای کوچ را ایفا می‌کنند [۹]. در جدول ۱ برخی از موجودات تولیدکننده نانوذرات ارایه شده است.

1- Fe_3O_4

جدول ۱- برخی از موجودات تولید کننده نانوذرات مغناطیسی [۱۰]

نوع جاندار	نام جاندار	نام لاتین	محل نانوذره مغناطیسی	نوع نانوذره
میکروارگانیسم	مگنتوباکتری	Magnetospirillum sp.	مگنتوزوم	Fe_3O_4,Fe_3O_4
	جلبک		سلول	Fe_3O_4
	پروتوزآ		سلول	Fe_3O_4
حشرات	زنبورعسل	Apis mellifea	شکم	Fe_3O_4
	مورچه های مهاجر	Pachycondyla marginata	شکم	Fe_3O_4
	موریانه	Nasutitermes exitiosus	شکم و سینه	Fe_3O_4
ماهی	قزل الا اتلانتیک	Salmo salar	خط‌کمر	Fe_3O_4
	قزل الا سوکی	Oncorhynchus nerka	جمجمه	Fe_3O_4
	قزل الا رنگین‌کمان	Oncorhynchus mykiss	بینی	Fe_3O_4
دوزیستان	سوسمار خال قرمز خاوری	Notophthalmus viridescens	تمام بدن	Fe_3O_4
پرندگان	کبوتر	Dolichonyx oryzivorus	بالای منقار	Fe_3O_4
پستانداران	دلفین ها	Delphinus delphis	بینی	Fe_3O_4
	انسان	Homo sapiens	قلب و مغز	Fe_3O_4

اغلب اندازه ذرات مغناطیسی بین ۱۰ تا ۱۰۰ نانومتر بوده، لیکن ذرات با قطرکمتر از ۱۰ نانومتر (ذرات آهن در اکسید آلومینیم[1] با قطری حدود ۵ نانومتر [۱۱]) نیز گزارش شده است [۸,۱۲]. نانوذرات در سیستم‌های سوپرپارامغناطیس[2] [۱۳]، فروسیالات[3] [۱۴] و سنگ‌های آسمانی مشاهده شده اند [۱۵].

در حال حاضر محدوده اندازه نانوذرات، سازگاری و انعطاف‌پذیری آن‌ها با مقیاس‌های اجزای سلولی، و خواص بی‌نظیر آن در پیوند با ملکول‌های زیستی تنوعی از کاربردها را ممکن کرده است. نانوذرات مغناطیسی قادرند با اجزا و ملکول‌های زیستی مناسب پیوند شیمیایی ایجادکرده و ترکیب انتخابی ذرات مغناطیس و ماکروملکول‌های زیستی سبب سهولت دستکاری، تشخیص و آشکارسازی در سیستم‌های زیستی شود. در سال‌های اخیر توجه زیادی به کاربرد نانوذرات در عرصه‌های زیستی، پزشکی،کشاورزی و صنعتی و غیره شده است. اهمیت‌کاربردهای نانوذرات در زیست‌فناوری معطوف خواص فیزیکی، شیمیایی، فارموکولوژی[4] نظیر ترکیب شیمیایی، ساختار کریستالی، رفتار مغناطیسی، ساختار و خواص سطح، خواص جذبی، حلالیت و سمیت پایین آن‌ها است.

این مقاله مروری بر تولید نانوذرات مغناطیسی، نانوذرات مغناطیسی زیست‌سازگار تجارتی، نقش نانوذرات مغناطیسی در جداسازی ماکروملکول‌های زیستی، استخراج فاز جامد مغناطیسی، مقایسه این روش با سایر روش‌های معمول جداسازی و کاربرد نانوذرات در مقیاس مغناطیسی در عرصه‌های مختلف دانش دارد.

۲- تولید نانوذرات مغناطیسی

هدف از تولید نانوذرات مغناطیسی، ارایه ذرات منفرد، منودیسپرس[5] و یکنواخت از نظر غلظت ذرات است. مهم‌ترین معضل در مسیر تولید نانوذرات مغناطیسی کنترل اندازه ذرات در مقیاس نانواست و این در نتیجه انرژی سطحی بالای سیستم است. انرژی سطحی به عنوان نیروی محرکه درکاهش ناگهانی سطح در مرحله اول رسوب‌دهی(هسته زایی و رشد هسته) عمل می‌کند [۱۶]. برخی از روش‌های متداول تولید نانوذرات مغناطیسی عبارتند از: سنتز در محلول، سنتز با روش بخار/ائروسل، باکتری‌های مگنتوتاکتیک

1-Al_2O_3
2-Superparamagnetic
3-Ferrofluid
4-Pharmacology
5-Monodisperse

۲-۱- سنتز در محلول

برخی از روش‌های اصلی برای سنتز نانوذرات مغناطیسی کروی در محلول در زیر برای نمونه ارایه شده است:

سوسپانسیون هیدروکسید آهن به صورت جزئی با ترکیبات اکسیدکننده مختلف اکسید می‌شود. در این روش ذرات کروی در محدوده ۳۰ تا ۱۰۰ نانومتر از طریق اکسیداسیون نمک فرو[1] با یک اکسیدکننده ملایم (یون‌های نیترات) حاصل می‌شوند [۱۷]. بنابراین مخلوطی با درصد مشخص از هیدروکسیدهای فرو و فریک در حلال آبی اکسید شده و ذرات کروی در اندازه‌های همگن حاصل می‌شود. باکنترل pH و قدرت یونی محلول، اندازه متوسط ذرات در محدوده ۲ تا ۱۵ نانومتر کنترل می‌شود [۱۸]. با تزریق سریع ترکیبات آلی فلزی درون محلول داغ ترکیب فعال سطح، ذرات با خصوصیات کریستالی مناسب و به صورت منفرد حاصل می‌شوند [۱۹]. از این روش برای تولید نانوذرات مغناطیسی به صورت منفرد از تجزیه حرارتی استیل استات آهن، کبالت و منگنز استفاده شده است [۲۰].

میکروامولسیون یک مخلوط ترمودینامیکی پایدار ایزوتروپیک شامل دو مایع غیرقابل حل است که به وسیله ترکیبات فعال سطح یکی از آن‌ها در دیگری در مقیاس نانو پخش شده است. این حفره‌های کوچک پایدار (حدود ۱۰ نانومتر) به وسیله مواد فعال سطح از تشکیل هسته، رشد و تجمع ذرات مغناطیسی جلوگیری می‌کنند [۲۱]. از دیگر روش‌های سنتز در محلول، استفاده از نانوراکتورهای زیستی و مایسل است [۲۲].

۲-۲- سنتز با روش بخار/ائروسل[2]

پیرولیز به روش اسپری و لیزری، بهترین روش برای تولید مستقیم و پیوسته نانوذرات مغناطیسی در شرایط کنترل شده آزمایشگاهی است. پیرولیز فرآیندی است که در آن یک محلول درون راکتورهای پیوسته اسپری می‌شود. سپس قطرات ائروسل حاوی نانوذرات مغناطیسی حل شده، در اثر تبخیر سریع حاصل می‌شود. این قطرات تحت اثر دمای بسیار بالا تبخیر و رسوب ذرات مغناطیسی به دست می‌آید. [۲۳]. در روش لیزری مخلوط گازی تحت امواج لیزری دی اکسیدکربن قرار می‌گیرد که باعث آغاز و تقویت‌کردن واکنش می‌شود [۲۴].

۲-۳- باکتری‌های مگنتوتاکتیک[3]

باکتری‌های مگنتوتاکتیک، ازگروه باکتری‌های گرم منفی پروکاریوت با مورفولوژی خاص هستند، که ذرات ریز مغناطیسی (حدود ۵۰ تا ۱۰۰ نانومتر) درون‌سلولی متصل به غشا را تولید می‌کنند. این ذرات مغناطیسی نانوکریستال درون واکوئل‌های فسفولیپیدی قرار دارند که به طورکلی مگنتولیپوزوم[4] نامیده می‌شوند. نانوذرات مغناطیسی باکتری، پس از پاره کردن دیواره سلولی از آن جداسازی می‌شود. حضور لایه فسفولیپیدی محافظ اطراف نانوذرات باعث پایداری و سازگاری زیستی و بهبود خواص آن‌ها می‌شود. این نانوذرات در تثبیت آنزیم‌ها، آنتی‌بادی‌ها و اولیگونوکلئوتیدها[5] کاربرد دارند [۲۵].

۳- نانوذرات مغناطیسی زیست‌سازگار تجارتی

فروسیالات مغناطیسی برای تهیه نانومواد به عنوان آغازگر استفاده می‌شوند. فروسیالات سوسپانسیون‌های کلوئیدی پایدار شامل نانوذرات اکسیدهای آهن (فریت) با قطری در حدود ۱۰ نانومتر در حلال‌های قطبی و غیرقطبی هستند و خصوصیات پارامغناطیسی دارند. گرچه بیشتر فروسیالات در حلال‌های هیدروکربنی و مایعات آلی به علت عدم سهولت تولید در حلال‌های آبی ایجاد شده‌اند، لیکن اغلب برای کاربردهای زیستی، فروسیالات با استفاده از حلال آبی تولید می‌شوند[۲۶]. گزارش‌هایی نیز ازکاربرد حلال‌های پارافینی و روغن‌های گیاهی برای این منظور موجود می‌باشد[۲۷]. در گذشته برای تهیه فروسیالات، میکروذرات را در آسیاب‌های حاوی گلوله در طی چند هفته به نانوذرات تبدیل‌کرده و سپس به نفت منتقل می‌کردند. برای این منظور روغن‌هایی نظیر اسید اولئیک برای پایداری نانوذرات و جلوگیری از لخته‌سازی استفاده می‌شد. در حال حاضر سنتز شیمیایی فروسیالات از طریق رسوب‌دهی نمک‌های فریت و فریک با محلول قلیایی و واکنش متوالی در شرایط حرارت‌دهی مرطوب انجام می‌شود [۲۸].

مگنتولیپوزوم‌ها ازمشتقات مغناطیسی لیپوزوم‌ها هستندکه از به دام انداختن فروسیالات درون هسته لیپوزوم ایجاد می‌شوند. مگنتولیپوزوم‌ها از اتصال لیگاندهای کووالان به سطح وزیکول‌ها و یا به وسیله اتصال لیپیدهای هدف درون شبکه فسفولیپیدی تولید می‌شوند. وزیکول‌های فسفولیپیدی به عنوان نانوراکتورهایی برای تهیه رسوب نانوذرات مغناطیسی عمل می‌کنند[۲۹]. وزیکول‌های متنوع دیگری نیز نظیر دی دو دسیل دی متیل آمونیم برمید حاوی سیال مغناطیسی یونی با قطر ۱ میکرومتر برای این منظور استفاده شده است [۳۰]. ذرات میکرومتری به وسیله عبور فروسیال از روی حامل‌های ستون کروماتوگرافی مغناطیسی می‌شوند [۳۱]. در تولید نانوساختارهای مغناطیسی از پلیمرهای سنتزی و پلی ساکاریدهایی مانند آلژینات یا سلولز به عنوان ژل واسطه استفاده می‌شود [۳۲]. نانوذرات مغناطیسی باکتریایی، از پاره شدن دیواره سلولی باکتری‌های مگنتوتاکتیک و جداسازی با استفاده از میدان مغناطیسی به دست می‌آید. شایان ذکر است که وجود لایه لیپیدی اطراف این نانوذرات باعث پایداری و زیست‌سازگاری آن‌ها شده است. برخی از این نانوذرات مغناطیسی تجاری در جدول ۲ ارایه شده است.

1- Fe(II)
2-Aerosol
3-Magnetotactic
4-Magnetoliposom
5-Oligonucleotide

جدول ۲- نانوذرات مغناطیسی تجاری مورد استفاده در کاربردهای زیستی [۱۰]

نام محصول	ترکیب	اندازه ذره (نانومتر)	کاربرد	شرکت تولیدکننده
کامبیدکس (Combidex)	اکسیدهای مغناطیسی آهن - دکستران	۲۰-۱۷	عامل کنتراست رزونانس مغناطیسی	USA ،Advanced Magnetics
فریدکس (Feridex)	اکسیدهای مغناطیسی آهن - دکستران	۲۵۰-۱۰۰	عامل کنتراست رزونانس مغناطیسی	USA ،Advanced Magnetics
میکروبید (Microbead)	اکسیدهای مغناطیسی آهن - دکستران	۵۰	جداسازی و طبقه‌بندی سلول‌ها و ملکول‌ها	Germany ،Miltenyi Biotec
نانومگ (Nanomag)	اکسیدهای مغناطیسی آهن - دکستران	۱۰۰	طبقه‌بندی مغناطیسی	Micromod Partikeltechnologies، Germany
رزوویست (Resovist)	اکسیدهای مغناطیسی آهن - دکستران	۵۷	عامل کنتراست رزونانس مغناطیسی	Germany ،Schering AG

۴- نقش نانوذرات مغناطیسی درجداسازی ملکول‌های زیستی

در حال حاضر جداسازی و خالص‌سازی انواع ماکروملکول‌های زیستی در شاخه‌های مختلف علوم زیستی و زیست‌فناوری متداول است. با توجه به گسترش روزافزون روشهای جداسازی و خالص‌سازی ماکروملکول‌های زیستی، استفاده از روش‌های سریعتر و مقرون به‌صرفه‌تر، ضروری به نظر می‌رسد. جداسازی ترکیبات فعال زیستی نیازمند غلیظ‌کردن آنها در حجم زیادی از محلول یا سوسپانسیون است. اغلب این فرآیند همراه با خالص‌سازی جزئی محلول است. جداسازی نمونه زمانبرترین مرحله تحلیل شیمیایی است که ۶۱ درصد از کل زمان مورد نیاز برای این امر را در بر می‌گیرد. جداسازی مغناطیسی برای جداسازی در مقیاس بالا، و حالتی که سیستم دارای ناخالصی است مطلوب است. این روش سریع‌تر از سایر روش‌های جداسازی است [۳۳].

استخراج فاز جامد روشی برای جداسازی ماکروملکول‌های زیستی مطلوب و تغلیظ آنها از محلول نمونه است. اساس استخراج فاز جامد مغناطیسی[1]، استفاده از جاذب‌های مغناطیسی است. در این روش جاذب مغناطیسی به محلول یا سوسپانسیون حاوی نمونه اضافه می‌شود. نمونه روی جاذب مغناطیسی جذب شده، سپس این کمپلکس با استفاده از یک جداکننده مغناطیسی مناسب از بالک سیال جدا میشود [۳۴]. اغلب جاذب، مگنتیت یا ذغال مغناطیسی است. جاذب با استفاده از یک آهنربای دائمی مسطح رسوب داده می‌شود. مایع سطحی به آرامی تخلیه شده و رسوب جاذب مغناطیسی پس از خارج‌کردن محلول آبی آن به درون یک حلال آلی (متانل برای مگنتیت آبی، و اتیلن گلیکول منومتیل برای ذغال مغناطیسی) جهت شستن نمونه جذبی منتقل می‌شود. برای بهبود این عمل محلول هم زده می‌شود. سپس با استفاده از جداکننده مغناطیسی، جاذب جداسازی می‌شود. اغلب جداکننده مغناطیسی با توجه به میزان محلول، آهنربا یا میدان مغناطیسی حاصل از یک آهنربای الکتریکی است. برای مقادیرکم محلول، یک آهن ربای دائمی مسطح کفایت میکند، لیکن در مقادیر زیاد محلول نمونه، باید از آهنربای الکتریکی برای این منظور استفاده‌کرد [۳۵].

1-Magnetic Solid Phase Extraction

۵- مقایسه جداسازی به روش نانوذرات مغناطیسی با روش‌های معمول جداسازی

در حال حاضر جداسازی با استفاده از نانوذرات مغناطیسی یکی از روش‌های کاربردی مهم در تفکیک ماکروملکول‌های زیستی است. اساس این روش، بازیافت انتخابی با استفاده از جاذب‌ها و حامل‌های مغناطیسی یا قابل مغناطیس است که نمونه را از محلول با استفاده از جداکننده مغناطیسی جدا میکند [۳۶]. طبیعت مغناطیسی جاذب و انتخابی بودن جداسازی با استفاده از نانوذرات مغناطیسی، این روش را برای جداسازی ماکروملکول‌های هدف از محلول جامدات معلق مطلوب کرده است. اغلب بازیافت نمونه، مستقل از میزان محلول بوده و بستگی به انتخاب جاذب مغناطیسی و نیز حلال آلی مناسب دارد [۳۷].

در فناوری زیستی، جداسازی ماکروملکول‌ها با استفاده از انواع روش‌های جداسازی مثل کروماتوگرافی، الکتروفورز، اولترافیلتراسیون، رسوب‌گیری، استخراج با نمک‌ها و حلال، و غیره انجام می‌شود، که کروماتوگرافی از مهمترین این روش‌ها است. اساس جداسازی با نانوذرات مغناطیسی ناپیوسته، بسیار ساده است. پس از زمان مشخصی، ماده هدف به نانوذرات مغناطیسی اتصال می‌یابد، سپس با استفاده از یک جداکننده مغناطیسی مناسب (آهن ربای دائمی یا الکتریکی)، کمپلکس از محلول جداسازی و پس از شستشو درون حلال مناسب

ریخته می‌شود. روش جداسازی با نانوذرات مغناطیسی در مقایسه با سایر روش‌های جداسازی دارای مزایای متعددی نظیر سادگی و مراحل کم است. همه مراحل خالص‌سازی، تنها درون یک لوله آزمایش قابل انجام است و نیاز به تجهیزات گرانقیمت نظیر سیستم کروماتوگرافی مایع، سانتریفیوژ و صافی و غیره ندارد. جداسازی با نانوذرات مغناطیسی، روشی ملایم و آرام است. بنابراین ترکیبات پروتئینی بزرگ‌که در ستونهای کروماتوگرافی تجاری ممکن است آسیب‌پذیر باشند، در این روش سالم باقی می‌مانند [۳۸].

فرآیند جداسازی در محلول‌های حاوی نانوذرات معلق نیز انجام می‌شود. در برخی موارد نظیر جداسازی پروتئین‌های درون‌سلولی، مراحل تجمع، تجزیه و جداسازی همزمان انجام شده، بنابراین زمان‌کل جداسازی کوتاه است [۳۹]. به دلیل خاصیت مغناطیسی ملکول‌های درون محلول، جداسازی تحت میدان مغناطیسی به راحتی انجام می‌گیرد. جداسازی مغناطیسی تنها روش عملی برای بازیافت ذرات مغناطیسی‌کوچک درون پساب‌های تجزیه شده زیستی است، علاوه بر این قدرت و عملکرد بالای این فرآیند، امکان‌کاربرد آن را در مقیاس بالا فراهم‌کرده است. این شیوه اساس روش‌هایی نظیرکاربرد نانوذرات در سیستم‌های ایمنی سنجی است [۴۰].

۵-۱- حامل‌های مغناطیسی و جاذب‌ها

این مواد به صورت آزمایشگاهی و تجاری تولید می‌شوند. اغلب حاملها به‌صورت ذرات و نانوذرات مغناطیسی بوده‌که از انواع پلیمرها و پلیمرهای زیستی و شیشه متخلخل یا ذرات مغناطیسی سنتز می‌شوند و خاصیت پارامغناطیسی دارند. قطر این ذرات بین ۵۰ نانومتر تا ۱۰ میکرومتر متغیر است، لیکن ذرات با قطر بزرگتر در محدوده میلیمتر نیز استفاده شده است [۴۰]. ذرات مغناطیسی با قطر بیشتر از یک میکرومتر به راحتی تحت میدان مغناطیسی جداسازی میشوند، ولی ذرات با قطرکوچک بین ۱۰ تا ۱۰۰ نانومتر باید تحت میدان قویتری قرارگیرند. در بیشتر ذرات مغناطیسی تجاری، پلی استایرن به عنوان پلیمر متداول بوده ولی استفاده از سلولز وآگارز، سیلیکا، شیشه متخلخل نیز در برخی موارد معمول است [۴۱]. پلیمرهای زیستی مثل آگارز[1] وکیتوزان[2] و غیره را به راحتی می‌توان به شکل مغناطیسی آماده‌کرد [۴۲].

۵-۲- جداکننده‌های مغناطیسی

جداکننده‌های مغناطیسی برای تفکیک ذرات مغناطیسی از سیستم مورد نیاز است. ساده‌ترین راه استفاده از یک آهنربای دائمی کوچک است. اما آهنربای قویتر نیز با قیمت مناسب، برای این منظور می‌توان به کاربرد. اغلب جداکننده‌های مقیاس تجاری از آهنربای تعبیه شده در مواد ضدعفونی کننده ساخته شده‌اند. برخی از آنها دارای صفحه‌های مغناطیسی قابل حرکت برای تسهیل شستن ذرات مغناطیسی جداشده هستند. انواع جداکنندههای دیگر دارای صفحه‌هایی با سوراخ‌های میکرومتری برای جداسازی حجم زیادی (حدود ۵۰۰ تا ۱۰۰۰ میلی لیتر) از سوسپانسیون مفید هستند.

اغلب جداکننده‌های مغناطیسی شاری مثل جداکننده‌های اختلاف مغناطیسی بالا گران هستند. جداکننده اختلاف مغناطیسی بالا، در مقیاس آزمایشگاهی شامل یک برج پر شده ازگوی‌های فولادی‌کوچک یا تورهای فولادی سوراخ ریز است‌که بین دو قطب آهنربا قرارگرفته‌اند. سوسپانسیون به درون برج پمپ می‌شود. ذرات مغناطیسی درون تورهای برج باقی می‌مانند، سپس میدان مغناطیسی از روی ستون برداشته می‌شود و ذرات مغناطیسی با جریان سیال و تکان‌های آرام برج شسته می‌شوند [۴۳].

۵-۳- لیگاندهای اتصال دهنده

ماکروملکول‌های زیستی به طور مستقیم از منابع مختلف استخراج می‌شوند. پروتئین‌های متصل به دیواره سلولی درون دترجنت‌های مناسب قابل حل هستند. بعد از شکستن هسته سلولی را برای تهیه یک پروتئین خاص،DNA درون مایع ویسکوز حاصل از تخریب سلولی رها می‌شود. این DNA ممکن است درون سرنگ تحت فشار، قبل از جدا کردن پروتئین مورد نظر بریده شود. بنابراین DNase اضافه می‌کنند تا به صورت آنزیمی DNA هضم شود [۴۴].

اغلب حامل‌های مغناطیسی اتصال غیر ویژه‌کمی با ملکول‌های غیر هدف در محلول‌های نمونه دارند. یک محلول معین ممکن است نیاز به تمیزکردن و حذف ملکول‌ها با اتصال غیرویژه داشته باشد. در صورت نیاز به تمیزکردن دوباره، محلول را با حامل‌های مغناطیسی بدون لیگاندهای اتصال دهنده مخلوط می‌کنند. در این مرحله، مواد ایمینومغناطیسی[3] با حامل‌های مغناطیسی پوشیده شده، به وسیله یک آنتی‌بادی ثانویه یا یک آنتی‌بادی نامرتبط جداسازی می‌شود. بعد از جداسازی، اتصال‌های غیر ویژه با اضافه‌کردن دترجنت‌های غیر یونی درون محلول نمونه و بافر شست‌وشوکمینه می‌شوند [۴۵].

۵-۴- جداسازی مستقیم و غیر مستقیم

به طورکلی جداسازی با نانوذرات مغناطیسی به دو صورت مستقیم و غیرمستقیم انجام می‌گیرد. در روش مستقیم، یک لیگاند اتصال دهنده به طور مستقیم به ذرات مغناطیسی، یا پلیمر زیستی متصل به ذرات مغناطیسی، وصل می شود. این ذرات به محلول نمونه اضافه شده و ماکروملکول‌های هدف به آن‌ها متصل می‌شوند. در روش غیر مستقیم،

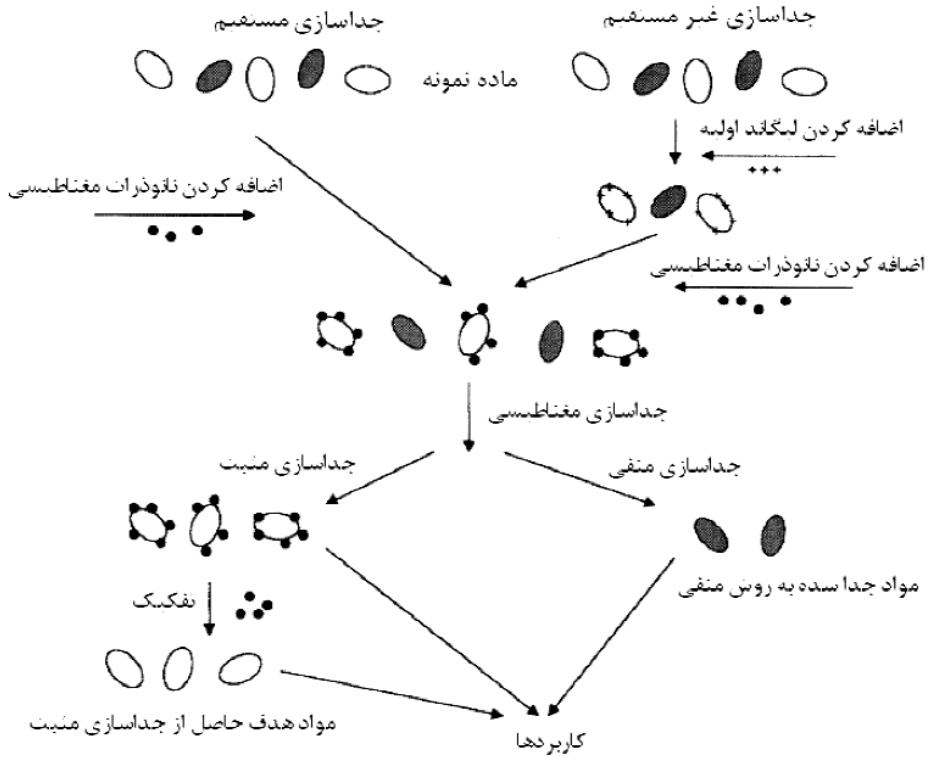
1-Agarose 2-Chitozan

3-Immunomagnetic

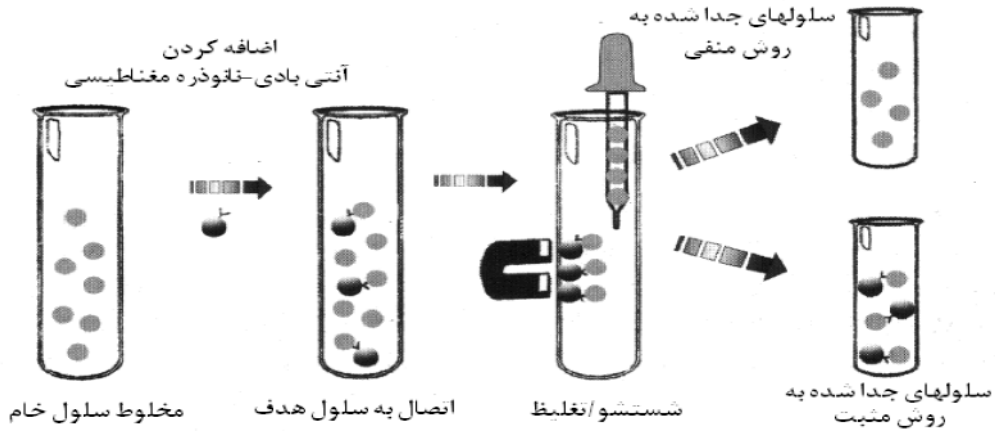
لیگاند اتصال دهنده به محلول نمونه افزوده می‌شود. این لیگاندها به ماکروملکول‌های موردنظر متصل و سپس این ترکیب به نانوذرات مغناطیسی اضافه شده و اتصال ایجاد می‌شود. در مواردی که آنتی‌بادی‌ها به عنوان لیگاند آزاد مورد استفاده قرار می‌گیرند. ذرات مغناطیسی به وسیله آنتی‌بادی‌های ثانویه‌ای مثل پروتئین A یا پروتئین G تثبیت شده، سپس این ترکیب به کمپلکس لیگاند-ماکروملکول متصل می‌شود[۴۶].

در هر دو روش، ذرات مغناطیسی یا مواد مطلوب به صورت مغناطیسی جداسازی می‌شوند و سپس طی چند مرحله شست‌وشو، ذرات و مواد آلاینده آن حذف می‌شوند. روش مستقیم سریع‌تر بوده و در حالتی که لیگاند تمایل کمتری به اتصال به ماکروملکول دارد، کنترل بهتر است و نیاز به آنتی‌بادی کمتری است. از عیوب روش غیرمستقیم نیاز به آنتی‌بادی و ذرات مغناطیسی اضافی، و مشکل جداسازی آنتی‌بادی‌های آزاد است. هر دو روش مستقیم و غیرمستقیم را می‌توان به صورت جداسازی مثبت و منفی انجام داد. شکل ۱ شمای کلی از این دو روش را نشان می‌دهد.

در بیشتر موارد جذب ناپیوسته مغناطیسی برای جداسازی استفاده می‌شود، زیرا این روش ساده‌تر و امکان انجام فرآیند درون یک لوله آزمایش یا ارلن فراهم است (شکل ۲) [۴۸-۴۷].



شکل۱- جداسازی مغناطیسی به روش مستقیم و غیر مستقیم



شکل ۲- جداسازی مغناطیسی ناپیوسته درآزمایشگاه [۴۹]

برج‌های سیالی شده مغناطیسی برای فرآیند جداسازی پیوسته استفاده می‌شوند. اغلب برای خالص‌سازی زیستی به‌کار می‌روند. این برج‌ها دارای عملکرد بالا، افت فشار و گرفتگی کم هستند. جاذب‌های کروماتوگرافی غیر مغناطیسی می‌توانند درون برج های سیالی شده مغناطیسی تثبیت شوند. البته ذرات با قابلیت مغناطیسی نیز باید به حد کافی موجود باشند [۵۲-۵۰]. جداسازی دوفازی در سیستم دکستران-گلیکول، با افزودن مقادیرکمی از نانوذرات مغناطیسی یا فروسیالات به سیستم و هدایت آن‌ها به وسیله میدان مغناطیسی بهبود می‌یابد. این روش در حالت اختلاف دانسیته‌کم، یا وجود اختلاف نسبت حجمی بسیار بالا بین دو فاز، و در سیستم‌های ویسکوز بسیار مفید خواهد بود. جداسازی فازی نانومغناطیسی باعث افزایش سرعت جداسازی ۱۰ تا ۱۰۰۰ برابر در سیستم‌های خوش‌رفتار می‌شود. افزودن فروسیالات یا ذرات اکسید آهن تأثیری روی شکل و فعالیت آنزیم‌ها و پروتئین‌ها ندارد [۵۴,۵۳].

۶- کاربردهای نانوذرات مغناطیسی در زیست‌فناوری

۶-۱- حسگرهای زیستی

حسگرهای مغناطیسی شامل مولکول‌های گیرنده هستند. بعد از اتصال مولکول‌های هدف به این گیرنده‌ها ذرات نانومغناطیسی اضافه می‌شوند و پوشش خاصی ایجاد می‌شودکه در آن ذرات مغناطیسی به مولکول‌های هدف می‌چسبند، در نتیجه مقاومت مغناطیسی هدف تغییر می‌کند، که توسط حسگر مقاومتی قابل سنجش است. ذرات نانومغناطیسی به فرم‌های مختلف از جمله $Fe_3O_4, Fe_3S_4, \gamma-Fe_2O_3$ و انواع فریت‌ها $Meo.Fe_2O_3$ وجود دارند. Me نشانگر فلزاتی نظیر منگنز، کبالت، منیزیم، یا نیکل است. حسگرهای مغناطیسی زیستی، ابزار تشخیصی قوی در صنایع دارویی و زیستی هستند. از ویژگی‌های این حسگرها محدودیت اندک در شناسایی و حساسیت بالای آن‌ها است [۵۵].

۶-۲- جداسازی ترکیبات فعال زیستی

جداسازی مغناطیسی ترکیبات فعال زیستی و ترکیبات غیر زیستی پایدار در بسیاری از شاخه های زیست فناوری مانند بیولوژی ملکولی، بیوشیمی، شیمی تجزیه، ایمنوشیمی، آنزیمولوژی و شیمی محیط زیست‌کاربرد دارد. برخی از مواردکاربرد به این روش عبارتند از:

۶-۲-۱- جداسازی اسیدهای نوکلئیک

روش‌های مغناطیسی در جداسازی DNA،RNA و الیگونوکلئوتیدها نیز به‌کار می‌رود. همه روش‌ها بر پایه ترکیب الیگونوکلئوتیدهای تثبیت شده و ملکول‌های هدف هستند. الیگونوکلئوتیدهای ویژه تثبیت شده روی ذرات مغناطیسی به محل‌های ویژه روی اسیدهای نوکلئیک در سلول تخریب شده اتصال یافته و به روش مغناطیسی جداسازی می‌شوند. اسیدهای نوکلئیک جداسازی شده از روی ذرات مغناطیسی شسته و برای کاربردهای زیستی آماده می‌شوند[۵۶].

۶-۲-۲- جداسازی پروتئین‌ها

در جداسازی پروتئین‌ها یک راهبرد ساده وجود ندارد. لیگاندهای مناسب روی ذرات مغناطیسی تثبیت شده، یا ذرات مغناطیسی روی بیوپلیمرهای مناسب برای آنزیم هدف آماده می‌شوند. نانوذرات ایمنومغناطیسی مانند نانوذرات مغناطیسی تثبیت شده بر آنتی‌بادی، به منظور جداسازی آنتی ژن هدف یا به روشی مشابه برای جداسازی پروتئین استفاده می‌شود. اغلب آنزیم‌ها با استفاده از شناساگرهای ویژه مانندکوفاکتورها، رنگدانه‌ها و یا لیگاندهای مناسب تثبیت شده با ذرات مغناطیسی، جداسازی می‌شوند [۵۷,۴۵].

۶-۲-۳- جداسازی سلول‌ها

جداسازی سلول‌ها و اجزاء سلولی به روش جداسازی مغناطیسی مستقیم و غیرمستقیم صورت می‌گیرد. روش دیگر بر اساس انتخاب سلول‌ها با برچسب مغناطیسی است. در روش جداسازی منفی اجزای انتخابی سلول با حذف دیگر اجزاء سلولی خالص‌سازی می‌شوند. این فرآیند نیاز به تماس مستقیم بین سلول‌ها و برچسب‌های مغناطیسی برای جداسازی سلول ندارد. در جداسازی مثبت، سلول‌های هدف به‌طور مغناطیسی برچسبدار شده و سپس از سوسپانسیون سلولی جداسازی می‌شوند [۵۸].

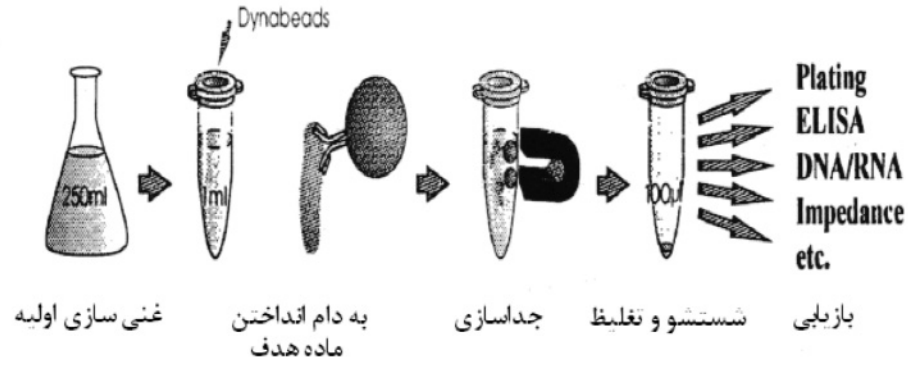
۶-۲-۴- جداسازی ترکیبات غیرزیستی پایدار

جداسازی ترکیبات غیرزیستی پایدار از نمونه‌های محیطی و بیمارستانی با استفاده از نانوذرات مغناطیسی امکان پذیر است. رنگدانه‌های تثبیت شده فتالوسیانین مس برای جداسازی ترکیبات مسطح مانند هیدروکربن‌های پلی آروماتیک با بیش از سه حلقه آروماتیکی، و برای رنگدانه‌های تری فنیل متان که هر دو از ترکیبات جهش‌زا و سرطان‌زا هستند، استفاده می‌شوند. همچنین جداسازی ایمنومغناطیسی برای ترکیباتی چون آفت‌کش‌ها و TNT و سموم استفاده شده است. جاذب‌های غیرویژه مانند زغال مغناطیسی برای جداسازی رنگدانه‌های محلول در آب استفاده می‌شود [۵۹]

۶-۳- جداسازی ایمنومغناطیسی(IMS)

اغلب روش جداسازی ایمونومغناطیسی[1] برای جداسازی سلول‌های پروکاریوت و ائوکاریوت استفاده می‌شود. در IMS از روش جداسازی مثبت و مستقیم استفاده می‌شود (شکل ۳) [۶۰].

1-Immunomagnetic Separation



شکل ۳-جداسازی ایمونومغناطیسی میکروارگانیسم هدف [۶۱]

روش غیرمستقیم در حالتی که سلول هدف دارای دانسیته پایینی از آنتی‌ژن در سطح خود هستند و یا در حالتی که از آنتی‌بادی مونوکلونال استفاده می‌شود، مناسب‌تر است. در این روش بازده حذف تا ۹/۹۹٪ نیز می‌رسد و سلول‌های آزاد باقی می‌مانند. نانوذرات و برچسب‌های مغناطیسی بر فعالیت سلول‌های جداشده اثر منفی نمی‌گذارند [۶۲].

یون‌های اوربیون و مگنتوفیتین به عنوان برچسب مغناطیسی برای سلول‌های پروکاریوت و ائوکاریوت نظیر نانوذرات مغناطیسی γ-Fe_2O_3 با اتصال به سطح Saccharomyces cervisiae، سلول را مغناطیسی کرده و برای جداسازی آماده می‌کند [۶۳]. برای سلول‌هایی مثل باکتری‌های مگنتوتاکتیک وگلبول‌های قرمزکه خود مغناطیسی هستند، جداسازی به طور مستقیم و بدون اصلاح مغناطیسی صورت می‌گیرد. جداسازی ایمنومغناطیسی در میکروبیولوژی، بیولوژی سلول و انگل شناسی بکار می رود:

۶-۳-۱- میکروبیولوژی

این روش در میکروبیولوژی برای جداسازی و ردیابی میکروارگانیسم‌های بیماری‌زا استفاده می‌شود. روش استاندارد در صنایع غذایی و میکروبیولوژی پزشکی دارای چهار مرحله وکل زمان آزمایش از نمونه‌گیری تا اندازه‌گیری نتیجه چند روز طول می‌کشد. جداسازی ایمنومغناطیسی زمان لازم برای ردیابی میکروب‌های بیماری‌زا را با جداسازی مستقیم سلول از محلول اولیه بسیار کوتاه‌تر می‌کند. تعداد زیادی از میکروارگانیسم‌ها قابلیت جذب برخی از یون‌ها و رسوبات را در سطح خود دارند. در مواردی که این یون‌ها مغناطیسی هستند جداسازی مغناطیسی برای حذف این میکروارگانیسم‌ها از محیط به‌کار می‌رود. این فرآیند در صنایع معدنی برای تصفیه پساب صنایع هسته‌ای و دیگر صنایع و نیز برای بازیافت فلزات با ارزش به کار می‌رود [۶۴]. باکتری‌های مگنتوتاکتیک نیز برای حذف یون‌های فلزات سنگین و مواد رادیواکتیو از آب استفاده می‌شوند [۶۵].

۶-۳-۲- انگل شناسی

در انگل شناسی گزارش‌های زیادی در زمینه جداسازی مغناطیسی انگل‌های تک‌یاخته وجود ندارد. Cryptosporidium و Giardia انگل‌هایی هستند که با استفاده از روش ایمونومغناطیسی جداسازی شده‌اند. حضور Cryptosporidium و Giardia در آب آشامیدنی باعث شیوع بیماری می‌شود. بنابراین نیاز به ردیابی این انگل‌ها برای حفظ حد آستانه حضور این انگل‌ها در آب به منظور تأمین سلامتی انسان ضروری است. با استفاده از صاف‌کردن و روش ایمونومغناطیسی این انگل‌ها از آب جداسازی می‌شوند. در حالتی که آب گل‌آلود نیست، روش ایمونومغناطیسی بهتر از دیگر روش‌های استاندارد نتیجه می‌دهد، ولی در آب‌های خیلی گل‌آلود حساسیت این روش کاهش می یابد[۶۷,۶۶].

۶-۴- تثبیت و اصلاح ترکیبات فعال زیستی

تثبیت ترکیبات فعال زیستی مثل آنزیم‌ها روی حامل‌های مغناطیسی، تسریع برداشت آن‌ها از سیستم یا هدایت آن‌ها به محل مطلوب را با استفاده از میدان مغناطیسی خارجی فراهم می‌کند. ترکیبات تثبیت شده شامل ترکیبات فعال زیستی، ترکیبات پایدار غیرزیستی، سلول و اجزاء سلولی، برای فعالیت‌های ویژه آنزیمی یا برای انتقال به مکان مطلوب (در داروها) اصلاح مغناطیسی می‌شوند. نانوذرات مغناطیسی تجاری زیادی به عنوان حامل‌های مغناطیسی در تثبیت به کار می‌روند برای مثال مگنتولیپوزوم‌ها برای تثبیت آنزیم‌های متصل به غشا و آنتی‌بادی‌ها و یا برای کپسوله‌کردن دارو استفاده می‌شوند. با تثبیت سلول روی حامل‌های مغناطیسی می‌توان آن را به عنوان زیست‌کاتالیست در فرآیندهای زیستی استفاده کرد. از سلول‌های Mycobacterium sp. تثبیت شده مغناطیسی برای تخریب زیستی کلسترول استفاده می‌شود و نیز سلول Sacharomyces cervisiae تثبیت شده مغناطیسی روی ژل آلژینات برای تولید اتانل به‌کار می‌رود [۶۸]. میکروارگانیسم‌های تثبیت شده بر ذرات مغناطیسی برای برداشت پیوسته و ناپیوسته فنل از آب آلوده

استفاده شده است [۶۹].

۶-۵- ایمنی‌سنجی مغناطیسی

ایمنی‌سنجی به وسیله واکنش‌های آنتی‌بادی-آنتی‌ژن در تعیین غلظت آنالیت‌ها برای تشخیص بیماری مفید است. آنتی‌بادی‌ها یا آنتی‌ژن‌ها روی فاز جامد شامل صافی‌ها، لوله‌ها، دیواره‌ها یا ستون‌های پلاستیکی تثبیت می‌شوند. از میکروکره‌های مغناطیسی در ایمنی‌سنجی برای افزایش حساسیت و سرعت ایمنی‌سنجی استفاده می‌شود. ایمنی‌سنجی مغناطیسی سریع‌تر بوده و ایمنی‌سنجی خودکار را فراهم می‌کند [۷۰]. از ایمنی‌سنجی مغناطیسی در ردیابی آنزیم‌ها، تعقیب رادیوایزوتوپ‌ها و مواد فلورسنت، شیمی پرتوتابی، اندازه‌گیری و تحلیل محیط مانند تعیین هیدروکربن‌های آروماتیک، تری نیتروتولوئن[1]، بنزن، تولوئن، اتیل بنزن و زایلن[2] در آب، خاک و غذا استفاده می‌شود. پایه ایمنی‌سنجی مغناطیسی بر اساس استاندارد ایمنی‌سنجی است، ولی در این حالت ماده هدف به وسیله ذرات سوپرپارامغناطیس یا حامل‌های مغناطیسی برچسبدار شده و مواد برچسب‌دار ردیابی و سنجش می‌شوند [۷۱].

۷- بحث و نتیجه گیری

استفاده از روش‌های زیست مغناطیسی در بسیاری از شاخه‌های علم توسعه یافته است. کاربرد حامل‌های مغناطیسی، جاذب‌ها، برچسب‌ها و اصلاح‌کننده‌های مغناطیسی یکی از راه‌های ابداعی مؤثر در فرآیند جداسازی مغناطیسی به ویژه جدا کردن ملکول‌ها و سلول‌های غیرمغناطیسی است. به واسطه خواص ویژه نانوذرات مغناطیسی و زمانی که روش‌های رایج جداسازی ناتوان یا خیلی پیچیده می‌شود، روش مغناطیسی می‌تواند کارآمد باشد. امکانات و وسایل مورد نیاز برای این روش‌ها در دسترس و ارزان است. استفاده از کروماتوگرافی ستون مایع استاندارد، روشی رایج در جداسازی و خالص‌سازی ترکیبات زیستی است. جداسازی مغناطیسی روشی نو و در حال توسعه است. این روش در بسیاری از شاخه‌های زیستی مانند بیولوژی سلولی، میکروبیولوژی، بیوتکنولوژی و غیره به‌کار می رود. این فناوری می‌تواند در دو مقیاس آزمایشگاهی، شامل جداسازی ترکیبات فعال زیستی، تحلیل‌های بیوشیمیایی و میکروبی، و نیز مقیاس صنعتی و کاربردهای بیوتکنولوژی مثل جداسازی ماکروملکول‌های خاص از محیط کشت و نیز پساب‌های شهری و صنعتی توسعه یابد. انتظار می‌رود که در آینده‌ای نزدیک جداسازی مغناطیسی به روشی توسعه یافته در زمینه جداسازی زیستی تبدیل و متداول شود، زیرا این روش ساده است و نیاز به تجهیزات کروماتوگرافی و صاف‌کردن موجود و سایر روش‌های کلاسیک ندارد و از نظر اقتصادی مقرون به صرفه‌تر از روش‌های معمول جداسازی و خالص‌سازی است. حوزه کاربردهای نانوذرات زیست‌مغناطیسی بسیار گسترده بوده و انتظار می‌رود که به عنوان یکی از روش‌های مهم جداسازی در هزاره سوم راه‌گشای مشکلات زیست‌فناوری و علوم زیستی شود.

1-TNT
2-BTEX

۸- مراجع

[1]- Heisenberg W., "The theory of magnetism", J. Phys., Vol. 49, pp. 619-636, (1928).

[2]- Aguilera-Navaro V. C., Llano M. D., Zimerman A. H., "The magnetic transition in the jellium model", J. Phys., Vol. 17, pp. 1297-1301, (1984).

[3]- Slater J. C., "The Ferromagnetism of nickel", J. Phys. Rev., Vol. 49, pp. 537-545, (1936).

[4]- Stoner E. C., "Collective electron ferromagnetism", J. Proc. R. Soc., Vol. A 165, pp. 372-414, (1938).

[5]- Blakemore R., "Magnetotactic bacteria", J. Science, Vol. 190, pp. 377-379, (1975).

[6]- Rosensweig R. E., "Fluid dynamics and science of magnetic liquids", Advances in Electronics and Electron Physics, Vol. 48, pp. 103-199, (1985).

[7]- Lowenstam H. A., "Magnetite in denticle capping in recent chitons (Polyplacophora)", J. Bull. Geol. Soc. Am., Vol. 73, pp. 435-438, (1962).

[8]- Craik D., "Magnetism: Principles and applications", John Wiley, New York, (1995).

[9]- Dunlop D. J. D, "Development in rock magnetism", Rep. Prog. Phys, Vol. 53, pp. 707-792, (1995).

[10]- Safarik I., Safarikova M., "Magnetic Nanoparticles and Biosciences", J. Monatsheft fur Chemie, Vol 133, pp. 737-759, (2002).

[11]- Dormann J. L., Bessais L., Fiorani D., "A dynamic tudy of small interacting particles", J. Phys., Vol. 21, pp. 2015-2034,(1988).

[12]- Moorjant K., Coey J. M.D., "Magnetic glasses", Elsevier, Amsterdam, (1984).

[13]- Bean C. P., Livingston J. D., "Superparamagnetism", J. Appl. Phys., Vol. 30, pp. 120S-129S, (1950).

[14]- Charles S. W., "Studies of magnetic properties of fine particles and their relevance to materials science", ed J. L. Dormann and D. Fiorani, Elsevier, Amsterdam, (1992).

[15]- Coey J. M. D., Venkatesan M., Fitzgerald C. B., Douvalis A. P., Sanders I. S., " Ferromagnetism of a graphite nodule from the canyon diablo meteorite", J. Nature, Vol. 420, pp. 156-159, (2002).

[16]- Sugimoto T., " Preparation of monodispersed colloidal particles", Adv. Colloid Interface Sci., Vol. 28, pp. 65-108, (1987).

[17]- Sugimoto T., Matijevic E., "Formation of. uniform spherical magnetite particles by crystallization from ferrous hydroxide gel", J. Colloid Interface Sci., Vol. 74, pp. 227-43, (1980).

[18]- Jolivet J. P., "Metal oxide chemistry and synthesis: From solutions to solid state", John Wiley, New York, US, (2000).
[19]- Hyeon T., "Chemical synthesis of magnetic nanoparticles", J. Chem. Commun., pp. 927-934, (2003).
[20]- Sun S., Zeng H., Robinson D. B., Raoux S., Rice P. M., Wang S. X., Li G., "Monodisperse MFe2O4 (M = Fe, Co, Mn) nanoparticles", J. Am. Chem. Soc., Vol. 126, pp. 273-279, (2004).
[21]- Pileni M. P., "Reverse micelles: a microreactor", J. Phys. Chem., Vol. 97, pp. 6961-6973, (1993).
[22]- Dyal A., Loos K.,Noto M., Chang S.W., Spagnoli C., Shafi K.V.P.M., Ulman A., Cowman M., Gross R.A., "Activity of Candida rugosa lipase immobilized on gamma-Fe2O3 magnetic nanoparticles", J. Am. Chem. Soc., Vol. 125, pp. 1684-1685, (2003).
[23]- Messing G.L., Zhang S., Jayanthi G.V., "Ceramic powder synthesis by spray pyrolysis", J. Am. Ceram. Soc., Vol. 76, pp. 2707-2726, (1993).
[24]- Tartaj P., González-Carreño T., Ferrer M. L., Serna C. J., "Metallic nanomagnets randomly dispersed in spherical colloids: Toward a universal route for the preparation of colloidal composites containing nanoparticles", J. Angew. Chem. Int. Ed., Vol. 43, pp. 6304-6307, (2004).
[25]- Matsunaga T., Okamura Y., Tanaka T., "Biotechnological application of nano-scale engineered bacterial magnetic particles", J. Mater. Chem., Vol. 14, pp. 2099-2105, (2004).
[26]- Skomski R., "Nanomagnetic", J. Phys. Condens. Matter., Vol. 20, pp. R841-R896, (2003).
[27]- Massart R., "Preparation of aqueous magnetic liquids in alkaline and acid media", J. IEEE Trans. Magn., Vol. 17, pp. 1247-1248, (1981).
[28]- Berkovski B., Bashtovoy V., "Magnetic fluids and applications handbook, Begell House, New York, (1996).
[29]- Sangregorio C., Wiemann J. K., O'Conner C. J., Rosenzweig Z., "A new method for the synthesis of. magnetoliposomes", J. Appl. Phys., Vol. 85, pp. 5699-5701, (1999).
[30]- Menager C., Cabuil V., "Synthesis of magnetic DDAB vesicles", J. Colloid Polym. Sci., Vol. 272, pp. 1295-1299, (1994).
[31]- Mosbach K., Andersson L., "Magnetic ferrofluids for preparation of magnetic polymers and their application in affinity chromatography", J. Nature, Vol. 270, pp. 259-261, (1977).
[32]- Ziolo R. F., Giannelis E. P., Weinstein B. A., Ohoro M. P., Ganguly B. N., Mehrotra V., Russell M. W., Huffman D. R., "Matrix-mediated synthesis of nanocrystalline gamma-Fe2O3- a new optically transparent magnetic material", J. Science, Vol. 257, pp. 219-223, (1992).
[33]- Safarikova M., Kibrikova I., Ptackova L., Hubka T., Komarek K., Safarik I., "Magnetic solid phase extraction of non-ionic surfactants from water", J. Magn. Magn. Mater., Vol. 293, pp. 377-381, (2005).
[34]- Safarikova M., Safarik I., "Magnetic solid phase extraction", J. Magn. Magn. Mater., Vol. 194, pp. 108-112, (1999).
[35]- Salata O., "Applications of nanoparticles in biology and medicine", J. Nanobiotechnology, Vol. 2, pp. 3-5, (2004).
[36]- Safarikova M., Safarik I., "Magnetic solid-phase extraction of target analytes from large volumes of urine", J. European Cells and Materials, Vol. 3, pp. 192-195, (2002).
[37]- Hofmann I., Schnolzer M., Kaufmann I., Franke WW., "Symplekin, a constitutive protein of karyo- and cytoplasmic particles involved in mRNA biogenesis in Xenopus laevis Oocytes", J. Biol. Cell., Vol. 13, pp. 1665-1676, (2002).
[38]- Schuster M., Wasserbauer E., Ortner C., Graumann K., Jungbauer A., Hammerschmid F.,Werner G., "Short cut of protein purification by integration of cell-disrupture and affinity-extraction Bioseparation", J. Bioseparation, Vol. 9, pp. 59-67, (2000).
[39]- Alche J. D., Dickinson K., "Affinity chromatographic purification of antibodies to a biotinylated fusion protein expressed in Escherichia coli", J. Protein Expr. Purif., Vol. 12, pp. 138-143, (1998).
[40]- Teotia S., Gupta M. N., "Purification of a-Amylases Using Magnetic Alginate Beads", J. Appl. Biochem. Biotechnol., Vol. 90, pp. 211-220, (2001).
[41]- Bruce I. J., Taylor J., Todd M., Davies M. J., Borioni E., Sangregorio C., Sen T., "Synthesis, characterisation and application of silica-magnetite Nanocomposites", J. Magn. Magn. Mater., Vol. 284, pp. 145-160, (2004).
[42]- Safarik, I., Safarikova, M., "Batch isolation of hen egg white lysozyme with magnetic chitin", J. Biochem. Biophys. Methods., Vol. 27, pp. 327-330, (1993).
[43]- Safarik I., Ptackova L., Safarikova M., "Large-scale separation of magnetic bioaffinity adsorbents", J. Biotechnol. Lett., Vol. 23, pp. 1953-1956, (2001).
[44]- Risoen P. A., Struksnes K., Myrset A. H., Gabrielsen O. S., "One-step magnetic purification of recombinant DNA-binding proteins using magnetizable phosphocellulose", J. Protein Expr. Purif., Vol. 6, pp. 272-277, (1995).
[45]- Safarik I., Safarikova M., "Magnetic techniques for the isolation and purification of proteins and peptides", J. Biomagnetic Research and Technology, Vol. 2, pp. 7-24, (2004).
[46]- Shinkai M., Honda H., Kobayashi T., "Preparation of fine magnetic particles and application for enzyme immobilization", J. Biocatalysis, Vol. 5, pp. 61-69, (1991).
[47]- Soda K., Kudo S., Sakaguchi T., Nakamura N.,

Matsunaga T., "Application of bacterial magnetic particles for highly selective mRNA recovery system", J. Biotechnol. Tech., Vol. 7, pp. 688-696, (1993).
[48]- Bucak S., Jones D. A., Laibinis P. E., Hatton T. A., "Protein Separations Using Colloidal Magnetic Nanoparticles", J. Biotechnol. Progr., Vol. 19, pp. 477-484, (2003).
[49]- Biomagnetic Techniques in Molecular Biology, Information booklet, Dynal, Oslo, Norway, (1998).
[50]- Lochmuller C. H., Ronsick C. S., Wigman L. S., "Fluidized-bed separators reviewed: a low pressure drop approach to column chromatography", J. Prep. Chromatogr., Vol. 1, pp. 93-108, (1998).
[51]- Chetty A. S., Burns M. A., "Continuous protein separations in a magnetically stabilized fluidized bed using nonmagnetic supports", J. Biotechnol. Bioeng., Vol. 38, pp. 963-971, (1991).
[52]- Burns M. A., Graves D. J., "Continuous affinity chromatography using a magnetically stabilized fluidized bed", J. Biotechnol. Progr., Vol. 1, pp. 95-103, (1985).
[53]- Larsson P. O., "Magnetically enhanced phase separation", J. Meth. En zymol., Vol. 228, pp. 112-117, (1994).
[54]- Wikstrom P., Flygare S., Grondalen A., Larsson P. O., "Magnetic aqueous two-phase separation: a new technique to increase rate of phase-separation, using dextran-ferrofluid or larger iron oxide particles", J. Anal. Biochem., Vol. 167, pp. 331-339, (1987).
[55]- Safarik I., "Use of magnetic techniques for isolation of cells", J. Chromatogr. Biomed. Sci. Appl., Vol. 722, pp. 33-53, (1999).
[56]- Mahtab R., Rogers J. P., Murphy C. J., "Protein-sized quantum dot luminescence can distinguish between straight, bent and linked oligonucleotides", J. Am. Chem. Soc., Vol. 117, pp. 9099-9100, (1995).
[57]- Nam J. M., Thaxton C. C., Mirkin C. A., "Nanoparticles-based bio-barcodes for the ultrasensitive detection of proteins", J. Science, Vol. 301, pp. 1884-1886, (2003).
[58]- Molday R. S., MacKenzie D., "Immunospecific ferromagnetic iron dextran reagents for the the labeling and magnetic seperation of cells", J. Immunol. Methods, Vol. 52, pp. 353-367, (1982).
[59]- Gutwein L. G., Webster T. J., "Affects of alumina and titania nanoparticles on bone cell function", J. American Ceramic Society 26 th Annual Meeting Cinference Proceedings (2003).
[60]- Cudjoe K. S., Hagtvedt T., Dainty R., "Immunomagnetic separation of Salmonella from foods and their detection using immunomagnetic particle (IMP)-ELISA", Int. J. Food Microbiol., Vol. 27, pp. 11-25, (1995).
[61]- Cell Separation and Protein Purification, Information booklet, Dynal, Oslo, Norway, (1996).
[62]- Cordell J. L., Falini B., Erber W. N., "Immunoenzymatic labeling of monoclonal antibodies using immune complexes of alkaline phosphatase and monoclonal anti-alkaline phosphatase (APAAPcomplexes)", J. Histochem. Cytochem., Vol. 32, pp. 219-229, (1984).
[63]- Safarik I., Safarikova M., "Cells isolation magnetic techniques", In: Encyclopedia of Separation Science (Wilson,I.D., Adlard,T.R., Poole,C.F., Cool,M., Eds.), Academic Press Ltd., London, (2000).
[64]- Bahaj A. S., Ellwood D. C., Watson J. H. P., "Extraction of heavy metals using microorganisms and high gradient magnetic separation", J. IEEE Trans. Magn., Vol. 27, pp. 5371-5374, (1991).
[65]- Bahaj A. S., James P. A. B., Croudace I. W., "Treatment of heavy metal contaminants using magnetotactic bacteria", J. IEEE Trans. Magn., Vol. 30, pp. 4707-4709, (1994).
[66]- Iacovski R. B., Barardi C. R. M., Oliveira Simões C. M., "Detection and enumeration of Cryptosporidium Oocysts in sewage sludge samples from the city of Florianópolis (Brazil) by using immunomagnetic separation combined with indirect immunofluorescence assay", J. Waste Management & Research, Vol. 22, pp. 171-176, (2004).
[67]- Mahbubani M. H., Schaefer F. W., Jones D. D., Bej A. K., "Detection of Giardia in environmental waters by Immuno-PCR amplification methods", J. Current Microbiology, Vol. 36, pp. 107-113, (2006).
[68]- Flygare S., Larsson P. O., "Steroid transformation using magnetically immobilized", J. Enzyme Microb. Tech., Vol. 9, pp. 494-508, (1987).
[69]- Ozaki H., Liu Z., Terashima Y., "Utilization of microorganisms. immobilized with magnetic particles for sewage and wastewater treatment", J. Water Sci. Technol., Vol. 23, pp. 1125-1136, (1991).
[70]- Meza M., Scientific and clinical applications of magnetic carriers, (Hafeli U., Schutt W., Teller J., Zborowski M. Eds), Plenum Press, New York, (1997).
[71]- Kriz K., Gehrke J., Kriz D., "Advancements toward magneto immunoassays", J. Biosens. Bioelectron., Vol. 13, pp. 817-823, (1998).