

T.C.
İNÖNÜ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

BİYOMEDİKAL MÜHENDİSLİĞİNDE YÜKSEK GRADYANTLI
MANYETİK ALANLARDA HÜCRE AYRIMI

BEYZA RÜZGAR

YÜKSEK LİSANS TEZİ

ELEKTRİK-ELEKTRONİK MÜHENDİSLİĞİ
ANABİLİM DALI

MALATYA
2006

Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürlüğü'ne

Bu çalışma Jürimiz tarafından Elektrik-Elektronik Mühendisliği Anabilim Dalında YÜKSEK LİSANS TEZİ olarak kabul edilmiştir.

Yrd. Doç. Dr. Müslüm Arkan

Başkan

Prof. Dr. Teymuraz Abbasov

Üye

Yrd. Doç. Dr. Ö. Faruk Özgüven

Üye

Onay

Yukarıdaki imzaların adı geçen öğretim üyelerine ait olduğunu onaylıyorum.

(imza)
Prof. Dr. Ali ŞAHİN
Enstitü Müdürü
...../...../.....

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

BİYOMEDİKAL MÜHENDİSLİĞİNDE YÜKSEK GRADYANTLI MANYETİK ALANDA HÜCRE AYRIMI

Beyza Rüzgar

İNÖNÜ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
Elektrik-Elektronik Mühendisliği Anabilim Dalı

96+viii sayfa

2006

Danışman: Prof. Dr. Teymuraz ABBASOV

Yüksek gradyantlı manyetik alanların Tıp ve Biyolojik alanlarda uygulama yerleri hızla gelişmektedir. Son 25 yılda manyetik ilaç hedeflendirilmesi ve immunomanyetik hücre seperasyonu Tıp ve Biyolojide etkin yöntemler olarak kullanılmaktadırlar. Bu yöntemlerin uygulama alanlarının artırılması için teori ve pratiğinin ileri düzeyde geliştirilmesi gerekmektedir.

Tezde esas taşıyıcı ortamlar olan manyetik mikrokürelerin elde edilmesi yöntemleri incelenmiş, bu parçacıkların fiziksel, kimyasal ve manyetik özellikleri verilmiştir. Immunomanyetik hücre seperasyonunun özellikleri, aygıtlar ve sistemleri sunulmuştur.

Ferromanyetik kürelerden oluşturulmuş dolgulu yataklarda oluşan yüksek gradyantlı alanların deneysel incelemeleri yapılmış, teorisi oluşturulmuştur. Güçlü manyetik alanlarda ($B \geq 1T$) ve zayıf manyetik alanlarda ($B \leq 0.1T$) oluşan alan gradyantı değerlendirilmiştir.

Manyetik ilaç hedeflendirme yönteminin temel prensipleri incelenmiş, bu yöntemin etkinliğinin artırılması metotları düşünülmüş ve farklı yüksek gradyantlı manyetik sistemler için olayın teorik incelemesi yapılmıştır.

Tez konusundaki deneysel incelemeler İnönü Üniversitesi Bilimsel Araştırma Birimi'nin desteklediği 2005/41 nolu proje kapsamında yapılmıştır.

Elde edilen sonuçlar Uluslar Arası Sempozyumda ve Ulusal Kongrede bildiri şeklinde sunulmuş ve bildirilerin tam metinleri yayınlanmıştır.

ANAHTAR KELİMELER: Yüksek gradyantlı manyetik alan, manyetik hedeflendirme, immunomanyetik seperasyon, manyetik mikroküreler, manyetik alan.

ABSTRACT

Master Degree Thesis

CELLS SEPARATION BY HIGH GRADEINT MAGNETIC FIELDS IN BIYOMEDICAL ENGINEERING

Beyza Rüzgar

Inonu University

Graduated School of Natural and Applied Sciences
Department of Electric and Electronic Engineer

96+viii pages

2006

Supervisor: Prof. Dr. Teymuraz Abbasov

Recently, applications of high gradient magnetic fields in the areas of medicine and nd biology sciences are increasing. In the last 25 years, immunomagnetic cell separation and magnetic drugs targeting have been used effectively in the medicine and biology sciences. To increase application field of these method theoretical and more practical studies have to be done.

In this thesis, method of obtaining magnetic microparticles, which are the main transporters elements, and their physical, chemical and magnetic properties are presented. Immunomagnetic cells separation properties, instruments and systems are given.

The effects of high gradient magnetic field on the filling beds by ferromagnetic spheres have been analyzed experimentally and its theory is developed. Gradient in high ($B \geq 1T$) and low ($B \leq 0.1T$) magnetic fields had been evaluated.

Basic principals magnetic drug targeting and method of increasing effectives of this technique have been investigated. For different high gradient magnetic systems theoretical analyses have been done.

Experiments, which were carried out for this research, supported by Inonu University Research Foundation, Research Project No: 2005/41.

The results of researches were published and presented in International symposium and National Congress.

Keywords: High gradient magnetic fields, magnetic targeting, immunomagnetig separation, magnetic microspheres, magnetic field.

TEŞEKKÜR

Bu çalışmanın her aşamasında yardım, öneri ve desteğini esirgmeden beni yönlendiren danışman hocam Sayın Prof. Dr. Teymuraz Abbasov'a, Elektrik-Elektronik Mühendisliği Bölüm Başkanı Sayın Prof. Dr. Z. Hafız Alisoy' a;

Destekleri ve yardımları için İnönü Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitü Müdürü Sayın Prof. Dr. Ali Şahin'e ve çalışanlarına;

Tez çalışmasında 2005/41 Nolu proje kapsamındaki deneylerin yapılması için gerekli ölçüm cihazlarının elde edilmesinde gösterdikleri yardım için İnönü Üniversitesi Bilimsel Araştırmalar Proje Birimi çalışanlarına;

Manyetik seperasyon ve manyetik separatörler konusunda her türlü yardımlarını gördüğüm Maden Mühendisliği Bölüm Başkanı Sayın Prof. Dr. Musa Sarıkaya' ya, Bölüm öğretim üyeleri ve laboratuvar teknisyenlerine;

Tezin Tıp ve Biyoloji konularında bana yardımcı olan Dr. Bilge Özgör'e, Uzm. Dr. Dinçer Özgör'e ve Dr. Yüksel Işık'a;

Tezin yazımı için Bilgisayarımı kullandığım sevgili arkadaşım S. Esra Kozanoğlu'na;

Ayrıca tüm hayatım boyunca olduğu gibi Tez çalışmalarım süresince de benden desteklerini esirgemeyen değerli Anneme, Babama, AİLE'me ve biricik yeğenim Meriç'e

Teşekkür ederim.

TABLULARIN LİSTESİ

Tablo[1.1]	Piyasada mevcut olan ve hücrelerin izolasyonu için manyetik ve süperparamanyetik parçacıkların özellikleri	22
Tablo[3.1]	Manyetik tekniklerle saflaştırılmış proteinaz ve peptidaz örnekleri	34
Tablo[3.2]	Manyetik teknikler kullanılarak lizozomların saflaştırılması	35
Tablo[3.3]	Polisakkarit ve disakkarit hidrolazın manyetik tekniklerle saflaştırılmasının örnekleri.....	36
Tablo[3.4]	Manyetik tekniklerle saflaştırılmış diğer enzimlerin örnekleri	37
Tablo[3.5]	Manyetik tekniklerle saflaştırılmış diğer antikor örnekleri	39
Tablo[3.6]	Manyetik tekniklerle saflaştırılmış DNA/RNA/oligonükleotit/aptamer bağlayan proteinlerin örnekleri	40
Tablo[3.7]	Manyetik tekniklerle saflaştırılmış Albümün ve hemoglobin örnekleri	41
Tablo[3.8]	Manyetik tekniklerle saflaştırılmış diğer proteinlerin örnekleri	42
Tablo[3.9]	Manyetik tekniklerle saflaştırılmış proteinlerin örnekleri	43
Tablo[3.1]	Ferromanyetik kürelerle dolu durumda elde edilen ölçüm sonuçları	56
Tablo[3.2]	Ferromanyetik kürelerle dolu durumda elde edilen ölçüm sonuçları	56
Tablo[4.1]	Fare, Rat ve insanda Manyetik İlaç Hedefleme için fizyolojik ve tekniksel parametreler	68
Tablo[4.2]	Manyetik sıvının infüzyonunu üzerinde normal bazal değer çapı	70

ŞEKİLLERİN DİZİNİ

Şekil [1.1]	Mikroemülsyon Yöntemiyle elde edilen maghemit parçacıkların görüntüsü7
Şekil [1.2]	Lazer proliziz kullanılarak maghemit manyetik nanoparçacıklar.....15
Şekil [1.3]	Yaklaşık 5 nm boyutlu maghemit nanoparçacığı hazırlamada kullanılan Lazer proliziz cihazının şematik gösterim.....15
Şekil [1.4]	Spray proliziz kullanılarak maghemit manyetik nanoparçacıkların görüntüsü 16
Şekil [1.5]	Maghemit nanoparçacıkların hazırlanmasında kullanılan spray proliziz cihazının şematik gösterimi.....17
Şekil [2.1]	E. coli O157 ' ye Dynabeads bağlı mikroparçacığın elektronmikroskobu Görüntüsü.....45
Şekil [2.2]	İmmunomanyetik seperasyon işlemiyle hedef mikro organizmaların ayırımın şematik gösterimi.....46
Şekil [2.3]	Dynabeads M-450 bağlı T-lökosit elektron mikroskobik görüntüsü.....47
Şekil [3.1]	Ferromanyetik kürelerle dolgulı yatakların mıknatıslanma kanallarının oluşması.....53
Şekil [3.2]	Mıknatıslanmış kürelerin oluşturulmuş zincirde teğet noktaları etrafında ölçülen manyetik alanın değişimi.....55
Şekil [3.3]	Kürelerle dolu durumda 27V gerilimde ve 0.15A akımda ölçüm sonuçları....57
Şekil [3.4]	Kürelerle dolu durumda 22V gerilimde ve 0.12A akımda ölçüm sonuçları....57
Şekil [3.5]	Kürelerle dolu durumda 19V gerilimde ve 0.1A akımda ölçüm sonuçları.....58
Şekil [3.6]	Kürelerle dolu durumda 17V gerilimde ve 0.09A akımda ölçüm sonuçları....58
Şekil [3.7]	Kürelerle dolu olamayan durumda 27V gerilimde ve 0.15A akımda ölçüm sonuçları.....59
Şekil [3.8]	Kürelerle dolu olamayan durumda 22V gerilimde ve 0.12A akımda ölçüm sonuçları.....59
Şekil [3.9]	Kürelerle dolu olamayan durumda 19V gerilimde ve 0.1A akımda ölçüm sonuçları.....60
Şekil [3.10]	Kürelerle dolu olamayan durumda 7V gerilimde ve 0.09A akımda ölçüm sonuçları.....60
Şekil [3.11]	1.5cm uzaklığı sabit tutularak farklı akım ve gerilim değerlerine (27V, 0.15A- 22V,0.12A- 19V, 0.1A- 17V,0.09A) göre çizilen B-H grafiği.....61
Şekil [4.1]	Ferro sıvı infüzyonu süresince mikrovasküler çapın 10 dakikada Na-nitroprusit ile maksimum genişlemesinin grafiği..... 71
Şekil [4.2]	Ferromanyetik kürelerin kan damarlarına göre yerleştirilmesi..... 77
Şekil [4.3]	Parçacıkların damar duvarlarına çöktürülmesi olayının zamanla değişimi.....79
Şekil [4.4]	Ferromanyetik tellerin kan damarlarına göre yerleştirilmesi.....80

SİMGELER ve KISALTMALAR

ab	Antikor
B	Manyetik alan indüksiyonu
H	Manyetik alan şiddeti
μ	Manyetik geçirgenlik
γ	Yatak dolgu elemanın hacimsel oranı
ζ	Parçacığın çapı
λ	Manyetik alınganlık
F_m	Manyetik alan kuvveti
F_d	Sürüklenme kuvveti
W	Enerji
v	Parçacığın hızı
CTAB	Setil trimetil amonyumbromit
DDAB	Didodesil dimetil amonyum bromit
ELISA	Enzyme-linked immunosorbent assay (Enzim Bağlı İmmuno Sorbent Örneği)
GVHD	Graft versus host disease
Mab	Monoklonel antikor
MDT	Magnetic Drug Targeting (Manyetik İlaç Hedefleme)
MIPA	Magnetik İmmuno PCR Assay
MRI	Manyetik rezonans görüntüleme
MSFB	Magnetic stable fluid bed (Manyetik Kararlı Sıvılı Yataklar)
NaAOT	Sodyum 2-etilheksil sülfosüksinit
NMR	Nuclear magnetic resonance (Nükleer Manyetik Rezonans)
IMS	İmmunoManyetik Seperasyon
SQUID	Superconducting Quantum Interface Device
PCR	Polymerase Chain Reaction (Polimer zincir reaksiyonu)
PVA	Polivinil alkol
RBC	Red blood cell (Kırmızı Kan Hücreleri)

İÇİNDEKİLER

ÖZET	i
ABSTRACT	ii
TEŞEKKÜRLER	iii
TABLoların LİSTESİ	iv
ŞEKİLLERİN LİSTESİ	v
ŞİMGELER VE KISALTMALAR	vi
İÇİNDEKİLER	vii
TEZİN AMACI VE KAPSAMI	1
1.1. MANYETİK NANOPARÇACIKLARIN SENTEZİ	4
1.1.1. Asal Gaz Yoğunlaştırma Yöntemi	4
1.1.2. Suyun Yağda Mikroemülsiyon Yöntemi	6
1.1.3. Organik/Polimerik İşaretçiler Metodu	10
1.1.4. Sono Kimyasal Sentez Metodu	12
1.1.5. Hidrotermal Sentez Metodu	13
1.1.6. Proliziz Metodu	14
1.1.7. Ark Boşalma Tekniği	17
1.1.8. Elektriksel Çökme Metodu	18
1.1.9. Mekaniksel Alaşım Metodu	18
1.2. TİCARİ OLARAK MEVCUT OLAN MANYETİK VE SÜPERPARAMANYETİK PARÇACIKLAR	20
2. HÜCRELERİN MANYETİK SEPERASYONUNUN GERÇEKLEŞTİRME PROSEDÜRÜ	23
2.1. İMMUNOMANYETİK SEPERASYONLAR	24
2.2. HÜCRELERİN MANYETİK SEPERASYONU	27
2.2.1. Proteinler ve Petitlerin İzolasyonu ve Saflaştırılması İçin Manyetik Teknikler	27
2.2.2. Gerekli Olan Materyaller ve Cihazlar	29
2.2.3. Protein ve Peptitlerin Manyetik Seperasyonu İçin Temel Prensipler	31
2.2.4. Protein ve Peptitlerin Manyetik Seperasyonunun Özellikleri	33
2.3. MİKROBİYOLOJİDEKİ UYGULAMALARI	44
2.4. TIP VE HÜCRE BİYOLOJİSİNDEKİ UYGULAMALARI	46
2.5. PARASİTOLOJİDEKİ UYGULAMALARI	47
3. MİKROBİYOLOJİDEKİ UYGULAMALARI	49
3.1. MİKROBİYOLOJİDEKİ UYGULAMALARI	50
3.2. YÜKSEK GARDYANLI MANYETİK ALANLARIN OLUŞTURULMASI VE BU ALANLARIN LABORATUAR DENEYLERİNİN YAPILMASI	54
3.3. MATERYAL YÖNTEM	55
3.4. SONUÇLAR VE TARTIŞMA	61
4. MANYETİK HEDEFLEME YÖNTEMİ	66
4.1. MANYETİK İLAÇ HEDEFLEMEDE FİZYOLOJİK YÖNLER	66
4.2. MANYETİK İLAÇ HEDEFLEMENİN GENEL YÖNLERİ	67
4.3. RAT DENEYLERİ	68
4.4. FARE DENEYLERİ	71
4.5. HASTA DENEYLERİ	72
4.5.1. Seçilme Kriteri	72
4.5.2. Çalışma Düzeni Ve Tedavi Planı	72

4.6.	MIKNATISLANMIŞ FERROMANYETİK KÜRELERDEN OLUŞTURULMUŞ YÜKSEK GRADYANLI MANYETİK ALANDA HEDEFLENDİRME YÖNTEMİ	74
4.7.	MIKNATISLANMIŞ FERROMANYETİK TELLERDEN OLUŞTURULMUŞ YÜKSEK GRADTYANLI MANYETİK ALANDA HEDEFLENDİRME YÖNTEMİ	76
4.7.1.	Mıknatıslanmış Ferromanyetik Kürelerin Oluşturduğu Yüksek Gradyantlı Manyetik Alanda Hedeflendirme Yöntemi.....	76
4.7.2.	Mıknatıslanmış Ferromanyetik Tellerden Oluşturulmuş Yüksek Gradyantlı Manyetik Alanda Hedeflendirme Yöntemi	79
5.	SONUÇLAR VE ÖNERİLER.....	83
	KAYNAKLAR	85
	EKLER	90
	ÖZGEÇMİŞ.....	96

1.TEZİN AMACI VE KAPSAMI

Yüzyıllar önceden başlayan elektromanyetik olayların Tıp ve Biyolojideki potansiyel imkanlarının tartışmaları zaman zaman bilimsel araştırmaların hızlanmasına, gelişmesine, yeni bilimsel bulguların elde edilmesine, zamanla hayal kırıklıklarına ve hatta spekülasyonlara neden olmuştur [1]. Fakat 1885 yılında W.C. Röntgen tarafından elektromanyetik ışımaya (X-Ray) bulunduktan sonra elektromanyetizmanın Tıp dünyasına girişine yol açmıştır [1]. Günümüzde ise elektrotomografi, SQUID (Superconducting Quantum Interface Device), manyetik rezonans görüntüleme (MRI), manyetik tomografi gibi yüksek seviyeli teknolojilerin olmaması halinde Tıp ve Biyolojik incelemelerin yapılması imkansız hale gelmiştir.

Bu Lisansüstü Tez çalışmasının esas amacı manyetizmanın Tıp ve Biyolojide kullanılabilir yeni yöntemlerin incelenmesi, değerlendirilmesi ve tıbbi yöntemlerin teori ve pratiğinin geliştirilmesidir.

Manyetizma olaylarının Tıp ve Biyolojide etkin uygulamasının yeni yöntemler olarak iki esas yöntemin incelenmesi amaçlanmıştır:

1. Manyetik hedeflendirme,
2. İmmunomanyetik hücre seperasyonu.

Geniş kapsamlı literatür [1,2] taranması sonucu bu yöntemlerin Tıp ve Biyolojik incelemelerde hem teorik hemde pratik uygulamalarının hızla geliştiği saptanmıştır. 2005 yılının sonlarını da kapsayan bu çalışmaların incelenmesinden aşağıdaki sonuçlar elde edilmiştir:

1. Yüksek Gradyanlı Manyetik alanlar manyetik hedeflendirilme, immunomanyetik hücre seperasyonu ve kırmızı kan hücrelerin (RBC) ayırıştırma işlemlerinde esas faktör olarak kullanılmaktadır.
2. Manyetik hedeflendirme, immunomanyetik hücre seperasyonu ve kırmızı kan hücrelerin (RBC) ayrışımında kullanılan yüksek gradyanlı manyetik alan esasen mıknatıslanmış ferromanyetik tellerin oluşturduğu alanlardır. İncelemelerde bu alanların yeterince etkin olmadıkları saptanmıştır.
3. Manyetik hedeflendirme, immunonayetik hücre seperasyonu işlemlerinin etkinliği manyetik taşıyıcıların-mikrokürelerin özelliklerine bağlıdır. Bu mikro kürelerin en önemli özelliği Tıp ve Biyolojik açıdan uyumlu olmasıdır.

4. Manyetik hedeflendirme ve immunomanyetik hücre seperasyonu yöntemlerinin geliştirilmesi kapalı kanser bölgelerin tedavisi, kan- damar tedavileri, tüp bebek implantasyonu gibi işlemlerin etkinleştirilmesine imkan sağlayacaktır.

Bütün bu incelemeler ve değerlendirmeler Tez bitirme çalışmasında aşağıdaki problemlerin incelenmesi ve çözülmesi zaruriyetini ortaya koymuştur.

1. Yüksek gradyanlı manyetik alanların özelliklerinin incelenmesi için laboratuvar düzeneğinin tasarlanması ve yapılması. Bu amaçla İnönü Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimine uygun proje ile başvurmak.
2. Manyetik hedeflendirme, immunomanyetik seperasyon işlemlerinde temel faktörlerden olan biyolojik manyetik mikrokürelerin sentezi ve özellikleri hakkındaki bilgilerin toplanması ve sistem haline getirilmesi.
3. Ferromanyetik kürelerden oluşturulmuş yüksek gradyanlı manyetik ortamların oluşturulması, bu alanların ölçülmesi ve sonuçların değerlendirilmesi.
4. Ferromanyetik kürelerden oluşturulmuş dolgulu yatakların mıknatıslanma özelliklerinin belirlenmesi ve bu olayların teorik bazının oluşturulması.
5. Manyetik ilaç hedeflendirmesi yönteminin teorik modelinin oluşturulması.
6. Yüksek gradyanlı manyetik alanda kırmızı kan hücrelerinin (RBC) davranışının deneysel olarak incelenmesi ve değerlendirilmesi.
7. Türkiyede ve Uluslararası arenada bu konunun yeni olması ve halen şekillenmekte olduğu dikkate alarak elde edilen sonuçların en az bir Uluslararası ve/veya Ulusal kongrede sunulmasını sağlamak.

Tez kapsamında problemlerin çözümü aşağıdaki sırada verilmiştir.

1. Bölümde Tıp ve Biyolojide kullanılan manyetik mikrokürelerin sentezi, özellikleri ve temel uygulama alanları verilmiştir.
2. Bölümde immunomanyetik hücre seperasyonu yönteminin özellikleri, bu yöntemin teorisi ve pratiğinin günümüzdeki durumunu, temel uygulama alanlarını ve ilerideki gelişme yönleri sunulmuştur.
3. Bölümde ferromanyetik kürelerden oluşturulmuş dolgulu yatakların özellikleri, bu yataklarda oluşan yüksek gradyanlı manyetik alanın ölçülmesi ve değerlendirilmesi yapılmıştır. Bu yüksek gradyanlı manyetik alanın teorik modeli oluşturulmuştur.
4. Bölümde manyetik hedeflendirme yönteminin temelleri, fizyolojik özellikleri ve prensipleri verilmiştir. Kan damarlarında ilaç hedeflendirilmesinde ferromanyetik küre ve/veya tellerden yapılmış yüksek gradyanlı manyetik alanda hedeflendirme işleminin teorik modelleri oluşturulmuştur.

5. Ek kısmında Tez çalışmalarından ve İnönü Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimince desteklenen 2005/41 nolu proje kapsamındaki çalışma sonuçlarından oluşturulmuş Uluslar arası ve Ulusal kongerlerde sunulan bildirilerin tam metinleri ve kullanılan kaynaklar verilmiştir.

1.1 MANYETİK NANOPARÇACIKLARIN SENTEZ YÖNTEMLERİ

Üretimi yapılan manyetik materyallerin sentez metotlarını nano metrik skalada iki sınıfa ayırabiliriz: Kimyasal metotlardan moleküler işaretçiler ve bulk işaretçilerin işlenmesiyle elde edilen sentez metotlarıdır [1–6].

Örnek olarak mekaniksel aşınma, nano yapılı materyaller, asal gaz yoğunlaştırılması, proliziz, amorf işaretçilerin kristalizasyonu, mekaniksel alaşımlaşma, elektrolit üretimi, plazma çökeltme ve çeşitli solüsyon teknikleri ile etkin şekilde elde edilmektedir. Metalik demir, kobalt, nikel ve bunların alaşımları, yumuşak ve sert ferritler, ferrosivilar ve nano bileşikleri içeren manyetik materyallerin birçok tipi bu teknikler kullanılarak sentez edilmektedir. Nanoparçacıkların ve nano bileşiklerin hazırlanması için üzerinde durulan sentez metotlarında çok tabakalı manyetik materyaller geniş bir şekilde kullanılmaktadır.

Kimyasal metotlar ve solüsyon rotaları nano parçacık ve nano bileşiklerin fabrikasyonunda geniş bir şekilde kullanılmaktadır. Bunlardan en sık kullanılanlar çöktürme, indirgenme, proliziz, aerogel-xerogel işlemleri, ters misel mikroemülsiyondur. Bu reaksiyon tipleri daha az maliyete sahip olduğundan daha yaygındır. Elde edilen aynı büyüklüğe sahip nanoparçacıkların manyetik özelliği üzerinde büyük etkiye sahip olan fabrikasyon teknikleri uygulanmıştır. Örnek olarak spinel ferritlerin fabrikasyon ısısı, sadece boyut ve parçacıkların morfolojisine göre değil ayrıca tetrahedral ve oktahedral yapıların manyetik iyonların reel dağılımını etkilemektedir. Sonuç olarak manyetik özellikleri önemli bir şekilde değiştirebilir. Bazı kimyasal teknikler parçacıkların boyut ve boyut dağılımı üzerinde önemli kontrolü sağlar. Bu bölümdeki araştırmalar son zamanlardaki nano yapılı manyetik materyallerin hazırlanarak kullanılan sentez tekniklerinin uygulamalarını incelemektedir.

1.1.1 Asal Gaz Yoğunlaştırma Yöntemi

Süpersaturasyonlu kabarcıktan asal gaz yoğunlaştırılmasıyla nano yapılı materyallerin üretilmesindeki ilk metotlardandır. Asal gaz yoğunlaştırılması süresince uçucu monomerlerin soğuk asal atomlarının çarpışmaları sonucu küme içerisinde toplanırlar. Bu teknik nano boyutlu elementleri, alaşımları, bileşimleri ve bileşiklerin hazırlanmasında kullanılır. Bu teknik birçok avantaja sahiptir. Nanoparçacıklarda yüksek saflık sağlayabilmektedir ve kaplama ve film üretiminde doğrudan kullanılmaktadır. Bu tekniğin dezavantajı ise çok çeşitli nano yapılı materyallerin daha basit kimyasal metotlar ile üretilebilirken bu yöntemle üretilmesi daha zordur. Nanoparçacıkların kabarcıktan üretiminde gerekli olan

süpersaturasyonu meydana getirmelidir. Termal buharlaşma, püskürtme, elektron huzmeli buharlaşma veya lazer eritmeyi içeren süpersaturasyonlu kabarcık bu metotta kullanılır. Son zamanlardaki kabarcıkla-yoğunlaştırma işlemleri kullanılarak çalışılan bazı metotlardan burada bahsedilmektedir.

Asal gaz yoğunlaştırma metodu kullanarak hazırlanan Fe, Co ve Ni nanoparçacıkları birçok farklı yüzey oksidasyonlara sahiptir. Asal gaz yoğunlaştırma tekniği ile hazırlanmış örnekler üzerindeki yüzey oksidasyonu ve metal küre arasındaki manyetik etkileşimi çalışmaları için birçok araştırmalar yayınlanmıştır [7,8]. Tipik olarak 1 Torr'daki yüksek saflıktaki Helyum gazının içine 1500°C'deki tungsten teknesi içinde buharlaştırılmış demir ile demir nanoparçacıkları hazırlanmıştır. Çarpışmanın üzerinde asal gaz atomları buharlaşmış atomlar soğuk kol üzerinde toplanan ultra ince tozlar gibi atomlar kinetik enerji kaybetmiştir ve yoğunlaşmışlardır. Odayı havaya açmadan önce bir doz oksijen ile pasifleştirme gerçekleşmiştir. Demir oksitle kaplanmış demir parçacıklar düşük sıcaklıktaki çalışmalarında spin-glass durumundaki ferromanyetik küre ile demir oksidi arasındaki anizotropideki değişiminin etkisini oluşturduğunu açığa çıkarmıştır [7]. X-ray difraksiyonu amorf sentezlenmiş örneklerin oksit kabuklarını gösterir. 300°C ve üzerindeki sıcaklıkta sonraki tavlama 4–10 nm kalınlıktaki demiroksit ile sonuçlanmıştır. Böylece (α -Fe/ γ -Fe₂O₃, Fe₃O₄) küre-kabuk yapı şekli manyetik kublaj ile çalışılarak kullanılabilir [8].

Geleneksel asal gaz yoğunlaştırma tekniğini kullanarak bir şekilde çok miktarda ultra ince parçacıklar üretmek zordur. Son zamanlarda geniş skaladaki Fe, Ni ve Fe-Ni alaşımların (20-30nm) ultra ince parçacıkların sürekli hazırlanmasında kullanılan aktive edilmiş hidrojen plazma- eritme metal reaksiyon metodu diye adlandırılan değiştirilmiş metotlar kullanılmaktadır [9]. Bu metotta oluşan parçacıkları kolektöre taşıyan H₂ ve Ar gaz karışımının içine buharlaşmış metaller boşaltılır. Fe-Ni ultra ince parçacıkların Fe ve Ni parçacıkların oksidasyonundan daha fazla direnç gösterdiği elde edilmiştir. Demir oksit ve gümüş nano bileşiklerin asal gaz yoğunlaştırılmasıyla fabrikasyonu yapılmıştır[10]. Bu işlem

1. Gümüş ve demirin Helyum gazı içindeki birlikte buharlaşması,
2. Demir parçacıkların hücre içi oksidasyonu,
3. Parçacıkların hücre içi yoğunlaşması,
4. Tavlama sonrasında asal veya atmosferin oksitlenmesini içerir.

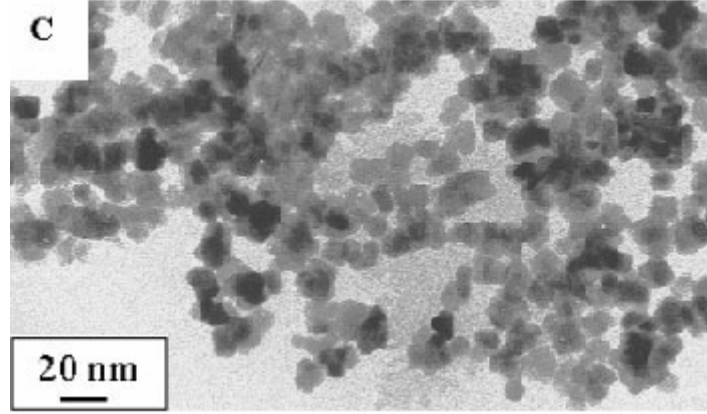
0.1 ve 10 Torr arasındaki helyum gaz basıncı değişimiyle nanoparçacıkların boyutunun kontrolünü sağlayabilmektedir. 10 nano metrik parçacıklar 0.1 Torr'da elde edilmiştir. Sonraki tavlama sonrasında γ -Fe₂O₃ gibi manyetik türler belirlenir, buna karşın kompakt olan

küçük toplar gibi ve serbest tozlar gibi Fe ve Fe₄O₃ bir araya gelirler. 150°K'den büyük bloklama ısılarında nano bileşikler süperparamanyetiktir.

Odadaki reaktan gaza bağlı olan çeşitli metal oksit ve oksit karbit nanoparçacıkların üretiminde buhar odasındaki difüzyonun kontrolü yoğunlaşma ile metal hedeflerin lazer ile buharlaştırılması oluşturulmaktadır [11]. Yaklaşık olarak 10⁶–10⁷ Wcm⁻² akı yoğunluğundaki yüksek enerjili darbe lazeriyle metal hedefler üzerine odaklanır. Darbe lazerden sonra mikro saniyeler içinde (10 Torr basınca eşit durumda) plazma sonuçları yüksek verimli buharlaşmaya neden olur, böylece yerel atom kabarcıkların yoğunlukları 10¹⁸ atomcm⁻³ aşar. Yarıçapları yaklaşık 6 nm olan (γ-Fe₂O₃, Fe₃O₄) demir oksit nano parçacıkların farklı oksijen konsantrasyonlarındaki helyum içeren atmosferin içine demir lazer buharlaştırması ile hazırlanmaktadır. 50° K ve oda sıcaklığı üzerindeki sıcaklık aralığında bloklama sıcaklığındakilerin hepsi süperparamanyetiktir. Lazer buharlaştırmasının en önemli avantajı ise (10⁻⁸s) gibi çok kısa zamanda yüksek yoğunluklu metal parçacıkların üretim olasılığıdır ve parçacıkların doğrudan çökertilmesi metal hedeften yönlü yüksek hızlı metal kabarcıklar yaratılır. Fe, Ni ve Fe-Ni alaşımların (20–30 nm)ultra ince parçacıkların aktif edilmiş hidrojen plazma metotta kullanılarak geniş skalada elde edilmiştir. Bu metotta H₂ ve Ar gaz karışımının sirkülasyonu içinde ark boşalması ile metaller buharlaştırılmıştır. Fe-Ni ultra ince parçacıklardan oksidasyona karşı daha büyük rezistans göstermişlerdir.

1.1.2 Suyun Yağda Mikroemülsiyon Yöntemi

Suyun yağ içinde mikro emülsiyon tekniği kullanılarak nanoparçacıkların sentezi ilk olarak 3–5 nm asil metal parçacıklar hazırlayan Boutannet tarafından 1982'de yayınlanmıştır [12]. Gümüş halojen bileşiği, süper iletkenler ve manyetik oksit nanoparçacıklar gibi çeşitli nano yapıları materyallerin sentezinde ters misel reaksiyonu olarak da bilinen yağın sudaki mikro emülsiyonu kullanılmaktadır [13]. İnorganik tuzları çözmeyen ve tutabilen surfaktan ile organik fazda nano damlamasıyla ters misel ile sürdürülmektedir. Kimyasal reaksiyon ve suyun uzaklaştırılmasından sonra inorganik tuzlar çözmeyen nanoparçacıklara çevrilirler. Arzu edilen ürüne bağlı olarak çökeltme veya indirgenme kimyasal reaksiyonları ters miselde oluşabilen kimyasal reaksiyonlardır.



Şekil 1.1 Mikroemülsiyon Yöntemiyle elde edilen maghemit parçacıkların görüntüsü [14]

Çökeltme reaksiyonunda karışım üzerinde birbirleriyle ilişkiye giren çökelti ögelerinden oluşan iki ters miselden oluşur. Bu sonuçlar çökelti formunda görülür. Diğer taraftan sodyum boronhidrit veya hidrazin gibi indirgenler eklenerek metalik nanoparçacıklar ters miselin sulu fazındaki metal katyonları indirgenebilir. En çok kullanılan surfaktanlar ise sodyum 2-etilheksil sülfosüksinit (NaAOT), setil trimetil amonyumbromit (CTAB) ve didodesil dimetil amonyum bromit (DDAB). Bu metodun avantajı parçacık boyutu, yayılımı ve şeklinin kontrolünü sağlayan mikroemülsiyon sistemleri, ters misel ile kimyasal ve fiziksel özelliklerinin kontrolünün sağlanmasıdır.

Manyetik oksit nanoparçacıkların sentezi için çökeltme reaksiyonları ve ters misel kalıpları çok uygundur. Farklı mikroemülsiyon sistemleri kullanarak hegzagonal boryum ferrit ($\text{BaFe}_{12}\text{O}_{19}$) nanoparçacıklar birkaç grup ile sentezi yapılabilir. Baryum ferrit sentezi çökelti nanoparçacıkların işaretçileri ve baryum ferrit işaretçilerinin kireçlenmesi gibi iki adımı içerir. Tipik olarak 5–15 nm boyutlu karbonat işaretçilerinin aynı anda çökmesi için mikro reaktörler (tipik olarak 5–25 nm boyutlu) sulandırılmış küreler kullanılmıştır. Bunlar su-CTAB-n-bütanol-n-oktan sistemine Pillai tarafından uygulanmıştır [13]. Baryum ferrit nanoparçacıklardan 950°C üzerinde karbonat formları ayrıştırılmış, kurutulmuş ve yanmıştır. Dar alan yayılımı ile baryum ferrit nanoparçacıkları alkolün yağ içinde mikroemülsiyon sistemlerinden sentezi yapılmıştır [15]. Bu sistemlerde $\text{Fe}(\text{AOT})_2$ ve $\text{Ba}(\text{AOT})_2$ surfaktanlardan metal iyonları sağlanmıştır. Sulu olmayan çevre sitoksimetrisi aynı anda oluşan çökelmeye katkıda bulunurken, ters misel yapısıyla monodisperse, iyi kazançlı Ba-Fe oksalat işaretçileri sağlama alınmıştır. 950°C üzerinde veya kireçleme oksalat ile saf baryum ferrit parçacıkları elde edilmiştir.

γ -Fe₂O₃ ve MFe₂O₄ (M=Fe, Co, Ni ve Mn) temel ferrit nanoparçacıkların serisi ters misel metodu kullanılarak hazırlanmaktadır. Su-Fe(II) dodesil sülfat sistemleri reaktan konsantrasyonlarının kontrolüyle 2-5nm kobalt ferrit parçacıklarını Pileni sentezini yapmıştır [16,17]. Bu metodu kullanarak kuru tozdan veya ferro sıvılardan uzaklaştırılan parçacıkları elde etmek mümkündür. Azaltılmış toplam reaktan konsantrasyonundan parçacıkların boyutu küçültülmektedir.

Kobalt ferrit parçacıklarının manyetik davranışı ferro sıvılarda olduğu gibi kuru tozdan tamamen farklılaşmıştır, çünkü parçacıklar arasındaki ilişki çok kuvvetlidir. Azaltılmış kalıntı Mr/Ms ve koversivite, Hc, artan yumuşatma sıcaklığı ile artırıldığını manyetik ölçümler göstermektedir. Bu parçacık boyutunun artışında dev absorbent surfaktan parçacığının yüzeyinin açığa çıkmasında katkıda bulunmaktadır. Ters misel sistemleri metal sulu AOT-izooktan solüsyonu kullanarak ortalama boyutu 5nm olan Fe₃O₄, CoFe₂O₄ ve MnFe₂O₄ nanoparçacıklarını OIConnr grubu tarafından sentezlenmiştir [18,19]. Bir tipik NH₄OH-AOT solüsyonuna ters misel sistemleri eklenirken Mn⁺², Fe⁺²-AOT izooktan sistemler karıştırılırken MnFe₂O₄ hazırlanmasında kullanılır. Metal oksitler nano boyutlu misellerdeki ferrit oksitlenir ve çöktürülür. H₂O₂ solüsyonuna veya aşırı sulandırılmış (NH₄OH) amonyum solüsyonu basitleştirir. H₂O₂ veya fazla miktardaki NH₄OH solüsyonundaki manganez konsantrasyonu artırırken NH₄OH'un sitoksimetri miktarının kullanılması sitoksimetri manganez ferrit üretir [19].

Ferrit kristalini geliştirme girişimlerinde John ve arkadaşları organik hidrojel içeren su-AOT-lesitin-izooktan ters misel sistemlerinden 15-25 nm γ -Fe₂O₃ ve CoFe₂O₄ parçacıkların sentezini geliştirmişlerdir [20]. Kristal yetiştirilmesi süresince jel ortamında demir türlerinin yavaş difüzyonun yüzünden nanoparçacıklar daha çok kristalleşir ve böylece bunların koversitizesi aynı boyutlu ters misel sistemlerinde hazırlanan parçacıkların koversitesinden daha yüksektir.

Metal ve alaşım nano parçacıkları ters miselde demir indirgenme ile sentez edilmektedir. Cu, Co ve Fe-Cu alaşımları Fe(AOT)₂, Co(AOT)₂ ve Cu(AOT)₂ fonksiyonel surfaktan olarak adlandırılan indirgenler Pileni tarafından sentezlenmiştir. (2-12nm) Cu parçacıkları Cu(AOT)₂-Na(AOT)-su-izooktan dörtlü yakıt sistemi ve indirgen olarak kullanılan hidrazine ile sentezlenmiştir [21]. Saf Cu parçacıkları şekli ve boyutu surfaktan sistemindeki mezofaz yapısıyla kuvvetli şekilde bağlantılıdır. Küresel Cu parçacıklarının boyutu suyun surfaktana olan oranının ([H₂O]/[AOT]) artmıştır. Sonraki çalışmalar bakır parçacıklarının şekillerinin su-izooktan solüsyonundaki Cu(AOT)₂'nin hidrazin ile reaksiyonu sırasında ([H₂O]/[AOT]) oranının değişimiyle kontrol edildiğini göstermiştir [22].

($[H_2O]/[AOT]$) oranının çok düşük ve çok yüksek olduğu zaman parçacıklar bazı orta derecedeki oranlarda oluşma eğilimindedir. Bu oluşum sürekli fazdandır.

Büyüme önleyici oksit formunun sonucunda su içeriğinin artmasıyla boyutu azalan Co nano parçacıklarını hazırlamada indirgeyici ajan olan $NaBH_4$ ile $Co(AOT)_2-Na(AOT)$ -su-izooktan dördümlü yakıt sistemi kullanılmıştır [21]. Fe-Cu alaşımlarının nano parçacıkları $Fe(AOT)_2-Cu(AOT)$ -izooktan ters misel reaksiyonu ile sulu $NaBH_4$ solüsyonunun arasındaki reaksiyon ile şekillenir [21]. $Fe(AOT)_2$ -izooktan ters misel reaksiyonu ve sulu $NaBH_4$ solüsyonu arasındaki reaksiyon ile şekillenen $Fe_{1-x}B_x$ amorf alaşımlar ile bcc α -Fe (10-100nm) parçacıklarıyla kaplanır [23].

Ek olarak alaşım sentezinde kaynak olarak fonksiyonlaştırılmış surfaktanlar kullanılmaktadır. Bunlar didodesil trimetil amonyum bromit (DDAB) ve setil trimetil amonyum bromit (CTAB), kobalt parçacıklarının sentezinde başarıyla uygulanmaktadır. DDAB-tolüen solüsyonunda kobalt kloritin indirgenmesi $NaBH_4$ ile kobalt nano parçacıklarının fabrikasyonu yapılmaktadır ve parçacık boyutu ve morfolojisinde reaksiyon sıcaklığının etkisiyle küçük küresel parçacıklar üretilirken, yüksek reaksiyon sıcaklığında kümeleştirilmiştir [24]. Kobalt nano parçacıklarının boyut dağılımı ve boyutunun kontrol çalışmalarında küme şekilleri olmaksızın indirgen olarak $NaBH_4$ ile DDAB-tolüen- $CoCl_2$ sisteminde tohum ile büyütme geliştirilmiştir. Bu sentez koloid formdaki 3.8nm boyutundaki düzgün parçacıkların sentezi ilk defa düşük ısıda yapılmıştır. Sonra Co^{+2} solüsyonu ters misel sistemine yavaşça eklenir ve daha sonra parçacıkların büyümesini sağlamak için $NaBH_4$ solüsyonu eklenir [25]. Co, CoPt ve CoPt₅ (15nm) nano parçacıkların sentezinde $NaBH_4$ ve su-CTAB1-bütanol-oktan ters misel solüsyonunu indirgen olarak kullanılmıştır [26].

Demir ve kobalt nano parçacıkları çok aktif ve oksitlenmeye hazırdırlar. Küre-kabuk yapı olarak adlandırılan formdan asal metaller ile kaplı olanlar bu ise oksidasyonu önleyebilir. Ters misel mikroemülsiyon metodu kullanarak küre-kabuk nano parçacıkların sentezi iki bölümden meydana gelir. İlk olarak küre parçacıkları $NaBH_4$ ile metal iyonlarının indirgenmesiyle ters misel ortamında da sentez edilirler. Kaplamada etkili olan gümüş ve altın iyonlarını içeren sulu solüsyon eklenerek takip edilir. Ag ile kaplanan (40-50nm) demir parçacıkları bu metot kullanılarak [27] hazırlanır. Fe/Au küre-kabuk nano parçacıkları (2-3nm) kaplama kalınlığıyla küre boyutu (8nm) kontrol edilebilir [28]. Manyetik küre materyalleri $FeSO_4$ ile $NaBH_4$ indirgenmesiyle ters misel reaksiyonundan sentezi yapılabilir. Bunu altın kaplı nano parçacıkları etkilemek için $HAuCl_4$ sulu solüsyonu eklenmesi takip eder. 50°K bloklama sıcaklığında 8 nm'lik kaplanmamış demir parçacıkları için yapılan

manyetik ölçümler süperparamanyetik davranışını açığa çıkarır. Bloklama sıcaklığı 2–3 nm kalınlığındaki altın kaplamayı etkilemez [28].

NH_4MnF_3 , KMnF_3 gibi anti ferro mıknatıslar nano parçacıkların sentezi ters misel mikroemülsiyon metoduyla anti ferro mıknatıs çalışmalarında kullanılmaktadır. NH_4MnF_3 nano parçacıkları su- NH_4MnF_3 - NH_4AOT -n-heptan mikroemülsiyon sistemi ile su- $\text{Mn}(\text{CH}_3\text{COO})_2$ - NH_4AOT -n-heptan mikroemülsiyon sistemi ile karıştırılarak hazırlanır sonra aseton ile pıhtılaştırılır [29]. NH_4MnF_3 temel kristal parçacıklarının boyutu 10–60 nm aralığındadır. Parçacıkların boyutu reaksiyon koşullarına bağlıdır. Bu koşullar ise su/yağ oranı, tuz konsantrasyonu, sıcaklık ve mikro emülsiyonun karışımında geçen süredir. KMnF_3 'ün kübik şekilli kristal nano parçacıklarının sentezi sonucunda ortalama parçacık boyutu 13–35 nm ve çok dar boyut yayılımına sahip olduğu görülmüştür. Tüm örnekler süperparamanyetikdir. Önerilen sıcaklık ve bloklama ısısı artırıldığında ortalama boyut artar, histerezis bloklama sıcaklığının üzerinde elde edilmiştir [30].

Ters misel ortamı ayrıca polimer ferrit nano bileşiklerin sentezi içinde uygundur. Ferrit-polimer bileşikli süperparamanyetik mikro küre formları mikron boyut phenolic polimer parçacıklarının içine kapsüllü nanometre boyutu demir oksit kristalleri için basit bir metot olarak başarılı şekilde John ve arkadaşları tarafından geliştirilmiştir [31–32] bu metot iki adımdan oluşur. İlk adımda ferrit nanoparçacıkları yukarıda tarif edildiği gibi normal ters misel sistemi kullanarak hazırlanır. İkinci adımda önceden sentezlenmiş polimer [poli(4-etilpenol)] polar çözücünde (aseton) çözünmez ve çözücü olmayan olarak bilinen ferrit parçacıklarını içeren ters misel solüsyonundaki büyük fazlalıklar kullanılarak tekrar çöktürülür. Küresel morfoloji ile polimer çöktürülür ve çöktürme esnasında ferrit nano kristallerini içermektedir. Polimer matrisinde düzgün bir şekilde yayılmaktadır.

1.1.3 Organik/Polimerik İşaretçiler Metodu

Nano boyutlu manyetik oksitlerin organik/polimer işaretçi yaklaşımda basitleştirilmiş teknikler sebebiyle oldukça faydalı hale gelmiştir. Çeşitli işaretçi metotları temel olarak seramik topluluğunda geliştirilmektedir. Genel olarak bu metotlar istenilen üründe bütün gerekli olan katyonları ve yanıcı anyonları içeren organik asitli sulu solüsyonlar kullanılarak işaretçi karışımları içerir. Dehidrasyondan sonra mild ısısında işaretçiler doğasındaki amorf yapıdan dolayı kuru jel haline gelmeye başlarlar. Kuru jel doğrudan oksijen veya havanın varlığıyla kireçlenen gerekli materyalleri üretirler. Kuru jeldeki bütün iyonlar çok kısa difüzyon yolları ile milimetrik matrisinde homojen olarak sabitlenmiştir. Çünkü başlangıç

materyalleri işaretçi preparasyon süresince homojen olarak atomik skalada sabitlenmiştir. Konvensiyonel sıvı-durum reaksiyonlarıyla karşılaştırıldığında yeni faz durumu düşük kireçleme ısısında oluşur. Diğer bir avantajı ise ürünün stiochiometry ile sınırlandırılmayan birlikte çöküm gibi diğer kimyasal metotların üzerindedir. Böylece karıştırılmış oksit ve oksit sıvı solüsyonları yüksek dağılmış preparasyonlar için oldukça uygundur. Bu metotların kullanımıyla büyük sayıdaki spinel ultra ince tozlar ve peroksit oksitler sentezlenmektedir.

İlk Pechini [33] tarafından açıklanan; sitrat işaretçi metodunda sitrikasit ve etilen glikol işaretçi yapı ajan formasyonu oluşturmaktadır. Son zamanlarda, Uekawa ve ark. ince oksit filmde hazırlanan alkali metal iyonlarla sitrat metodunu gösterdiler [34,35]. Alkali metal iyonlar, katyon-sitrat yapısının termal çürümesini düzenlemesinde kullanılırlar. İşaretçilerdeki alkalın iyonlarının kontrolü konsantrasyonu ve redüksiyon atmosferinde spinel demir oksit filmleri nano boyutsal kontrolü ile sağlanır [35]. Kompleks ajan çözeltisindeki sitrik asitle jelatinöz işaretçi çözeltide çökmemektedir. Çözelti metal nitrat veya asetat ve sitrik asit içermektedir; böylece, 100°C'nin üstünde dehidrasyon için çıkarıldığında kurur ve şeffaf jel haline gelmektedir [36]. Çünkü bütün iyonlar jeldedir; çözeltideki anyonlar nitrat ve asetatlardır; jeldeki kireçlenme yapı redoks reaksiyonudur. Çalışma metal tuzlardaki anyonların doğasını ve sitrik asit miktarı parçacığın nano boyutsal etkisini göstermektedir [37]. Ni ve Fe tartaratelerin karışımı işaretçi olarak kullandılar. Yang ve ark. 10 nm nikel ferrit parçacığından elde ettiler [38]. Çalışmanın detayında DTA/TG ve XRD kullanılarak uygulanan termal ayırma 280–420°C ısı aralığında oluşturulan nikel ferrit ile yaptılar, bu da çözeltinin pH'sına bağlı olarak tartarik asit ve NH₄OH'dan oluşan metal tuzlarından yapılan işaretçiyi içermekteydi. Tartarat için yüksek pH nikel ferrit için yüksek sıcaklık kullandılar, çünkü nikel ferrit ancak yüksek sıcaklıkla kararlı hale getirilebilir [38].

Micheli tarafından tanımlanan benzer bir sitrat işaretleme metodunda poliakrilikasit amorf ve jelatinöz maddeleri işaretlemek için kullanmıştır [39]. Poliakralat işaretleme metodunda nano kristalin bakır ferrit, Cu_{0.5}Fe_{2.5}O₄ tetrahedral alanlar oluşturarak bakırdaki monovalent durumdaki materyali etkileyerek yüksek manyetik saturasyona ulaşılmıştır [40]. Yüksek pH ve yüksek karbosilik grup oranı olan çözelti saf fazdaki 10nm'lik parçacıklardan oluşan poliakrilat işaretleri ile çöktürüldü. Oluşan çökeltinin sıcaklığı 400°C'den fazladır. Solüsyonun pH'sıyla belirgin olarak etkilenen manyetik doygunluk saturasyonu işaretle stabilize edildi. Nano parçacık olan LiZn ferrit, Li_{0.3}Zn_{0.4}Fe_{2.3}O₄ yaklaşık 15nm boyutta çökelti sonrası 450°C'de poliakralit ile işaretli olarak sentez edildi [41]. Bütün organik ve polimerik işaretleme teknikleri başlangıçta aynı prensibe dayanmaktadır ve işaretli matriste homojen olarak dağılırlar. Diğer bir örnekte de suda çözünebilen polimer, polivinil alkol

(PVA) kullanmışlardır. Amorf işaretleme sentezinde iki kimyasal yol geliştirilmiştir. İlk yol polivinil alkolde bulunan trietilamonyum karbonat solüsyonu kullanılarak sulu çözültiden istenilen metal nitratların çökeltide içermesidir. Havadaki yanma üzerinde; spinel ferritler (MFe_2O_4 burada $M=Ni, Co$ veya Zn), nadir-dünya ortoferritler ($RFeO_3$ burada $R=Sm, Nd$ veya Gd) ve nadir-dünya garnetlerin ($R_3Fe_3O_{12}$ $R=Sm, Nd$ veya Gd) nanoparçacıklar çözültide dağılmışlardır ve yapı yüksek derecede kimyasal olarak homojen ve saftır. Diğer bir yolda optimal miktarlarda polivinil alkol karışımı ve istenilen bir miktar üre eklenip veya eklenmemesi ile sulu metal nitrat solüsyonu ile buharlaştırılmasını içermektedir. Karışım pasty kütlede buharlaştırıp sonra ferrit ve garnetlerle fırında ısıtmışlardır [42].

1.1.4 Sono Kimyasal Sentez Metodu

Suslik ve arkadaşları tarafından gerçekleştirilen nano boyutlu materyallerin sono kimyasal sentezi yüksek intensite, ultrasoni ile akışkan olamayan ve yüksek kaynama noktalı çözücüdeki uçucu organo bileşiğin (genellikle metal karbonil yapı) yayılımını içermektedir. Sono kimyasal akustik kavitasyon, formasyon, büyüme ve sıvıdaki kabarcıkların büzüşmesinden oluşmaktadır [43]. Baloncukların büzüşmesi $5000^\circ K$ 1800 Atm gibi yüksek basınç ve ısıda oluşmaktadır [44,45]. Bu uç durumlarda uçucu organometalik bileşikler hızlı soğumadan dolayı amorf yapıda olan nano metrik küme aglomeratları içermektedir ve katı kısımdan sönen baloncukların içine girerek çözölmektedirler. Suslik ve arkadaşları silika destekli Fe, Fe-Co ve karpitleri içeren nano yapısal kataliz çeşitlerinin yapımına kimyasal yaklaşımda bulunmuşlardır [46].

10–15 nm büyüklüğünde Ni amorf nano kümeleri silika jel ve $Ni(Co)_4$ içeren süspansiyon sonikasyon oluşmasıyla silika mikron kürelere yapışmaktadır. Bu depozitler $400^\circ C$ 'de argon ile ısıtıldığında poli kristal fcc Ni parçacıklarına dönüşmektedir [47]. Poli kristal nikel silikada ferromanyetik gibi davranırken bu depozitlerde Ni süperparamanyetik davranış göstermektedir. 5–10 nm boyutundaki Fe amorf nano kümeleri silika kümelerinde toplanırken de sono kimyasal metodu kullanılmaktadır [48]. Böylece depolanmış amorf Fe kümecikleri çok aktif hale gelir. Argon ile ısıtılmış Fe_3O_4 nanokristalin amorf oksit hidrosit işaretlerinden silika yüzeyinde daha aktif reaksiyona girer. Nano küme amorf Fe silika üzerinde $750^\circ C$ üzerinde vakumla veya argonla ısıtıldığında depolanır. Spinel ferritlerde sono kimyasal yaklaşımda daha düşük sıcaklıklarda ısıtılan amorf işaretli tozların hazırlanmasını içermektedir. $CoFe_2O_4$ için $Fe(CO)_5$ ve $Co(NO)(CO)_3$ $273^\circ K$ 'de sono kimyasal çökeltide kullanılır. Bu yapı için ısı uygulaması kullanıldığında havada $450^\circ C$ ısı sağlanmalıdır ve bu

ısıda (<5 nm) CoFe_2O_4 kristal parçacıklar elde edilir [49]. Çözücü olarak dekalin ile Fe_2O_3 (<25nm) amorf nanoparçacıklar $\text{Fe}(\text{CO})_5$ sonakasyonu ile sentezlenebilmektedir [50].

Sıvı solüsyonlardaki nano parçacıkların metal okside dönüşümündeki sono kimyasal sentez kullanılmaktadır. Amonyumdikromat ve potasyum permanganat sono kimyasal indirgenmesiyle ısı ambiyansında Cr_2O_3 ve Mn_2O_3 ultra ince tozları hazırlanmaktadır. Bu amorf tozlar 320°C ve 600°C 'de termal muamele ile kristal materyaline dönmektedir [51].

1.1.5 Hidrotermal Sentez Metodu

Manyetik oksitlerin hidrotermal sentezi reaksiyon durumu, yüksek kaliteli parçacık yapımı ve birçok kimyasal yolun yüksek sıcaklıkta kireçlenmenin eliminasyonunu içerir. Hidrotermal sentez ayrıca geniş skalada ve devamlı akış toz sentez işleminde kullanılmaktadır. Pasifik Kuzey Ulusal Laboratuvarındaki bilim adamları solüsyondaki işaretçilerin hızlı termal ayrıştırması (RTDS) adında metot geliştirilmektedir [52]. Mühendislik skala kısmı $100\text{--}400^\circ\text{C}$ ısı aralığında ve 4–8 kgsip basınç aralığında işlenir. Solüsyonun reaktörde kalma zamanı 5–30 dakikadır. Bu metodun kullanılmasıyla (20 nm' den küçük) bir miktar demir temelli oksit nano parçacıklar üretilir. Birçok laboratuvar araştırmaları başlangıç materyalin formunu, solüsyonun pH'ını, sıcaklığını, basıncını ve parçacığın boyutunu, morfolojisini ve manyetik özelliklerini, reaksiyon zamanı gibi reaksiyon koşullarının etkisinin anlaşılması doğrultuda yapılmaktadır.

Penn ve arkadaşları Goethite (3–5 nm) ve baryum hidroksiti başlangıç materyali olarak, nano kristal süspansiyonu kullanılarak, basınçlı kapta 250°C 'de hidrotermal reaksiyon ile 50nm'nin üzerinde baryum hekza ferrit ($\text{BaFe}_{12}\text{O}_{19}$) nano kristal sentezini yapmışlardır [53]. Kristal morfolojisinin dengesi hegzagonal kesilmişti. İşaretçi konsantrasyonun etkileri, solüsyon pH'ı ve parçacık boyutu ve parçacık büyüme oranı ısıtma zamanı ve Goethite nano kristalinden baryum hekza ferrit formu için önerilen topotaktik dönüşüm mekanizmasını çalışmışlardır. Artık saturasyon miktatsızlanması ve histerezis ölçümleri, yaklaşık olarak 7nm olan baryum hekza ferrit için süperparamanyetik eşik boyutu önerilmiştir. Bu teoriksel tahmin tutarlıdır [54]. Reaksiyon sıcaklığını azaltma girişimleri, Doğan ve arkadaşları başlangıç materyali olarak baryum hidroksit ve titanyum oksit, baryum hidroksit ve ferrit klorit kullanılarak 100°C altındaki hidrotermal koşullar altında 50 nm'lik BaTiO_3 ve $\text{BaFe}_{12}\text{O}_{19}$ parçacıkların sentezinin çalışmalarını yapmıştır [55]. BaTiO_3 kristalini $\text{BaFe}_{12}\text{O}_{19}$ tüm kristalinin formasyonuna gereken uzunluktan (birkaç hafta) daha kısa zamanda (2 gün içinde) şekillendirilmiştir. Detaylı araştırmalar sonucunda $\text{BaFe}_{12}\text{O}_{19}$ parçacıkları düşük sıcaklıkta

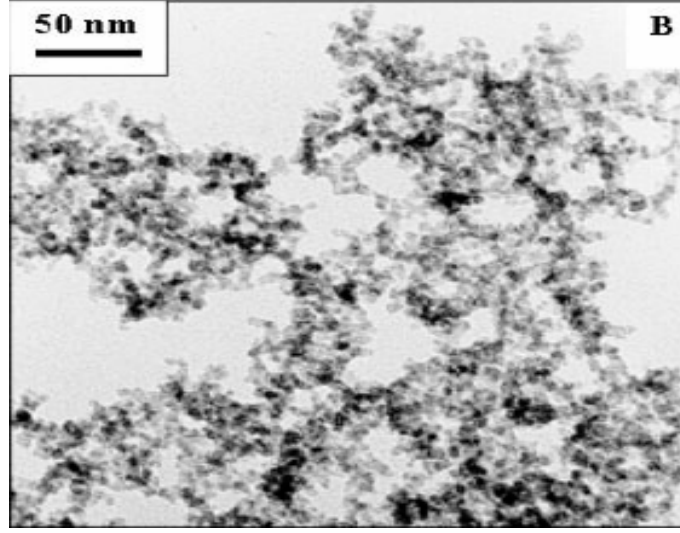
şekillenmeye başlağını ve uzun periyot boyunca amorf fazdan kristal faza tamamen çevrilebildiği görülmüştür. BaFe₁₂O₁₉ nano kristalinin hızlı büyümesi için sıcaklığın 200°C'ye artırılması bulunmuştur.

Hidrotermal reaksiyon NiZn ferrit ve parçacıkların sentezinde, ticari olarak önemli manyetik ve elektronik materyaller için kullanılmaktadır. MnZn ferrit sentezinin önceki çalışmaları [56] başlangıç karışımının pH'10 ürünün oluşumundaki kesin bir etkiye sahipken ısıtma sıcaklığı ve zaman parçacıkların boyutuna karar verir. Karıştırılmış ferrit şekillerinde reaksiyon koşullarının etkisi basit spinel ferritler üzerindeki etkiden daha karmaşıktır. Dias ve arkadaşları sistematik olarak başlangıç materyallerini, sıcaklık ve yoğunluk, parçacık boyutu, kafes parametrelerinin reaksiyon zamanı ve parçacığın üzerindeki deliklerin toplam hacminin ve boyutunun etkilerini incelemektedirler [57]. Metal sülfat ve sodyum hidroksit kombinasyonlarının aynı reaksiyon ısısı ve zamanında en iyi sonuçlar verdiği elde edilmiştir. Metal surfaktan ve sodyum hidroksit solüsyonunun hidrotermal reaksiyonu 110–190°C'de Mn_{0,5}Zn_{0,5}Fe₂O₄ (10-40nm) [58] ve Ni_{0,5}Zn_{0,5}Fe₂O₄ (52±6nm) [58] nano kristalleri meydana gelmektedirler. Yüksek sıcaklıktaki sinterlemeden sonra bu tozlar yüksek yoğunluk ve yüzey homojen seramik bileşikler verirler. Hidrotermal tozların arasındaki küçük farklılıkların toplanmış mikro bileşen yapılardan oldukça farklı olduğu elde edilmiştir [59]. Düşük sıcaklıklardaki sinterleme ile hidrotermal tozların çok iyi manyetik özellikler oluşturulabilir. Örnek olarak aynı koşullar altında sinterleme sonuçları başlangıç geçirgenliği Mn_{0,5}Zn_{0,5}Fe₂O₄'ün hidrotermal toz temelli küreleri konvansiyonel üretilen kürelerden yaklaşık olarak %20 daha yüksektir. Çünkü homojen mikro yapı genellikle daha çok boş deliklerdir [60].

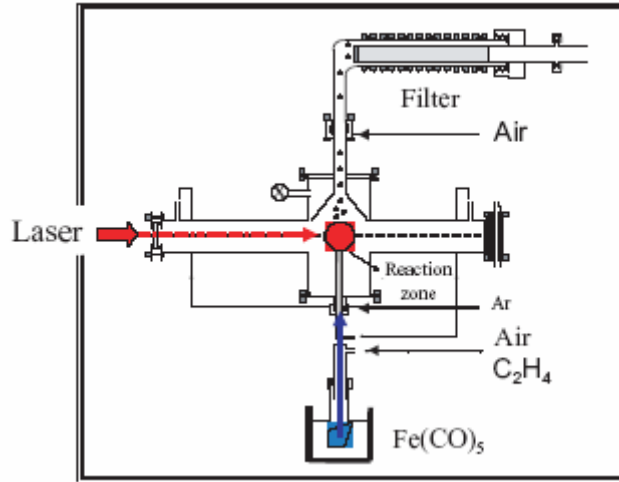
1.1.6 Proliziz Metodu

Lazer prolizizteknigi lazer ile asal gaz ve reaktan kabarcıklarının karışımının ısıtılmasıyla ultra ince parçacıklarının sentezinde kullanılır. Isıtmanın sonucunda reaktan kabarcığının hızlı ayrışması saturasyonla kabarcıkların oluşturduğu atomları üretir. Bu atomlar asal gaz molekülleriyle çarpışması sonucu oluşur. Bu teknik kullanılarak oksitler, nitritler ve karbit çeşitli nano parçacıklar hazırlanabilmektedir. α-Fe, Fe₃C ve Fe₇C₃ nano parçacıkları Fe(CO)₅-C₂H₄ kabarcık karışımının karbondioksit lazer proliziz ile üretilmektedir [60]. γ-Fe₄N ve ε-FeN (<35nm) nanoparçacıkları Ar ve N₂ atmosferinden karbondioksit lazeriyle Fe(CO)₅-NH₃' ün kabarcık faz proliziz ile hazırlanmıştır [62]. Tek adımlı CO₂ lazer proliziz metodu ile saf, iyi kristalleşmiş ve düzgün γ-Fe₂O₃ nano parçacıkları elde

edilmektedir (Şekil1.2.). Farklı deney koşullarında 3.5 ve 5 nm boyutlu ve dar bir dağılımı olan örnek parçacıklar elde edilmiştir [63,64]. Manyetik nano kristal hazırlamada kullanılan CO₂ lazer prolizinin dağılım şeması Şekil 1.2’de gösterilmektedir.



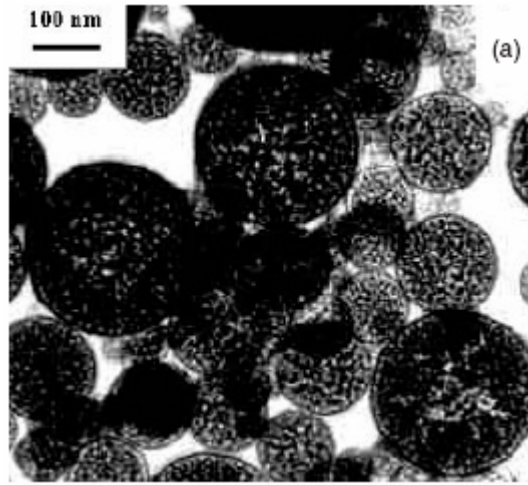
Şekil 1.2 Lazer proliziz kullanılarak maghemit manyetik nano parçacıklar



Şekil 1.3 Yaklaşık 5 nm boyutlu maghemit nano parçacığı hazırlamada kullanılan Lazer proliziz cihazının şematik gösterimi

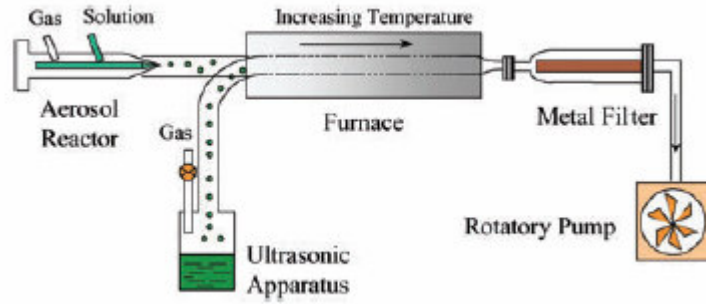
Aerosol spray proliziz tekniğinde sulu metal tuzları ince buğu gibi spreylenebilir, kurutulur ve sonra sıcak akış turbününde proliziz tuzları final ürününe çevirir. Genel olarak Aerosol spray prolizizi işaretçi tuzların çözülmesini, solüsyonun nebulization, aerosol oluşumu, kurutma reaktör içindeki reaksiyon ve parçacık toplamadan oluşur [66]. Nebulization parçacık boyut kontrolünde önemli bir aşamadır. Bir titreşim deliği, bir ultrasonik nebulizer veya bir elektro spray nebulizer bu adımda kullanılabilir. Post-aerosol termal tedavi arzu edilen homojen ürünü başarmakla ihtiyaç duyabilir.

Aerosol spray prolizizi aracılığıyla yüksek saflıktaki oksit parçacıkların üretiminde yapılır. Örnek olarak, baryum ferrit ($\text{BaFe}_{12}\text{O}_{19}$), gadolinyum gornet ($\text{Gd}_3\text{Fe}_5\text{O}_{12}$) manganez ferrit (MnFe_2O_4) ve Fe_2O_4 [66] metal oksit ve seramik hazırlamada sanayide kullanılmaktadır. Birçok araştırma grubu yüksek yoğunluktaki veri depolama manyetik kayıt uygulamalarında gerekli olan nm ve dar boyut dağılımında daha az kristal boyutlu baryum ferrit parçacıklarını hazırlamak için çalışmaktadırlar. Lee ve arkadaşları 250°C 'de sıcak tabaka yüzeyine $0.313 \text{ BaO} - 0.215 \text{ B}_2\text{O}_3 - 0.100 \text{ Na}_2\text{O} - 0.330 \text{ Fe}_2\text{O}_3$ molar oranlarında homojen sulu solüsyonu spreylediler ve 600°C altındaki sıcaklıklarda saf kusurlu-serbest baryum ferrit nanoparçacıkları (50-70nm) kristalleri elde etmişlerdir [67]. En çok kullanılan çözünebilir işaretçi tuzları ($<600^\circ\text{C}$) yüksek sıcaklıkta ayrışan nitratlardır. Uygun işaretçi seçimi ayrışma sıcaklığını azaltabilir. Örnek olarak (10-20nm) $\text{BaFe}_{12}\text{O}_{19}$ nanoparçacıkları sitrat işaretçileri kullanarak 425°C 'deki düşük sıcaklıklarda hazırlanmaktadırlar. Metastable spinel 425°C 'de elde edilen ayrışmış işaretçiler az zamanda, sıcaklıkta, dönüşüme bağımlı final hekzagonal spinel yapılara benzer [68]. Ferrik nitrat ve baryum nitratlar işaretçi gibi ve ZnCl_2 ve TiCl_4 katkı olarak ultra sonik spray prolizizi ultra sonik nebulizer ZnTi saf ve katkılı baryum ferrit küresel ince parçacıkların sentezini sağlamakta uygulanmaktadır [69,70]. Kısa zamanda toplanan işaretçiler amorf ve paramanyetiktir. 1000°C 'de termal uygulamalar amorf Ba-Fe-O doğrudan küresel baryum ferrit parçacıklarına dönüştürülürken Ba-Fr-Zn-Ti-O orta haldeki $\alpha\text{-Fe}_2\text{O}_3$ aşırı katkılı baryum ferrit parçacıklarına dolaylı olarak dönüştürülmektedir [70].



Şekil 1.4 Spray proliziz kullanılarak maghemit manyetik nano parçacıkların görüntüsü

Bu cihaz bir aerosol jeneratörü (atomizer veya ultrasonik bath), bir fırın ve parçacık kaplama sisteminden oluşmaktadır.



Şekil 1.5 Maghemit nanoparçacıkların hazırlanmasında kullanılan spray proliziz cihazının şematik gösterimi

1.1.7 Ark Boşalma Tekniği

Karbon ark teknikleri fulorans sentezinde kullanılmaktadır. Önceki metotta karbon çubukları aktif bileşenler manyetik olarak yapılmaktaydı. Fulorans kafesi veya tüpü manyetik türleri içermesi istenilerek üretilmiştir. Guerrer Piccourt ve arkadaşları [71] ve diğerleri [72,73] rutinleri hem kafes hem de nano tüpler içeren karpitler veya önemli geçiş metalleri manyetik olarak doğrudan hazırlandığını açıkladılar. Bu yolla karbon kaplı manyetik türlerin hazırlanmasında da etkilidir. Araştırmacılar samriyum-kobalt ve neodiyum-demir-boron alaşımları gibi sert manyetik materyalleri içeren materyalleri bölmeyi başarmışlardır [74,75]. Manyetik türdeki fulorans sentezi nano tüplerdeki alanlarda olmaktadır. Metotlar türlerdeki yerleşim ve end-cops tüplerin uzaklaştırılmasını sağlamak için geliştirilmektedir [76]. Erimiş durumdaki bazı metaller kapiller harekette yerleştirilmektedir [77]. Fakat manyetik bileşenleri için çok etkili olan metot solüsyon rotaların temeline dayanır [76]. Örnek olarak nikel türleri sulu solüsyonlar yoluyla tüplerin içine ve bazen de tüp yüzeylerinde metal oksitler üretebilir [78]. Benzer kimyasal indirgenme koşullarında ferromanyetik nikel parçacıklar içeren tüpler sonuçlanmıştır [79]. İstenilen nanoparçacıkların oluşmasından sonra karbon yapıların uzaklaştırılmasını sağlamak için teknikler geliştirilmektedir [78]. Modife edilmiş tungsten ark tekniği kullanışlı olan grafit-grafit ark teknikler yerine karbon kapsüllü ferromanyetik Ni, Co ve Fe nano parçacıkların sentezi için son zamanlarda kullanılmaktadır [80]. Bu teknikle tungsten çubuk katot olarak kullanılır ve kapsüllenmiş anot materyali olarak grafit dökümü kullanarak eritilmiş metaller desteklenir. Termal olarak ve çevresel olarak kararlı olan ark boşalma tekniği kullanılarak yaklaşık olarak 18.2nm ortalama boyuttaki karbon kapsüllü nikel parçacıkları elde edilmiştir [81].

1.1.8 Elektriksel Çökme Metodu

Elektriksel çökmede saf demir nikel ve kobalt gibi yumuşak manyetik materyallerin ve nikel-demir ve üç unsurlu nikel-demir-kronyum alaşımlarının nano işlemlerin hazırlanmasında kullanılmaktadır [82]. Bulk materyaller veya ince filmler elektriksel çöktürmeyle nanometre skalasındaki zerrecik boyutuna sahip olmasıyla nano metrik işlemler yapılmaktadır [83]. Elektriksel çöktürmeyle nano işleme yukarıdaki yumuşak manyetik materyallerin karakteristik performansının üzerine geliştirilmektedir [84]. 23°C'de ve 0.05Acm⁻² bir metal klorit solüsyonu kullanarak elektriksel çöktürmeyle çok alaşımlı %15–25 (w/w) Fe ve %0.05(w/w) Cr nano işlem yapılmıştır. Elektriksel çöktürme ile 7-14nm boyutlu zerrecikler ve koversivite, elektrik rezistivite, sertlik ve korozyon davranış özellikleri gibi artırılmış özellikler elde edilmiştir [85].

Son zamanlarda metal nano parçacıkların üretilmesinde darbe elektriksel çöktürme olarak adlandırılmış yeni bir teknik geliştirilmektedir. Bu teknik ultrasound jeneratörü ile yaratılan darbe basınç ve darbe elektrik akımını kullanma temeline dayanmaktadır. Darbe akım ve kuvvetli elektroliz karıştırma kombinasyonlarıyla yüksek akım yoğunluğunun kullanımını sağlar yüksek nucleation oranları ve daha küçük nükleik boyutunun kullanılmasını sağlar nükleit boyutunun sonuç olarak başarılabilmektedir. Bu teknik kullanılarak Fe, Co ve Ni parçacıkları ve bunların 100nm boyutundaki ikili, üçlü alaşımları üretilmektedir [86].

1.1.9 Mekaniksel Alaşım Metodu

Mekaniksel aşınma veya mekaniksel alaşım çok sayıda nano yapı materyallerin üretimi için çok yönlü bir yaklaşımdır. İlk mekaniksel alaşım uygulamasını kuvvetlendirilmiş materyalin oksit yayınımasının sentezi için Benjamin tarafından [87] kullanılmıştır. Bu teknik sınırlı orandaki alaşımlar, iç metalik bileşimler, süper saturasyonlu sıvı solüsyonlar ve amorf nano kristal durumundaki bileşiklerin üretilmesinde kullanılmaktadır. Yüksek enerjili top kalıplara dökülmesiyle zerrecik saf metal ve iç metalik bileşimler nanometre skalasına azaltılabilmektedir. Yüksek enerjili topları kalıplara dökme tekniği mekanik kimyasal sentezi olarak adlandırılan çevre sıcaklığında sıvı durum reaksiyonlarıyla manyetik oksit ve nano bileşik tozlarının sentezi için uygundur. Bu sıvı durum reaksiyonları bulk fazlarda çok yüksek sıcaklıklarda normal olarak oluşur.

Metalik ferromanyetik nanoparçacıklar manyetik olmayan matriste yayılan granüller yapıda dev manyeto rezistansların (GMR) keşfedilmesinden dolayı araştırmacılar manyetik transport özellik çalışmaları için mekaniksel alaşımlama yoluyla nano yapılu Cu-Fe [88] ve Cu-Co alaşımlar [89,90] hazırlanmaktadır. 5 Tesla'da 4K'da manyetik rezistansı %5.5 ulaştığı bulunmuştur. 20 dakikada 300°C'de tavlama ile %7.6 üzerine yükselmiştir [88]. Tekrar eden dövülme ile nano yapılu Cu₈₀Co₂₀ hazırlanmıştır. Co nano parçacıkları tavlama sonucunda Cu matrisinde XRD ve VMS kullanılarak mıknatıslanmış Co çöktürülmüştür [89]. Oda sıcaklığında 1.0Mam⁻¹ altındaki oranlarda maksimum manyetik rezistansı 6nm boyutlu temel Co ile Cu₈₀Co₂₀ için %4.9'dur [90]. Top kalıplamayla hazırlanmış nano kristal materyallerin termal kararlık çalışmaları yararlıdır. Çünkü nano kristal materyallerin daha büyük termal kararlılığı, sonraki termal-mekaniksel birleşmiş veya sinterlenmesi sırasında nano kristal sıvıların yoğunluğunun fabrikasyonunda faydalıdır. Jiang ve arkadaşları Fe-Al nano kristal alaşımlarının (<%10w/w) top kalıplama ile [91] termal kararlılığını araştırmışlardır ve Fe'ye %10 Al eklenerek 600°C ve 100°C sıcaklıkları arasında tavllanmış Fe-Al alaşımlarının nano kristalinin termal kararlılığı önemli derecede genişletilmesine rağmen, %4–10 Al eklenmesinin termal kararlılığa etkisi azdır. Bunun yanında elemental bileşenlerden nano kristal veya amorf alaşımların preparasyonları top kalıplamasıyla metal olmayan ortamda silika veya alüminyum oksidi yer değiştirme reaksiyonları yoluyla yerleştirilmiş metal nano parçacıklardan oluşan nano bileşiklerin sentezinde kullanılmaktadır. Fe₂O₃ ve Si arasında NiO ile Si arasındaki yer değiştirme reaksiyonlarıyla demir-silika ve nikel-silika nano bileşiklerin sentezi buna örnektir [92].

Nadir geçiş metal bileşiklerinden yüksek performanslı nano yapılu kalıcı mıknatıslar mekaniksel alaşım tekniğinin uygulanmasında büyük çabalar sarf edilmektedir. Nd₂Fe₁₂B ve Sm₂Fe_{17-x}(C,N)_x sistemleri en çok çalışan sistemlerdir. Nano kristal yapılar mekaniksel alaşım ve sonraki termal tedaviler ile geliştirilmektedir. Dağınık zerrelerin sıraya konulmasıyla ilgili olarak yüksek koversivite ve izotropik davranışlar ile sonuçlanmaktadır. Sm₂Fe₁₅Ga₂C₂'nin nano kristal tozları tavlama sonrası 30-50nm ve kalıplama durumunda olduğu gibi 5-10nm ortalama boyutlu zerreler sahip olan elemental tozların top kalıplamasıyla hazırlanmaktadır [93]. 1.5 T ve 7.69cm⁻³ yoğunlukta yukarıdaki değerlerde yüksek koversiviteye sahip top kalıplamadan oluşan sıcak kompakt mıknatıslar yapılmaktadır. Bu yeni nano kristaller "değişim yaylı mıknatıslar" adında yeni sınıf mıknatıslar araştırmalarda büyük ilgi görmektedir. Bunlar nanometre skalada değişen kublaj sert ve yumuşak manyetik fazlardan oluşan nano bileşiklerdir. Set manyetik fazlar Nd₂Fe₁₄B ve Sm₂Fe₁₂ ve bunların karpit ve nitratları gibi nadir geçiş metal materyalleridir. α(Fe, Co) yumuşak manyetik fazlardır. Bu tip

değişim kublaj zerrelere karşılıklı yüzeyleri yüksek koversivite ve genişletilmiş kalıntı mıknatıslar vermede yardımcı olur. Modelleme çalışmaları ve deneysel çalışmalar etkili kublaj için 20nm kristal boyutunun genellikle gerekli olduğunu göstermektedir. Bu konudaki gelişmeler McCormick ve arkadaşları tarafından geliştirmektedir [94]. Kalıcı mıknatıs nano bileşimlerinin sentezinde mekanik alaşım tekniğinin uygulamaları çok yönlüdür. Sm, Co, ve Fe tozlarının mekanik alaşımını Sm-Co, Fe ve $Sm_{10}Co_{49,5}Fe_{40}$ birleşiminin bccFe-Co nano kristalinin amorf karışımını verir. Termal uygulamalar 650°'den yüksek sıcaklıklarda $Sm_2(CoFe)_{17}$ -Co-Fe nano kristal faza dönüştürülen metastable faz halinde sonuçlanır [95]. Nano bileşimler tek faz manyetik histerezis, davranışına ve önemli derecede genişletilmiş kalıntıya sahiptir. $Nd_2Fe_{14}B$ - α -Fe nano bileşikler $Nd_2Fe_{14}B$ ve kalıntısı genişletilmiş demir tozlarının karışımından mekanik alaşımla elde edilmiştir [96,97].

Nano kristal spinel ferritler yüksek enerjili top kalıplamayla ortam sıcaklığında hazırlanmaktadır. Vallet-Regi ve arkadaşları

- Oksitler ve karbonatlar,
- Seramik ürünler,
- Hidroksitler ve oksitler gibi

Mekanik kalıplamayla farklı işaretçiler ile Zn-ferrit, Mn-ferrit ve ZnMn ürünlerin manyetik özelliklerini işaretçilerin etiketlendiğini elde etmişlerdir [98].

1.2 PİYASADA MEVCUT OLAN MANYETİK VE SÜPERPARAMANYETİK PARÇACIKLAR

Hücre seperasyonu için kullanılan manyetik parçacıkların çapı tipik olarak 1–5 μ m'dir. Birçok kullanılan parçacıklar, varolan dış manyetik alanda sadece manyetik özellikler gösteren süperparamanyetik parçacıklardır. Bunlar basit bir manyetik seperator ile süspansiyondan kolaylıkla ayırabilmektedirler. Çünkü genellikle artık mıknatıslanma oluşmamaktadır. Parçacıklar birbirlerini çekmezler ve bu sebepten herhangi bir dış manyetik alanı olmadığı durumunda homojen karışımın içinde kolayca karışabilmektedirler [99]. Manyetik parçacıklar tipik olarak polimer içine doğru dağılmış saf demir oksitlerinden oluşmaktadır (birçok durumda tek boyutlu tiptir). Polimer parçacığın yüzey kimyası farklı bağlama metotlarının sallanan aralığı biraz değiştirilebilmektedir. Alternatif olarak manyetik demir oksitleri veya manyetik gözenekli camların silinize parçacıkları aynı amaç için kullanılabilir.

Çok sayıdaki parçacık manyetik işaretler ticari olarak satın alınabilmektedir. Bu güne kadar birçok uygulamada tek boyutlu polimer parçacıklar Dynabeadler şeklinde pazarlanmaktadır (Dyna, Oslo, Norveç). Birçok çeşitli formlar Dynabeadler şeklinde kullanılmaktadır. Dynabeadler tek boyutlu iri gözenekli polyester parçacıklardan hazırlanmaktadır. Bu polyester parçacıklar gözeneklerin içindeki ferromanyetik materyalin bir hücre içindeki formuyla mıknatıslanırlar. Preparat içindeki parçacıkların üretimi aktif şişme metoduna atfetilebilir [100]. Dynabead 2.8 μm (Dynabead M-280), 4.5 μm (Dynabeadler M-450) ve 5.0 μm (Dynabeadler M-500) yarıçaplarına sahiptirler. M-450 Dynabead parçacıkları 1-4m²/g yüzey bölgesi, 1.5g/cm³ yoğunluk ile %20 (w/v) demir ve birçok parçacığın 1.0 mg ise 1.4.10⁷'dir [101]. Boncukların üzerindeki polimer kabuk, hedef hücrelerini oluşabilecek toksit demirden korumaktadır. M-280 ve M-450 her iki taşıyıcıları aktif ve aktif olmayandan tozilden sağlanabilmektedir. Kovalent olarak bağlı sabit streptavidin ile Dynabeadlerle kaplı veya birincil ve ikincil Ab'de ayrıca mevcuttur. Ayrıca farklı işlemlerle hazırlanmış diğer ticari manyetik parçacıklar başarılı bir şekilde kullanılabilir. Seçimi tamamlanmış bu ürünler Çizelge1'de gösterilmektedir.

Hücre seperasyonu için kullanılan manyetik parçacıklar bazı önemli kriterleri yerine getirmelidirler [102]. Bu kriterler kimyasal kararlı olmalıdırlar ve hücre seperasyonunda kullanılan ortamda toplanmalıdır. Manyetik alana maruz kaldıktan hemen sonra oldukça az artık mıknatıslanma göstermelidirler. Spesifik olmayan hücreleri bağlamamalıdır. Burada depolama süresince, parçacıklardan (Ab, antijen, lektin, karbonhidrat) sabit çekim bağının çok az sızması olabilir. İşaretlenmemiş hücreler ve fazlalık parçacıklar, işaretlenmiş hücrelerin manyetik seperasyonunun tam ve hızlı bir şekilde olmasına izin vermelidirler ve boyutları minimum fagositoz kadar olmalıdır. Piyasada mevcut olan parçacıkların büyük bir çoğunluğu ihtiyaçları karşılayabilmektedir.

Çizelge 1.1 Piyasada mevcut olan ve hücrelerin izolasyonu için manyetik ve süperparamanyetik parçacıkların özellikleri

İsim	Çap (µm)	P o l i m e r İçerikleri Y ü z e y Modifikasyonları	Son Grupları ve Aktivasyon Olasıkları	İmmobilize Olan Antikorlar	Diğer İmmobilize Olan Bileşikler
BioMag	~1	Silinizasyonu yapılmış demir oksidi	-COOH, -NH ₂	İkincil Ab, anti-CD Ab, anti-floreseyin Ab	Protein A, Protein G, Streptavidin, Biotin
Dynabeadler M-280	2.8	Polistren	Aktif Tozül	İkincil antikorlar,	Streptavidin
Dynabeadler M-450	4.5			Anti-CD antikorlar, Antikor karşıtı	Oligo (dT)
Dynabeadler M-500	5			E.coli O157, Salmonella Listeria, Cryptosporidium	
Esatpor	~1	Polistren	-COOH,		
Iobeads	~1			Anti-CD antikorlar, İkincil antikorlar	Avidin
M 100	1-10	Selüloz	-OH		
M 104					
M 108					
MagaBeads	3.2	Polistren	-COOH, -NH ₂ , epoksi	İkincil antikorlar	Streptavidin Protein A Protein G
Magne-Sphere	<1				Streptavidin
Manyetik parçacık	0.8	Lateks			Streptavidin Protein A Protein G
Manyetik mikroparçacık	1	Polistren	-COOH, -NH ₂		Protein A
Manyetik parçacık	1	Polistren		Anti-digoxigenin Antikor	Streptavidin
Manyetik parçacık	~1	Polistren			
MPG	5	Gözenekli cam	-NH ₂ hidrazit glyceryl		Streptavidin avidin
Sera-Mag	1	Polystyrene	-COOH		Streptavidin
SPHERO Manyetik parçacık	1-4.5	Polystyrene	-COOH -NH ₂	İkincil antikor	Streptavidin biotin
XM200 Microsphere	3.5	Polystyrene	-COOH	İkincil antikor	Protein A

2. HÜCRELERİN MANYETİK SEPERASYONUNUN GERÇEKLEŞTİRME PROSEDÜRÜ

Hücrelerin manyetik seperasyonu aşağıdaki metotlardan biri ile yapılabilmektedir:

- 1) Doğrudan metot: (**Direct Method**) Hücreleri içeren örneklerin içine doğrudan eklenmiş manyetik parçacıkların bağ liganlarıyla birleşmeleridir. İnkübasyon süresince manyetik parçacıklar mıknatısla çevrenmiş hedef hücreleriyle bağlanırlar.
- 2) Dolaylı metot: (**Indirect Method**) İlk adımı, hedef hücreleri uygun olan bağlayıcı ligand ile hassaslaştırılırlar. İnkübasyondan sonra fazlalık olan bağlayıcı ligand genellikle temizlenmiş hücreler ile hareket ettirilirlar ve sonra ilk bağlayıcı ligand eklenmesiyle manyetik parçacıklarla hareketsiz ikincil bağlayıcı ligand bağlanırlar. Manyetik parçacıklar manyetik seperatör kullanılarak çevrenmiş hedef hücrelerine bağlanırlar.

Diğer manyetik seperasyon teknikleri manyetik olarak işaretlenmiş hücrelerin seçimine dayanmaktadır.

- a) Negatif seçim, örnekten ayrılan tüm diğer hücreler ile hücresel alt yapıların saflaştırılmasını içeren bir metottur. Doğrudan ve dolaylı metodun her ikisinde de negatif seçim uygulanabilir. Hücrelerin negatif seçimi avantajlıdır. Saflaştırma işlemi izole edilen hücreler ile herhangi doğrudan bir kontak içermez. Bu teknik sınıra sahiptir. Eğer seçilmiş hücrelerin alt yapıları düşük konsantrasyonunda mevcut ise negatif seçim, izole edilen hücrelerin spesifik olan kayıplar yüzünden veya istenmeyen hücrelerin yeterli olmayan hareketi yüzünden düşük ürün ve saflık oluşturmaktadır.
- b) Pozitif seçim: Bu durumda hedef hücreleri hücre süspansiyonundan izole edilmektedirler. Doğrudan ve dolaylı metottun her ikisinde kullanılabilir. Manyetik olarak işaretlenmiş hücre yapılarının ayrımını doğrudan karakterize edilebilmektedir. Fakat birçok durumda izolasyondan sonra pozitif seçilmiş hücrelerden büyük parçacıkların uzaklaştırılması gereklidir.
- c) Hücrelerin yıkımı (**Depletion of Cells**) : Hücrelerin yıkımı, bir veya daha çok istenmeyen hücresel alt yapıların hücre süspansiyonundan uzaklaştırılması yöntemidir. Hem doğrudan hem de dolaylı metotta kullanılabilir. Dolaylı

metot genel olarak süspansiyondan istenmeyen hedef hücrelerinin uzaklaştırılmasında daha etkilidir [1].

2.1 İMMUNOMANYETİK SEPERASYONLAR

Prokaryotik ve eukaryotik hücrelerin immunomanyetik seperasyonunu sayıları artan bilimsel makaleler ve kitaplar tanımlanmaktadır [1]. İmmunomanyetik seperasyonun prensiplerinin uygulaması Pubmed gibi veri tabanındaki birçok makalelerin sayısı 1000' e yaklaşmaktadır ve giderek artmaktadır.

Hücrelerin immunomanyetik seperasyonu manyetik yatakların kullanımı veya manyetik koloid-antikor sisteminin sebep olduğu parçacıklar seçilerek hücre süspansiyonundaki hedef hücrelerine eklenmelerinde kullanılır. İnkübasyondan sonra, hücreler ile eklenmiş manyetik parçacıklar (ve ayrıca fazlalık olan parçacıklar) uygun bir manyetik seperatörün yardımıyla izole edilmektedirler. İmmunomanyetik seperasyon (IMS) için daha çok monoklonel antikolar (Mab) kullanılır. Fakat birçok durumda poliklonel antikolarda başarıyla kullanılmaktadır. IMS yukarıda bahsedilen bütün formatlarda uygulanabilmektedir.

Doğrudan metotta uygun Ab örneğine doğrudan eklenen manyetik parçacıklarla eşleştirilmektedir. Ab'nin Fe kısmı manyetik parçacığa doğru yaklaşarak Fab bölgesi parçacığın dış kısmını işaretleyebilmektedir. Birkaç prosedür Ab'lerin doğrudan bağlanmasında mevcuttur.

Hidrofobik manyetik parçacıkların üzerindeki Ab'lerin adsorpsiyonu, genellikle polistirenden yapılı (Dynabead'lerle çalışırken genellikle bu teknik kullanılır.) [1]. Aktif manyetik parçacıkların üzerindeki örneğin aktif tozıl Dynabeadler veya manyetik parçacıkları taşıyan uygun fonksiyonel grupların üzerindeki Ab'lerin kovalent bağları örneğin amino grup, karboksil grup, hidroksi grup kullanılan standart sabit işlemlerdir [1].

İkincil Ab'ler ilk olarak manyetik parçacık üzerinde hareketsizdir ve sonra birincil Ab'lere sıçarlar. Bu durumdaki fonksiyon bir ara gibidir. İkincil Ab'ler, birincil Ab'lerin uygun bir yere alışmasına neden olurlar [1]. Manyetik taşıyıcılar üzerindeki hareketsiz streptavidin biyotinlenmiş Ab'leri bağlamaktadırlar [1].

Manyetik parçacıkların üzerindeki hareketsiz Protein A ve Protein G birçok memeli türünün ayrılan antijen spesifik serbest IgG'nin Fe bölgesini bağlar [1]. Manyetik taşıyıcılarla hareketsiz bronikisit devirasyonu Ab'lerin Fe kısmındaki karbonhidrat bölümleriyle

etkileşimleri aracılığıyla Ab'leri bağlamaktadırlar [1]. Oligo dA ile etkilenen birincil Ab'ler, homopolimer oligo dT ve oligo dA arasındaki hibridasyondan faydalanarak oligo dT manyetik parçacıklarla kaplanırlar [1]. Escherichia coli lac operatörü içeren eklenmiş DNA'lı manyetik yataklar, DNA bağlayıcı lac seperatörlerden oluşan füzyon proteinlerini bağlamaktadırlar [1]. Hidrazit gruplarını taşıyan manyetik taşıyıcılar karbonhidrat yoluyla Ab'lerin hareketsiz kalması için kullanılabilirler [1].

Dolaylı metotta çok sık kullanılır. İlk adımda, hücre süspansiyonları hedef hücrelere bağlanmış birincil Ab'ler ile inkübasyon yapılır. Hedef hücrelerinin önceki sensizasyonu Ab'lerin uygun yönelimleri ve manyetik parçacıklarla hücreler arasındaki olası etkileşimin optimal sayısı sağlanır. Sadece saflaştırılan birincil Ab'ler kullanılmak zorunda değil, hem (işlenmemiş) Ab preparasyonları veya serumda kullanılabilirler [1]. İnkübasyondan sonra bağlanmamış Ab'ler genellikle yıkanarak uzaklaştırılır. Bundan sonra hareketsiz ikincil Ab'ler ile manyetik parçacıklar eklenir, istenilen yataklar hızlıca ve kuvvetlice hedef hücreleri birincil Ab yapıları manyetik taşıyıcılardaki Protein G ve Protein A ile yakalanırlar [1]. Alternatif olarak, birincil Ab'ler floroseyin ve hareketsiz streptavidinli manyetik parçacıklar veya hedef hücrelerini yakalamak için kullanılan anti-fluoreseyinlerle işaretlenebilir veya biyotinlenebilir [1].

Birçok monoklonlar için dolaylı metot hedef hücrelerinin süspansiyonda uzaklaştırılmasında genellikle daha etkili bir metottur. Bu fikirden dolayı serbest Ab'ler onların hedef antijenlerini Ab'lerle kaplı olan manyetik parçacıkları bulmalarından daha kolaydır. Karışım Mab 'ler kullanıldığında dolaylı teknik seçilen metottur. Hedef hücreler düşük yüzey antikor yoğunluğuna sahip olduğu zaman dolaylı teknik tavsiye edilir. Doğrudan metot genellikle daha az inkübasyon zamanı gerektirir ve bu yüzden dolaylı metottan daha hızlıdır. Mab 'ler seçildiği zaman ikincil kaplı manyetik parçacıklarla kullanılır, doğrudan metot dolaylı metottan daha az Ab' ye ihtiyaç duyar. Ayrıca doğrudan metot, tüm antijen sitelerini Ab ile kaplanmak istenmediğinden daha avantajlıdır [1].

Hücrelerin pozitif veya negatif seçimi IMS' da kullanılır. %95–99 pozitif izole edilen hücrelerin saflığı ve yaşayabilirliği % 60–99 ürünle başarılmaktadır. Yıkım verimi genellikle %99' a ulaşır ve ayrılan artık hücreler kullanılamaz. Birçok sayıda yatak ve gerekli Ab' ler genelde pozitif izolasyonda daha yüksektir. Ardışık yıkımlar daha verimlidir [1].

Pozitif işaretlenen hücreler birçok durumda büyük manyetik parçacıklardan herhangi bir müdahaleyi göstermeyebilir ve onlara eklenen parçacıklarla analiz edilebilirler. İzolasyondan sonra hücrelerden büyük immunomanyetik parçacıkların uzaklaştırılması gereklidir. Ayırma işlemi birkaç yol ile gerçekleştirilebilir;

- Ayırma, birçok durumda inkübasyonlu rozetli hücreleri bir gece boyunca hücre kültür ortamında kalmasıyla sağlanır. Mekanizma ayırmada sorumludur. Ayırım hedef hücreleriyle hedef yüzey antijenlerinin geçici downregulasyonudur. Ayırım verimi çalkalanan süspansiyonu 5–10 kez dar pipete doğru itebilen mekanik kuvvetlerle daha da artırılı bilinmektedir. Manyetik parçacıklar hücreden serbest bırakılabilirler ve bir manyetik separatörle ayrılabilirler [1].
- Proteolitik enzimler, hücreleri manyetik parçacıklardan uzaklaştırmada kullanılabilirler. İnsan hematopoitik (kan kök hücre) hücrelerinin bir parçası olan CD34 selektif olarak kimopapin tarafında kesildiği gösterilmiştir ve manyetik parçacıklarla CD34 antikorlarıyla kaplanmıştır [1].
- Ayırım boncuğu (DETAHCaBEAD) olarak adlandırılan Dynabeadlerin ayırımı için Dynal (Oslo, Norveç) bir sistem gerçekleştirilmiştir. Bu poliklonal Ab'ler manyetik parçacıklar üzerindeki birincil Mab'lerin Fab parçacıkları ile reaksiyona girerler. DETAHCaBEAD antijen-Ab bağlarının direkt ayırımı, böylece yüzey üzerindeki Ab kalıntıları olmadan hücre üretimi ve değiştirilmeyen antijen ifadelerini etkiler [1].
- Birincil Ab'lerin antijen bağ sitelerini bağlayan sentetik peptitler Baxter Sağlık merkezinde kullanılmıştır. Peptitler hedef hücreleri manyetik parçacık yapılarıyla tamamlanır ve değişmeyen antijen ifadeleriyle hedef hücrelerinin sağlanmasına izin verir.
- Ab'lerin Fe kısmı üzerindeki karbonhidrat kısımları, hareketsiz $-B(OH)_3$ grupları ile manyetik parçacıkların Ab'lerin tersinir eklemelerine izin verir. Hedef hücrelerinin seçilen izolasyonundan sonra, boncuklar üzerindeki Ab'lerin yer değiştirmesini sağlayan sorbitol eklenir [1].
- Biotinlenen poliadeyik asit streptavidin ile kombine edilir ve oluşan poliadeneik asit streptavidin biyotin antikorlarıyla birleşir. İmmobilize Ab-poliadeneik asit konjugesi, Dynabead oligo (dT) 25'lerin yüzeyindeki hareketsiz oligonükleik asit üyelerinin hibridizasyonu reaksiyon ile karışımından ayrılırlar. İmmobilize Ab poliadenik asitten yararlanarak düşük iyonik kuvvetli yükselteçli taşıyıcılardan serbest bırakılabilirler [1].
- Birincil Ab-DNA bağlayıcı yapısı manyetik parçacıklar üzerinde hareketsiz olabilirler ve hücre bağlanmasından sonra, DNA bağlayıcılar DNase enzimi kullanılarak ayrılabilirler [1].
- Kriptosporidyum oksitler HCl eklenerek süspansiyonun pH'nın azalmasıyla immunomanyetik parçacıklardan başarılı bir şekilde ayrılırlar.

- Retikuloksit ve diğer hücre içeriği (CD71) transferrin alıcısı, otolog plazmanın eklenmesiyle veya normal Ab plazma rozetli hücreleriyle ayrıştırılabilirler. Plazmadaki çözülmüş transferrin alıcıları, manyetik parçacıklara sınırlı olan transferrin alıcılarıyla yer değiştirebileceklerdir [1].

Birçok parametre immunomanyetik seperasyon işlemini etkilemektedir. Hücre seperasyonu için inkübasyon zamanı genellikle 5–60 dakikadır. Birincil Ab' ler ikincillere bağlanması sırasında manyetik parçacıkların kaplanması genellikle 30 dakika yada daha az zaman alır. Pozitif izolasyonda hücrelerin saflığı genelde zamanla azalmasına rağmen ürünler artar [1].

Manyetik boncukların hedef hücrelere oranı önemlidir. Doğrudan ve dolaylı metot kullanarak hücre alt yapıların seperasyonunda en az 4 kaplı Dynabead, tahmin edilen her hedef hücreye genellikle yeterli gelmektedir. Her hedef hücreye eklenen 1/3 Dynabead'ler uygun bir manyetik seperatördeki hücrelerin verimli seperasyonuna yetecek manyetik kuvveti sağlar [1].

2.2 HÜCRELERİN MANYETİK SEPERASYONU

Aşağıdaki bölümlerde mikrobiyolojide, hücre biyolojisinde (protein ve peptitlerin), Tıpta ve Parazitolojideki manyetik seperasyon tekniklerinin mümkün olan uygulamaları çok kısa bir özet şeklinde verilmiştir.

2.2.1 Proteinler ve Peptitlerin İzolasyonu ve Saflaştırılması İçin Manyetik Teknikler

Seperasyon ve spesifik moleküllerin izolasyonu daha çok Biyoloji'de ve Biyoteknoloji'de kullanılmaktadır. Çeşitli prosedürler bu amaç için kullanılabilir. Küçük manyetik parçacıklarla uygulanan manyetik seperasyon tekniklerinin geliştirilmesi ve uygulanması son zamanlarda dikkat çekmektedir. Bu bölümde çeşitli metotlar, stratejiler ve manyetik alanın yardımıyla büyük hedef proteinler ve peptitlerin kullanılabilen materyallerden bahsedilecektir.

Diğer spesifik moleküllerde olduğu gibi çeşitli tipteki protein ve peptitleri izolasyonu, seperasyonu ve saflaştırılması daha çok biyolojik bilimlerde ve Biyoteknoloji'de kullanılmaktadır. Seperasyon bilimi ve teknolojisi biyolojik merkezli araştırmalarda ve teknolojilerin daha fazla ilerlemesi için çok önemli ve gereklidir. Yeni seperasyon teknikleri, seyreltilmiş solüsyonların kimyasal işlemlere yatkınlığı veya küçük ve büyük skalalı işlemlerdeki bileşimler, hatta parçacık sorununun oluşmasında bile gereklidir.

Biyoloji ve Biyoteknoloji alanlarında protein ve peptitlerin izolasyonunda kromatografi, elektroforetik, ultrafiltrasyon, çöktürme gibi çeşitli teknikler ile diğer işlemlerle en önemli afinite kromatografi tekniği kullanılmaktadır. Bağ ligand teknikleri seçiminin ve kaplamanın her ikisinde de downstream işlemlerinde mevcut olan en kuvvetli araç olduğu bugünlerde açıklanmaktadır. Afinite kromatografi kolonlarının kuvveti laboratuvar ortamında yapılan birçok başarılı uygulamalarda gösterilmiştir. Parçacık materyallerini içeren örneklerde standart kolon sistemlerinin üstesinden gelememesi sıvı kromatografi işlemlerinin dezavantajıdır. Karıştırılmış sıvı ve kirli bileşiklerini içeren örneklerin izolasyon/saflaştırma işlemlerinde başlangıç bölümlerindeki çalışmalar için uygun değildir. Manyetik çekim, iyon değişimi, hidrofobik ve batch seperasyon işlemlerinin manyetik olarak immobilize yataklarda ve manyetik olarak düzeltilmiş iki-faz sistemlerindeki kullanılabilirliği gösterilmektedir. Batch manyetik seperasyonunun temel prensipleri oldukça basittir. Manyetik taşıyıcılar (bearing) immobilize çekim ve hidrofobik ligandlar veya iyon değişim grupları veya izolasyonlu yapıdaki manyetik biyopolimer çekim bileşiklerini içeren bileşiklerle karşılaştırılmıştır. İdrar, kültür ortamı, gıda, fermantasyon endüstrisi ve diğerlerinde bütün kan, plazma, asit sıvı, süt gibi örnekler crude hücrelerdir. Uygun manyetik seperatör kullanılarak hedef bileşimlere bağlı manyetik parçacıklar tüm manyetik yapılar hızlı bir şekilde örnekten uzaklaştırıldığında inkübasyon periyodu takip eder. İzolasyonlu hedef bileşimleri ileride kullanılmak üzere örneklerden uzaklaştırılmaktadır. Daha sonra atıklar yıkanarak uzaklaştırılmaktadır.

Manyetik seperasyon teknikleri diğer standart seperasyon işlemleriyle karşılaştırıldığı zaman sadece tutma adımları dışındaki bu işlem genellikle daha basittir. Tüm saflaştırma işlemlerinin adımları bir tek test tüpünde veya diğer damarlarda yapılabilmektedir. Pahalı sıvılı kromatografi cihazlarına, sentrifigasyona, filtrelere ve diğer cihazlara ihtiyaç yoktur. Seperasyon işlemleri crude örneklerini içeren karışmış sıvı materyalleriyle doğrudan gerçekleştirilmektedir. Bazı durumlarda örneğin intraseküler proteinlerin izolasyonunda olduğu gibi entegre edilmemiş seperasyon adımlarını ve bundan dolayı kısaltılmış toplam zamanı entegre etmek mümkündür [2]. Manyetik absorbentlerin uygulanan örnekteki atık moleküller ve diğer parçacıkların özelliklerinin büyük çoğunluğu diamanyetik olduğundan kolayca seçilebilmektedirler. Aslında benzer boyuttaki biyolojik atık materyallerin 0.1 µm çapındaki parçacıklar oldukça küçük manyetik parçacıkları kaplama da manyetik seperasyonda görülen metotlardan biridir. Ek olarak manyetik seperasyon işlemlerinin gücü ve verimliliği özellikle büyük çaplı işlemlerde görülmektedir. Manyetik seperasyon teknikleri özellikle manyetik parçacık temelli immunoassay sistemleride protein ve peptitlerin arasında

çeşitli parçacıklar ile karşılaştırılması için çeşitli temel otomatik prosedürlere sahiptir. Protein ve nükleik asitlerin seperasyonu için geliştirilen otomatik sistemler son zamanlarda oluşturulmuştur.

Manyetik materyalin yardımı ile hedef peptit ve proteinlerin izolasyonu ve saflaştırılması için çeşitli metotlar ve stratejilerden bahsedilecektir.

2.2.2 Gerekli Olan Materyaller ve Cihazlar

Laboratuar deneyleri için kullanılan temel cihazlar oldukça basittir. Bağ ve hidrofobik ligandlar ile immobilize manyetik taşıyıcılar, hedef bileşenleri, iyon değiştiriciler, çekim özelliği gösteren biyopolimerlerden hazırlanmış manyetik parçacıklar genellikle izolasyon işlemlerinde kullanılmaktadırlar. Manyetik seperasyon için farklı tipteki seperatörler kullanılmaktadır. Fakat çoğu zaman ucuz, güçlü ve kalıcı mıknatıslar özellikle başlangıç deneylerinde benzer verimliliktedir.

Manyetik taşıyıcılar ve absorbentler hem laboratuar ortamında hazırlanarak elde edilebilir hem de piyasada mevcuttur. Manyetik parçacıklar gibi davranan bazı taşıyıcılar çeşitli sentetik polimerlerle, biyopolimerler, gözenekli camlardan, yüzey modifikasyonlu manyetitler gibi inorganik manyetik materyal temelli manyetik parçacıklarda kullanılabilir. Birçok parçacık dış manyetik alanda süperparamanyetik gibi davranmaktadırlar. Fakat dış manyetik alan olmadığı zaman parçacıkların birbiriyle etkileşim içinde olmayacaklardır. Manyetik parçacıkların tekrar karıştırılabileceği ve süspansiyonda daha uzun zaman kalabileceği gerçeği çok önemlidir. Birçok durumda parçacıkların çapı 50nm ile yaklaşık 10µm arasında değişmektedir. Büyük manyetik çekimli parçacıklar olmasına rağmen milimetre aralığının üzerinde çaplarda başarılı bir şekilde kullanılmaktadır [2]. Çapları 1µm'den büyük olan manyetik parçacıklar basit manyetik seperatörler kullanılarak ayrıştırılabilirken, daha küçük parçacıkların seperasyonu için 10–100 nanometre aralığındaki parçacık boyutuna sahip olan manyetik kolloidler yüksek gradyanlı manyetik seperatörlere ihtiyaç duyulmaktadır.

Piyasada mevcut olan manyetik parçacıklar çeşitli firmalardan elde edilebilir. Birçok durumda polisteren polimer matris olarak kullanılabilir. Bunun yanında selüloz, agaroz, silika, gözenekli cam ve silinize edilmiş manyetik parçacık temelli taşıyıcılarda mevcuttur [2].

İmmobilize bağ ligandlı parçacıklar manyetik çekim absorpsiyonu için kullanılmaktadır. Protein ve peptitlerin izolasyonunda streptavidin, antikor, protein A ve protein G çok sık olarak kullanılmaktadır. Manyetik parçacıklar ve yukarıda bahsedilen immobilize ligandlar doğal ve modife edilmiş bağ ligandlarıyla immobilize generik solid

fazdaymış gibi davranmaktadır. Antikorlardaki immobilize protein A, protein G ve ikincil antikorlar biyotinlenmiş moleküllerdeki immobilize streptavidin gibi davranırlar.

Diğer bağ ligandları nitrilotriasetik asit, glutathione, tripsin, tripsin inhibitör, jeletin gibi piyasada bulunan taşıyıcılardır. Laboratuvar ortamında hazırlanmış ve piyasada bulunan diğer ligandlarla immobilize manyetik parçacıklar, standart afinite kromatografisinde kullanılmaktadır. –COOH, –OH ve –NH₂ gibi fonksiyonlar manyetik parçacıkların yüzeyinde mevcut olan fonksiyonel grupların immobilizasyon için kullanılmaktadır. Bazı durumlarda manyetik parçacıklar tozile aktivasyonlu, epoksi aktivasyonlu gibi parçacıklardan aktive edilmektedir. Laboratuardaki manyetit, maghemite ve ferritler gibi benzer materyallerin parçacık yüzeyi silinizasyonla modife edilebilirler. Bu işlem inorganik parçacıkların yüzeyini de modife edebilir ve uygun fonksiyonel gruplar bağ ligandlarının immobilizasyonu sağlayabilen gruplar olarak yer almaktadır [2]. Manyetik parçacıklar ile demir oksitlerin kullanılması sonucunda bazı durumlarda enzim aktivasyonunu azaltabilmektedirler. Bu durumda kapsüllenmiş mikro küreler kaplanmış polimerlerin kullanılması daha güvenli olmaktadır.

Agaroz, şitosan, kappa carrageenan ve alginat gibi polimerler kolayca manyetik formda hazırlanabilirler. Biyopolimer solüsyondaki en basit yol manyetik parçacıklarla ve daha sonra küçük parçacıkların içine mekaniksel olarak konulan manyetik jel formundaki bulk jellerin karşılaştırılmasıdır [2]. Alternatif olarak yayılmış manyetit içeren biyopolimer solüsyonlara karıştırılmış solüsyonu veya küresel parçacıklar hazırlamak için kullanılan suyun yağdaki emilasyonu tekniği kullanılabilir [2].

Temel olarak bazı işlemler polivinil alkol ve diğer metotlardaki gibi sentetik polimerlerden manyetik parçacıklar hazırlamak için kullanılabilir [2].

Diğer yaklaşımlarda kullanılan standart iyon değişimli kromatografi materyali su temelli ferro sıvılı absorbentin gözenekleri içinde toplanarak modife edilmiş materyali manyetik forma dönüşür [2].

Antifosfolipit antikorları [2], IgG antikorları [2] ve diğer proteinlerin seperasyonu için orjinal formda ve sonra immobilize spesifik proteinler olan manyetolipozomlar kullanılmaktadır.

Manyetik seperatörler manyetik parçacıkları sistemden ayırmak için gereklidir. En basit yaklaşımda küçük kalıcı mıknatıslar kullanılabilir. Fakat çeşitli manyetik seperatörlere güçlü nadir dünya mıknatısları eklenerek makul fiyatlarda elde edilebilir.

Bugünlerde birçok işlemlerde çok sayıdaki özel proteinlerin ve bileşenlerin analizinde gereklidir. Bu yüzden işlemler farklı proteinler için ve bunlara paralel olarak farklı işlemler

gerektirmektedir. Nükleik asitlerin, proteinlerin, verimli bir şekilde seperasyonu için çok sayıda sistemler mevcuttur. Proteinlerin izolasyonu için en çok kullanılan yaklaşım 6xHis-etiketli rekombinant proteinlerin Ni-nitriloeik asit ligandlı manyetik küreler ile izolasyonu yapılan yaklaşımdır [2]. Piyasada olan sistemler ise; Qiagen, USA (BioRobot ve Biosprint serileri), Tecan, Japon (Te-MagS) ve Thermo Electron Corporation USA (KingFisher) gibi firmalardır.

2.2.3 Protein ve Peptitlerin Manyetik Seperasyonu İçin Temel Prensipler

Protein ve peptitlerin manyetik seperasyonu genellikle uygun ve hızlıdır. Bundan dolayı iyi sonuçlar alınmasında etkilidir.

Protein ve peptitler serbest formda farklı kaynaklarla doğrudan izolasyonu yapılabilmektedir. Manyetik küreler birçok durumda farklı örnekler içindeki düşük sayıdaki spesifik olmayan hedef moleküllerle bağlar yapmaktadırlar. Gerçek örneklerde spesifik olmayan bağları yapan moleküllerin uzaklaştırılması ön temizleme işlemi gerekliyse, örneğe bağ ligandlarıyla kaplı olmayan manyetik küreler karıştırılabilir. İmmunomanyetik yapıda ikincil antikolar veya ilişkisiz antikolarla kaplı manyetik küreler kullanılmaktadır. Spesifik olmayan bağlamalar iyonik olmayan yıkayıcıların eklenmesiyle hem örnekte hem de hedefin izolasyonundan sonraki yıkama tamponlarında minimum hale getirilebilir.

Genel olarak manyetik bağ seperasyonları iki şekilde yapabilmekteyiz. Birinci olarak doğrudan metotta, uygun bağ ligandlı manyetik parçacıklarla veya biyopolimerlerle doğrudan birleşmektedir. İlgili hedef bileşenlerle manyetik çekim parçacıkların hazırlanması kısmında kullanılmaktadır. Bu parçacıklar hedef bileşenlere bağlanması için örneğe eklenirler. İkinci olarak dolaylı metotta serbest bağ ligandları birçok durumda uygun antikolarla hedef bileşenlerle etkileşmesini sağlamak için solüsyona veya süspansiyona eklenirler. Daha sonra uygun manyetik parçacıklarla sonuçtaki yapı yakalanmaktadır. Antikolarla yakalanan yapılar için kullanılan serbest yapılar; serbest bağ ligandlarıyla, ikincil antikolarla immobilize manyetik parçacıklarla, protein A ve protein G ile kullanılabilir. Alternatif olarak serbest bağ ligandları biyotinlenebilir ve streptavidin veya avidin ile immobilize manyetik parçacıklar yakalanmış yapıların şekillenmesinde kullanılmaktadır. Her iki metotta da manyetik parçacıklar ile izole edilmiş hedef bileşenler manyetik olarak ayrımı yapıldıktan sonra son yıkama adımlarında istenmeyen bileşenleri ve parçacıkları uzaklaştırılması işlemi gerçekleştirilmektedir. Hedef bileşenler genellikle elemine edilir, fakat spesifik uygulamalarda özellikle moleküler biyoloji, biyoanalitik kimya ve çevre kimyasında polimer zincir reaksiyonları manyetik ELISA gibi durumlarda manyetik parçacıklara eklenerek

kullanılmaktadır. Her iki metodun performansı yaklaşık olarak eşittir. Fakat genellikle doğrudan metot daha kontrol edilebilirdir. Eğer bağ ligandları hedef bileşen için zayıf bir çekime sahipse dolaylı metot daha iyi performans gösterir.

Birçok durumda manyetik batch absorpsiyonu seperasyon adımını gerçekleştirmek için kullanılabilir. Tüm seperasyon bir test tüpünde gerçekleştirilebildiğinden bu yaklaşımın en basit işlem olduğu görülmektedir. Çapı 1 μ m'nin üzerindeki büyük parçacıklar kullanılırsa basit manyetik seperatörler de kullanılabilir. Çapları 10–100 nanometre arasında değişen manyetik kolloidlerde bağ absorbentleri gibi kullanıldıklarında genellikle yüksek gradyanlı manyetik seperatörlerle sistemden manyetik parçacıkların uzaklaştırılmasında kullanılmaktadırlar.

Alternatif olarak sürekli seperasyon işlemini gerçekleştirebilen manyetik kararlı sıvı yatakları (MSFB) kullanılabilir. Özellikle büyük çaplı biyolojik ürünlerin saflaştırılmasında dolgulu yatakla ve sıvılı yataklar gibi kolon işlemlerde MSFB'nin kullanımı uygundur. Manyetik kararlı solid parçacıklar olmadan oluşan dolgulu yatakların genişlemesini sağlanmaktadır. Büyük kolon verimliliği, düşük basınçlı damlamayla eliminasyonuna ulaşabilmektedir [2].

Yeterli miktarda manyetik geçirgenliğe sahip parçacıklarda mevcutsa manyetik kararlı sıvı yataklarında manyetik olmayan kromatografik absorbentlerde kararlı olabilirler. Her parçacığın yoğunluğu ve boyutu, manyetik alan kuvvetini ve sıvının akışkanlığı gibi çeşitli parametreleri içeren, minimum miktardaki manyetik parçacıklar stabilize yataklar için gerekli fonksiyonlardır. Sürekli seperatörler için piyasada çeşitli bağ iyon değişimli ve absorpsiyonlu sağlayan yataklarda kullanılabilirler [2]. Biyolojik uygunluğu olan iki fazlı sistemler de dekstran, polietilen glikol içeren ve aktif hücre bileşenlerini, organeller ve hücreleri içeren örneklerin izolasyonunda kullanılmaktadır. Çok sayıdaki proteinler ve hücresel bileşenler mevcut olduğunda yavaş seperasyon fazlarının olması bu sistemin dezavantajlarından biridir. Seperasyon fazlarını sisteme ince manyetik parçacıklar veya ferro sıvılar eklenerek ve daha sonra manyetik alan uygulanarak hızlandırılabilir. İki fazlı sistem benzer yoğunluğa, fazlar arasındaki hacimsel yoğunluk çok yüksek veya düşük ise ve sistem akışkansa bu metot daha kullanışlı hale gelmektedir. Ek olarak ferro sıvıların ve demir oksit parçacıkların enzim aktivasyonuna herhangi bir etkisi olmadığı görülmektedir.

Protein ve peptitlerin izolasyonu için kullanılan manyetik teknikler ile manyetik seperasyon materyallerinin eliminasyonu yapılabilmektedir. Birçok durumda bağlı proteinlerin ve peptitlerin pH değişimleri, iyon kuvvetinin değişimi, dioksan ve etilen glikol gibi polarite azaltıcı ajanlar ve katodik tuzlarla yapıldığında standart eliminasyon metodu gibi

sayılabilmektedir. Bağ eleminatörü serbest şeker eklenmesiyle lektin kaplı manyetik küreler glikoproteinlerin gibi davranmasıyla hem çok verimli hem de yavaş işlem olabilmektedir.

2.2.4 Protein ve Peptitlerin Manyetik Seperasyonunun Özellikleri

Manyetik çekimlilik ve iyon değişimi seperasyonları moleküler biyoloji, biyokimya, immuokimya, enzimoloji, analitik kimya ve çevre kimyası gibi çeşitli alanlarda başarılı bir şekilde kullanılmaktadır [2]. Protein ve peptitlerin izolasyonu için kullanılan bu tekniklerin uygulamaları Çizelge 2.1-2.9' da gösterilmektedir.

Protein ve peptitlerin saflaştırılmasında manyetik çekim seperasyonu için basit stratejiler yoktur. Çeşitli bağ ligandları manyetik parçacıklara, hedef enzim ve lektinler için biyopolimerlere gösterdiği çekimlilikten hazırlanan manyetik parçacıklarda immobilizedir. Hedef yapıya karşıt olan spesifik antikolar ile immobilize manyetik parçacıklar gibi immunomanyetik parçacıklar hem molekül hem de hücreler için çeşitli antijenlerin izolasyonunda kullanılmaktadır [2]. Böylece spesifik proteinlerin seperasyonunda da kullanılabilir.

Manyetik seperasyon işlemleri birkaç yolla uygulanabilir. Hedef protein ve peptitlerin izolasyonu genellikle gerekmektedir. Diğer durumlar, manyetik seperasyon SDS elektroforezis ile uygun tamponla eliminasyonundan sonra doğrudan takip edilebilir. Manyetik alanla seperasyon edilmiş peptit ve proteinlerin kütle spektroskopisinin karakteristiği içinde kullanılabilirler [2]. Çeşitli tipteki sıvı immunoassaylar kullanılarak protein ve peptitlerin yönünün karşılaştırılmasında temel prensipli manyetik seperatörler kullanılabilir. Biotinlenmiş birincil antikolar ve analty yapılarının yakalanmasında kullanılan immobilize streptavidinli hedef analyte genellikle immunomanyetik parçacıklarla doğrudan yakalanmaktadırlar. Uygun metot kullanılarak ve genellikle eliminasyon yapılmadan ayrılmış analyte karar verilir. Afinite kılcal elektroforezis ile manyetik seperasyonunun kombinasyonu da mümkündür [2].Enzim izolasyonu genellikle immobilize inhibitörlerle, kofaktörlerle, boyalarla ve diğer uygun ligandlar ve bağ biyopolimerlerinden hazırlanmış manyetik kürelerin kullanılmasıyla gerçekleştirilmektedir.

Çizelge 2.1 Manyetik tekniklerle saflaştırılmış proteinaz ve peptidaz örnekleri

Saflaştırılmış enzim	Kaynak	Manyetik taşıyıcılar	Bağ ligandı	Diğer detaylar	Kaynak
Aminopeptitaz	Arabidopsis	Amin sonlu manyetik küreler	N-1-Naptilpitilamik asit	KCl gradyant eliminasyon	[2]
	Domuz akciğer membranları	Dynabeads	Poliklonal antikorlar		[2]
Bromelayin	Ticari preparasyon	Poliakrilik asit-demir oksit manyetik nano parçacıkları		KCl solüsyonuyla eliminasyon	[2]
Kaspaz (recombinant histidin)	İnsan hücreleri	Manyetik agaroz	Ni-NTA	SDS-PAGE tamponla eliminasyon	[2]
Kemomotripsin	Ticari solüsyon	Manyetik sitozin küreler		N-asetil-D-triptopan ile eliminasyon	[2]
Nla-protaz (rekombinant histidin sonlu)	Plum Pox Virus	Manyetik küre ve nikel-silika, içerikli matris	Ni ²⁺	İmidazol içeren tamponla eliminasyon	[2]
Proteinaz	Ticari solüsyon	Manyetik karşılıklı bağlı eritrositler		Düşük pH tamponla eliminasyon	[2]
Proteinaz bakteriyal (Savinase)	Ticari kaynaklar	Silimize manyetik parçacıklar	Basitrasin		[2]
Tripsin	Porcine pancreatin	Silimize manyetik parçacıklar	p-Aminobenzamid	Düşük pH tamponla eliminasyon	[2]
	Porcine pancreatin	Manyetik polimer parçacıklar	Soyban tripsin inhibitör	Düşük pH solüsyonla eliminasyon	[2]
	Ticari preparasyon	Silimize ferrit tozlar	Soyban tripsin inhibitör		[2]
	Ticari preparasyon	Manyetik κ-carrageenan Parçacıklar	Soyban tripsin inhibitör	Düşük pH solüsyonla eliminasyon, MSFB	[2]
	Ticari preparasyon	Manyetik poliakrilamit parçacıklar	Soybean tripsin inhibitör	Manyetik kararlı sıvılı yataklar	[2]
	Ticari preparasyon	Manyetik sitozin parçacıklar	Aprotinin	Düşük pH solüsyonla eliminasyon	[2]
	Ticari preparasyon	Manyetik karşılıklı bağlı eritrositler		Düşük pH tamponla eliminasyon, büyük hacim örneğinden seperasyon	[2]
Urokinaz	Crude urokinaz preparasyon	Manyetik dekstran, agaroz, polivinil alkol, polihidroksi etil metakrilat Mikroküreler	p-Aminobenzamid, L-arginin metil ester, guanidin heksonik asit veya guanidin asetik asit		[2]

Çizelge 2.2 Manyetik teknikler kullanılarak lizozomların saflaştırılması

Saflaştırılmış enzim	Kaynak	Manyetik taşıyıcılar	Bağ ligandı	Diğer detaylar	Kaynak
Lizozom	Tavuk yumurtası beyazı	Manyetik kitin		0.01 M HCl ile eliminasyonu	[2]
	Tavuk yumurtası beyazı	Manyetik asellilli şitosan		0.01 M HCl ile eliminasyonu	[2]
	Ticari preparat	Manyetik poli(2-hidroksietil metakrilat) manyetik şitosan parçacıklar	Cibacron mavisi F3GA	1 M KSCN ile eliminasyon	[2]
		Manyetik şitosan küreler		Manyetik kararlı sıvılı yataklar	[2]
	Ornithodoros moubata	Manyetik kitin		Yüksek tuzlu tampon ile alkali eliminasyonu	[2]
	Ticari preparat	Manyetik çapraz bağlı polivinilalkol	Cibacron mavisi F3GA	Yüksek tuzlu tampon ile eliminasyonu	[2]
		manyetik-poliakrilikasit nanoparçacıkları		İyon değişim dağılımı	[2]
		Manyetik çapraz bağlı polivinilalkol parçacıkları		Emilim çalışması	[2]
	Ticari preparat	Manyetik agaroz küreler	Cibacron mavisi 3GA	Manyetiksel sıvı ile stabilize edilmiş yatak	[2]
		Manyetik şitosan	Cibacron mavisi 3GA	Emilim özellikleri çalışmaları	[2]
	Ticari preparat	Ferro sıvılı modife talaş		0.5 M NaCl ile eliminasyonu	[2]
	Ticari preparat	Nano boyutlu manyetik parçacık		NaH ₂ PO ₄ ve NaSCN ile eliminasyon	[2]
lizozom (rekombinant, Histidin sonlu)	T4	BioMag amin sonlu	Cu ²⁺ ile doyurulmuş iminodiasetikasit	Düşük pH'lı tampon ile eliminasyonu	[2]

Çizelge2.3 Polisakkarit ve disakkarit hidrolazın manyetik tekniklerle saflaştırılmasının örnekleri

Saflaştırılmış enzim	Kaynak	Manyetik taşıyıcılar	Bağ ligandı	Diğer detaylar	Kaynak
α -Amilaz	Pankreas parçası, Bacillus subtilis, tahıl mikrobu,	Manyetik alginate parçacıkları		1 M maltoz ile eliminasyon	[2]
	Bacillus amyloliquefaciens, Pankreas parçası	Manyetik alginate mikro parçacıklar		1 M maltoz ile eliminasyon	[2]
β -Amilaz	Tatlı patates	Silimize manyetitletler		1 M maltoz ile eliminasyon	[2]
β -gaktosidaz	Homojen Escherichia coli		p-Aminofenil- β -D tiogalaktopiranzit	Borik asit tamponu ile eliminasyon, pH 10	[2]
β -gaktosidaz	Bakteriyal lizat	Manyetik alginate parçacıklar	Escherichia coli lak operatörü içeren DNA	Laktoz analogu ile eliminasyon	[2]
Glukoamilaz	Aspergillus niger	Manyetik alginate parçacıklar		1 M maltoz ile eliminasyon	[2]
Pektinaz	Ticari preparat	Manyetik alginate parçacıklar			[2]
Pululanaz	Bacillus acidopullulyticus	Manyetik alginate parçacıklar		1 M maltoz ile eliminasyon	[2]

Çizelge2. 4 Manyetik tekniklerle saflaştırılmış diğer enzimlerin örnekleri

Saflaştırılmış enzim	Kaynak	Manyetik taşıyıcılar	Bağ ligandı	Diğer detaylar	Kaynak
Alkol dehidrogenaz	Homojen bira mayası	Manyetik çapraz bağlı polivinli alkol	Cibacron mavi 3GA	Yüksek tuzlu tamponla eliminasyon	[2]
	Saccharomyces cerevisiae ürününden		Mavi sikkakronla bağlı PEG	İki fazlı manyetik sistem	[2]
Aldolaz (recombinant, histidin)	Bezelye	Manyetik küre ve nikel silika bileşimli matris	Ni ²⁺	İmidazol içeren tamponla eliminasyon	[2]
Angiol-TEM-β-laktamaz	Escherichia coli hücrelerinin özü	Manyetik agaroz parçacıklar	Zn ²⁺ ile desteklenmiş İminodiasetik asit	Düşük pH tamponuyla eliminasyon	[2]
Asparajinaz	Escherichia coli homojen	Manyetik poliakrilamit jel parçacıkları	D-asparajin	D-asparajin solüsyonu ile eliminasyon	[2]
Karbonik anhidraz	Model karışım	Manyetik agaroz parçacıklar	sülfanilmit	Yüksek tuzlu tampon ile eliminasyon	[2]
Katalaz	İnek karaciğeri, Ticari preparat	Manyetik poli(EGDMA-MAH) parçacıkları	Fe ³⁺	NaSCN solüsyonu ile eliminasyon	[2]
Sitokrom c	At, Candida krusei	Amin sonlu demir oksit parçacıkları Au@manyetik parçacıklar	Cu ²⁺ ile desteklenmiş iminodiasetik asit	Bağlama çalışmaları	[2]
	Ticari preparat			MALDI MS analiz	[2]
	At kalbi	Manyetik agaroz parçacıklar	Cu ²⁺ ile desteklenmiş iminodiasetik asit	EDTA içeren tampon ile eliminasyon	[2]
	İnek kalbi	Manyetik iyon değişimli parçacıklar		Protein bağlı çalışmalar	[2]
Glukoz-6-fosfat dehidrogenaz		Ferro sıvı modife edilmiş sefroz 4B	ADP		[2]
	Saccharomyces Cerevisiae ürünü		Cibacron mavisi ile bağlı PEG	İki fazlı manyetik sistemler	[2]
Hekzokinaz	Escherichia coli homojen		Cibacron mavisi ile bağlı PEG	İki fazlı manyetik sistemler	[2]
Laktat dehidrogenaz	Sığır kalbi	Ferro sıvı modife edilmiş sefroz 4B	AMP	1 mM NADH ile eliminasyon	[2]
	Kas bölümü	Manyetik agaroz parçacıklar	Aktif olmayan kırmızı 120	NaCl gradyenti ile kolon eliminasyonu	[2]

Çizelge2. 4 Manyetik tekniklerle saflaştırılmış diğer enzimlerin örnekleri

Saflaştırılmış enzim	Kaynak	Manyetik taşıyıcılar	Bağ ligandı	Diğer detaylar	Kaynak
Laktoperoksidaz	Tatlı kesilmiş sütün suyu	Manyetik kation değişiciler		HGMS	[2]
Lusiferaz (histidin etiketli)	Escherichia coli homojen	MagneHis™ sistem	Ni ²⁺	Aktif bağlı enzim ölçümü	[2]
Fosfataz, alkalın	İnsan plasentası	Dynabeads M-450	Spesifik antikor	Bağlı enzimin ölçüm aktivitesi	[2]
Fosfataz, alkalın (DNA bağlayıcı lac represyonundan oluşan füzyon proteini)	Bakteriyal liyaz	Manyetik parçacıklar	Escherichia coli lac operatörü içeren DNA	Lakto analogu ile eliminasyon	[2]
fosfofruktokinaz	Saccharomyces Cerevisiae ürünü		Cibacron mavi ile bağlı PEG	İki fazlı manyetik sistem	[2]
6-fosfoglukonatde hidroenaz		Ferro sıvı modife edilmiş sefaroze 4B	ADP	1 mM NADP ile eliminasyon	[2]
Tioredoksin (histidin etiketli)	Escherichia coli	Manyetik agaroz parçacıklar	Ni-NTA	İmidazol içeren tampon ile eliminasyon	[2]
tRNA metionil sentetaz (histidin etiketli recombinant)	Escherichia coli	MagneHis™ sistem	Ni ²⁺	Hızlı seçim ve bir miktar izolasyonlu protein	[2]
Urikaz (histidin sonlu bileşimler)	Basilus	İyon katabilen manyetik agaroz parçacıklar	Ni ²⁺	Proteinaz K ile hücre bölünmesiyle eliminasyon	[2]

Çizelge2. 5 Manyetik tekniklerle saflaştırılmış diğer antikor örnekleri

Saflaştırılmış enzim	Kaynak	Manyetik taşıyıcılar	Bağ ligandı	Diğer detaylar	Kaynak
Anti-BODIPY floresan antikor		Manyetik lipozom	BODIPY-floresan		[2]
Anti-DNA antikor	Sistemik lupus eritematöz hasta plazması	Manyetik poli(2-hidroksietil-metakrilat) parçalar	DNA	1 m NaSCN ile yayılım	[2]
Anti-Human korionik gonadotropin antikor	Murin asit süpernatans	Manyetik selüloz parçacıkları	Human korionik gonadotropin		[2]
Antikor (ratlarda)	Afinite kromatografisinde örnek	Dynabeads M-280	Anti-tavşan IgG testi	Antikor kontrasyonu	[2]
Antikor	Tavşan serumu	Dynabeads M-280	Anti-tavşan IgG testi	0.5 M asetik asit ile eliminasyon	[2]

Çizelge2. 5 Manyetik tekniklerle saflaştırılmış diğer antikor örnekleri

Saflaştırılmış enzim	Kaynak	Manyetik taşıyıcılar	Bağ ligandı	Diğer detaylar	Kaynak
Monoklonal antikor	Melez fare etsuyu kültürü	Manyetik partikül	Proteia A		[2]
Anti-inek albümin antikor serum		Isı duyarlı mikroküre	İnek serum albumin	Karbodimimid metodu ile immobilizasyon	[2]
İnsan immunoglobulin G	Ticari preparat	Manyetik poli(etilenglikol dimetakrilayt-N-metakriloy-L-histidin-metilester) parçaları		1 M NaCl ile eliminasyon	[2]
İmmunoglobulin G	Kan serumu	Karboksi-terminal manyetik parçaları	M proteinAG		[2]
IgE antikor	Alerjik hasta sera	Manyetik lipozom	Antijen proteinler		[2]
Fare anti-fibroblast büyüme faktör reseptör I Ig M	Asit	Polistirene manyetik parçacıkları	Ratda Anti-fare IgM monoklonal antikor		[2]

Çizelge 2.6. Manyetik tekniklerle saflaştırılmış DNA/RNA/oligonükleotit/aptamer bağlayan proteinlerin örnekleri

Saflaştırılmış enzim	Kaynak	Manyetik taşıyıcılar	Bağ ligandı	Diğer detaylar	Kaynak
CUG bağlayan proteinler	İnsan miyoblast veya fibroblast	Dynabeads M-280 streptavidin	Biyotinlenmiş (CUG) ₁₀	1 M NaCl ile eliminasyonu	[2]
Transkripsiyon faktörü τ	Saccharomyces cerevisiae	Dynabeads M-280 streptavidin	Biyotinlenmiş tRNA ^{Glu} parçası	Yüksek tuzlu tampon ile eliminasyonu	[2]
DNA bağlayan proteinler	Crude doku ürünü	Manyetik fosfo selülöz parçacıklar			[2]
DNA bağlayan proteinler	Escherichia coli	Manyetik fosfo selülöz parçacıklar			[2]
DNA bağlayan proteinler	HeLa nükleer öz	Dynabeads M-280 streptavidin	Biyotinle etiketlenmiş DNA parçası	2 M NaCl ile eliminasyonu	[2]
transkripsiyon faktöründen Vaccinia virus önceki	Vaccinia virions	Dynabeads M-280 streptavidin	Biyotinlenmiş çift zincirli DNA	Yüksek tuzlu tampon ile eliminasyonu	[2]
Ecdysteroid alıcısı	Drosophila melanogaster nükleer ürünü	Dynabeads M-280 streptavidin	Biyotinlenmiş çift zincirli oligonükleotit	0.4 M KCl ile eliminasyonu	[2]
NanR protein (tekrar birleşmesi)	Escherichia coli	μ MACS streptavidinli mikro küreler	Biyotinle etiketlenmiş DNA parçası	1 M NaCl ile eliminasyonu	[2]

Çizelge 2.6. Manyetik tekniklerle saflaştırılmış DNA/RNA/oligonükleotit/aptamer bağlayan proteinlerin örnekleri

Saflaştırılmış enzim	Kaynak	Manyetik taşıyıcılar	Bağ ligandı	Diğer detaylar	Kaynak
p27	Tavşan karaciğer hücresi	Dynabeads M-280 streptavidin	Guaninle zenginleştirilmiş çift zincirli DNA parçası	NaCl solüsyonu ile eliminasyonu	[2]
Pigpen protein	Endotel hücreler	Manyetik streptavidinli parçacıklar	Biyotinlenmiş aptamer	NaCl solüsyonu ile eliminasyonu	[2]
RNA bağlayan proteinler	Saccharomyces cerevisiae	µMACS streptavidinli mikro küreler	Biyotinle işaretlenmiş RNA probu	NaCl solüsyonu ile eliminasyonu	[2]
Tek lifli kromozom ucu bağlayıcı proteinler (sTBP)	Vertebra dokularından alınan nükleus	Dynabeads M-280 streptavidin	Biyotinlenmiş tek zincirli TTAGGGn repeats	Yüksek tuzlu tamponla eliminasyonu	[2]
Transkripsiyon proteinler	İnsan miyeloid hücreler	Dynabeads M-280 streptavidin	Biyotinlenmiş inducible element (hSIE)	Yüksek tuzlu tamponla eliminasyonu	[2]
Transkripsiyon faktör α RF-1	İnsan monosit ve epidermal hücreleri	Dynabeads M-280 streptavidin	γ RF-I zincirli içeren biyotinlenmiş DNA	0.6 M KCl ile eliminasyonu	[2]
Protein faktör MS2	Fareye ait iskelet miyotüpler	Dynabeads	Çift zincirli DNA	pH 4.2 100 mM sodyum asetat ile eliminasyonu	[2]
Rehber RNA bağlayan proteinler	Trypanosoma brucei mitokondri	keçiye konulan Anti fare IgG dynabeads M-450	Monoklonal antikor	SDS içeren düşük pH'lı tampon ile eliminasyonu	[2]
RNA bağlayan proteinler	Polen tohumu	Streptavidinli MagneSphere parçacıklar	Biyotinli oligonükleotitler	SDS tampon ile eliminasyonu	[2]
DNA bağlayan proteinler	Schistosoma mansoni	Dynabeads M-280 streptavidin	Biyotinli DNA	Sodyum asetat tampon ile eliminasyonu	[2]
ssDNA bağlayan proteinler	Transfected fare fibroblast	IgG Tavşan antidynabeads	Tavşan antikor	Dolaylı metot	[2]
Tenascin -C	Giloblastoma hücreler	Dynabeads streptavidinli	Biyotinli aptamer	Yüksek tuzlu tampon ile eliminasyonu	[2]
Termoregüler beyin faktörü (ThBF)	Rat beyni	Streptavidinli manyetik parçacıklar	Biyotinli oligonükleotitler	0.7 M KCl ile eliminasyonu	[2]
TTFI protein	Escherichia coli lizat	Dynabeads M-280 streptavidin	Biyotinli aptamer	DNaz ile eliminasyonu	[2]

Çizelge2. 7 Manyetik tekniklerle saflaştırılmış Albimün ve hemoglobin örnekleri

Saflaştırılmış enzim	Kaynak	Manyetik taşıyıcılar	Bağ ligandı	Diğer detaylar	Kaynak
İnek serum albumini	Ticari preparat	Manyetik agar parçacıkları	Cibacron mavi3GA	Yayılım deneyleri	[2]
	Ticari preparat	Manyetik çapraz bağlı polinalkol	Cibacron mavi3GA	Yayılım deneyleri	[2]
		Manyetik şitosan mikroküre	Cibacron mavi3GA		[2]
	Ticari preparat	Manyetik-poli(glisidilmetakrilat-triallyl isosiyanürat-div Nilbenzen) parçaları		Anyon değiştici seperasyon	[2]
	Ticari preparat	Magnetil poli(etilen glikol dimetakrilat-co-N-metakrilol-(L)-histidin metil eser) mikroparçalar	Cu ²⁴	1.0 M NaSCN ile eliminasyon	[2]
İnsan serum albumini	Ticari preparat	Manyetik poli(2-hidroksietilmetakrilat) parçacıkları	Cu ²⁴ ile iminodiasetik asit ile doyurulmuş	1.0 M NaSCN ile eliminasyon	[2]
	İnsan plazması	Manyetik poli(2-hidroksietilmetakrilat) parçacıkları	Cibacron mavi3GA	0.5 M NaSCN ile eliminasyon	[2]
	Ticari preparat	Isı duyarlı polimerler ile kaplanmış manyetik parçacıklar		Isının azaltılması ile yayılım	[2]
İnsan serum albumini(rekombinant etiketli)	Maya hücresi	Manyetik cam parçacıklar	Anti-FLAG antikor	EDTA içeren tampon ile eliminasyon	[2]
Glikat hemoglobin	İnsan vücudu	Manyetik poli(vinil alkol) parçacıkları	m-Aminofenil-boronik asit	Sorbitol ile eliminasyon	[2]
Hemoglobin	İnek, ticari preparat	İron oksit amin terminal parçacıkları	Cu ²⁴ ile iminodiasetik asit gerginleştirmesi	İmidazol içeren tampon ile eliminasyon	[2]
Hemoglobin A1c	İnsan vücudu	Magnetspirillum magneticum AMB-1'den izole edilmiş manyetik parçacıklar	m-Aminofenil-boronik asit	İmmünoassay affinitesi	[2]

Çizelge2. 8 Manyetik tekniklerle saflaştırılmış diğer proteinlerin örnekleri

Saflaştırılmış enzim	Kaynak	Manyetik taşıyıcılar	Bağ ligandı	Diğer detaylar	Kaynak
Aprotinin	İnek pankreas tozları	Manyetik şitosan parçacıkları	tiripsin	Düşük pH tamponu ile eliminasyon	[2]
konkanavilin A solanum tuberosum lektin	Jack bean ekstreleri	Manyetik parçacıklar	Dekstran		[2]
	Patates yumrusu	Manyetik şitosan		Düşük pH tamponu ile eliminasyon	[2]

Çizelge2. 8 Manyetik tekniklerle saflaştırılmış diğer proteinlerin örnekleri

Saflaştırılmış enzim	Kaynak	Manyetik taşıyıcılar	Bağ ligandı	Diğer detaylar	Kaynak
Yeşil floresan protein (histidin ekli)		Manyetik nanoparçacıklar	Ni-NTA	İmidazollu tamponla eliminasyon	[2]
SIRT2 protein(rekombinant histidin ekli)	insan	Manyetik agaroz parçacıkları	Ni-NTA	İmidazol içeren tampon ile eliminasyon	[2]
Elongasyon (uzama)faktör (rekombinant,histidin ekli)	Caenorhabditis elegans	Manyetik agaroz parçacıkları	Ni-NTA	İmidazol içeren tampon ile eliminasyon	[2]
Protein A	Rekombinant Escherichia coli	Manyetik Eudragit	İnsan IgG	iki-fazlı Manyetik sistem	[2]
Tümör nekroz faktör(TNF)		Dynabeads m-280	Fare monoklonal antikor	Solid faz immunoassay	[2]
Anti-MUC I diabody parçaları	Rekombinant Escherichia coli	Manyetik agaroz parçacıkları	Spesifik peptid		[2]
MHC clas II molekül	MDCK hücreleri	Ratlarda Dynabeads m-280 anti Fare Ig I	Spesifik antikor	SDS-PAGE tamponu ile eliminasyon	[2]
Lamin B ₃	Xenopus yumurtası ürünü	Dynabeads	Spesifik antikor	6 M üre ile eliminasyon	[2]
6x-His ekli protein	İnsan fibroblastları	Manyetik agaroz parçacıkları	Ni-NTA	İmidazol içeren tamponla eliminasyon	[2]
Östrojen reseptör	Yağ dokusu	Dynabeads m-280 streptavidin	Farelere insan östrojen reseptörüne karşı gelişmiş Biotinli monoklonal antikor	İndirekt metod	[2]
Kromatin sınırlayan thiol-reaktif fragmanlar	Fare fibroblastları	Mercurated manyetik agaroz parçacıklar	p-hidroksimerkuribenzoat	0.5 M NaCl ve 20 mM dithiothreitol ile eliminasyon	[2]
LI kaplı protein	İnsan papillomavirus	Manyetik poliglutaraldehyd parçacıkları	Cu ²⁺ ile doyrulmuş iminodiasetik asit	İmidazol içeren tampon ile eliminasyon	[2]
İnsülin resptörü	Ratda kas veya karaciğer ürünü	Dynabeads m-450	Anti-P5 antikor	SDS PAGE analiz	[2]
Stat3	DER hücreleri	Dynabeads	Biotinli tirozin fosforillenmiş peptidaz	SDS PAGE analiz	[2]
Transferin reseptörü	İnsan	Koyunda fareye karşı IgGI Dynabeads m-450	İnsanda transferin reseptörüne karşı monoklonal antikor	SDS analiz	[2]

Çizelge2. 8 Manyetik tekniklerle saflaştırılmış diğer proteinlerin örnekleri

Saflaştırılmış enzim	Kaynak	Manyetik taşıyıcılar	Bağ ligandı	Diğer detaylar	Kaynak
Prion protein PrP ^{Sc}	Beyin ürünü	Dynabeads m-280 tosyl aktivitesi	Plasminojen	SDS analiz	[2]
Ekstracelüler matriksden kaynaklanan biotinli proteinler	Bipolaris sorokiniana	Dynabeads	Streptavisin	SDS analiz	[2]
Kiryoprotektin	Lahanayı soğuk ortama maruz bırakma (Brassica oleracea)	Dynabeads-protein A	Spesifik antikor		[2]
Prostat spesifik antijen	prostat kanserli hastalardan elde edilen serum	Streptavidin kaplı Manyetik parçacıklar	Biotinlenmiş monoklonal antikor	Düşük pH tamponu ile eliminasyon	[2]
Östrojen reseptörü	Hücre dışı çevrimi	Manyetik parçacıklar	Antikor	SDS tamponu ile eliminasyon	[2]
VHDL reseptör	Helicoverpa zea	Streptavidin kaplı Manyetik parçacıklar	VHDL-biotin bağı		[2]
Fruktosilazine spesifik bağlayıcı protein	U937 hücreleri	Dynabeads m-280 tosyl aktivitesi	Poly-L-lizin-glukoz konjugatı	İki protein izolatu	[2]
Ubiquitin (histidin ekli)		Nikel-altın nanoçubuk		Asitik tampon ile eliminasyon	[2]

Çizelge 9. Manyetik tekniklerle saflaştırılmış proteinlerin örnekleri

Saflaştırılmış enzim	Kaynak	Manyetik taşıyıcılar	Bağ ligandı	Diğer detaylar	Kaynak
Biyotinli peptitler	Model karışımlar	Dynabeads M-280 streptavidin	Streptavidin	MALDI-TOF kütle analizinde kullanılır	[2]
(His) ₆ -Ala-Tyr-Gly	Sentetik peptit	Dynabeads M-280 tosil aktivasyonlu	Ni ²⁺ şarjlı Aminokaproik nitrilotriasetik asit	İmidazol solüsyonu ile eliminasyonu	[2]
Sentetik pentapeptitlere karşı fruktoz-1,6-bifosfat aldolaz	Sentetik karışım	Streptavidinli kaplı manyetik parçacıklar	T. brucei nin biyotinle etiketlenmiş fruktoz-1,6-bifosfat aldolaz	Polistiren parçacıklardaki penta peptitlere bağlanabilirler	[2]
Sitokrom c triptik sindirim ürünleri	Tripsin sindirilmiş sitokrom c	Au@magnetic parçacıklar		MALDI MS analizini takip eden iyon değişimi seperasyonu	[2]
Glutatyon		Altın ve demir oksit nanoparçacıklar			[2]
Nizin Z	Lactobacillus lactis	EDC aktivasyonlu manyetik parçacıklar	Anti-nizin antikoru	6 M üre ile eliminasyonu	[2]

Hedef protein ve peptitlerin izolasyonu ve saflaştırılması için en çok kullanılan teknik standart sıvı kolonlu kromatografidir. Manyetik seperasyon teknikleri yenidir ve hala gelişmektedir. Manyetik çekimli parçacıklar moleküler biyolojide özellikle nükleik asit seperasyonunda, hücre biyolojisinde, mikrobiyolojide hedef hücrelerin seperasyonunda, manyetik ELISA kullanarak seçilmiş örneğin karşılaştırılmasındaki bazı işlemlerinde ve alakalı tekniklerde, özellikle klinik işaretçiler ve çevresel atıkların ayrıştırılmasında kullanılmaktadır.

Gelecekte en azından iki alanda odaklanacağı düşünülmektedir. Birinci alanda manyetik çekimlilik seperasyon tekniklerinin biyokimya ve ilgili alanların, crude örneklerden merkezinden doğrudan hem küçük hem de büyük moleküler ağırlıklı çeşitli yapıların hızlı izolasyonunda ve bunların azalan saflaştırma adımlarında ve biyokimyasal analizin ELISA ile alakalı prensipleri kullanarak belirlenen hedef proteinlerin karışımlarından immunomanyetik parçacıkların yardımıyla seperasyonunun laboratuvar ortamındaki çalışmalarında odaklanacaktır. İkinci alan olarak, büyük çaplı endüstriyel sistemlerin üç klasik adımının sınıflandırma, konsantrasyon ve ilk saflaştırma adımlarının tek kısımlı işlem halinde getirilmesidir. Gıda endüstrisinin atıklarının, crude kültür ortamından biyolojik bileşenlerin doğrudan kullanılıp ve geliştirileceğine inanılmaktadır [2]. Manyetik teknikler kullanılarak oldukça büyük miktarda, düşük maliyetli ürünler elde edilebileceği düşünülmektedir. Fakat küçük çaplı izolasyonlar üzerinde odaklanacaktır. Buna bağlı olarak manyetik parçacıkların fiyatları düşürülecektir ve özel tipteki düşük maliyetli alanlar biyoteknolojideki basit ve ucuz yöntemlerle hazırlanan makul manyetik taşıyıcılar ve absorbentler var olacaktır. Pahalı olmayan verimli seperatörlerin olmasıyla büyük çaplı işlemler kolaylıkla gerçekleştirilebilecektir.

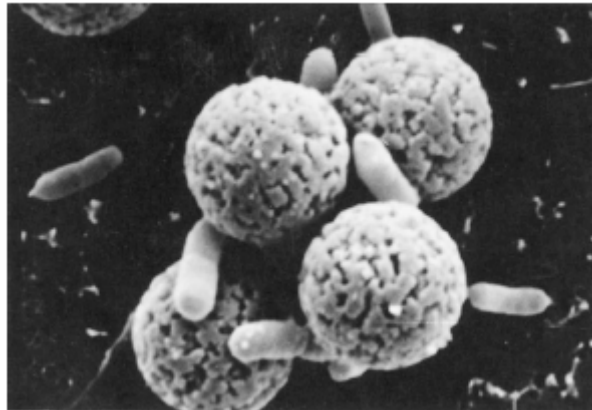
2.3 MİKROBİYOLOJİDEKİ UYGULAMALARI

İmmunomanyetik seperasyonlar özellikle gıda, klinik, veteriner ve çevre mikrobiyolojisinin birçok uygulamalarında kullanılmıştır. Bu tekniklerin temel rolü patojenik mikroorganizmaların bulunmasıdır. Standart mikrobiyolojik işlemleri 4 grupta ve en az 4 farklı büyüme ortamına ihtiyaç duymaktadırlar. Bu yüzden gıda örneklerinden sağlanan sonuç için toplam zaman günler içinde hesaplanabilir. Bulma periyodu ve izolasyonun kısalması için imkanlardan biri, non-growth ilgili işlem ile seçici zenginleştirilmiş kısmının yer değiştirmesidir. Bu ön zenginleştirilmiş ortam veya doğrudan örnekteki hedef organizmasının

spesifik manyetik seperasyonun yer değiştirmesidir. İzolasyonlu hücreler standart mikrobiyoloji işlemleriyle belirlenebilir. IMS yalnızca daha hızlı değildir ama daha çok sayıda pozitif örnek verir [1]. Ayrıca yapısal hasarlı ve ölü mikrobiyal hücreler IMS kullanılarak izole edilebilir [1]. Hedef mikroorganizmaların IMS'nun prensipleri Şekil 2.2'de şematik olarak gösterilmiştir.

Bilinen çok sayıdaki mikroorganizmalar IMS ile izole edilmişlerdir. Birçok durumda immunomanyetik parçacıklar laboratuarda hazırlanmışlardır. Mikrobiyal proteinlerin bulunması için, spesifik immunomanyetik parçacıklar piyasada mevcuttur. Bunlar Salmonella (Dynal), Listeria (Dynal) ve Escherichia coli 0157'nin (Dynal ve Cordinal, Santa Fe, NM, USA) bulunması için kullanılır.

Çeşitli bakteriyel antijenler, hücre duvarındaki (O-antijenleri) belirlenen antijenler veya flagellar ve fimbrial antijenler gibi antijenler bakterilerin IMS'nunda uygulanırlar. Monoklonel ve poli klonel Ab'lerin her ikisinde başarıyla kullanılır. Çok çeşitli uygulamalarda tek, yüksek spesifik Ab immobilizedir (ör. E.coli 0157'nin bulunması gibi) veya monoklonel ve poliklonel Ab'lerin karışımındaki çeşitli zıt antijenin tayini, bir geni zorlayabilir (Salmonella'nın bulunması gibi) ve çeşitli türleri yakalayabilmesi için immobilizedir. E. Coli 0157 ile çevrili Dynabead'lerin elektron mikroskobu görüntüsü IMS' nun etkinliğini gösterir. (Şekil 2.1)

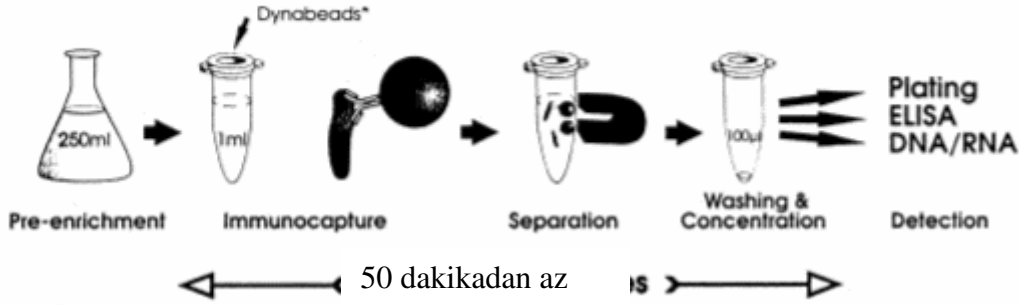


Şekil 2.1 E. coli O157 ' ye Dynabeads bağlı mikroparçacığrın elektronmikroskobu görüntüsü

IMS kullanılan hedef mikrobiyal hücrelerin izolasyonu birçok çeşitli metotla karakterize edilebilir. Besinsel ihtiyaçlar sağlanırsa, immunomanyetik veya lektin manyetik boncukların onların büyüme ve çoğalmaya devam eden hücrelerin hiçbir etkisinin olamamasından manyetik işaretlerin, hedef mikrobiyal hücrelerden ayırımına ihtiyaç yoktur. Manyetik olarak ayrılan hücreler seçici jeloz veya sıvı besleyici ortamında aşılabilir ve

standart yolla test edilebilirler. Manyetik olarak yakalanmış hücreler empedans tekniği [1], enzimle bağlı immunosorbant örnek (Elisa) kullanılarak bulunabilir [1].

IMS efektif olarak polimer zincir reaksiyonu ile (PCR) kombine edilirler. Kombine işleminin iki prosedürü bazen (Manyetik İmmuno PCR Assay) MIPA gibi kısaltılabilir [1]. IMS' nin temel amacı seyreltme boyunca hassaslık kaybı olmadan örnekten PCR inhibe ögesinin ayrılmasıdır. Oligonükleotit birincileri hedef geni (Salmonella' nın bulunması gibi) için veya kendi faydasının zorlaması için spesifik olmalıdır. MIPA tekniği için iki adımlı PCR' de birincil iki yuvalı çift ile yuvalı PCR gibi, çeşitli PCR modifikasyonlar tanımlanmıştır [1].



Şekil 2.2 İmmunomanyetik seperasyon işlemiyle hedef mikro organizmaların ayrımının şematik gösterimi[1]

2.4 TIP VE HÜCRE BİYOLOJİSİNDEKİ UYGULAMALARI

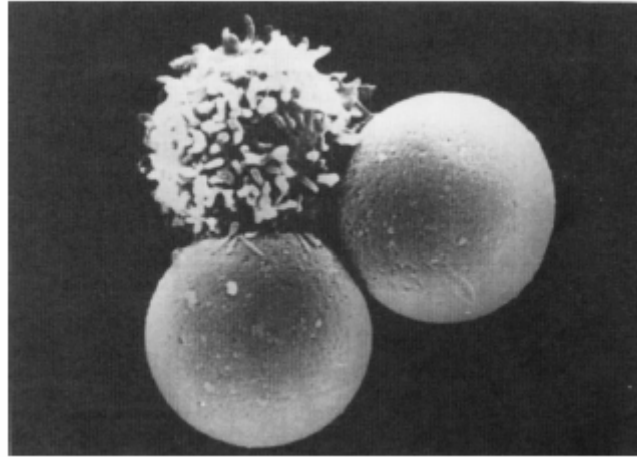
Çeşitli eurokaryotik hücrelerin izolasyonu için manyetik seperasyon tekniklerinin uygulamalarını tanımlayan çok sayıda makale vardır. Yaralı bilgi ve birçok örnek özet makaleler ve kitapçıklar bulunabilir [1]. Aşağıdaki yazı sadece seçilmiş uygulamalardan bahsedilecektir.

Kemik iliğinden kanser hücrelerinin uzaklaştırılması, IMS' uygulamasının en önemlilerinden biridir. Kanser hücrelerinin immunomanyetik seperasyonlu ilk deneyi Kemshead 1979' da yapmıştır. Atlogus kemik iliği nakli için kemik iliğinden nöroblastların uzaklaştırılması amacıyla kullanılan bu teknik diğer tümörler için daha sonra geliştirildi. Kemik iliği nakliyle bağlantılı kemik iliği naklinde ve hematopoetik hücrelerin fazla kaplanması gerekmektedir. Manyetik parçacıklarla karşılaşmadan önce monoklonal IgG Ab'lerin koktail ile sıklıkla hassaslaştırılan hücre süspansiyonunda genellikle dolaylı metot kullanılır [1]. Son zamanlarda IgG Mab' leriyle kaplanan efektif olarak kanser hücrelerini tüketebilen doğrudan immunomanyetik tasfiye işlemlerinden bahsedilmektedir [1].

Eğer dolaşımında kanser hücresi varsa, prognoza göre gerekli olanlar bilinmelidir ki ileri ki metastatik işlem araştırmalarında dolaşan tümör hücreleri önemlidir. Çok düşük sayıda tümör hücreleri kan içinde tespit edilebilir. Canlandırmadan önce, IMS tümör hücrelerini fazlalaştırabilir. Fakat örnekte mevcut olan büyük sayıdaki manyetik boncuklar zor olan immunokimyasal yoluyla tanımlamaları yapılır. Bu problemin bir çözümü gradyanlı sentrifügasyon tekniğini kullanmaktır. Bu işlem süresince yüksek yoğunluğa sahip manyetik boncukların fazlaları daha düşük yoğunluklu tamamen rozetli boncuklu tümör hücreleri tarafından ayrılırlar. %75' den daha fazla hedef hücresi içerdiğinde fazlalık manyetik parçacıklar %95 ve daha fazlasını bu metotla uzaklaştırabilirler.

Allogenic kemik iliği naklinde (GVHD) birçok hastalığın veya nakledilen dokunun eliminasyonu vericinin kemik iliğinden T hücrelerini atılması gereklidir. Doğrudan metot T hücrelerinin 3-log yıkıma imkan verir.[1]

Kan ve diğer hücre kaynaklarından doğrudan insan hücre alt yapılarının izolasyonu için manyetik parçacıkların kullanılması artmaktadır. B libozomlar [1], endotel hücreler [1], gronülotit [1], hematopoetik soy hücreler [1], Langerhans hücreleri [1], lökositler [1], monositler [1], doğal öldüren hücreler [1], reticulocytes [1], T-lökosit [1], Şekil 2.3 T-lökosit ile sınırlı iki M-450 Dynabead'leri gösterir [1].



Şekil 2.3 İki tane Dynabeads M-450 bağlı T-lökosit elektron mikroskopik görüntüsü [1]

Sadece tüm hücreler değil ayrıca ham hücresel parçalardan başarıyla izole edilebilirler. Dynal hedef organellerin %99'dan fazlasını hızla izole edebilen hücresel M-500 Dynabead'leri geliştirmiştir [1].

2.5 PARASİTOLOJİDEKİ UYGULAMALAR

Bugüne kadar protozoon parazitlerin ayrımı ve izolasyonu için manyetik seperasyon tekniklerinin uygulamalarının örnekleri çok fazla değildir. Protozoon parçacıkları klinik örneklerde ve suda bulunmuştur.

İçme suyundaki *Cryptosporidium* oluşmasının patlak vermesi insan sağlığının korunmasının gerekli seviyede olması için ve talebin artmasıyla gündeme gelmiştir. Son zamanlarda *Cryptosporidium*'un IMS' u için 2 ticari ürün piyasaya çıkmıştır. Bunlar Dynal ve Clearwater Diagnostics, Portland, ME, USA tarafından üretilmiştir. (Aralık 1997, Draft) Filtrasyon/IMS/FA sudaki *Cryptosporidium*' i metot 1622 US Çevre Koruma Kurumu tarafından yaratıldı (EPA) [1]. Bu metot güvenilir düşük konsantrasyonlu *Cryptosporidium* geliştirmeye karar verilmiştir. Çok düşük bulanıklığı olan örneklerde (temiz su) IMS standart metottan çok daha iyi sonuçlar gösterilmiştir. Su örnekleri türbülendiğinde IMS azaltılması hızlı şekilde iyileştirilmiştir [1].

Hücrelerin manyetik seperasyonu, diğer işlemlerin hatalı olduğu birçok uygulamalarda yararlılığı gösterilmiştir. Ucuz standart iş için temel aletler ve birçok kullanmaya hazır kolay ölçüye göre büyütülebilen ürünlerin mevcut olabileceğini bu teknik göstermektedir.

Bugünlerde immunomanyetik seperasyon standart prosedürü ve gelecek vaad etmektedir. Bu yüzden lektin, karbonhidrat, antijen veya faj gibi spesifik benzer ligandların önemi artacaktır.

Manyetik seperasyon teknikleri biyolojide kullanılan önemli diğer tekniklerle yarışmaktadır. Bu sistemin bir avantajı ilişkili hücrelerin ayrılmasıyla birlikte hedef hücrelerinin seçici seperasyonuna olanak sağlayan teknikler ve PCR için değerlidir. Bu iki prensibin kombinasyonu gıdada, klinik çevresel mikrobiyolojide, hücre biyolojisinde, tıpta ve parazitolojide önemlidir.

Benzer parçacıklar ve immunomanyetik kullanarak hedef hücrelerinin seperasyonu manyetik tekniklerin potansiyellerinin gösterdikleri temel alandır. Bu yüzden manyetik parçacıklar ilaçların iletilmesi veya radyoterapi veya hipertermiyaya imkan sağlaması için hedef hücreleri ve dokular işaretlenebilir [24]. Bugünkü ve gelecekteki gelişmeler, kombinasyonlu terapiler için daha çok manyetik taşıyıcılar kullanılacaktır [1].

Manyetik seperasyon teknikleri minyatür ve otomatik olabilir. Diğer taraftan geniş skalalı uygulamalarda da mümkündür. Tartışılan tekniklerin mümkün olan uygulamalarının faaliyet alanı çok geniştir ve biyolojide ve Biyoteknik'te çeşitli alanlardaki birçok yeni prosedür şüphesiz yakın gelecekte gelişecektir.

3. MİKNATISLANMIŞ GRANÜLER YATAKLARIN ÖZELLİKLERİ

Manyetik parçacıkların Tıp ve Biyolojik sistemlerde kullanılması işlemlerinin sonunda oluşan yeni ajanların manyetik filtre ve seperatörlerde ayrıştırılması gerekmektedir. Bu amaçla mıknatıslanmış ferromanyetik elemanlarda oluşturulmuş dolgulu yatakların (matrislerin) kullanılması gereksinimi ortaya çıkar. Bu durumda mıknatıslanmış ferromanyetik dolgulu yatakların manyetik, hidrodinamik ve diğer fiziksel ve kimyasal özelliklerinin incelenmesi çok önemlidir.

Mıknatıslanmış ferromanyetik elemanlardan (küre, çubuk, tel, plaka, talaşlar v.b.) oluşturulmuş dolgulu yataklar manyetik filtrasyon ve seperasyon proseslerin yaygın olarak kullanılmaktadır. Bu tip yataklar Maden Mühendisliğinde cevher hazırlamada kullanılmaktadır [1,3], endüstriyel sıvı ve gazların mikron ve submikron boyutlu parçacıklardan temizlenmesinde [4–9], biyolojik objelerin seperasyonunda [10,11], bazı tıbbi uygulamalarda [12,13] ve diğer birçok sanayi alanlarında başarıyla kullanılmaktadır.

Manyetik seperatörlerden [1–3] farklı olarak, manyetik filtrelerde esasen birbiriyle teğetleşmiş dolgu elemanlarından oluşturulmuş yataklar kullanılmaktadır [4–8]. Bu tip yataklarda manyetik kürelerin kullanılması birçok avantajlara sahiptir [4–7,14]. Bu nedenle mıknatıslanmış ferromanyetik kürelerden oluşturulmuş yatakların mıknatıslanma ve kuvvet etkileri özelliklerinin incelenmesi pratik açıdan büyük önem arz etmektedir.

Bellidir ki dış homojen manyetik alan getirilmiş herhangi bir ferromanyetik eleman mıknatıslanarak kendi etrafında kesin olarak değişen yüksek gradyanlı bir manyetik alan oluşturur. Birçok ferromanyetik elemanlardan oluşturulmuş dolgulu yatak dış homojen alanda mıknatıslandığından, yatağın gözeneklerinde yüksek gradyanlı alanlar oluşur. Bu alanlar parçacıkları tutma bölgelerini oluşturmaktadırlar. Manyetik filtre ve seperatörlerin tasarımının ve temel çalışma parametrelerinin belirlenmesi için bu tip yatakların mıknatıslanma özelliklerinin belirlenmesi çok önemlidir. Fakat bu tip yatakların mıknatıslanma özellikleri belirlenirken ya tek [15,16] ya da en fazla iki [16,17] mıknatıslanmış kürenin oluşturduğu yüksek gradyanlı manyetik alan ele alınmıştır. Çok sayıdaki mıknatıslanmış kürelerin oluşturduğu yataklarda oluşan gradyanlı manyetik alanın statik manyetik alan teorisinin temel denklemlerine dayanarak incelenmesi matematik açıdan karmaşık ifadelerin elde edilmesine neden oluşturmaktadır [15,16]. Bu ifadeler oluşan manyetik alanın ve bu alana yerleştirilmiş parçacığa etkileyen kuvvetin değerlendirilmesinde pratik açıdan çok kullanışlı değildirler. Bununla beraber manyetik seperatör ve filtrelerde kullanılan dolgulu yatak elemanlarının (kürelerin) sayısı 10^3 – 10^7 civarlarında olabilir. Bu nedenle, çok sayılı

mıknatıslanmış kürelerin oluşturduğu gradyantlı alan bütün elemanların endükledükleri mıknatıslanmaların etkileri dikkate alınmakla belirlenmelidir.

Ferromanyetik granüllerden, özellikle kürelerden oluşturulmuş ortamların mıknatıslanma özellikleri birçok araştırmacı tarafından incelenmiştir [17,18]. Bu teorik ve deneysel incelemelerde esasen granül ortamın ortalama manyetik geçirgenliği ($\langle\mu\rangle$) ve ona bağımlı ortalama manyetik alan indüksiyonu ($\langle B\rangle$) belirlenmiştir. Bu parametreler dolgu elemanın (kürenin) manyetik permabilitesi (μ), alan yoğunluğundan (H) ve dolgu faktörü (packing fraction of the bed element) (γ) bağımlıdır. Fakat bu deneyler $H=20\dots30$ KA/m alanda yapılmıştır. Reel manyetik filtrelerde ise kullanılan manyetik alan şiddeti için referans değerleri $H=100\dots200$ KA/m civarlarındadır. Bundan başka teğetleşen kürelerden oluşmuş dolgulu yataklarda mıknatıslanma bölgeleri seçim özelliğine sahiptirler. Manyetik alanın kuvvet çizgileri kürelerin teğet noktaları etrafında çok sıkı olup, bu noktalardan uzaklaştıkça ise hızla zayıflamaktadırlar. Bu nedenle bu sonuçlar dolgulu yatağın genel olarak mıknatıslanma özelliğini aydınlatılmasıyla beraber manyetik filtrasyon ve seperasyon teorisi ve pratiği için önemli olan aktif bölgelerdeki alan değişimini incelemek için kullanışlı değildir.

Mıknatıslanmış dolgulu yataklarda gözeneğin geometrisine bağlı olarak manyetik alan şiddetinin değişiminin eksponansiyel şekilde değişmekte olduğu gösterilmiştir [14,17]. Ampirik yöntemle elde edilen bu ifadeler dolgulu elemanların manyetik özelliğinin alan gradyantına etkisini küreler arasında oluşan hava aralıklarının indüklenen alan şiddetine etkisini dikkate alındığında imkân veriyor. Bundan başka, manyetik kuvvet için elde edilen ifade mıknatıslanmış kürelerin teğet noktalarının etrafında bizzat bu kuvvetin etkisini incelenmesine imkân vermez.

Ferromanyetik kürelerden oluşturulmuş dolgulu yatağın mıknatıslanma özellikleri kompakt şekilde A.V. Sandulyak tarafından verilmiştir [4]. Fakat manyetik filtrelerde parçacıklar tutma yarıçaplarının belirlenmesinde ve parçacıkların bu tip manyetik alanda hareketi dinamiğinin incelenmesinde bu ifadelerden yararlanmak pek kullanışlı değildir. Bu olayı gidermek için, kürelerin teğet noktaları etrafında çok dar bir aralıkta bu ifadelerin yaklaşık biçimdeki şekillerinden yararlanmak gerekir [4].

Bu bölümde granüllerden oluşturulmuş dolgulu ferromanyetik yatakların mıknatıslanma özellikleri dikkate alınarak mıknatıslanma kanalının manyetik geçirgenliği belirlenmiştir. Deneysel sonuçlarla karşılaştırılarak korelasyondan sonra bu sonuçlardan giderek mıknatıslanmış dolgulu yatakların ortalama manyetik geçirgenliği, mıknatıslanma

eğrisi, mıknatıslanma kanalında manyetik alan şiddetinin değişimi gibi anahtar parametreler belirlenir.

3.1 Mıknatıslanmış Dolgulu Yataklarda Oluşan Manyetik Alanın Özellikleri ve Mıknatıslanma Eğrisi

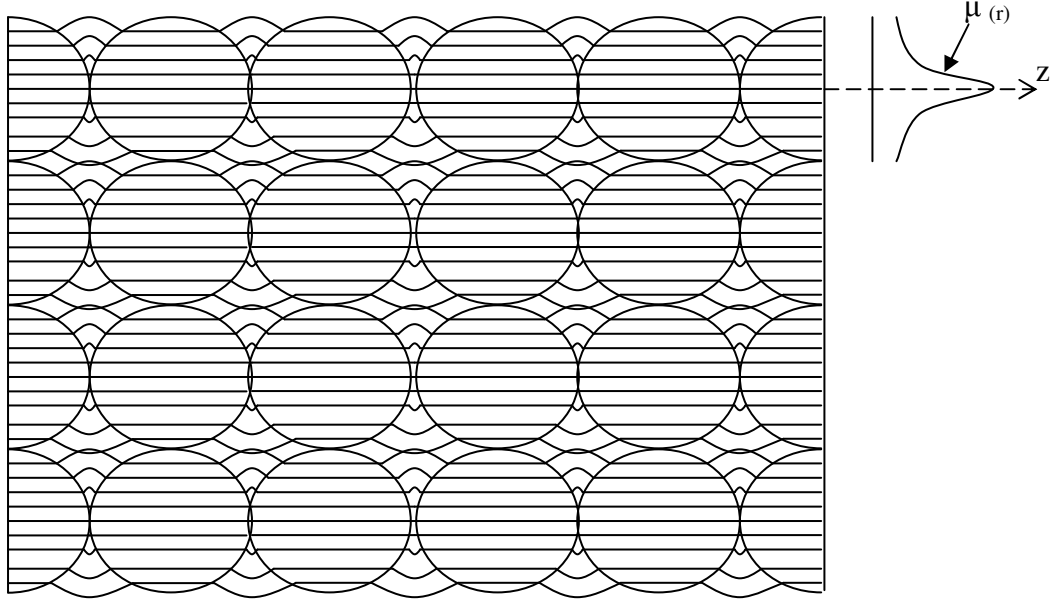
Dolgulu yatakların mıknatıslanma özelliklerini incelerken, bu tip ortamların çok dallı bir manyetik devre olduğunu dikkate almak gerekiyor. Bu devrenin dallarını birbirleriyle teğetlenmiş yatak eleman çifti oluşturmaktadır. Bütün dallar yatak elemanları (granüller) arasındaki değişken hava aralığına sahiptirler. Bu hava aralıkları yatak elemanlarının teğet noktalarından uzaklaştıkça büyürler ve dallara ait relüktansın artmasına neden olurlar. Dolayısıyla, granül şekli dolgulu yatakların mıknatıslanmasında granüllerin teğet noktalarına yaklaştıkça manyetik indüksiyon vektörünün kuvvet çizgileri sıklaşmaya başlar. Bu nedenle, granül yataklarının mıknatıslanması granüllerin teğet noktaları etrafında oluşan mıknatıslanma kanalları üzerinde oluşmaktadır. Bu mıknatıslanma kanalları dış manyetik alanın yönünde oluşmaktadır. Bu mıknatıslanma kanalları dış manyetik alan yönünde oluşarak, granüllerin teğetlenmiş olduğu doğru veya zikzaklı zincirler şeklinde oluşurlar. Mıknatıslanma kanallarının oluşması bu kanalların manyetik geçirgenliği tanımının ortaya çıkmasına neden olurlar [4,14]. Mıknatıslanma kanallarının manyetik geçirgenliğini belirlemek için aşağıdaki özellikleri dikkate alalım:

- Manyetik indüksiyon vektörünün çizgileri mıknatıslanmış küre yüzeyinde küre-hava (hava-küre)sınırında yaklaşık olarak yüzeye normal olarak yönelmiştir.
- Mıknatıslanma kanalları kürenin teğet noktaları etrafında eş eksenli, homojen borular şeklindedir. Yarıçapı r olan bu mıknatıslanma kanallarının manyetik geçirgenliği μ_r 'dir. Küreler arasındaki gözeneklerin geometrisi değişken olduğundan mıknatıslanma kanalının manyetik geçirgenliği radyal profile sahiptir (Şekil3.1).
- Mıknatıslanma kanalının manyetik geçirgenliği dolgulu yatağın ortalama manyetik geçirgenliğinden büyük, kürelerin geçirgenliğinden küçüktür: $\mu > \mu_r > \mu$. Kürelerin teğet noktalarında ($r=0$) mıknatıslanma kanalına kanalın geçirgenliği maksimumdur ve dolgulu elemanın (kürelerin) manyetik geçirgenliğine eşittir $\mu_r = \mu(r=0)$.
- Yarıçapı r olan bir mıknatıslanma kanalı için manyetik akı ifadesinden giderek, dolgulu yatağın gözeneklerindeki manyetik alan şiddetinin ifadesi kolaylıkla belirlenebilir [4];

$$\frac{h}{H} = \mu(r) \quad (3.1)$$

burada H- Dış homojen manyetik alan şiddetidir.

- Mıknatıslanma kanalının manyetik geçirgenliğinin ortalama değerinden ($\langle\mu\rangle$) giderek dolgulu yatağın mıknatıslanma eğrisini elde edebiliriz. Zira birçok ölçmeler [4] mıknatıslanma kanallarının birbirine etkisi, zikzakların oluşması olaylarının yatağın manyetik alanına yaklaşık olarak kararlı bir etki gösterdiğini göstermiştir. Bu nedenle bu olayların yatağın mıknatıslanma eğrisine etkisini bir korelasyon katsayısı ile dikkate almak mümkündür.
- Eğer dolgulu yatak mıknatıslanmış kürelerden değil, herhangi dolgu faktörü diğer ferromanyetik granüllerden oluşturulursa yalnız mıknatıslanmış kanalların sayısı değişir. Bu nedenle, bu tip yatakların mıknatıslanma eğrisi, kürelerden oluşturulmuş yatakların mıknatıslanma eğrisinden belli bir katsayı ile farklıdır. Dolayısıyla çeşitli ferromanyetik granüllerden oluşturulmuş dolgulu yatakların mıknatıslanma eğrilerinin karakteri aynıdır.
- Mıknatıslanma kanalında manyetik indüksiyon vektörünün değeri dış manyetik alan şiddeti ve granüllerin teğet noktalarından uzaklıkla yanı sıra mıknatıslanma zincirinin oluşturan granüllerin sayısına da bağlıdır. Deneysel ölçüler mıknatıslanma zincirini oluşturan granüllerin sayısının $>10\dots12$ olduğu durumda bu bağıntının kararlılığını kanıtlamıştır [4]. Real filtrelerin dolgulu yataklarında mıknatıslanma zincirini oluşturan granüllerin sayısının 100...150'den fazla oldukları dikkate alınır, oluşan mıknatıslanma kanallarının gözeneklerinde oluşan manyetik alana bütün dolgu elemanlarının etkisinin göz önüne alındığını varsayabiliriz. Dolayısıyla çok sayılı kürelerin oluşturduğu zincirde manyetiksizleştirme faktörünün ihmal edilecek şekilde zayıf olduğu varsayılmaktadır.



Şekik3.1 Ferromanyetik kürelerle dolgulu yatakların mıknatıslanma kanallarının oluşması

Çok sayıdaki deneysel ve teorik incelemelerin sonuçları olarak nitelendirilebilecek yukarıdaki varsayımları dikkate alırsak, mıknatıslanma kanalının manyetik geçirgenliğinin değişimi profili aşağıdaki basit eksponent fonksiyon ile belirlenebilir:

$$\mu(r) = \mu \exp(-\kappa r_a^2) \quad (3.2)$$

Burada μ - dolgu yatak elemanlarının (kürelerin) bağıl manyetik geçirgenliği, $r_a=r/a$, r - kürelerin teğet noktalarından uzaklık, a - kürelerin yarıçapı, κ - korelasyon katsayısıdır. Çok sayıdaki kürelerden oluşturulmuş zincir mıknatıslanma özelliklerini gösteren deneysel sonuçlara [4] dayanarak κ 'nın değerini kolaylıkla belirleyebiliriz:

$$\kappa = \mu^\varepsilon \quad (3.3)$$

Burada ε dolgulu yatağın parozitesidir. Dk3.2 ile belirlenen manyetik geçirgenlik ifadesi yalnız gözenekli ortamda oluşan mıknatıslanma kanalının geçirgenliği için değil, teklenmiş mıknatıslanma zinciri içinde geçerlidir. Dk3.2'den görüldüğü gibi $\mu(r_a \rightarrow 0) = \mu$ ve $\mu(r_a \rightarrow \infty) = 0$ oluyor ki manyetik devre açısından böyle bir sonucun oluşması beklenmektedir. Dk3.2'nin geçerli olduğunu mıknatıslanma kanallarının manyetik akısının ölçülmesinden elde edilen deneysel sonuçlara [4] göre kıyaslandığında açıkça görülmektedir. Bu amaçla mıknatıslanma kanlınınin 0- r arlığındaki manyetik geçirgenliğinin ortalama değeri;

$$\mu_{av} = \mu^{\gamma} \quad (3.4)$$

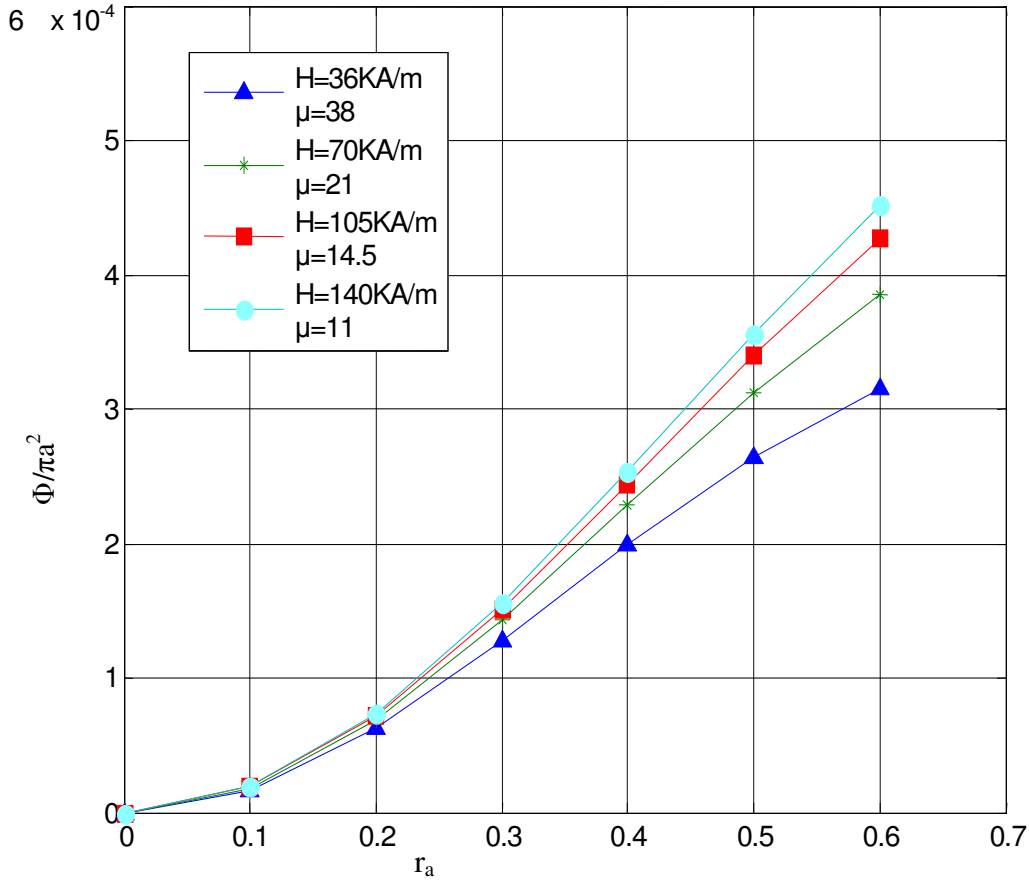
Olarak belirlenir. Mıknatıslanma kanalındaki elemental manyetik akının değeri ise aşağıdaki gibi olur;

$$\Phi = \pi a^2 \mu^{\gamma} \mu_0 H [1 - \exp(-\kappa r_a^2)] \quad (3.5)$$

Şekil3.2’de Dk3.5’den elde edilen teorik sonuçlar ve deneysel sonuçların karşılaştırılması görülmektedir. Bu deneysel sonuçlar çapı 33mm olan 16 homojen küreden oluşturulmuş mıknatıslanma zincirinde yapılmıştır [4]. Manyetik akının değeri kürelerin teğet noktaları etrafında yerleştirilmiş çapları 0.05mm ve 0.1mm olan iletkenlerden oluşturulmuş küreleri kullanarak mikroweber metre ile ölçülmüştür. Şekilden görüldüğü gibi Dk3.5’den elde edilen teorik sonuçlar deneysel sonuçlarla çok iyi bir şekilde uymaktadırlar. Bu sonuçlar ferromanyetik granüllerden oluşturulmuş dolgulu yataklarda mıknatıslanmasının kanallarda oluşması modelinin ve Dk.3.4’ün geçerli olduğunu kanıtlamaktadır.

3.2 YÜKSEK GRADYANTLI MANYETİK ALANLARIN OLUŞTURULMASI VE BU ALANLARIN LABORATUAR DENEYLERİNİN YAPILMASI

Mıknatıslanmış ferromanyetik kürelerin oluşturduğu alanları gradyantının diğer ferromanyetik elemanlara göre (ferromanyetik çubuklar teller, talaşlar vb.) daha yüksek olduğu yukarıdaki incelemelerden açıkça görülmektedir. Bu nedenle ferromanyetik kürelerden oluşturulmuş dolgulu yatakların manyetik özelliklerinin incelenmesi manyetik sistemlerin Tıp ve Biyolojide etkin bir şekilde uygulanabilir olmasını belirleyen temel göstergedir. Bu amaçla tez çalışmalarında İnönü Üniversitesi bilimsel araştırma proje birimi tarafından desteklenen 2005/41 nolu proje kapsamında ferromanyetik kürelerden oluşturulmuş dolgulu yatakların manyetik özelliklerini incelenmesi yapılmıştır. İncelemeler dış manyetik alanın zayıf ($B < 0.1$ T) ve güçlü ($B > 1$ T) durumları için yapılmıştır. Deneysel materyaller ve yöntemler kullanılmıştır.



Şekil3.2 Mıknatıslanmış kürelerin oluşturulmuş zincirde teğet noktaları etrafında ölçülen manyetik alanın değişimi ▲ H=36KA/m, $\mu=38$, * H=70KA/m, $\mu=21$, ■ H=105 KA/m, $\mu=14.5$ ● H=140KA/m, $\mu=11$

3.3 MATERYALLER VE YÖNTEM

Zayıf manyetik alan olarak maksimum gerilimi 27V akımı ise 0.15 A olan GP-4303D DC güç kaynağı, C tipi manyetik çekirdekten ve mıknatıslayıcı bobinden oluşturulmuş manyetik sistem yarıçapı 10mm olan silindiriksel çalışma tüpü, çapı 6.43 mm olan ferromanyetik paslanmaz küreler kullanılmıştır. Manyetik alan ölçümü aksiyel ve transversal Hall problemleri olan taşınabilir LakeShore model 410 gausmetre ve Hirst GM05 gausmetre ile ölçülmüştür. Güçlü manyetik alanlarda ise sabitlenmiş WMS Boxmag-Rapid UK seperatörleri kullanılmıştır. B=2T civarlarına kadar ayarlanabilir manyetik alan oluşturan bu seperatörlerde homojen manyetik alan oluşturan çalışma bölgesinin boyutları 32mmx90mmx140mm'dir. Ölçümler farklı akım ve gerilimlerde çalışma bölgelerinde ferromanyetik küreler bulunmaksızın ve ferromanyetik kürelerden oluşturulmuş dolgulu yatak durumları için yapılmıştır. Ferromanyetik kürelerden oluşturulmuş dolgulu yataklarda alan gradyanının değişimi transversal (enine) ve aksiyel (boyuna) yönlerde ölçülmüştür. Bu

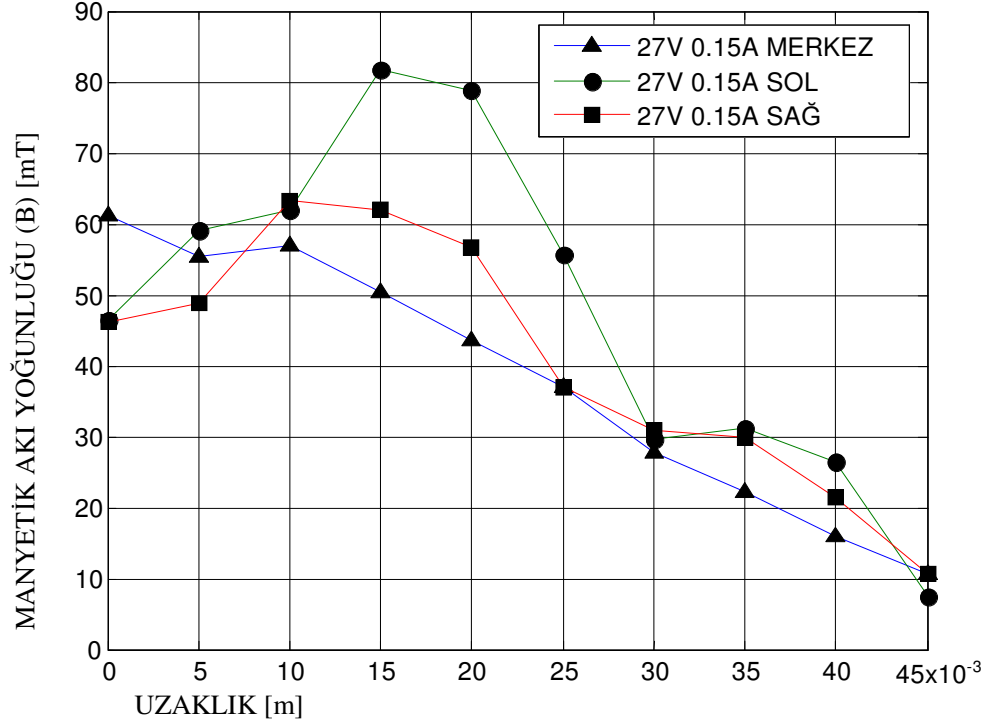
amaçla dolgu yatak boyunca eni 1.5–2 mm olan oluk oluşturulmuştur. Farklı akım ve gerilimlerde bu bölgelerde oluşan manyetik alan gradyanı bölgenin çeşitli koordinatları (Sağ, Merkez, Sol olmak üzere) üzere Hall problemleriyle ölçülmüştür. Ölçümlerden elde edilen sonuçlar Çizelge3.1 ve Çizelge 3.2 ölçüm sonuçlarına göre çizilen şekiller Şekil 3.3-Şekil3.10 gösterilmiştir.

Çizelge 3.1 Ferromanyetik kürelerle dolu durumda elde edilen ölçüm sonuçları

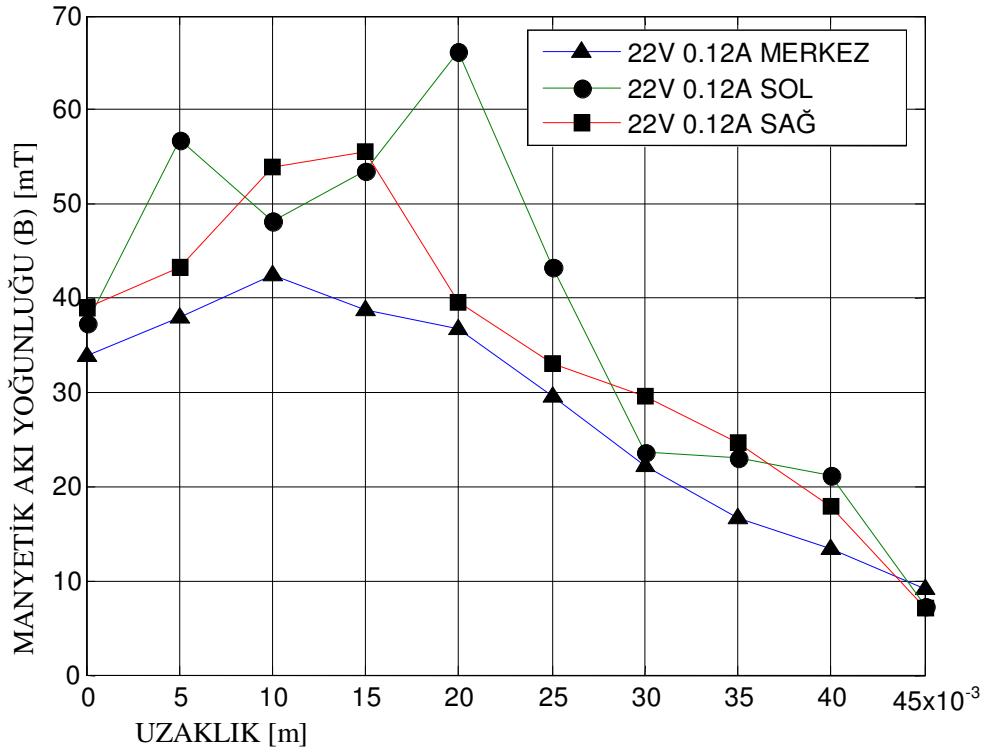
Uzaklık [cm]	V=27V I=0.15A	V=27V I=0.15A	V=27V I=0.15A	V=22V I=0.12A	V=22V I=0.12A	V=22V I=0.12A	V=19V I=0.1A	V=19V I=0.1A	V=19V I=0.1A	V=17V I=0.09A	V=17V I=0.09A	V=17V I=0.09A
	SAĞ	MER-KEZ	SOL	SAĞ	MER-KEZ	SOL	SAĞ	MER-KEZ	SOL	SAĞ	MER-KEZ	SOL
0.0	27,27	30,1	29,6	22,96	24,97	20,56	20,65	20,06	21,53	18,59	20,63	19,57
0.5	30,1	29,7	32,4	23,19	28	26,26	22,42	22,57	23,29	20,1	21,27	21,41
1.0	30,9	33,6	32,3	25,76	29,17	26,76	23,67	23,29	23,63	20,29	21,76	21,62
1.5	30,5	34,7	31,7	25,29	29,4	26,46	22,56	23,33	23,26	19,55	21,51	21,32
2.0	28,9	33	29,3	23,74	27,82	24,29	21,6	21,91	21,5	10,54	20,41	19,65
2.5	22,23	25,4	23	18,26	22,07	18,4	15,55	15,57	15,39	13,7	16,16	13,86
3.0	15,15	15	15,8	12,59	13,7	11,75	11,2	11,55	9,74	9,09	9,72	8,81
3.5	9,43	10,9	8,38	8,7	8,18	8,01	7,18	7,96	6,31	5,96	6,05	5,46
4.0	6	6,3	5,4	5,43	5,3	4,55	4,46	4,84	3,8	3,99	4,17	3,92
4.5	3,94	3,85	3,38	3,34	3,41	2,92	2,76	2,95	2,53	2,56	2,42	2,18

Çizelge 3.2 Ferromanyetik küreler olmadığı durumda elde edilen ölçüm sonuçları

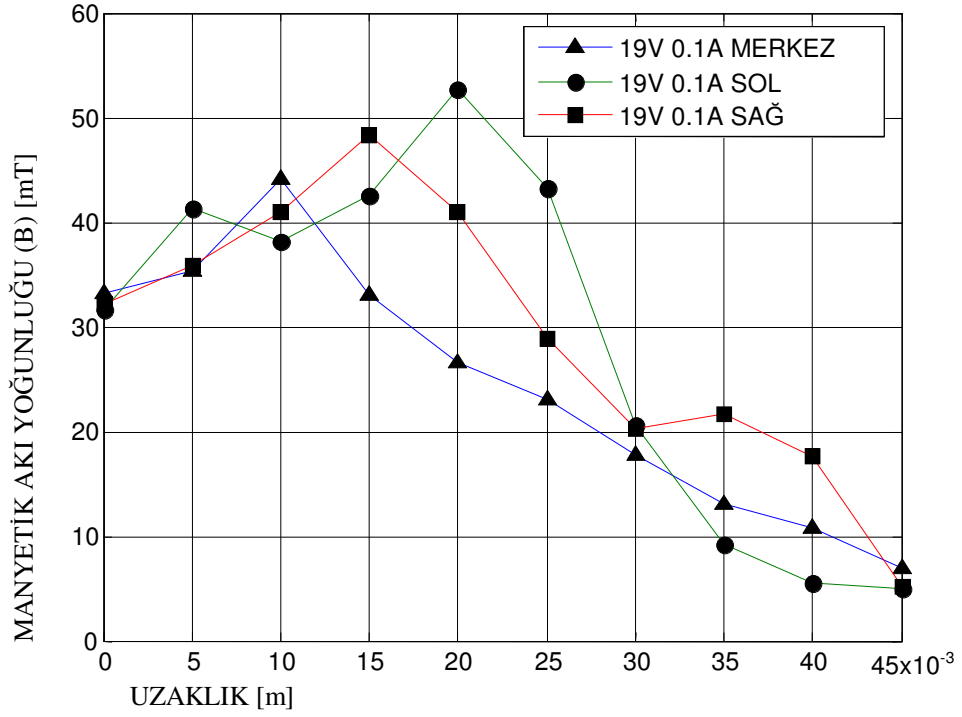
Uzaklık [cm]	V=27V I=0.15 A	V=27V I=0.15 A	V=27V I=0.15 A	V=22V I=0.12 A	V=22V I=0.12 A	V=22V I=0.12 A	V=19V I=0.1A	V=19V I=0.1A	V=19V I=0.1A	V=17V I=0.09 A	V=17V I=0.09 A	V=17V I=0.09A
	SAĞ	MER-KEZ	SOL	SAĞ	MER-KEZ	SOL	SAĞ	MER-KEZ	SOL	SAĞ	MER-KEZ	SOL
0.0	61,2	46,5	46,1	33,9	37,4	39	33,2	31,6	32,2	29	27,5	27,3
0.5	55,4	59,2	48,8	37,9	56,7	43,2	35,3	41,4	35,9	30,3	29,1	30,8
1.0	56,9	62,1	63,4	42,4	48,3	53,9	44,1	38,1	40,9	36,9	29,1	43
1.5	50,4	81,6	62,1	38,8	53,6	55,5	33,1	42,5	48,4	31,6	28,2	40,2
2.0	43,5	78,7	56,7	36,8	66,2	39,7	26,5	52,7	40,9	24,4	33,3	35,9
2.5	37	55,7	37	29,6	43,2	33,1	23	43,3	28,9	20	30,6	27,9
3.0	27,8	29,5	30,8	22,3	23,7	29,5	17,79	20,6	20,35	16,47	18,56	18,15
3.5	22,3	31,3	29,9	16,6	23,1	24,6	13,09	9,28	21,59	13,93	17,8	18,54
4.0	16	26,46	21,47	13,47	21,19	17,96	10,75	5,58	17,65	9,7	16,24	14,44
4.5	10,68	7,49	10,63	9,14	7,27	7,12	6,93	4,99	5,09	6,52	4,67	5,7



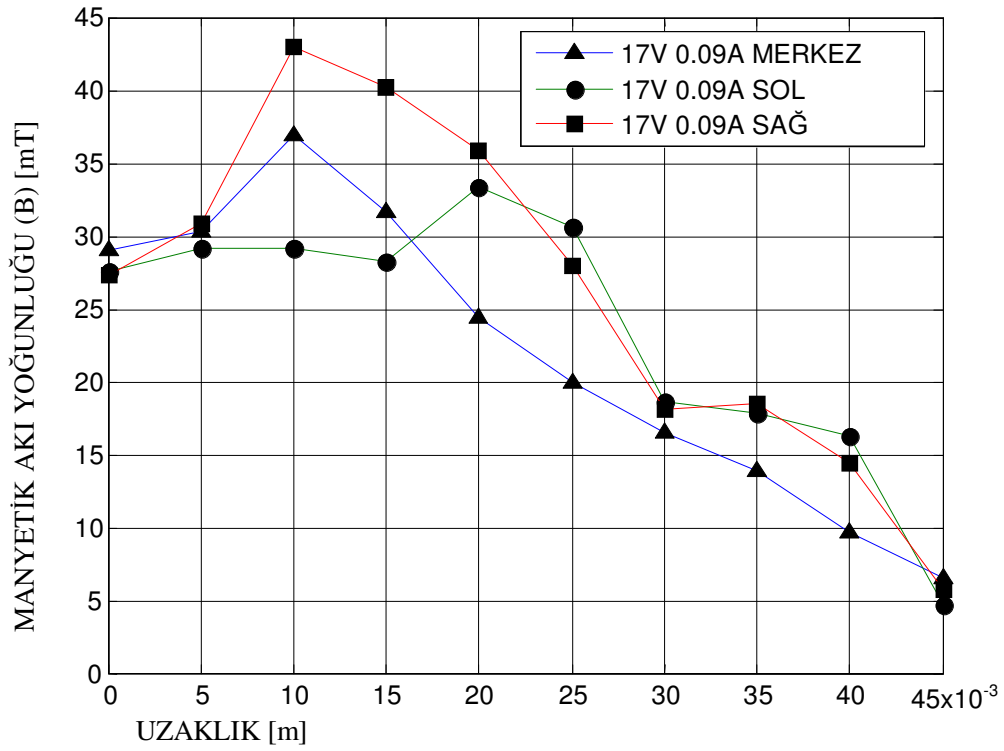
Şekil 3.3 Kürelerle dolu durumda 27V gerilimde ve 0.15A akımda ölçüm sonuçları



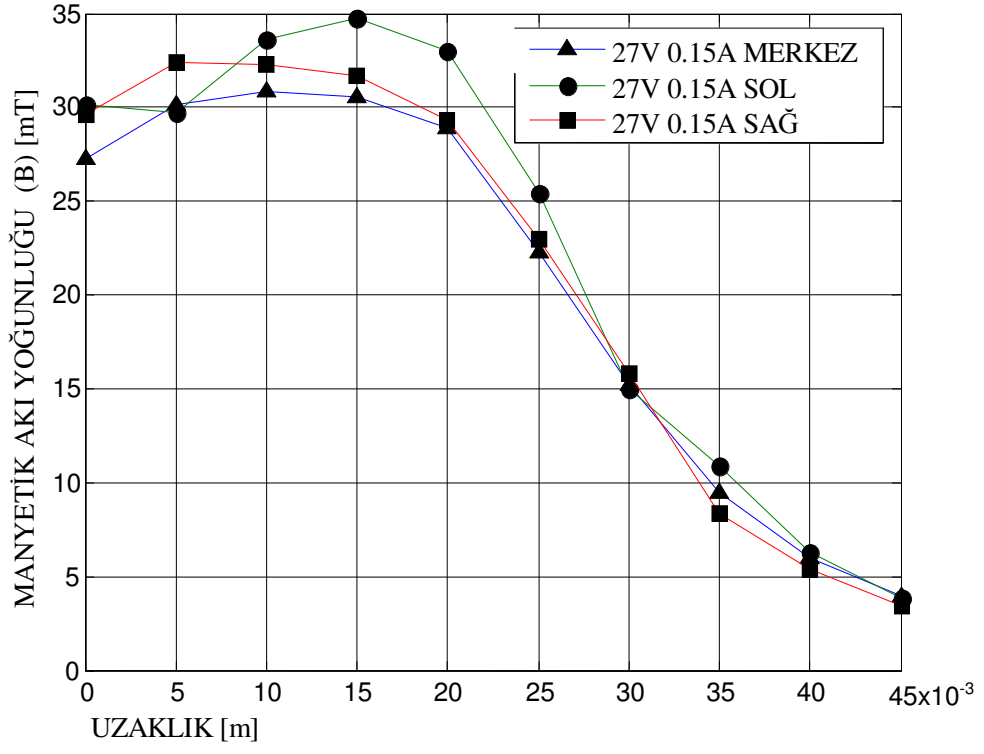
Şekil 3.4 Kürelerle dolu durumda 22V gerilimde ve 0.12A akımda ölçüm sonuçları



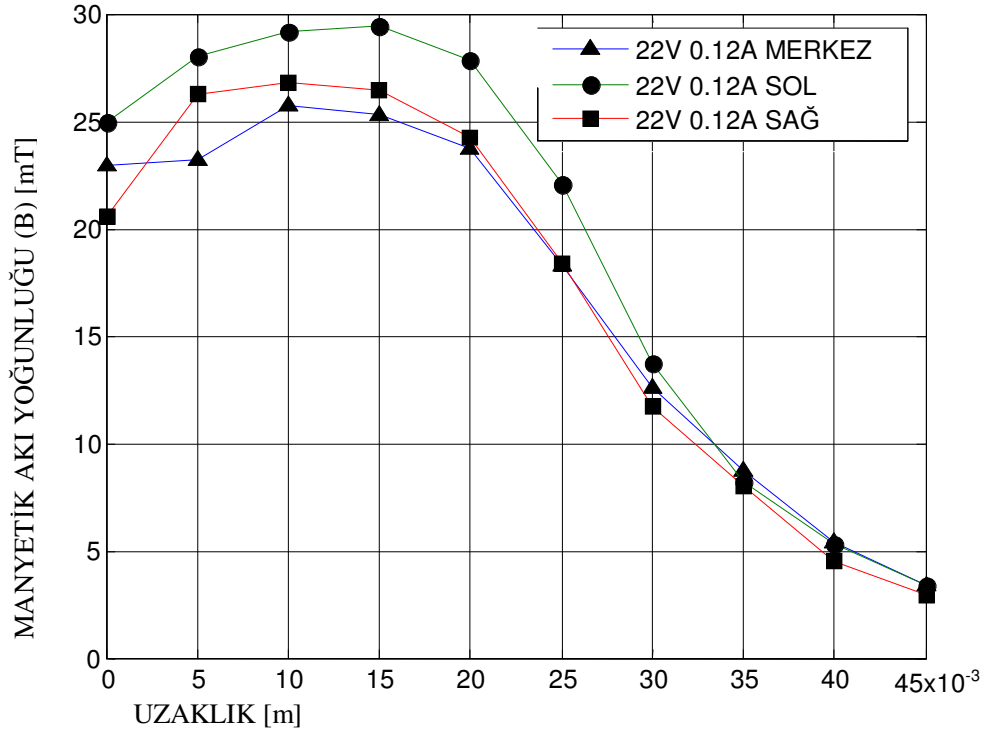
Şekil 3.5 Kürelerle dolu durumda 19V gerilimde ve 0.1A akımda ölçüm sonuçları



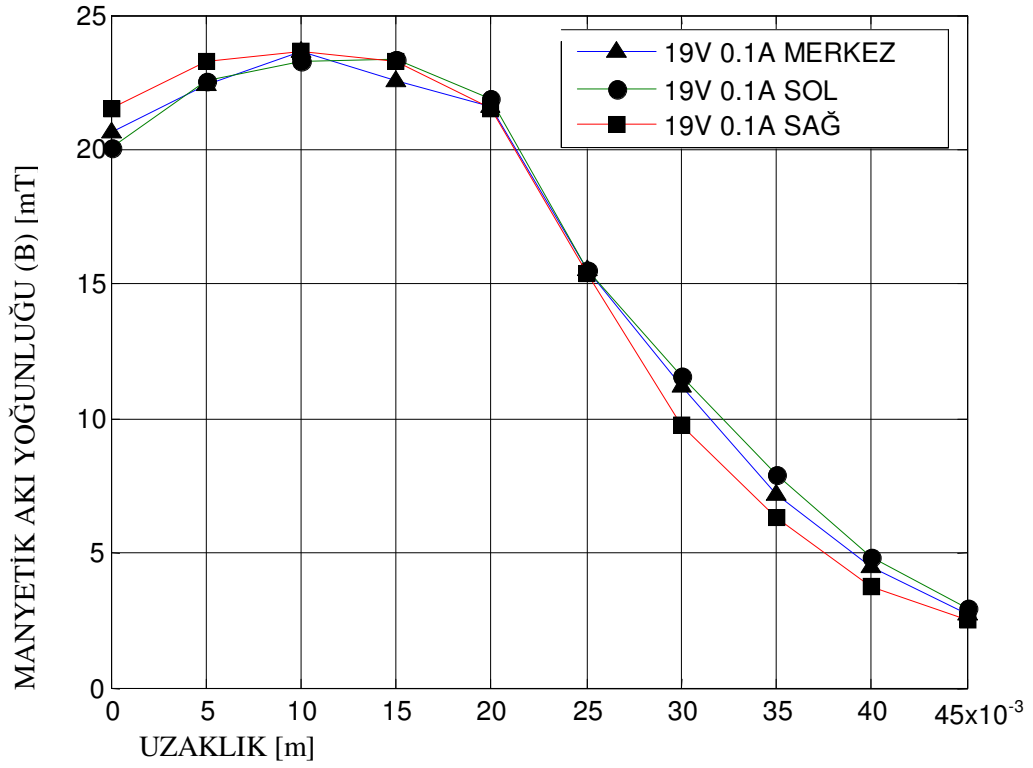
Şekil 3.6 Kürelerle dolu durumda 17V gerilimde ve 0.09A akımda ölçüm sonuçları



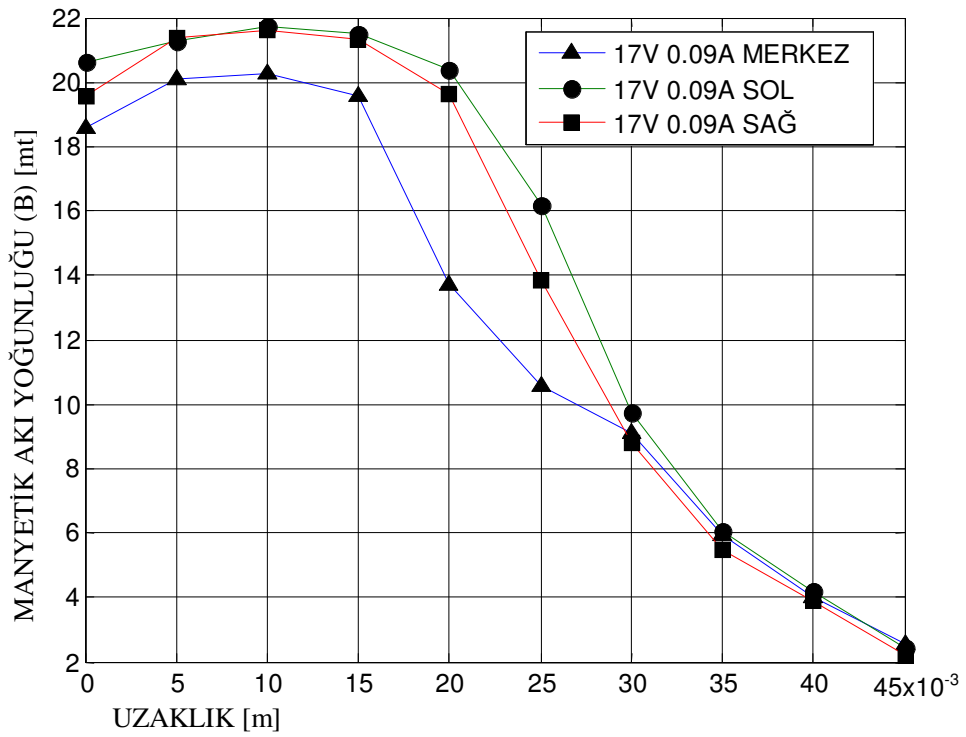
Şekil 3.7 Kürelerle dolu olamayan durumda 27V gerilimde ve 0.15A akımda ölçüm sonuçları



Şekil 3.8 Kürelerle dolu olamayan durumda 22V gerilimde ve 0.12A akımda ölçüm sonuçları

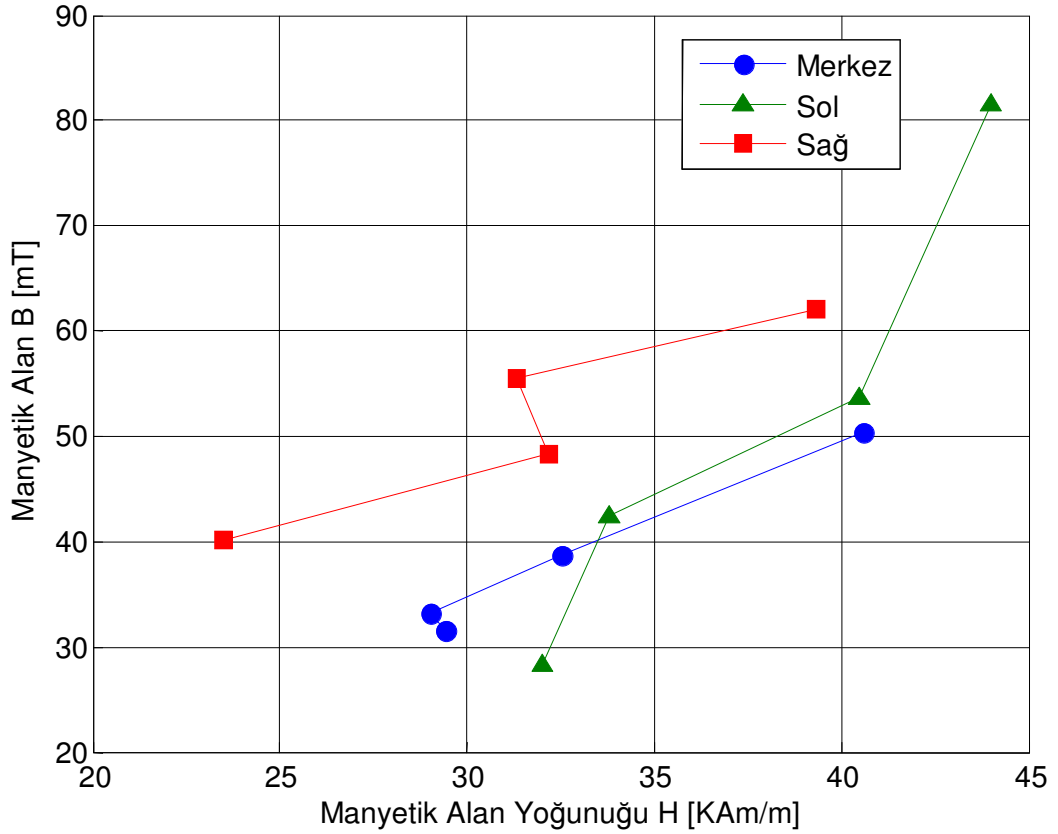


Şekil 3.9 Kürelerle dolu olmayan durumda 19V gerilimde ve 0.1A akımda ölçüm sonuçları



Şekil 3.10 Kürelerle dolu olmayan durumda 17V gerilimde ve 0.09A akımda ölçüm sonuçları

Bu sonuçlardan yararlanarak ve dolgulu yatağın manyetik alan şiddetinin (H [kA/m]) ölçülmesiyle mıknatıslanmış ferromanyetik kürelerden oluşturulmuş dolgulu yatakların esas mıknatıslanma eğrisi elde edilmiştir. Manyetik alan yoğunluğunun manyetik alan şiddetine göre bağımlılığını gösteren bu ilişki Şekil 3.11 (B-H) grafikleri verilmiştir. Bütün bu ölçmeler ferromanyetik kürelerden oluşturulmuş dolgulu yataklardaki manyetik alanın ortalama değerinin küreler olmaksızın durumuna göre 4–5 defa daha büyük olduğunu göstermektedir. Elde edilen bu sonuç Tıp, Biyoloji, Çevre Mühendisliği ve diğer alanlarda yüksek gradyanlı manyetik alanların etkin bir fiziksel yöntem olarak kullanılabilir olmasının sinyalini vermektedir.



Şekil 3.11 1.5cm uzaklığı sabit tutularak farklı akım ve gerilim değerlerine (27V, 0.15A- 22V,0.12A- 19V, 0.1A- 17V,0.09A) göre çizilen B-H grafiği

3.4 SONUÇLAR VE TARTIŞMA

Dk.3.4'den yararlanarak granüllerden oluşturulmuş dolgulu yatakların mıknatıslanma eğrisini (B-H) belirleyebiliriz. Kürelerden oluşturulmuş dolgulu yataklar için bütün zincirler için ortalama manyetik geçirgenliğini belirleyerek bu ifadeye birkaç yan etkilerini dikkate alarak korelasyon katsayısını eklemek gerekir. Bu yan etkilere örnek, mıknatıslanma

kanallarının birbirini kapsamaması ve gerçekte mıknatıslanma kanallarının doğru değil zikzaklı şeklinde olduğunu, yatak elemanlarının dolgu faktörünü, yatak elemanlarının paslanmasını önlemek için onların üzerlerinin kaplanmasını, gözeneklerde manyetik parçacıklarının birikmesinin manyetik alana etkisini gösterebiliriz.

Dk.3.5’de korelasyon katsayısı (κ) reel dolgulu yatakların mıknatıslanmasından elde edilen deney sonuçları dikkate alınarak belirlenmiştir. Bu nedenle dolgulu yatağın mıknatıslanma eğrisini etkileyebilecek kanalların birbirini kaplaması, bu kanalların zikzaklı bir zincir oluşturduğu varsayılabilir. Bu önermenin gerçekliğini deneysel sonuçlarla karşılaştırmada açıkça görebilmekteyiz. Bu durumda mıknatıslanma kanalının tümüyle ortalama manyetik geçirgenliği ($r_a=1$)

$$\mu_{av} = \mu^\gamma \quad (3.6)$$

olmaktadır. Dolgulu yatağın ortalama manyetik alan yoğunluğu ise;

$$B = \mu_0 \mu^\gamma H \quad (3.7)$$

Dk.3.7’den belirlenmiş teorik sonuçlar ile deneysel sonuçlar [4] birbirleriyle uyushmaktadır. Bu ise Dk.3.6 ve Dk.3.7’nin geçerliğini bir daha kanıtlamaktadır.

Birçok durumda ferromanyetik dolgulu yatak elemanlarının korozyonunu önlemek için onların yüzeyi paslanmaz ince katla kaplanmaktadır. Bu kaplama katlarının manyetik geçirgenlikleri farklı olduğundan dolgulu yatağın mıknatıslanma eğrisi de etkilemektedir. Yukarıdaki sonuçlardan yararlanılarak dolgu elemanlarının yüzeylerinin kaplanması durumunda dolgulu yatağın mıknatıslanma eğrisini belirleyebiliriz. Eğer ferromanyetik kürenin yüzey kalınlığı l_c , manyetik geçirgenliği μ_c olan ince bir katla kaplanmışsa o halde mıknatıslanma kanalının manyetik geçirgenliği Dk.3.3’e göre;

$$K = \frac{\mu(\mu - \mu_c)}{(\mu - 1) \ln \left[\frac{\mu(1 + l_c/a \mu_c)}{\mu_c + (l_c/a)\mu} \right]^{2.25}} \quad (3.8)$$

Olmasıyla Dk.3.2 ile belirlenir. Bu durumda r yarıçaplı mıknatıslanma kanalının ortalama manyetik geçirgenliği aşağıdaki şekilde olur:

$$\mu_a = \frac{\mu - 1}{(\mu - 1)r_a^2} \ln \left[\frac{\mu(1 + l_c/a)\mu_c}{\mu_c + (l_c/a)\mu} \right]^{2.25} [1 - \exp(-Kr_a^2)] \quad (3.9)$$

Örneğin küreleri manyetik olmayan ($\mu_c=1$) ince katlı ($l_c \ll a$) bir katla kaplanmış, böyle bir mıknatıslanma zincirinin tam manyetik geçirgenliği ($r/a=1$), ve mıknatıslanma eğrisi şu şekilde belirlenebilir;

$$\mu_a = \frac{\mu_c(\mu - 1)}{\mu - \mu_c} \ln \left[\frac{\mu(1 + l_c/a)\mu_c}{1 + (l_c/a)\mu} \right]^{2.25} \quad (3.10a)$$

$$B = \frac{\mu_0(\mu - 1)H}{\mu - \mu_c} \ln \left[\frac{\mu(1 + l_c/a)}{1 + (l_c/a)\mu} \right]^{2.25} \quad (3.10b)$$

Dk.3.10'dan elde edilmiş teorik sonuçlarla yüzeyleri $l_c=31\mu\text{m}$ radmium katı ile kaplanmış $a=3\text{mm}$ kürelerden oluşturulmuş dolgulu yatağın mıknatıslanma eğrisinin deneysel sonuçları ile [4] karşılaştırılmıştır. Deneysel ve teorik sonuçlar birbiriyle çok iyi uzlaştığı görülmüştür.

Dk3.6'dan yararlanarak dolgulu yatağın parozitesinin değişiminin bu yatağın mıknatıslanma eğrisine etkisini de belirleyebiliriz. Ferromanyetik elemanlardan oluşturulmuş çeşitli dolgulu yatakların mıknatıslanma eğrilerinin incelenmesi sonucu bu yatakların mıknatıslanma eğrisinin ve ortalama manyetik geçirgenliğinin;

$$B = \mu_0 \frac{(1 - \varepsilon)H}{\varepsilon^{0.4}} \ln \mu^{2.25} \quad (3.11a)$$

$$\mu_a = \frac{(1 - \varepsilon)}{\varepsilon^{0.4}} \ln \mu^{2.25} \quad (3.11b)$$

Manyetik geçirgenliğinin yatak parozitesinin değişimine bağlantısı Dk.3.11'den belirlenen teorik mıknatıslanma eğrilerinin, deneysel sonuçlarla karşılaştırıldığında [4] bu sonuçların birbiriyle çok iyi bir şekilde uzlaştığını ve bu yataklarda oluşan mıknatıslanma olaylarının kanalların oluştuğu ve yatak parozitesinin değişiminin bu kanalların karakterini değil, sayısını değiştirdiğini bir daha kanıtlamaktadır.

Dk.3.6 veya Dk.3.11'den yararlanarak yalnız kürelerden değil diğer granül elemanlarından oluşturulmuş ve mıknatıslanan dolgulu yatakların da ortalama manyetik geçirgenliğini ve mıknatıslanma eğrisini belirleyebiliriz. Çünkü dolgulu yatağın parozitesinin (veya dolgu faktörünün) değişimi mıknatıslanma kanalının sayısının değişimine neden olur. Bu nedenle, örneğin ferromanyetik talaşlardan oluşturulmuş dolgulu yatağın ortalama manyetik geçirgenliği ve mıknatıslanma eğrisi deneysel karşılaştırıldıktan sonra;

$$\mu_a = (1 - \varepsilon)^{0.4} \ln \mu^{2.25} \quad (3.12a)$$

$$B = \mu_0 H (1 - \varepsilon)^{0.4} \ln \mu^{2.25} \quad (3.12b)$$

Şeklinde belirlenebilir. Çeşitli paroziteye sahip olan ferromanyetik talaşlardan oluşturulmuş dolgulu yatakların mıknatıslanma eğrisinin teorik ve deneysel sonuçlarının karşılaştırıldığında yatak parozitesinin geniş bir aralıkta değişiminde bu sonuçların birbiriyle iyi bir şekilde uzlaştığı görülmüştür.

Sonuç olarak önerilen teorik yaklaşım ve bu yaklaşımdan elde edilen sonuçların deneysel sonuçlarla karşılaştırılmasından ferromanyetik granüllerden oluşturulmuş dolgulu yatakların mıknatıslanma özelliklerini incelemeye imkân veren aşağıdaki önemli sonuçlar elde edilmiştir:

- Ferromanyetik granüllerden oluşturulmuş dolgulu yataklardan mıknatıslanma olayları granüllerin teğet noktaları etrafında oluşan mıknatıslanma kanalları vasıtasıyla oluşurlar. Manyetik alanın kuvvet çizgilerinin sıklığının değişmesi nedeniyle bu kanalların manyetik geçirgenliği değişir. Bu değişiminin özelliği dikkate alındığında manyetik geçirgenliğin değişiminin basit analitik ifadesinin elde etmek mümkündür. Deneysel sonuçlarla karşılaştırıldıktan sonra bu değişik tipteki dolgulu yatakların mıknatıslanma özelliklerini belirlemek için kullanılabilir.
- Dolgulu yataklarda oluşan birçok reel olaylar (parozitesinin değişimi, mıknatıslanma kanallarının birbirini kapsamaması teğet noktalarının birbiriyle doğru üzere değil, zikzaklı bir eğri oluşturması v.b) mıknatıslanma kanallarının sayısının değişmesine neden olur. Fakat bu durumda yatağın mıknatıslanma karakteristiği değişmez. Bu nedenle bu tip yatakların mıknatıslanma eğrilerinin birbirinden bir korelasyon katsayılarıyla farklılaşır bir biçimde elde etmek mümkündür.

- Dolgulu yatakların mıknatıslanma özelliklerini iyileştirmek veya yatak elemanlarının korozyonunu önlemek amacıyla onların yüzeylerini paslanmaz ince kalayla kaplamak gerekmektedir. Bu kaplama katının mıknatıslanma eğrisine etkisi Dk.3.10 vasıtasıyla göz önüne alınabilir.
- Mıknatıslanmış dolgulu yataklarda manyetik alan şiddetinin ifadesinden (Dk.3.1 ve Dk3.2) giderek bu gözeneklerde manyetik parçacıklara etkiyen kuvveti, biriken parçacıkların bu kuvvetin değerine etkisini, parçacıkların gözeneklerde tutabilecek bölgenin yarıçapını belirlemek mümkündür.

Manyetik filtrasyon ve seperasyon teorisi ve pratiği için önemli olan bu olayların incelikleri ve elde edilen sonuçlar bir sonraki kısımda anlatılacaktır.

4 MANYETİK HEDEFLEME YÖNTEMİ

4.1 MANYETİK İLAÇ HEDEFLEMEDE FİZYOLOJİK YÖNLER

Manyetik olarak kontrol edilen ilaç hedeflemenin verimi fizyolojik parametrelere bağlıdır. Mikro sirkülasyon seviyede hücredeki hareket mekanizmasını anlamak için ferro sıvıları belirlenir (bunların biyolojik etkileri, biyolojik uygunlukları ve in vivo uygulamalarda anti kanser ilaçların epirubisin salınım zamanı gibi). Mekaniksel tümör embolizasyonu mümkündür. Fakat başarılı tümör tedavileri sirkülasyona paralel bir şekilde gelişmesiyle desteklenmiştir. Böylece MDT tedavileri fare ve insanlarda başarılı bir şekilde kullanılmıştır.

Manyetik ilaç hedefleme güvenli ve etkili olmalıdır ve maksimum ilaçta oldukça az miktarda manyetik parçacıkla yönlendirilmelidir ve seçilen bölgeye iletilmelidir. Böylece fizyoloji kadar ferro sıvı ailesinin biyolojik ve teknik detayları, lokal olarak ilerlemiş tümörlere anti kanser ilaçlarının hedeflenmesinde 14 hasta, fare ve ratlarda kullanılarak tanımlanmıştır [1,2]. Aşağıdaki Ferro sıvılar/ilaçların bileşenleri ve manyetik alanın parametreleri fizyolojik açıdan kritiktir.

- a) Parçacık boyutu,
- b) Parçacığın yüzey karakteri,
- c) Sıvının konsantrasyonu,
- d) Sıvının hacmi,
- e) İlaç/ferro sıvının geri dönüşümlülüğü ve kuvveti, desorptiyon karakteristikleri,
- f) Organizmaya girişi (infüzyon rotası),
- g) Enjeksiyon / infüzyonun süreye oranı,
- h) Manyetik alanın geometrisi ve kuvveti,
- i) Uygulanan manyetik alanın süresi.

Hasta organizmasının fizyolojik parametreleriyle karşılaştırırsak;

- a) Boyut, ağırlık vücut yüzeyi,
- b) Kan hacmi,
- c) Kardiyak çıkışı ve sistemik vasküler direnci,
- d) Dolaşım zamanı,
- e) Tümörün hacmi ve yeri,
- f) Tümörün vasküler dağılımı,
- g) Tümördeki kan akışı.

Çeşitli boyuttaki hayvanların fizyolojik parametrelerine göre ferro sıvı/ilaç türleri ve manyetik alanlar adapte edilmelidir. MDT'nin verimliliği için ferro sıvıların biyolojik uygunluğu kadar ilacın hücre içine uygulama zamanı da en kritik noktalardandır.

MDT teknolojiyle gelişen işlemlerinde öncelikle MDT'nin hareket mekanizmasının nelere ihtiyacı olduğunu anlamalıyız. Özellikle ferro sıvılar tümörden ayrılarak dolaşım sisteminde ve interstisyel bölge serbest bir şekilde difüz edip etmediği ve nanoparçacıkların interstisyel (hücre arası sıvı) bölgede kalıp kalmağı ve bunlarla nasıl baş edileceği konusu tartışma yaratmaktadır. Temporal kinetik lokazasyonun çok önemli olduğu kadar mikro dolaşım sistemindeki dokuları nasıl değiştirdiği de önemlidir. Güvenli sistemlerde doğrudan uygulansa bile, pulmoner emboliye neden olması olasıdır.

4.2 Manyetik İlaç Hedeflemenin Genel Yönleri

Kollodiyal yayılım kimyasal metotlardan elde edilen özel multi domeyinli parçacıklar içine demir oksit ve hidro oksitlerinden oluşturulmuştur. Parçacıklar stabilize manyetik parçacıklara nişasta deriveleriyle kaplanmıştır ve iyon değişimiyle bağlanmayı sağlamaktadırlar. Bizim amacımız geri dönüşümlü ferro sıvılı parçacıkları ilaca bağlanmasında, tümör dokusu üzerinde serbestçe rol oynayacak ilacın seçimine izin vermesi ve taşıyıcı ortamın ferro sıvı gibi kullanılmasıdır. İlacın desorptiyonu fizyolojik ortama göre oluşmaktadır (pH, ozmolite ve sıcaklık). Ferro sıvı izotonik ve vizkositesi suyunkine yakın olmalıdır. Yayılım parçacıkların kütesinin % 1,5 kadar olmalıdır. Örneğin 1 mL'de 15 mg demir oksit (0.24mM) gibi. pH 7.4, renk siyah ve koku nötr olmalıdır. Manyetik parçacıklar toplam ağırlığın %1.5 oluşturmalıdır, geri kalan ferro sıvı sudur. Parçacıklar Fe₂O₃ 'den ve kütesinin %60'ı saf demir içermelidir.

Hayvanlar ve insanlar için yapılan deneylerde nadir dünya (birincil ajan olarak neodyumdan) yapılmış yüksek enerjili, kalıcı mıknatıslar kullanılmıştır. Bunlar sütün veya blok şekilli çeşitli kalınlıklarda disk veya bloklardan oluşmuştur. Böylece mıknatıslar mikromanipulator gibi tümörün kendi konfigürasyonun etrafında çok sıkıca ayarlanabilmektedirler. Mıknatıslar asla tümörü sıkıştırmamalıdır ve 0.8 Tesla'dan yukarı olmamak kaydıyla fakat en az 0.2 Tesla manyetik alan kuvveti yaratmalıdırlar. Tümörün boyutuna bağlı olarak. Manyetik alan uygulama zamanı organizmalara göre farklılık göstermektedirler (Çizelge4.1).

Çizelge 4.1 Fare, Rat ve insanda Manyetik İlaç Hedefleme için fizyolojik ve tekniksel parametreler¹

MADDE	FARE	RAT	İNSAN
Vücut ağırlığı (g)	25	200	70 000
Vücudun uzunluğu (cm)	7.2	18	180
Vücut yüzeyi (m ²)	0.0005	0.02	1.8
Kan ağırlığı (%BVml)	12	10	8
Kan hacmi (BV ml)	3	20	5600
Kardiyak atım (ml/dak)	20	120	5600
Sirkülasyon zamanı (sn)	10	30	60
Kan basıncı (mmHg)	95	95	95
Tümör ağırlığı (g) ²	1	5	1000
Tümör hacmi (ml) ²	1	5	1000
Tümör vasküler dağılım (%hacmi) ²	15–25	10–20	1–10
Tümör kan akışı (ml/g dak) ²	0.5 -2	0.1–1	0.05–1
Manyetik Alan kuvveti (T)	0.2	0.5	0.8
Uygulanan alanın süresi (dak)	5–15	15–30	60–120
Ferro sıvı/ kan Hacmi (ml)	0.015	0.1	28 ³
Tedavi için kullanılan maddelerin hacmi (ml) ⁴	0.3	1	30
Parçacık boyutu (nm)	100	100	100
Organizmaya girişi	İ.V.	İ.V.	İ.V.
İnfüzyon süresinin oranı(dak)	5	5	15
Biyolojik yarı ömrü / desorptiyon zamanı (dak)	60/30	60/30	60/30

¹ Tümör mikrosirkülasyonu boyunca geçiş zamanı, hacim başına düşen toplam vasküler (1. Damar cinsinden, kan veya usare v.s. nakleden kanala ait; 2. Damarlı, kan damarları olan, vasculosus.) yüzey alanı ve vasküler direnci diğer önemli fakat bilinmeyen değişkenlerdir.

² Kuramsal tümör değerleri literatürdeki tümör mikro sirkülasyonu temel alınmıştır ve önemli ölçüde değişebilir.

³ Asıl tedavi için test dozu kan hacminin %0.5' için asıl ferro sıvı hacmi kan hacminin %0.2'sidir.

⁴ Pratiksel nedenlerden dolayı izotonik tuz ile sulandırılmış ferro sıvılar.

4.3 RAT DENEYLERİ

27 tane rat üzerinde kontrollü diyet ve senatodan onaylı libityum içeren su verilmiştir. Vücut ağırlıkları 180 ile 280g değişmektedir. Sol femoral arterin kan basıncı ve kalp atış ölçümleri için damara girilerek yapılmıştır. Sol femoral damar ferro sıvının infüzyonu için damara girilmiştir yapılmıştır. Kan basıncı ve kalp atışları dijital kayıt edici yoluyla sürekli olarak izlenmiştir.

Kremaster kası mikro sürkilasyon preparatını iskelet kasları mikrovasküler yatakta doğrudan gözlemlenmesi iyi hazırlanmış teknikle yapılmaktadır. Kas sinir damarlarına eklendi ve normal pH, pO₂ ve pCO₂ ile Krebs solüsyonu içeren bath sistemiyle fizyolojik durumu ayarlanmıştır. Pereparat sisteminin detayları [5] açıklanmıştır. Kremster kasının mikrosirkülasyonu trinocular intravital mikroskopu doğrudan elde edilmiştir. İntralüminal damarların çapı mikrovaskülerin boyutunda mikrometre boyutunda ölçülmüştür. Kremster kasının mikrovasküler anatomisi damar dal sistemine göre tanımlanmıştır. Temel arteriyol

akışı birincil A_1 arteriyol olarak ve buna paralel olan toplardamarcık (venule) V_1 olarak isimlendirilmiştir. Daha küçük ikincil arteriyol A_2 ve buna karşılık gelen toplardamarcık V_2 olarak isimlendirilmiştir ve bunları takip eden dallardaki birincil damarlar olarak görülmektedir. İkincil damarların dalların arteriyolleri A_3 ve A_4 olarak ve bunların toplardamarcıklarında aynı şekilde isimlendirilmiştir [4,5].

Birinci rat deneyi: Altı rat ferro sıvının injeksiyon yapılan bölgenin üzerinden kan basıncı, kalbin atım hızı, solunum hızı ve mikrosirkülasyon sistemi için test edilmiştir. Ferro sıvı (tahmin edilen kan hacminin %5 kadar) damarlara infüzyon ettikten önce ve sonra mikrovasküler çapı, kırmızı kan hücrelerinin büyük ve küçük arteriyollerdeki ve toplardamarcıklardaki akış hızı ölçüldü. Manyetik alan uygulanmamıştır.

İkinci rat deneyi: 0.2 Tesla değerindeki manyetik alan bir çift arteriyol ve toplardamarcık içeren arbitrary bölgesi üzerine 10 dakika boyunca uygulanmadan önce 4 rata aynı miktarda aynı içeriğe sahip ferro sıvı infüzyon yapılmıştır. Bu parametreler yukarıdaki aynı parametrelerle yapılmıştır.

Üçüncü rat deneyi: Yukarıdaki özellikteki ferro sıvı injeksiyon edildikten sonra 5 rat üzerine yüksek enerjili mıknatıslar ile 0.2 Tesla manyetik alan 5 dakika boyunca uygulanmıştır.

Dördüncü rat deneyi: Epirubisin (vücut ağırlığının 2.5mg/kg kadar) ve 0.05 mmol/l fosfat tampon bağlamada 1 ml ferro sıvı (tahmin edilen kan hacminin %5 kadar) 6 rata verilmiştir. Manyetik alan kreamster kasının önceden tahmin edilen bölgesine (büyük toplardamarcıkları içeren) 30 dakika boyunca uygulanmıştır. 30 dak. aralığında hemen sonra 1. rata ferro sıvı injeksiyon edildi, 10 dak sonra 2. rata, 20 dak. sonra 3. rata 30 dak. sonra 4. rata, 40 dak. sonra 5. rata, 50 dak. sonra 6. rata injeksiyon edilmiştir.

Beşinci rat deneyi: Epirubisin (vücut ağırlığının 2.5mg/kg kadar) ve 0.05 mmol/l fosfat tampon bağlamada 1 ml ferro sıvı (tahmin edilen kan hacminin %5 kadar) 6 rata verilmiştir. Manyetik alan rastgele bir bölgeye (5mm çapında, 0.2 Tesla değerinde) 30 dakika boyunca uygulanmıştır. Aynı zamanda epirubisinin florasin etkisini yaratmak için üzeri aydınlatılmışlardır (495nm geçiren filtre).

Çizelge 4.1. tüm fizyolojik parametrelerini, tedavi sonuçlarını, çeşitli parametreler üzerinde bu ve diğer çalışmaların sonuçlarındaki değişkenleri özetlenmiştir. Kreamster mikrosirkülasyonunun normal bazal değer çapı manyetik sıvının infüzyonu üzerinde değişiklik olmadığını belirlemişlerdir (Çizelge 4.2).

Çizelge 4.2 Manyetik sıvının infüzyonunu üzerinde normal bazal değer çapı

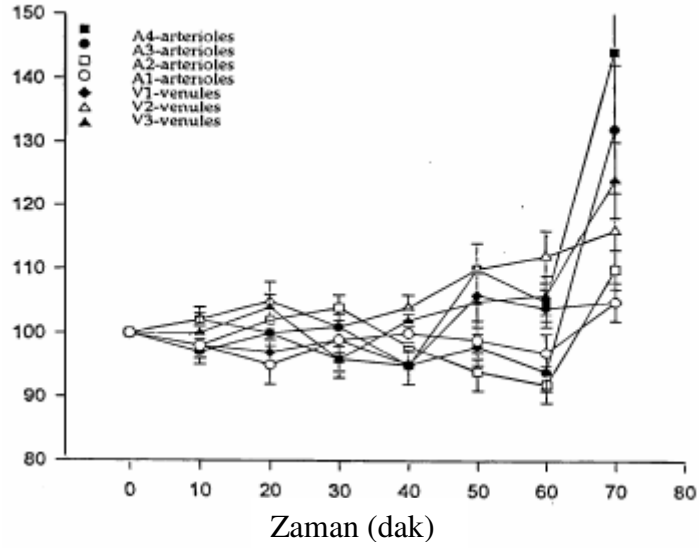
	1.Grup (n=6)	2.Grup (n=4)	3.Grup (n=5)
A ₁	78±5	89±4	78±4
A ₂	44±3	56±4	50±3
A ₃	20±1	20±2	22±1
A ₄	9.5±1	10±1	8.5±1
V ₁	116±11	128±2	109±10
V ₂	71±4	75±3	71±2
V ₃	23±2	28±3	26.5±2

Kan basıncı, kalp atımı ve solunum hızı içinde geçerlidir. Doğal olarak Na-nitropursiyat ile deney sonunda maksimal bir damar genişlemesi vardır (Şekil 4.1). Bunların hepsi ise ferro sıvının iyi bir kardiyovasküler toleransının olduğunu göstermektedir. Manyetik alanın 10 dakika boyunca uygulanması (Deney 2) değiştirilemez manyetik pıhtılaşmayla sonuçlanmıştır. Ferro sıvıdan gelen pıhtılaşmadan (10dak.) sonra düşük akış durumunun gösteren; bazı küçük arteriyollerde geri dönüşümlü damar genişlemesi ve büyük arterlerde damar daralması görülür [5].

Kan hacminin %5 kadar olan uygulanan ferro sıvı 10 dakika boyunca lokal olarak uygulanan 0.2 Tesla değerindeki manyetik alan ile kremster kasının büyük ve orta boyutlu V₁ ve V₂ toplardamarcığında (parçacık boyutu 100nm) tamamen damarların tıkanmasına neden olacak kadar yeterlidir. Daha uzun uygulanan manyetik alan daha çok kalıcı pıhtılaşma yapar. 10 dakikadan az uygulanan manyetik alanlar kalbin sağ kulakçığına doğru kızarmalar ve rahatsızlıklara, düşük olasılıkta akciğer embolisine neden olabilecek küçük pıhtılaşmalar üretmiştir. Klinik olarak emboli işareti yoktur. 10 dakikadan fazla manyetik alan uygulandığında, değiştirilemez manyetik pıhtılar şekillenmiştir. Bu uygulamalardan 2 saatten sonra küçük V₂ ve V₃ toplardamarcıklarında kalıntı pıhtıları görülmüştür. İnterstisyel bölgenin üzerinden alınan i.v. enjeksiyonda fişkırın kanda açıkça belirgin manyetik parçacık yoktur.

Ratlara uygulanan yarı ömrü 30 dakika olan flouresen ilaçtan dolayı olan flouresen etki manyetik alanda her 10 dakikada mıknatısların yardımıyla sabitlenmiştir. Damar içinde yapılan uygun koşullardaki deney yaklaşık 60 dakika boyunca oluşacağı gösterildiğinden dağılım kinetiğinin uzatılması için fosfat tampon eklenmiştir.

%Kontrol



Şekil 4.1 Ferro sıvı infüzyonu süresince mikrovasküler çapın 10 dakikada Na-nitroprusit ile maksimum genişlemesinin grafiği

4.4 FARE DENEYLERİ

10 dakikadan daha fazla, büyük ve orta boyutlu venuleslerde Ratların iskelet kas mikrosirkülasyonunda trombus formundaki toplanmış bir ferro sıvı tümör embolizasyonunun olasılığından belirtilmektedir. Böylece bir seri deneylerde 20 ile 28g arasındaki ağırlıkta, 6–12 haftalık 23 erkek fare (NMRI-nu/nu) kullanılmıştır. Rektal sıcaklık 36 ve 37°C arasında sürekli olarak ayarlanmaktadır. Hayvanların kuyruklarındaki damardan (epirubisin, ferro sıvı ve manyetik epirubisin) çeşitli bileşikler enjekte edilmiştir.

Deneylede adenokarsinom veya hipernefroma tümörleri gibi malign ve hızlı metastaz eden kanser tipleri kullanılmıştır. Donor hayvanların küçük tümör parçaları (hacmi 5–15µl) hazırlanarak Ringer laktat solüsyonu içine konulmuştur. Kulak yüzeyinin arkasındaki derinin altına 10µl izotonik tuz enjekte edildikten sonra (3mm uzunluğunda ve 1mm genişliğinde) küçük s.c. cebi meydana getirilmiştir. Yaklaşık olarak bir tümör parçası 1µl kulak ceplerine verilmiştir. Diğer deneylerde daha büyük tümör parçaları (50µl) bilateral (iki taraflı) olarak abdominal (karın) bölgeye transplant edilmiştir.

Fare deneyi 1: Tümör damarları embolizasyonu. (1.alt grup, kolon karsinoma, n=6, 2. alt grup, hipernefroma, n=6 kulağa dıştan aşılacaktır.) İki alt gruptaki her fareye (tahmin edilen kanın %10'nu kadar) ferro sıvı verilmiştir. Tümör üzerine (aşağı yukarı 1 dak.) enjeksiyon zamanını da içeren 15 dak. boyunca manyetik alan uygulanmıştır. Sonraki 14 gün boyunca tümör 3 eksen boyunca ölçülmüştür.

Fare deneyi 2: Manyetik ilaç hedefleme. Kolon ve böbrek kanserlerinin transplant hacmi günlük olarak 10 günden fazla ölçülmüştür. Farelere 1 mg epirubisin/kg vücut ağırlığı (kan hacminin %5) ferro sıvı 1–2 dakikada i.v. olarak verilerek manyetik alanı tümör üzerine (kolon n=6, böbrek n=5) 15 dakika boyunca uygulamışlardır.

İnsan kolon adenokarsinoma taşıyan fare kulağına bu doz kısmen ve tamamen farelerdeki tümör embolizasyonuna neden olacak miktardadır. Bazen kollateral dolaşım tümörü beslenen arteriyol etrafında gelişirken uzun dönem sonuçlarına göre tümör yaşam savaşı vermektedir. İnterstisyel bölgede manyetik parçacığın extravasation (parçacığın damar dışına çıkması) olduğu, endotel (damar hücre) parçalanma mikrovasküler makromoleküler geçirgenliğe neden olduğunu gösterilmektedir. Manyetik trombus ile tümör damarı sararak tıkama olmaktadır. Fakat kollateral dolaşım geliştirildiğinde bu tahmin edilen bir durum değildir. Ayrıca bir miktar ferro sıvı yüksek klinik uygulamalarda olabilir. Böylece manyetik kontrollü ilaç hedefleme oldukça uygun bir yol olarak görülmektedir.

Renal (böbrek) kanserde olduğu kadar insan kolonunun remisyon (iyileşme) tamamen neden olan epirubisini (anti tümör etkisine dozu uygun değildir.) ilaç hedeflemedeki ferro sıvı (kan hacminin %1 olan, parçacık boyutu 100nm) bağlayabilmektedir [1]. Böylece yukarıdaki sonuçlardan, geri dönüşümlü heteropolar bağlayıcı epirubisin ilacının manyetik parçacıklardan interstisyel bölgedeki damar duvarları boyunca difüzyonuna izin verdiğiinden bizim konunun doğru olduğu kanıtlanmaktadır.

4.5 Hasta Deneyleri

4.5.1 Seçilme Kriteri

Yedi hasta ile metastatik göğüs kanseri, iki kondrosarkom (kıkırdak kanseri), iki parotis (tükürük bezi) ve hipofarenks yassı hücreli karsinoma, standart kemoterapiyle sonuç vermeyen hastalar Faz I klinik denemeleri için sırasıyla bir Ewing sarkom(kemik tümörü) ve bir malign histiyositom (makrofaj tümörü) seçilmiştir [2].

4.5.2 Çalışma Düzeni Ve Tedavi Planı

Tümör durumu fiziksel deneylerle haftalık olarak izlenmiştir. Hastaların kan ağırlıkları bayanları vücut ağırlığının %7 si ve erkeklerde vücut ağırlığının %8 olarak tahmin edilmiştir. İki gün sonra ilaç hedeflemenin amacı manyetik epirubisin (tahmin edilen kan hacminin %0.5 kadar) tümöre çapraz olarak yerleşmiş, damardan 15 dakika boyunca i.v. olarak enjekte

edilmiştir. Bu süre boyunca ve takip eden 45–105 dakikada manyetik alan tümörün üzerindeki bölgeye uygulanmıştır. Bu sayılar 1000 ml büyük tümör üzerine alınmıştır. İdeal bir dolaşım sağlanmak isteniyorsa damar tümördeki damar dağılımı %1–50 ve perfüzyonu %1–50 ise en az 1ml ferro-sıvı ile tümör damar dolaşımını engellenebilir. İhtiyaç duyulan ferro sıvının maksimum miktarı 250 ml'dir. Vasküler dağılımın %10–30 arasında ve perfüzyon oranının %20–10 arasında olması beklenmektedir (Çizelge 4.1). Bu 30 ml ile oluşturulabilir. Doğal olarak tümör üzerinde tamamen konsantrasyonda olamayabilir ve MDT' lerin asıl amacı tümör kan damarlarını kapamak değildir. Böylece tümör kan damarlarının geçerli doldurmada yaklaşık olarak 20–30 ml ferro sıvıya ihtiyaç vardır. Hastalardan 5 ml kan örnekleri (manyetik epirubisin uygulanan damarlar çapraz alınmıştır) farmakokinetik değerlendirmeleri için alınmıştır. İkinci tedavi manyetik ilaç hedeflemesiyle 7 gün boyunca takip edilmiştir

Manyetik rezonans tomografik tekniği, farmakokinetik ve miknatısların histolojisini temel almaktadır. Ferro sıvının hastaların yarısında tümörlere başarılı bir şekilde yönlendirildiği gösterilmiştir [2]. Tüm bunların üzerine NMR teknolojisiyle insan tümörlerinde ferro sıvıların homojen yayılımı gösterilerek hayvan deneyleri doğrulamıştır. Sonuç olarak tümör yatağından alınan hücre örneklerinde demir parçacıklarının damar dışına çıktığı (extravase) gösterilmiştir.

Bu bölümde manyetik kontrollü işaretleme yöntemiyle etkin bir şekilde mikrosikülasyon tekniklerini yardımcı olduğu düşünülmektedir. Özellikle bu teknik sirkülasyona intravenöz (damar içi) olarak verilen ferro sıvının ilk anda manyetik etki ile trombüsü belirlediği gözlenmiştir. Manyetik parçacıklar normal hücredeki kılcıl damarlarda muhafaza edilmesine rağmen, tümörün içindeki interstisyel bölgedeki ferro sıvı parçacıklarının damar dışına çıkmaktadır. Bu durumda insanlardan alınıp immünsuprese (bağışıklık sistemi baskılanmış) farelere insan tümörleri nakil etmişlerdir. Ayrıca, floresan boyalarla, ferro sıvıların biyolojik yarı ömürleri göz önüne alınarak; canlı ve cansız ortamlarda manyetik alan etkisi altında dağılım hareketlerinin model oluşturması ile bu hayvan deneyi ispatlanmaya çalışılmıştır. Kreamester kası, sistemik damar içi ilaç uygulanması sonrasında oluşabilecek ferrosıvının dağılımını ve manyetik alan etkilerini direkt olarak gözlenebildiği uygun bir kastedir. İlaçların parçacıklara geri dönüşümlü olarak bağlanması ile ilacın o bölgedeki miktarının ve etkisinin kolaylıkla değerlendirilmesini sağlar. Sonuç olarak; demir ile geri dönüşümlü bağlanabilen fonksiyonel kaplanan ferrosıvı polimerleri (heterojen bağlantı) formüle edilmiştir. Bu oluşturulan ferrosıvıların mekanik olarak damarları tıkadığı gösterilmesine rağmen; bu durumun yüksek dozlarda olduğu gözlenmiştir. Ayrıca; tıkanmadan günler sonra tümörün beslenmesini sağlamak için yeniden

gelişen arter ve arteriyollerin gösterilmesinde de faydalı bir yöntemdir. Hayvan deneylerinde manyetik işaretli ilaçlarla işaretleme metodu ile gösterile bilinmiştir.

Hayvanlar üzerinde yapılmış fizyolojik çalışmalar, insanlar için yeni ilaçların doğması ile sonuçlanmıştır. Ancak daha detaylı bilgiler ancak insanların kullanımı sonrasında ortaya çıkacaktır. Mıknatıslı hedef-ilaçlar güvenli görünmekle birlikte, hastalık veya hastalığa bağlı olabilecek problemler için etkisini belirlemek için daha çok çalışmaya ihtiyaç vardır. Manyetik alan ve fizyolojik değişkenlerin etkisi ile ferrosıvı-ilaç bileşiklerinin plan/rota gibi değiştirile bilir. Tümör içine arteriyal enjeksiyonlar venöz yola göre daha az tercih edilmiştir. Parçacıkların optimum büyüklüğü, kimyasal bağlanma gücü optimal konastrasyon/hacim değişkenlerine göre enjekte edilme yol tercihi düzenlenmektedir.

Başarılı bir tedavi için ferrosıvının tümör damarları içine uygun miktarda bulunmalı ve bulunduğu bölgede etkin bir manyetik alan oluşturulmalıdır. Matematiksel ekstrapolarizasyon hayvanda küçükten büyüğe doğru olurken sonuç olarak insanlarda bu tür ilaçlar kullanılacağında; ilk kullanımı için optimal olabilmesi için uygun çalışma şartlarının olması gerekmektedir. Sonuç olarak, böyle bir teknoloji ile tümör işaretlenmesi, spesifik ilaçların damar içine enjeksiyonu, sitokin bağımlı katil (killer) hücreler, biyolojik cevap ilaç ve gen yapımı gibi yeni tekniklerin gelişmesine olanak sağlamaktadır.

Manyetik ilaç hedefleme yönteminin fizyolojik özelliklerini incelikten sonra bu yöntemin mıknatıslanmış ferromanyetik elemanlar açısından inceleyeceğiz. Mıknatıslanmış ferromanyetik tellerden [8] ve kürelerden [9] oluşturulmuş yüksek gradyantlı manyetik alanlarda manyetik ilaç hedefleme yönteminin verimini karşılaştırıldığında ferromanyetik kürelerden oluşturulmuş dolgulu yatakların daha yüksek verimde olduğu görülmüştür.

4.6 MIKNATISLANMIŞ FERROMANYETİK KÜRELERDEN OLUŞTURULMUŞ YÜKSEK GRADYANTLI MANYETİK ALANDA HEDEFLENDİRME YÖNTEMİ

Manyetik özellikli mikroparçacıklar, örneğin manyetik oksit parçacıklar, ferrokarbon parçacıklar, manyetik polimer parçacıklar vb. gibi mikrovarlıkların hedef bölgesinde oluşturulmuş yüksek gradyantlı manyetik alanda tutularak biriktirilmesi için yeni bir yöntemin mümkünlüğü sunulmuştur. Yüksek gradyantlı manyetik alan dış homojen manyetik alanda mıknatıslanmış ferromanyetik kürelerle oluşturulur. Parçacıkların yerel bölgelerde tutularak kümeler oluşturması olayının teorik modeli hücreli sistemlerde in vivo incelemelerdeki olayların benzeri şekilde modellenmiştir. Elde edilen teorik sonuçlar sunulan

yöntemin Tıp ve Biyoloji objelerin manyetik hedeflenmesi işlemlerinde kullanılması açısından değerlendirilmiştir.

Manyetik özellikli mikron boyutlu parçacıkların manyetik alanda tutulması işlemi bu parçacığa etkiyen manyetik kuvvetin (F_m) etkisi ile oluşturulur. Gradyantlı bir manyetik alanda parçacığa etkiyen manyetik kuvvetin genel ifadesi aşağıdaki şekilde belirlenir;

$$F_m = \mu_0 V_p (\lambda_p - \lambda_f) h \nabla h \quad (4.1)$$

Burada $V_p = \frac{\pi \delta^3}{6}$ -parçacığın hacmi, δ parçacığın çapı, $\lambda_p(\lambda_f)$ - parçacığın (taşıyıcı ortamın) manyetik alınganlığıdır, ∇h - manyetik alan gradyanı, h - yerel bölgelerde endüklenen non homojen manyetik alan şiddetidir.

Görüldüğü gibi, parçacığa etkiyen kuvvetin genliği ∇h manyetik alan gradyanı ile doğru orantılıdır. Dolayısıyla, büyük değerli F_m elde edilebilmesi için ∇h veya bu gradyanı oluşturabilecek dış homojen manyetik alan şiddetinin (H) değeri çok büyük olmalıdır.

Manyetik alan gradyanının (∇h) büyük değerleri iki yöntem ile elde edilebilir:

- 1) Yerel bölgelerdeki aralıkların veya manyetik alan kutuplarının geometrisinin uygun şekilde biçimlendirilmesiyle;
- 2) Dış homojen manyetik alanda ferromanyetik elemanları (çubuklar, küreler, metal talaşları) yerleştirerek oluşturulan gradyanlı alanlar. Bu türlü sistemlerde oluşan yüksek gradyanlı manyetik alanların şiddeti 10^5 – 10^6 A/m civarlarında olabilir.

Yüksek gradyanlı manyetik alanların birinci yöntem ile elde edilmesi her zaman kolay değildir. Zira bu alanların gradyanları esasen manyetik kutuplara yakın bölgelerde oluşur ve çalışma bölgelerinde büyük alan gradyanları elde etmek için güçlü manyetik alanların kullanılması gerekmektedir. Dahası, böyle yapıların Tıp ve Biyoloji sistemlerindeki hedef bölgelerinde (örneğin derin tümörlerin etrafında) yerleştirilmesi imkânsızdır.

Manyetik seperasyon ve filtrasyon işlemlerinde yaygın olarak kullanılan ikinci yöntem manyetik hedefleme sistemleri için daha avantajlıdır. Zira dış homojen alanda mıknatıslanmış ferromanyetik cisimlerin (tel, küre vb.) etrafında yüksek gradyanlı manyetik alanlar oluşmaktadır. Bu alanlar hasta veya tedavisi gereken yerel bölgelerde yerleştirildiğinde damarlarla nakil edilen ve manyetik mikro parçacıklar (manyetik olan oksit, ferro-karbon, manyetik polimer parçacıklar vb.) içeren ilaçlar bu bölgelerde kolaylıkla biriktirilebilirler. Böylece ilaçların hedef bölgelerindeki etkileri yoğunlaştırılır.

Dış homojen manyetik alanda yerleştirilmiş bütün ferromanyetik malzemeler etrafında gradyanlı manyetik alan oluşturmaktadır. Fakat ferromanyetik cisimlerin geometrisine bağımlı olarak alan gradyanları da farklı olmaktadır. Manyetik filtrasyon, seperasyon, immunomanyetik hedefleme sistemlerinde kullanılan esas eleman ferromanyetik tellerdir. Ancak birçok deneysel ve teorik incelemeler ferromanyetik kürelerin oluşturacakları alan gradyanının daha etkili olduğunu göstermiştir. Öte yandan ferromanyetik tellerden farklı olarak kürelerin her hangi bir geometri etrafında kolaylıkla yerleştirilebilmesi manyetik hedefleme sistemlerinde kürelerin kullanılmasını daha avantajlı kılmaktadır.

Bu bölümde mıknatıslanmış ferromanyetik kürelerin oluşturduğu yüksek gradyanlı manyetik alanda mikron boyutlu manyetik parçacıkların hedef bölgelerinde tutulması ve yerel toplanmasının teorik incelenmesi modeli sunulmuştur. Sunulan modelde manyetik hedeflemeye tabi tutulan parçacıkları kan damarlarında harekette olan manyetik mikroparçacıkların hedef bölgelerin etrafında hareketi, tutulması ve biriktirilmesi gibi modellenmiştir. Elde edilen teorik sonuçların Tıp ve Biyolojide ilaçların ve diğer objelerin manyetik hedefleme işlemlerinde kullanılabilmesi değerlendirilmiştir.

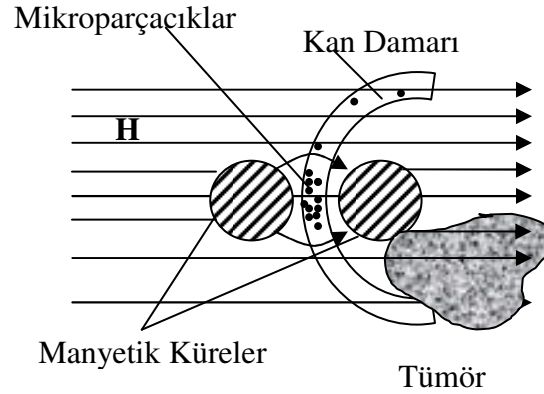
4.7 MANYETİK HEDEFLENDİRME YÖNTEMİNDE MİKROPARÇACIKLARIN MANYETODİNAMİĞİNİN İNCELENMESİ

4.7.1 Mıknatıslanmış Ferromanyetik Kürelerin Oluşturduğu Yüksek Gradyanlı Manyetik Alanda Hedeflendirme Yöntemi

Taşıyıcı manyetik mikron parçacıkların silindirik borularda mıknatıslanmış kürelerin oluşturduğu yüksek gradyanlı alandaki hareketini ele alalım. Burada küreler hücre yanlarında, kılcak kan damarları etrafında ve tümör bölgelerinde yerleştirilebilir (Şekil 4.2). Bu durumda kan damarları manyetik parçacıkları taşıyan borular gibi düşünülebilir. Mıknatıslanmış kürelerin arasında oluşan manyetik alanın değeri,

$$h = \frac{\mu H}{1 + (\ell / a)\mu + 0.5(\mu - 1)r_a^2} \quad (4.2)$$

Olarak belirlenir [2, 4]. Burada H – dış manyetik alan şiddeti, μ - kürelerin bağıl manyetik geçirgenliği, a- kürelerin yarıçapı, r- kürelerin arasındaki orta noktadan hesaplanan radyal koordinatlarıdır. $r_a = r/a$, ℓ - küre yüzeyleri arasındaki uzaklıktır.



Şekil 4.2 Ferromanyetik kürelerin kan damarlarına göre yerleştirilmesi

Mikroparçacıkların borulardaki akış yörüngesini bu parçacıklara etkiyen manyetik kuvvet (F_m) ve sürüklenme (F_d) kuvvetlerinin dengesi denklemlerden belirleyebiliriz. $F_m \geq F_d$ olduğunda manyetik parçacıklar mıknatıslanmış kürelere doğru sürüklenir ve bu hızda borunun duvarlarında toplanırlar. Bu model ilaç hedefleme işlemlerinde manyetik mikroparçacıkların kan damarlarında tümörlü veya diğer hasta bölgelerde kümeleştirirsek maksimum etki edilebilir. Şekil4.2' deki geometri göz önüne alınarak mikroparçacıkların manyetik (F_m) ve hidrodinamik sürüklenme kuvvetlerin (F_d) etkisinde hareket denklemleri aşağıdaki gibi olur:

$$\frac{V_m}{a} \frac{1}{\left[1 + (\ell/a)\mu + 0.5(\mu - 1)r_a^2\right]^3} = \frac{dr_a}{dt} \quad (4.3)$$

Basitleştirilmiş bu denklemin yaklaşık analitik çözümü ise,

$$r_a = r_{a0} \exp\left[\frac{0.5V_m}{a[1 + (\ell/a)\mu]} t\right] \quad (4.4)$$

Olur. Burada $r_{a0} = r_0/a$, r_0 – başlangıç koordinat ve

$$V_m = \frac{\lambda \mu_0 \mu^2 (\mu - 1) H^2 \delta^2}{9 \eta a} \quad (4.5)$$

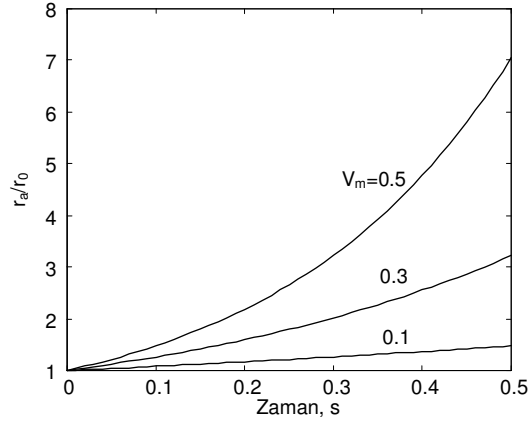
Manyetik hızdır. Dk 4.4, t zaman anında mikron-parçacıkların yerini belirlemeye imkan verir. Görüldüğü gibi mikroparçacıkların hareketi sistemin hidrodinamik (V_0, η) geometrik (a, δ, l) ve manyetik (H, λ, μ) parametrelerine bağlıdır.

Manyetik filtrasyon ve separasyon teorisinde yaygın olarak kullanılan “manyetik hız” parametresi mikroparçacıkların damarlardaki hareketine, manyetik alınganlığın λ , parçacıkların boyutlarının, δ filtre elemanlarının manyetik geçirgenliğinin μ , kanın viskozitesinin η ve dış manyetik alan şiddetinin H , etkisini incelemeye imkan verir.

Mikroparçacıkların damarlarda manyetik alana giriş bölgesindeki başlangıç koordinatları belli olduğunda bu parçacıkların damar duvarının hangi bölgelerinde kümeleştiği Dk4.4’den kolaylıkla belirlenebilir. Pratik hesaplamalarda mikroparçacıkların en büyük hidrodinamik etkiye maruz kaldığı $r_a=0$ koordinatı başlangıç koordinat olarak varsayılabilir. Bu durumda mikroparçacıkların maksimum tutulma yarıçapına göre dış manyetik alan şiddetinin H , kanın akış hızının V_0 ve sistemin geometrisinde optimum değerleri hesaplanabilir.

Elde edilen teorik sonuçlara göre (Dk4.4) mikroparçacıkların kan damarlarında hareketi ve tutularak hedef bölgelerinde biriktirilmesi mekanizması değerlendirilebilir. Mikroparçacıkların kan içerisindeki hacimsel yoğunluğunun $\phi < \% 0.1$ olduğu durumda bu parçacıkların damardaki hareketi ve tutulması hesaplanmıştır. Hesaplama modelinde sistemin temel parametreleri; $a=2.5 \times 10^{-3}$ m, $\delta=2 \mu\text{m}$, $H= 150$ kA/m, $\eta=0.028$ kg/ms, $V_0=5 \times 10^{-2}$ m/s, ve $\lambda=1$ olarak alınmıştır.

Şekil 4.2’de damar içinde manyetik taşıyıcıları olan mikroparçacıkların yüksek gradyant bölgesinde tutulmasının zamanla değişimi gösterilmiştir. Şekilden görüldüğü gibi, sistemin manyetik özelliklerinin (V_m) arttırılması ile parçacıkların çöktürülmesi olayı hızlanmaktadır. Bu durumda hesaplamalar mikroparçacıkların %90’dan fazlasının hedef bölgesinde tutularak kümeleştirilmesinin mümkün olduğunu göstermiştir. Değerlendirmeler göstermiştir ki dış manyetik alan şiddetini H , λ ve μ' yü arttırmakla parçacıkların hedef bölgelerinde tutulmasını maksimuma (%100) ulaştırmak mümkündür. Özel yapılar kullanmakla, örneğin, ikiden fazla mıknatıslanmış ferromanyetik kürelerden oluşturulmuş hücrelerin kullanılması da parçacıkların tutulmasını kolaylaştırır. Bu türlü hücrelerde endüklenen yüksek gradyantlı manyetik alanların ölçümleri göstermiştir ki, 4–6 kürelerin kullanılmasıyla yeterince yüksek alan gradyanları oluşturmak mümkündür.



Şekil 4.3 Parçacıkların damar duvarlarına çöktürülmesi olayının zamanla değişimi

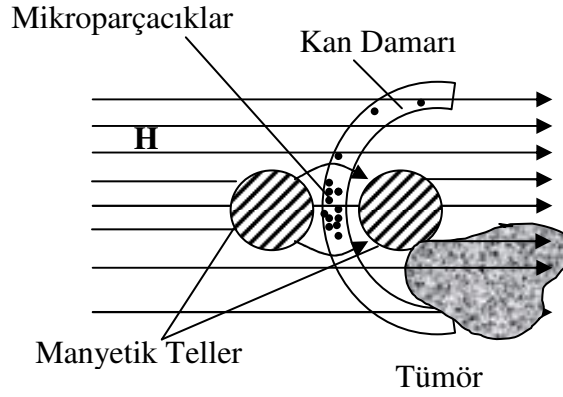
Sonuç olarak manyetik mikroparçacıkların yüksek gradyanlı manyetik alanlarda hareketinin ön incelenmesinden aşağıdaki sonuçlar elde edilmiştir;

- Mikron boyutlu manyetik parçacıkların hedefleme taşıyıcıları olarak etkinliğini artırmak için yüksek gradyanlı manyetik alanların kullanılması gerekmektedir.
- Yüksek gradyanlı manyetik alan mıknatıslanmış küre veya ince tellerden oluşturulabilir. Mıknatıslanmış kürelerin yerel bölgedeki alan gradyanı daha yüksektir.
- 4 veya 6 mıknatıslanmış kürelerden oluşturulmuş hücrelerin gradyanlı manyetik alanı daha etkindir.
- Mikroparçacıklara etkiyen kuvvetleri göz önüne alarak, parçacıkların dar bölgelerde örneğin kan damarlarında hedef bölgelerine taşınması olayının matematik modelini oluşturmak mümkündür.

4.7.2 Mıknatıslanmış Ferromanyetik Tellerden Oluşturulmuş Yüksek Gradyanlı Manyetik Alanda Hedeflendirme Yöntemi

Mıknatıslanmış kapsül şekilde yapılmış ilacın yüksek gradyanlı manyetik alandaki davranışını Şekil4.4'deki duruma göre inceleyelim. Yüksek gradyanlı manyetik alanın iki paralel ferromanyetik telin dış manyetik alanda oluşturduğunu varsayalım bu teller damarların dışında akapuntur yöntemiyle yerleştirilebilir. Mıknatıslanmış ilaç kapsülü üzerindeki etkiyen esas kuvvetler manyetik (F_m) ve hidrodinamik (F_d) sürüklenme kuvvetleridir. Manyetik mikro parçacıkların boyutlarının çok küçük olması nedeniyle atalet ve Arşimet kuvvetleri ihmal edilebilir. Manyetik kuvvet hidrodinamik kuvvetten büyük olursa ($F_m > F_d$) manyetik mikro

parçacıklar mıknatıslanmış tellere doğru çekilir. Başka bir deyişle ilaç taşıyıcısı olan bu manyetik parçacıklar damar duvarlarına yönlenmiş olur. Böylece zamanla bütün manyetik parçacıklar bu bölgede tutularak biriktirilir. Bu işlemin matematiksel modelini oluşturmak için manyetik parçacıkların ferromanyetik tellerin oluşturduğu yüksek gradyantlı alandaki hareketi yörüngesini belirlemek gerekir. Bu amaçla manyetik mikro parçacıklara etkileyen manyetik kuvvetin ifadesini belirlemek gerekir. Mıknatıslanmış ferromanyetik tellerin oluşturduğu yüksek gradyantlı manyetik alanda mikro parçacığa etkileyen manyetik kuvvetin ifadesi aşağıdaki gibi olur.



Şekil 4.4 Ferromanyetik tellerin kan damarlarına göre yerleştirilmesi

$$F_m = \frac{-2\mu_0 V_p \lambda \alpha H_0^2}{a} \left[\left(\frac{\alpha}{r_a^5} + \frac{\cos 2\theta}{r_a^3} \right) \vec{a}_r + \frac{\sin 2\theta}{r_a^3} \vec{a}_\theta \right] \quad (4.6)$$

Burada, $r_a = \frac{r}{a}$ ferromanyetik telin merkezinden hesaplanan boyutsuz radyal koordinat , $\alpha = (\mu_r - 1)/(\mu_r + 1)$ ferromanyetik telin bağıl manyetik geçirgenliğidir. Kısa uzaklık etkisi parametresi olan $r_a Dk^2$ 'de ihmal edilirse manyetik kuvvet aşağıdaki gibi olur

$$F_m = \frac{A}{r_a^3} \quad (4.7)$$

$$\text{Burada, } A = \mu_0 \lambda V_p \frac{2\alpha H_0}{a} \quad (4.8)$$

Dk 4.7'den görüldüğü gibi bu durumda manyetik alan potansiyel alan olur bu durumda manyetik parçacıkların damarlardaki hareketinin enerjinin korunumu teorisine göre belirliye

biliriz. Bu teoriye göre parçacığın potansiyel veya merkezi alandaki hareket yörüngesi bu parçacık üzerindeki etkin enerjinin ifadesine göre belirlenebilir. Bu durumda parçacıkların hareket denkleminin direkt olarak gereksinimi aradan kalkar. Parçacığın polar koordinatlarda (r,θ) hareketinde enerji aşağıdaki gibi belirlenir.

$$W = \frac{mv^2}{2} + \frac{M}{2mr^2} + V(r) \quad (4.9)$$

Burada m parçacığın kütlesi, M tek parçacığın açısal momenti, $V(r)$ sistemin potansiyel enerjisi, $v = \frac{dr}{dt}$ parçacığın hızıdır. Sonsuzda potansiyelin sıfır olduğu göz önüne alarak aşağıdaki ifadeyi yazarız;

$$V(r) = \int F_m dr = \frac{A \cdot a}{2r_a^2} \quad (4.10)$$

Hareket darbe momenti aşağıdaki gibi olur;

$$M = mrv \sin(r\hat{v}) = mRV_0 \quad (4.11)$$

Burada R parçacığın manyetik alan olmadığı durumundaki hareketinin yörüngesinin yarıçapı, V_0 parçacığın tel üzerinden akış hızıdır. Parçacığın hareketini etkin potansiyel enerjisi (V_{eff}): aşağıdaki olana tek boyutlu bir hareket gibi düşünebiliriz.

$$V_{eff} = -\frac{1}{r_a^2} \left[\frac{Aa}{2} - \frac{mR^2V_0^2}{2a^2} \right] \quad (4.12)$$

Dk 4.12'den en büyük tutma yarıçapı aşağıdaki gibi olur,

$$R_{ca} = \frac{2H_0}{V_0} \sqrt{\frac{\alpha\mu_0\lambda}{2\rho_p}} \quad (4.13)$$

Burada ρ_p parçacığın yoğunluğu, $R_{ca} = \frac{R}{a}$ birim uzunluktaki tutma alanıdır.

$$\sigma_a = \frac{4H}{V_0} \sqrt{\frac{\alpha\mu_0\lambda}{2\rho_p}} \quad (4.14)$$

Dk4.14 kan damarlarından hesaplanan etkin uzaklığı belirlemeyi sağlar. Eğer damar duvarından olan toplam uzaklık b olursa bütün parçacıkların damarların duvarlarına yapışarak birikmesi için aşağıdaki koşulun sağlanması gerekir;

$$b_a = 2R_{ca} \quad (4.15)$$

Dk4.13 yüksek gradyanlı manyetik sistemlerin çalışma parametrelerinin belirlenmesi için çok önemlidir. Örneğin dış manyetik alanın değerine göre tel akupunkturunun filtre performansının en büyük olabilmesi için hangi konumda bulunması Dk 11 den hesaplanabilir. Böylesi parametreleri $\lambda=1.6$, $V_0=5.10^{-2}$ m/s, $H=6.4$ kA/m, $\rho_p=2700\text{kg/m}^3$ Olan bir sistemde manyetik parçacıkları etkin ayrıştırılması ve etkin seperasyonu için Dk 10 ve 11 göre $b=1.2a$ olması yeterlidir. Görüldüğü gibi ferromanyetik tellerden oluşturulmuş yüksek gradyanlı manyetik alanların tümör hastalıklarının tedavisinde ilaç hedeflendirici bir sistem olarak kullanabiliriz bunun için hasta bölgelere akupunktur olarak yerleştirilmiş ferromanyetik tellere dış homojen manyetik alanla etki göstermek gerekir. Manyetik özellikli mikro parçacıklarda oluşturulmuş ilaçlar damarlarla taşınarak bu bölgelerde kümeleştirilebilir. Böylece yerel hasta bölgelerin diğer dokulardan maksimum izole edilmiş tedavisi yapılmış olur.

SONUÇLAR VE TARTIŞMA

Yüksek gradyantlı manyetik alanlar ve onların hücre seperasyonuna etkisine ait yapılan Lisansüstü Tez çalışmasında ve İnönü Üniversitesi Bilimsel Araştırmaları 2005/41 nolu proje kapsamındaki incelemelerden aşağıdaki sonuçlar elde edilmiştir.

1. Son yıllarda Tıp ve Biyolojide elektromanyetik alanlardan faydalı uygulama yöntemleri olarak manyetik hedeflendirme, immunomanyetik seperasyon ve manyetik hipertermiya yöntemleri hızla gelişmektedir.
2. Manyetik hedeflendirme ve immunomanyetik seperasyon yöntemlerinin etkinliği taşıyıcı hücrelerin manyetik özelliklerine ve bu işlemlerin oluşturduğu manyetik alanın gradyantına bağlıdır.
3. Son yıllarda birçok uluslar arası klinik, laboratuar ve araştırma merkezlerinde yüksek manyetik özellikli mikro parçacıkların sentezi yapılmaktadır. Buna rağmen manyetik hedeflendirme ve immunomanyetik hücre seperasyonunda kullanılan manyetik alan gradyantını oluşturan aygıt ve düzeneklerin performansı çok düşüktür.
4. Yapılan teorik ve deneysel incelemelerimiz göstermiştir ki yüksek gradyantlı alanları oluşturmak için mıknatıslanmış ferromanyetik tel yerine mıknatıslanmış ferromanyetik kürelerin kullanılması daha avantajlıdır.
5. Zayıf ($B \leq 0.1$ T) ve çok güçlü ($B > 1$ T) manyetik alanlarda ferromanyetik kürelerin oluşturduğu manyetik alanın gradyanti ferromanyetik tellerin oluşturduğu alan gradyantından 4–5 kat daha büyük olduğu saptanmıştır.
6. Mıknatıslanmış ferromanyetik tellerden farklı olarak ferromanyetik kürelerin sınırlı boyutları ve zincir şekilli dizilişi daha kolaydır. Kürelerin yüksek gradyantlı alanları oluşturan düzeneklerde esas mıknatıslayıcı eleman olarak kullanılması daha avantajlıdır.
7. Biyolojik sistemlerde yer alan hem durağan hem de dinamik koşullarda yüksek gradyantlı manyetik alanların hücreler üzerindeki işlemlerin ve immunomanyetik hücre seperasyonu işlemlerinin teorik modellerinin oluşturulması mümkündür. Bu teori elektromanyetik alan teorisi elektronik ölçme, biyomekanik ve biyofizik, ısı ve kütle transferi, akışkanlar mekaniği reoloji gibi farklı ana bilim dallarının entegrasyonunu içermektedir.
8. Deneysel incelemeler göstermiştir ki mikron boyutu hücrelerin hedeflendirilmesi, taşınması ve izolasyonu için manyetik alan yoğunluğunun $B \leq 1$ T ve yerel manyetik alan şiddetinin $h \leq 200-100$ KA/m olması yeterli olabilir.

9. Birkaç kan örnekleri üzerinde zayıf manyetik alanların oluşturduğu yüksek gradyantlı alanlarda bile kırmızı kan hücrelerinin (RBC) ayrıştırılması gözlenmiştir.
10. Deney sonuçlarının incelenmesinde hem zayıf manyetik alanlarda ($B \leq 0.1T$) hem de güçlü manyetik alanlarda ($B \geq 1T$) kan örneklerindeki RBC'le yanı sıra diğer parametrelerin de değerlerinde ciddi değişimlere rastlanmıştır.
11. Yüksek Lisans Tezi ve İnönü Üniversitesi Bilimsel Araştırmalar Birimine ait 2005/41 Nolu proje çerçevesindeki çalışmaların sonuçları 4. Uluslar arası İleri Teknoloji Sempozyumunda (Konya, Türkiye, Eylül 2005) ve II Ulusal Bilgisayar, Elektrik Elektronik Mühendisliği Kongresinde (İstanbul, Türkiye, Eylül 2005) sunulmuştur. Her iki sempozyumun Bildiriler Kitabında yayınlanmış makalelerin tam metinleri bu Tezin ekler kısmında verilmiştir.

KAYNAKLAR

TEZİN AMACI

- [1] T.ABBASOV. Elektromanyetik Filtreleme İşlemleri (Teori, uygulama ve Konstrüksiyon).Seçkin Yayıncılık, Ankara, Eylül 2002. 232s
- [2] W.ANDRA,H. NOVAK Magnetism in Medicine. A Hanbook. J. Wiley-VCH, Berlin, 1988.

1. Bölüm

- [1] A.S. Edelstein, R.C. Cammarata, *Nanomaterials: Synthesis, Properties and Applications*, Institute of Physics Publishing, Bristol and Philadelphia, 1996.
- [2] R.W. Moser, *Advanced Catalysts and Nanostructured Materials: Modern Synthetic Methods*, Academic Press,San Diego, 1996.
- [3] J.H. Fendler, I. Denkey,*Nanoparticles in Solids and Solutions*, Kluwer Academic Publisher, Netherlands, 1996.
- [4] A.N. Goldstein, *Handbook of Nanophase Materials*, Marcel Dekker, Inc., New York, 1997.
- [5] J.H. Fendler, *Nanoparticles and Nanostructured Films: Preparation, Characterization and Applications*, Willey-VCH, New York , 1998.
- [6] D. Leslie-Pelecky, R.D. Rieke, **Chem. Mater.**,8,1996, 1770-83.
- [7] J.F. Loffler, J.P. Meier, B. Doudin, J.P. Ansermet, W. Wagner, **Physical Review B.**, 57, 1998, 2915-24.
- [8] C. Prados, M. Multigner, A.Hernando, J.C. Sanchez, A. Fernandez, C.F. Conde, A. Conde, **J. Appl. Phys.**, 85,1998,6118-20.
- [9] X.L. Dong, Z.D. Zhang, X.G. Zhao, Y.C. Chuang, S.R. Jin, W.M. Sun, **J. Mater. Res.**, 14,1999, 398-406.
- [10] T. Nakayama, T.A. Yamamoto, Y.H. Choa, K. Niihara, **Key Eng. Mater.(Sci. Of Eng. Ceram.II)**, 161-163, 1999, 497-500.
- [11] M.S. El-Shall, S. Li, D. Graiver, U. Pernisz, ACS Symp. Ser. 622 (Nanotechnology), 79-99, 1996.
- [12] M. Boutonnet, J. Kizling, P. Stenius, G. Maire G., **Collaid Surfaces**, 5, 1982, 209.
- [13] V. Pillai, P. Kumar, M.J. Hou, P. Ayyub, D.O. Shah, **Adv. Colloid Interface Sci.**, 55, 1995, 241-69.
- [14] Feltin N and Pileni M P 1997 *Langmuir* **13** 3927
- [15] V. Bhabra, M. Lal, A.N. Maitra, P. Ayyub,**J. Mater. Res.**,10, 1995, 2689-92.
- [16] N. Moumen, M.P. Pileni, **Chem. Mater.**, 8, 1996, 1128-34.
- [17] M.P. Pileni, N. Moumen, I. Lisiecki, P. Veillet, *Nanoparticles in Solids and Solutions*,(Ed) J.H. Fendler, I. Denkey, Kluwer Academic Publisher, Netherlands, 1996, 325-358.
- [18] C.T. Seip, E.E. Carpenter, C.J. O'Connor, V.T. John. S. Li, **IEEE Tarnsaactions on Magnetics**, 34, 1998, 1111-1113.
- [19] E.E. Carpenter, C.J. O'Connor, V.G. Harris, **J. Appl. Phys.**, 85, 1999, 5175-5177.
- [20] S. Li, V.T. Jhon, S.H. Racakonda, G.C. Irvin, G.L. McPherson, C.J. O'Connor, **J. Appl. Phys.**, 85, 1999, 5178-5180.
- [21] J. Tanori, N. Duxin, C. Petit, I. Liesiecki, P. Veillet, M.P. pileni, **Collaid Polym. Sci.**, 273, 1995, 886-992.
- [22] J. Tanori, M.P. Pileni, **Langmuir**, 13, 1997, 639-646.
- [23] N. Duxin, O. Stephan, C. Petit, P. Bonville, C. Colliex, M.P. Pileni, **Chem. Mater.**, 9, 1997, 2096-2100.

- [24] X.M. Lin, C.M. Sorebsen, K.J. Klabunde, G.C. Hajipanayis, **Langmuir**, 18, 1998, 7140.
- [25] X.M. Lin, C.M. Sorebsen, K.J. Klabunde, G.C. Hajipanayis, **J. Mater. Research.**, 4, 1999, 1542.
- [26] E.E. Carpenter, C.T. Seip, C.J. O'Connor, **J. Appl. Phys.**, 85, 1999, 5184-5186.
- [27] I. Lado-Tourino, A. Gonzalez-Penedo, M.A. Lopez-Quintela, J. Garcia-Otero, A.J. Garcia-Bastida, C. Izco, D. Baldomir, R.D. Sanchez, J. Rivas, J.M. Greneche, Nanostruct. Non-Cryst. Mater. Proc. Int. Workshop Non-Cryst. Solids, 4th, 1995.
- [28] E.E. Carpenter, C.J. O'Connor, C. Sangregorio, **IEEE Transactions on Magnetism**, 35(5), 1999, 3496-3498.
- [29] M. Roth, R. Hempelmann, **Chem. Mater.**, 10, 1998, 78-82.
- [30] E.E. Carpenter, C.J. O'Connor, C. Sangregorio, Mater. Res. Soc. Symp. Proc., 577, 1999, 435-441.
- [31] N.S. Kommareddi, M. Tata, V.T. John, G.L. McPherson, M.F. Herman, Y.S. Lee, C.J. O'Connor, J.A. Akkara, D.L. Kaplan, **Chem. Mater.**, 8, 1996, 801-809.
- [32] S. Banerjee, V.T. Jhon, G.L. McPherson, Y.S.L. Buisson, C.J. O'Connor, J.A. Akkara, D.L. Kaplan, **Colloid. Polym. Sci.**, 275, 1997, 930-937.
- [33] M. Pechini, U.S. Patent No. 3,330,697, 11 July 1967.
- [34] N. Uekawa, K. Kaneko, **J. Phys. Chem.**, 100, 1996, 4193-4198.
- [35] N. Uekawa, K. Kaneko, **J. Mater. Res.**, 14, 1999, 2002-2006.
- [36] C. Marcilly, P. Courty, B. Delmon, **J. Am. Ceram. Soc.**, 53, 1970, 56-57.
- [37] S. Roy, W. Sigmund, F. Aldinger, **J. Mater. Res.**, 14, 1999, 152-1531.
- [38] J.M. Yang, W.J. Tsuo, F.S. Yen, **J. Solid State Chem.**, 145, 50-57.
- [39] A.L. Micheli, U.S. Patent No. 4,627,966.
- [40] D.Sriram, R.L. Snyder, V.R.W. Amarakoon, Mat. Res. Soc. Symp. Proc., Vol.457 1997, 81-87.
- [41] Y.S. Cho, V.L. Burdick, V.R.W. Amarakoon, E. Underhill, L. Brissette, Mat. Res. Soc. Symp. Proc., Vol. 494, 1998 27-32.
- [42] P. Pramanik, **Bull. Mater. Sci.**, 18, 1988, 819-829.
- [43] K.S. Suslick, in *Ultrasound: Its Chemical, Physical and Biological Effects*, (Ed) K.S. Suslick, VCH Press, New York, 1988, 123-163.
- [44] K.S. Suslick, **Science**, 247, 1990, 1439.
- [45] E.B. Flint, K.S. Suslick, **Science**, 253, 1991, 1397.
- [46] K.S. Suslick, T. Hyeon, M. Fang, **Chem. Mater.**, 8, 1996, 2172-2179.
- [47] S. Ramesh, Y. Koltypin, R. Prozorov, A. Gedanken, **Chem. Mater.**, 9, 1997, 546-551.
- [48] S. Ramesh, R. Prozorov, A. Gedanken, **Chem. Mater.**, 9, 1997, 2996-3004.
- [49] K.V. Shafi, A. Gedanken, R. Prozorov, J. Balogh, **J. Chem. Mater.**, 10, 1998, 3445-3450.
- [50] X. Cao, R. Prozorov, Y. Koltypin, G. Kataby, I. Felner, A. Gedanken, **J. Mater. Res.**, 12, 1997, 402-406.
- [51] N.A. Dhas, Y. Koltypin, A. Gedanken, **Chem. Mater.**, 9, 1997, 3159-3163.
- [52] D.W. Matson, J.C. Linehan, J.G. Darab, M.F. Buehler, M.R. Phelps, G.G. Neuenschwander, in *Advanced Catalysts and Nanostructured Materials*, (Ed) W.R. Moser, Academic Press, Inc. U.S.A., 1996, 259-284.
- [53] R.L. Penn, J.F. Banfield, J. Voigt, Mat. Res. Soc. Symp. Proc., Vol. 432, 1997, 175-181.
- [54] V. Sankaranarayanan, Q. Pankhurst, D. Kickson, C. Johnson, **J. Magn. Magn. Mater.**, 125, 1993, 199-203.

- [55] F. Dogan, S.O'Rourke, M.-X. Qian, M. Sarikaya, *Mat. Res. Soc. Symp. Proc.* Vol. 457, 1997, 69-74.
- [56] M. Rozman, M. Drogenik, **J. Am. Ceram. Soc.**, 78, 78, 1995, 2449-2455.
- [57] A. Bias, V.T.L. Buono, **J. Mater. Res.**, 12, 1997, 3278-83.
- [58] A. Bias, V.T.L. Buono, J.M.C. Vilela, M.S. Andrade, T.M. Lima, **J. Mater. Sci.**, 32(17), 1997, 4715-4718.
- [59] A. Bias, R.L. Moreira, N.D.S. Mohallem, J.M.C. Vilela, M.S. Andrade, **J. Mater. Res.**, 13, 1998, 223-227.
- [60] R. Lucke, E. Schlegel, R. Strienitz, **J. Phys. IV.**, 7, 1997, C1/63-C1/64, 1155.
- [61] X.X. Bi, B. Ganguly, G.P. Huffman, F.E. Huggins, M. Endo, P.C. Eklund, **J. Mater. Res.**, 8, 1993, 1666-1674.
- [62] X.Q. Zhao, Y. Liang, F. Zheng, Z.Q. Hu, G.B. Zhang, K.C. Bai, *Mater. Res. Soc. Symp. Proc.*, 368, 1995, 39-43.
- [63] Morales M P, Veintemillas-Verdaguer S, Montero M I, Serna C J, Roig A, Casas Ll, Martinez B and Sandiumenge F 1999 *Chem. Mater.* **11** 3058.
- [64] Varanda L C, Tartaj P, González-Carreño T, Morales M P, Muñoz T, O'Grady K, Jafelicci M and Serna C J 2002 *J. Appl. Phys.* **92** 2079
- [65] Garg A and Matijević E 1988 *Langmuir* **4** 38
- [66] C.M. Sorensen, Q. Li, H.K. Xu, Z.X. Tang, K.J. Klabunde, G.C. Hadjipanayis, in *Nanophase Materials*, (Ed) G.C. Hadjipanayis, R.W. Siegel, Kluwer Academic Publishers, Netherlands, 1994, 39-43.
- [67] C.K. Lee, R.F. Speyer, G.W.D. Sparrt, **J. Appl. Phys.**, 73, 1993, 6266-6268.
- [68] V.K. Sankaranarayanan, D.C. Khan, **J. Magn. Magn. Mater.**, 153, 1996, 337-346.
- [69] Y. Ikeda, C. Hara, T. Fujii, M. Sato, M. Inoue, **Jpn. J. Appl. Phys.**, Part1, 22, 1998, 249.
- [70] Y.K. Hong, H.S. Jung, **J. Appl. Phys.**, 85, 1999, 5549-5551.
- [71] C. Guerrer-Piercourt, Y. Bouar, A. Loiseau, H. Pascard, **Nature**, 372, 1994, 761-765.
- [72] M. Terrones, J.P. Hare, K. Hsu, H.W. Kroto, A. Lappas, W.K. Maser, A.J. Pierik, K. Prassicles, R. Taylor, D.R.M. Walton, **Proc. Electrochem. Soc.**, (Proc. of the Symp. On Recent Advances in Fullerenes and Related Mater.), 95-10, 1995, 599-620.
- [73] E.M. Brunsmen, S. Anna, S. Majetic, M.E. McHenry, *Mater. Res. Soc. Symp. Proc.*, 359, 1995, 35-40.
- [74] S.A. Majetic, J.H. Scott, E.M. Brunsmen, A. Kirkpatrick, M.E. McHenry, D.C. Winkler, **Proc. Electrochem. Soc.**, 95-10, 1995, 584-598.
- [75] Y.S. Grushko, S.G. Kolesnik, T.M. Pershikova, A.E. Sovestnov, V.V. Voronin, V.F. Materov, V.K. Sobolevskii, **Proc. Electrochem. Soc.**, 95-10, 1995, 648-653.
- [76] S.C. Tsang, Y.K. Chem, P.J.F. Harris, M.L.H. Green, **Nature**, 372, 1994, 159-162.
- [77] a) P.M. Ajayan, S. Iijima, **Nature**, 361, 1993, 333-334; b) P.M. Ajayan, T.W. Ebbeseu, T. Ichihashi, S. Iijima, K. Tanigaki, H. Hiura, **Nature**, 362, 1993, 522-525.
- [78] P.M. Ajayan, O. Stephan, P. Redlich, C. Colliex, **Nature**, 375, 1995, 564-567.
- [79] K. Parvin, S.P. Weatherersby, S. Awadallah, R. LaDuaca, R.S. Ruodd, S. Subramoney, P. Van Kavelaar, P.E. Nolan, J. Jiao, **Proc. Electrochem. Soc.**, 95-10, 1995, 570-83.
- [80] V.P. Dravid, J.J. Host, M.H. Teng, B.R. Elliot, J.H. Hwang, D.L. Johnson, T.O. Mason, J.R. Weertman, **Nature**, 374, 1995, 602.
- [81] J.H. Hwang, V.P. Dravid, M.H. Teng, J.J. Host, B.R. Elliot, D.L. Johnson, T.O. Mason, **J. Mater. Res.**, 12, 1997, 1076-1082.
- [82] C. Cheung, U. Erb, *Novel Tech. Synth. Process. Adv. Mater. Proc. Mater. Proc. Symp.* (Ed) J. Singh, S.M. Copley, Minerals, Metals & Materials Society Publishers, Warrendale, 1994, 455-463.
- [83] U. Erb, **Can. Metall. Q.**, 34, 1995, 275-280.

- [84] C. Cheung, P. Nolan, U. Erb, **Mater. Lett.**, 20, 1994, 135-138.
- [85] C. Cheung, P. Nolan, U. Erb, **Scr. Metall. Mater.**, 31, 1994, 735-740.
- [86] J.L. Delplancke, O. Bouesnard, J. Reisse, R. Winand, *Mat. Res. Soc. Symp. Proc. Vol.451*, 1997, 383-388.
- [87] J.S. Benjamin, **Metall. Trans. A.**, 1, 1970, 217.
- [88] S.S. Saxena, J. Tang, Y.-S. Lee, C.J. O'Connor, **J. Appl. Phys.**, 76, 1994, 6820-6822.
- [89] T. Aizawa, Z. Cheng, K. Tokumitsu, J. Kihara, **Ceram. Eng. Sci. Proc.**, 18, 1997, 593-600.
- [90] Z. Cheng, T. Aizawa, K. Tokumitsu, K. Tatsuzawa, J. Kihara, **Mater. Sci. Forum.**, 269-272, 1998, 913-918.
- [91] H.G. Laing, H.M. Hu, E.J. Lavernia, **J. Mater. Res.**, 14, 1999, 1760-1770.
- [92] A. Corris, G. Ennas, A. Musinu, G. Paschina, D. Zedda, **J. Mater. Res.**, 12, 1997, 2767-2772.
- [93] L. Cao, A. Handstein, W. Gruenberger, H.-D. Bauer, K.-H. Mueller, L. Schultz, *Rare-Earth Magnets Their Appl. Proc. Int. Workshop 14th*, (Ed) F.P. Missell, World Scientific, Singapore, 1996, 57-66.
- [94] P.G. McCormick, W.F. Miao, P.A. Smith, J. Ding, R. Street, **J. Appl. Phys.**, 83, 1998, 6256-6261.
- [95] P.A.I. Smith, P.G. McCormick, R. Street, **Mater. Sci. Forum.**, 179-181, 1995, 527-532.
- [96] K. Raviprasad, S. Kakoo, K. Makita, M. Umemoto, **Funtai oyobi Funmatsu Yakin.**, 43, 1996, 634-639.
- [97] W.F. Miao, P.G. McCormick, R. Street, **J. Appl. Phys.**, 79, 1996, 2079.
- [98] D. Arcos, R. Valenzuela, M. Vallet-Regi, **J. Solid State Chem.**, 141, 1998, 10-16.
- [99] T. Lea, F. Vartdal, K. Nustad, S. Funderud, A. Berge, T. Ellingsen, R. Schmid, P. Stenstad, J. Ugelstad, *J. Mol. Recognit.* 1 (1988) 9.
- [100] W.S. Prestvik, A. Berge, P.C. Mork, P.M. Stenstad and J. Ugelstad, in: U. Hafeli, W. Schutt, J. Teller, M. Zborowski (Eds.), *Scientific and Clinical Applications of Magnetic Carriers*, Plenum Press, New York, London, 1997, p. 11.
- [101] *Cell Separation and Protein Purification*, Information Book let, Dynal, Oslo, Norway, 1996.
- [102] J. Ugelstad, P.C. Mork, R. Schmid, T. Ellingsen, A. Berge, *Polymer Int.* 30 (1993) 157.

2. BÖLÜM

- [1] Safarik I., Safarikova M., Use of magnetic techniques for the isolation of cells, **Journal of Chromatography B**, 722 33–53 1999.
- [2] Safarik I., Safarikova M, **Magnetic techniques for the isolation and purification of proteins and peptides**, BioMed, 2004.

3. BÖLÜM

- [1] Watson J.H.P. Magnetic filtration. **J. Appl. Phys.** 44 (9), 1973, pp.4203-4213
- [2] Gerber R. and Birss, R. R. *High Gradient Magnetic Separation*, John Wiley, 1983.
- [3] Svoboda J. *Magnetic Methods for the Treatment of minerals*. Elsevier Sci. Publishers B.V., 1987.
- [4] Sandulyak A.V., *Magnetic filtration of liquids and gases*. **Chemics Ed.**, Moscow., 1988, 136p. (in Russian).
- [5] Abbasov T., Köksal M. and Herdem S. Theory of high gradient magnetic filter performance. **IEEE Trans. Magn.** 35(4), 1999, pp.2128-2132.

- [6] Abbasov T., Herdem S. and Köksal M. Performance of high-gradient magnetic filters with Granular matrix. *Separation Science and Technology*. **34**(2), 1999, pp.263-276.
- [7] Herdem S., Abbasov T., Köksal M., Filtration of High Gradient Magnetic Filters with granular matrix. *Powder Technology*. **106**(3), 1999, pp.176-182.
- [8] Cueller J.,and Alvaro A. Fluid-solid Mass transfer in magnetic filtration. *Sep. Sci. Thecnol*. **30** (1),1995, pp.141-151.
- [9] Franz M.,Franzreb M. Determination of the Capture Radii of Magnetite Bearing Hydroxide Floccs in Magnetic Filtration. *IEEE Trans. Magn*. **34**(6), 1998, pp.3902-3909.
- [10] Bahaj A.S., James A.B. and Moeschler F.D. High Gradient Magnetic Separation of Motile and Non-Motile Magnetotactic Bacteria. *IEEE Trans. Magn*. **32**(5), 1996, pp.5106-5108.
- [11] Bahaj A.S., Ellwood D.C., Watson J.H.P. Extraction of heavy metals using microorganising and high gradient magnetic seperation. *IEEE Trans. Magn*. **27**(6), pp.5371-5374.,1991.
- [12] Melville P., Paul F., Roath S. High gradient magnetic separation of red cells from whole blood. *IEEE Trans. Magn*. 1975, **MAG-11**(6), pp.1701-1704.
- [13] Suda T. and Ueno S. Microscopic Observation of the Behaviors of Red Blood Cells with Plasma Proteins under Strong Magnetic Fields. *IEEE Trans. Magn*. **32**(5), pp. 5138-5138. 1996.
- [14] Karmazin V.V., Karmazin V.I. Magnetic method of beneficiation. Nedra, 1984. (in Russian)
- [15] Friedlaender F.J., Takayasu M., A study of the mechanism of particle build-up on single ferromagnetic wires and spheres. *IEEE Trans. Magn*. **MAG-18**, 1982, pp.817-819.
- [16] Eisenstein I., Magnetic separators: Traction force between ferromagnetic and paramagnetic spheres. *IEEE Trans. Magn.*, **MAG-17**, 1981, pp.2801-2804.
- [17] Magnetic method cleaning of gases and waters. Edit. By. Y. A. İzmodenov, Tavria, Simferopoul, 1972. 112p.(in Russian)
- [18] Khabarov O. S. Metalurjide atık sularının temizlenmesi (Manyetik alan kullanmakla), Moskova, Metalurjia, 1976,224s. (Rusça).

4. BÖLÜM

- [1] A.S. Lu⁻ bbe, C. Bergemann et al., *Cancer Res*. 56 (1996) 4694.
- [2] A.S. Lu⁻ bbe, C. Bergemann et al., *Cancer Res*. 56 (1996),4686
- [3] German patent, C. Bergemann, DE 196 24 426 A1, 1996.
- [4] S. Wallenstein, C.J. Zucker, F.L. Fleiss, *Circulation Res*. 49,1981,1
- [5] A.S. Lu⁻ bbe, R.N. Garrison, H.M. Cryer, N.L. Alsip, P.D. Harris, *Am. J. Physiol*. 262 (1992) H880.
- [6] W. Huhnt, A.S. Lu⁻ bbe, *Cancer Res. Clin. Oncol*. 121 (1995) 267.
- [7] P.K. Gupta, C.T. Hung, Magnetically controlled targeted chemotherapy, in: N. Willmott, J. Daly (Eds.), *Microspheres and Regional Cancer Therapy*, CRC Press, Boca Raton, FL, 1993, pp. 71-116.
- [8] T.Abbasov, B.Rüzgar, Yüksek Gradyanlı Manyetik Alanda Manyetik Taşıyıcıların Hedeflendirme Yöntemi, *4. Uluslar arası İleri Teknoloji Symp*, İstanbul, Turkey, 2005
- [9] T.Abbasov, B.Rüzgar, A High Gradient Magnetic Separation Method For Local Targeting Of Magnetic Carriers,*4th International Advanced Technologies Symp*, September, Konya, Turkey, 2005.

Ekler
Ek1.

A HIGH GRADIENT MAGNETIC SEPARATION METHOD FOR LOCAL TARGETING OF MAGNETIC CARRIERS

Teymuraz ABBASOV¹ and Beyza RÜZGAR²

¹University of Inonu Faculty of Engineering Department of Electrics and Electronics 44280 Malatya TR
tabbasov@inonu.edu.tr,

²University of Inonu Faculty of Engineering Department of Electrics and Electronics 44280 Malatya TR
beyzaruzgar@yahoo.com

ABSTRACT: This work suggests a new procedure for local targeting of magnetic microparticles (magnetic oxide particles, magnetic polymer particles, magnetic bioparticles, etc.), by placing ferromagnetic two spheres in the target area or within the area joining the target. An external uniform background magnetic field applying for magnetization of the spheres. The magnetic field gradient in targeting cell is measured and the maximum field gradient points are determined by theoretically and experimentally. The possibility to capture the magnetic microparticles and to build deposits is studied both theoretically and experimentally. This process is assumed under circumstances similar to the *in vivo* ones.

Keywords: High gradient magnetic separator, drug targeting, ferromagnetics spheres, flow, bioparticle trajectory.

1. INTRODUCTION

In the process of the magnetic filtration and separation achieved according to the magnetic susceptibility, on fine particles in the magnetic field h acts a magnetic force

$$F_m \text{ is: } F_m = \mu_0 V_p \lambda h \nabla h \quad (1)$$

2. MODELLING ON THE MICROPARTICLES DYNAMICS AND CAPTURE FORMATION

Let us consider the case of two cylindrical ferromagnetic wires. The wires can be envisioned as thin magnetizable acupuncture needle introduced outside a blood vessel near a tumor (Fig. 1.). elements (wire, spheres, chips etc.) within the space where there is applied the background magnetic field. These ferromagnetic elements are created high local gradients of the magnetic field. [1, 2, 3]. The high local field gradient would make possible a new procedure for local targeting of magnetic microentities (magnetic oxide particles, ferro carbon particles, magnetic polymer particles etc.). These procedures make possible an effecting medical treatment of target zone (a deep tumor) in the case of deep target especially of small dimensions [4,5] case of microsized particles, high gradient non uniform fields must be created. As one can see, F_m depends directly on ∇h so that in order to obtain a high magnetic force, especially in the In the magnetic filtration and separation processes the high gradient magnetic field gradient was obtained. Basically by introduction small sized ferromagnetic An adequate arrangement of ferromagnetic elements (one or more wires) conveniently located within the target zone or near by it will concentrate the magnetic field lines only where is necessary. This procedure would permit to establish with a better accuracy the desired target spot and to ensure an increased efficiency in capturing the magnetic microparticles from the carrier fluid. In the case of two ferromagnetic wires placed within a background magnetic field. There is axial configuration –where the flow is parallel to the wire- and magnetic field is transversal.

Where, $V_p = \frac{\pi \delta^3}{6}$ is the particle volume, $\lambda = \lambda_p - \lambda_f$ is the effective magnetic susceptibility, λ_p (λ_f) is the particle (fluid) susceptibility and ∇h is the magnetic field gradient.

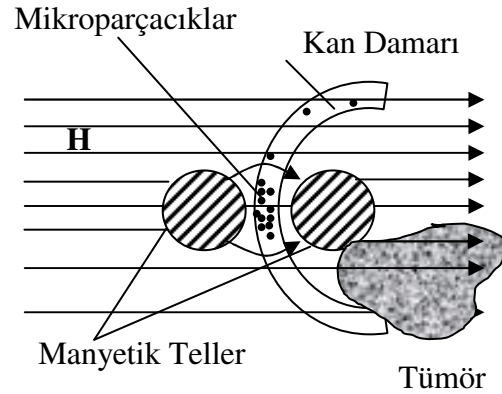


Fig1. Ferromagnetic wires placed in the proximity of blood vessels.

The microparticles trajectories through the liquid are determined by the action of the resultant between the magnetic force (F_m) and the hydrodynamic drag force (F_d); the gravity and the inverted can be neglected due to the very small dimensions of the microparticles.

When $F_m \geq F_d$ the magnetic microparticle moves toward the magnetized wires on a certain trajectory eventually setting down on a surface, for example on the inner surface of a blood vessel.

Most of times, due to presence of a magnetic field, the magnetized particles in fluid will interact (dipolar interaction), agglomerate and then move as small or big clusters. We have considered an idealized structure of the situation presented in Figure 1 and we have made theoretical evaluation of the microparticles movement

inside the blood vessel, as well as of the possibility of deposit formation on the blood vessel wall.

Of the different flow-capture configurations the most convenient for a practical application is the transversal configuration in which the ferromagnetic wire is introduced near the blood vessel wall perpendicular to it (therefore to the blood flow). The direction of the background magnetic field can be chosen so that it is perpendicular alignment between the ferromagnetic wire and the background field direction influences the magnetic carriers capture efficiency.

In order to deduce the equations of motion, we must calculate the intensity of magnetic field inside the capture cells. The magnetic field and boundary force generated around ferromagnetic wire placed in a uniform magnetic field of intensity H is:

$$F_m = \frac{-2\mu_0 V_p \lambda \alpha H_0^2}{a} + \left[\left(\frac{\alpha}{r_a^5} + \frac{\cos 2\theta}{r_a^3} \right) \vec{a}_r + \frac{\sin 2\theta}{r_a^3} \vec{a}_\theta \right] \quad (2)$$

In accordance with Eq.2 the radial component of the magnetic force is negative in the space where the blood wall is placed and inversely proportional to the distance

from the ferromagnetic wire. Where $r_a = \frac{r}{a}$ is dimensionless radial coordinate is the radius of ferromagnetic wire and $\alpha = (\mu_r - 1)/(\mu_r + 1)$

where μ_r , is the relative magnetic permeability of the ferromagnetic wire.

By neglecting the terms short range including r_a^5 in Eq.2, magnetic force amplitude is obtained as:

$$F_m = \frac{A}{r_a^3} \quad (3)$$

$$\text{Where } A = \mu_0 \lambda V_p \frac{2\alpha H_0}{a} \quad (4)$$

In equation 3, the force field, which affects the motion of the particles, is the potential field. Thus, particle capture and movement in the blood wall can be determined by using energy supplying law. This method based on theory of particle motion in the central field with effective energy. In this case the particle capture radius can be obtained without the equations of motion themselves.

Total energy of particle movement in polar coordinates (r,θ) are defined by [7]:

$$W = \frac{mv^2}{2} + \frac{M}{2mr^2} + V(r) \quad (5)$$

Where m is particle mass, M is the angular momentum of single particle, V(r) is potential energy of system,

$v = \frac{dr}{dt}$ is the velocity of particle. It is an assumption

that, at infinity potential is zero, we can be written as:

$$V(r) = \int F_m dr = \frac{A \cdot a}{2r_a^2} \quad (6)$$

Motion impulse momentum is:

$$M = mrv \sin(r\hat{v}) = mRV_0 \quad (7)$$

Where R is the particle motion radius in nonmagnetic field, V_0 is the flow rate of a particle away from the wire. Particle motion can be examined as one-dimensional motion having effective potential energy (V_{eff}):

$$V_{eff} = -\frac{1}{r_a^2} \left[\frac{Aa}{2} - \frac{mR^2 V_0^2}{2a^2} \right] \quad (8)$$

From Eq.8 maximum capture radius can be derived as:

$$R_{ca} = \frac{2H_0}{V_0} \sqrt{\frac{\alpha \mu_0 \lambda}{2\rho_p}} \quad (9)$$

Where ρ_p is particle density and $R_{ca} = \frac{R}{a}$ captures

cross section per unit length is:

$$\sigma_a = \frac{4H}{V_0} \sqrt{\frac{\alpha \mu_0 \lambda}{2\rho_p}} \quad (10)$$

Eq.10 practically gives the possibility to determine effective distance from blood vessel. If total distance is b, for all particles to capture in blood wall, it is necessary that,

$$b_a = 2R_{ca} \quad (11)$$

Equation 11 is very important for determining the regime parameters of high gradient magnetic system. Because definite value of external magnetic field, it is possible to select the position of acupuncture wire previously to obtain maximum filter performance by using equation 11. For example, to separate magnetic carriers having specific magnetic susceptibility of $\lambda=1.6$, $V_0=5 \cdot 10^{-2}$ m/s, $H=6.4$ kA/m, $\rho_p=2700$ kg/m³ according to eqs 10. and 11 $b=1.2a$. To say another way acupuncture wire should be placed regions too close vessels. For increasing safeness and effectiveness of system, external magnetic field strength is enough to increase 4-5 times. Recently used electromagnetic filters and separators these fields can be easily formed [3,2].

3.CONCLUSIONS

A possibility for precisely local targeting of magnetic carriers used anti-tumor therapies. This method very effective especially in zones difficult to access of the medicine preparations. The method consists of placing magnetizable (ferromagnetic) wires in the target zone and applying a background external magnetic field perpendicular to the wire.

Altering the external magnetic field, microparticles carried through vessels are possible to cluster at tumor region. To assume motion of particles in vessels are in a potential field, making a model of capturing these particles is possible.

This technique could be applied in magnetic drug targeting or local radiotherapy using magnetic carriers labeled by radioisotopes.

4.REFERENCES

- [1] J. H. P. Watson, Magnetic filtration, J. APPL. PHYS. vol. 44, pp. 4209-4213, 1973.
- [2] I. Safarik, M. Safarikova, S. J. Farsythy, The Application of Magnetic Separations in Applied Microbiology, J. BACTEROL. Vol.78 pp. 575-585, 1995.
- [3] I. Safarik, M. Safarikova, Use of Magnetic Techniques for the Isolation of Cell, J. CHROMOTOGR. B Vol. 722, 33-53, 1999.
- [4] J. Svoboda, Separation of Red Blood Cells by Magnetic Means, J. MAGN. MAGN. MATER Vol. 220, pp. L103-L105, 2000.
- [5] T. Abbasov, M. Köksal, S. Herdem, Theory of High Gradient Magnetic Filtration, IEEE TRANS. MAGN. Vol 35, no 4, pp. 2128-2132, 1999.
- [6] S.Herdem, T. Abbasov, M. Köksal, Filtration of high gradient magnetic filters with granular matrix, POWDER TECHNOLOGY Vol.106, no3, pp.176-182, 1999.
- [7] A. V. Sandulyak, *Magnetic filtration of the liquids and gases*, Chemical Ed., Moscow, 1988.
- [8] J. Svoboda, *Magnetic Treatment of Minerals* Elsevier, Amsterdam, 1987.
- [9] T. Abbasov, *Elektromanyetik Filtreleme İşlemleri Teori, Uygulama ve Konstrüksiyon*, Seçkin, Ankara, 2002.
- [10] W. Andra, H. Novak, *Magnetisim in Medicine* Willey-VCH, Berlin, 1998.

Bu çalışmadaki incelemeler ve ölçümler İnönü Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimine ait 2005/41 no'lu proje kapsamında yapılmıştır.

Ek 2.

YÜKSEK GRADYANTLI ALANLARDA MANYETİK TAŞIYICILARIN HEDEFLENDİRİLMESİ YÖNTEMİ

Teymuraz ABBASOV¹

Beyza RÜZGAR²

İnönü Üniversitesi, Elektrik Elektronik Mühendisliği Bölümü, 44280, Malatya

¹e-mail: tabbasov@inonu.edu.tr

²e-mail: beyzaruzgar@yahoo.com

Anahtar sözcükler: Yüksek gradyantlı manyetik alan, manyetik parçacıklar, manyetik hedefleme, manyetik tutma, ferromanyetik küreler.

ÖZET

Manyetik özellikli mikroparçacıklar, örneğin manyetik oksit parçacıklar, ferrokarbon parçacıklar, manyetik polimer parçacıklar vb. gibi mikrovarlıkların hedef bölgesinde oluşturulmuş yüksek gradyanlı manyetik alanda tutularak biriktirilmesi için yeni bir yöntemin mümkünliği sunulmuştur. Yüksek gradyanlı manyetik alan dış homojen manyetik alanda mıknatıslanmış ferromanyetik kürelerle oluşturulur. Parçacıkların yerel bölgelerde tutularak kümeler oluşturmaya olayının teorik modeli hücreli sistemlerde in vivo incelemelerdeki olayların benzeri şekilde modellenmiştir. Elde edilen teorik sonuçlar sunulan yöntemin Tıp ve Biyoloji objelerin manyetik hedeflenmesi işlemlerinde kullanılması açısından değerlendirilmiştir.

1. GİRİŞ

Manyetik özellikli mikron boyutlu parçacıkların manyetik alanda tutulması işlemi bu parçacığa etkiyen manyetik kuvvetin (F_m) etkisi ile oluşturulur [1-4]. Gradyanlı bir manyetik alanda parçacığa etkiyen manyetik kuvvetin genel ifadesi aşağıdaki şekilde belirlenir;

$$F_m = \mu_0 V_p (\lambda_p - \lambda_f) h \nabla h \quad (1)$$

Burada $V_p = \frac{\pi \delta^3}{6}$ -parçacığın hacmi, δ parçacığın çapı, λ_p (λ_f) - parçacığın (taşıyıcı ortamın) manyetik alınganlığıdır, ∇h - manyetik alan gradyanı, h - yerel bölgelerde indüklenen non homojen manyetik alan şiddetidir.

Görüldüğü gibi, parçacığa etkiyen kuvvetin genliği ∇h manyetik alan gradyanı ile doğru orantılıdır. Dolayısıyla, büyük değerli F_m elde edilebilmesi için ∇h veya bu gradyanı oluşturabilecek dış homojen

manyetik alan şiddetinin (H) değeri çok büyük olmalıdır.

Manyetik alan gradyanının (∇h) büyük değerleri iki yöntem ile elde edilebilir:

- 3) Yerel bölgelerdeki aralıkların veya manyetik alan kutuplarının geometrisinin uygun şekilde biçimlendirilmesiyle;
- 4) Dış homojen manyetik alanda ferromanyetik elemanları (çubuklar, küreler, metal talaşları) yerleştirilerek oluşturulan gradyanlı alanlar. Bu türlü sitemlerde oluşan yüksek gradyanlı manyetik alanların şiddeti 10^5 - 10^6 A/m civarlarında olabilir.

Yüksek gradyanlı manyetik alanların birinci yöntem ile elde edilmesi her zaman kolay değildir. Zira bu alanların gradyanları esasen manyetik kutuplara yakın bölgelerde oluşur ve çalışma bölgelerinde büyük alan gradyanları elde etmek için güçlü manyetik alanların kullanılması gerekmektedir. Dahası, böyle yapıların Tıp ve Biyoloji sistemlerindeki hedef bölgelerinde (örneğin derin tümörlerin etrafında) yerleştirilmesi imkansızdır.

Manyetik seperasyon ve filtrasyon işlemlerinde yaygın olarak kullanılan ikinci yöntem manyetik hedefleme sistemleri için daha avantajlıdır. Zira dış homojen alanda mıknatıslanmış ferromanyetik cisimlerin (tel, küre vb.) etrafında yüksek gradyanlı manyetik alanlar oluşmaktadır. Bu alanlar hasta veya tedavisi gereken yerel bölgelerde yerleştirildiğinde damarlarla nakil edilen ve manyetik mikro parçacıklar (manyetik alan oksit, ferro-karbon, manyetik polimer parçacıklar vb.) içeren ilaçlar bu bölgelerde kolaylıkla biriktirilebilirler. Böylece ilaçların hedef bölgelerindeki etkileri yoğunlaştırılır [5].

Dış homojen manyetik alanda yerleştirilmiş bütün ferromanyetik malzemeler etrafında gradyanlı manyetik alan oluşturmaktadır. Fakat ferromanyetik cisimlerin geometrisine bağımlı olarak alan gradyanları da farklı olmaktadır. Manyetik filtrasyon, seperasyon, immunomanyetik hedefleme

sistemlerinde kullanılan esas eleman ferromanyetik tellerdir [6-8]. Ancak birçok deneysel ve teorik incelemeler ferromanyetik kürelerin oluşturacakları alan gradyanının daha etkili olduğunu göstermiştir [2,4,9,10]. Öte yandan ferromanyetik tellerden farklı olarak kürelerin her hangi bir geometri etrafında kolaylıkla yerleştirilebilmesi manyetik hedefleme sistemlerinde kürelerin kullanılmasını daha avantajlı kılmaktadır.

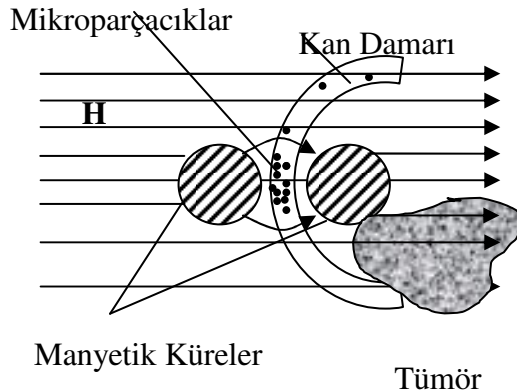
Bu bildiriye mknatslanmış ferromanyetik kürelerin oluşturduğu yüksek gradyanlı manyetik alanda mikron boyutlu manyetik parçacıkların hedef bölgelerinde tutulması ve yerel toplanmasının teorik incelenmesi modeli sunulmuştur. Sunulan modelde manyetik hedeflemeye tabi tutulan parçacıkları kan damarlarında harekette olan manyetik mikroparçacıkların hedef bölgelerin etrafında hareketi, tutulması ve biriktirilmesi gibi modellenmiştir. Elde edilen teorik sonuçların Tıp ve Biyoloji’de ilaçların ve diğer objelerin manyetik hedefleme işlemlerinde kullanılabilmesi değerlendirilmiştir.

2.MİKROPARÇACIKLARIN MANYETODİNAMİĞİNİN İNCELENMESİ

Taşıyıcı manyetik mikron parçacıkların silindirik borularda mknatslanmış kürelerin oluşturduğu yüksek gradyanlı alandaki hareketini ele alalım. Burada küreler hücre yanlarında, kılcal kan damarları etrafında ve tümör bölgelerinde yerleştirilebilir (Şekil 1). Bu durumda kan damarları manyetik parçacıkları taşıyan borular gibi düşünülebilir. Mknatslanmış kürelerin arasında oluşan manyetik alanın değeri,

$$h = \frac{\mu H}{1 + (\ell/a)\mu + 0.5(\mu - 1)r_a^2} \quad (2)$$

olarak belirlenir [2, 4].



Şekil 1. Ferromanyetik kürelerin kan damarlarına göre yerleştirilmesi.

Burada H – dış manyetik alan şiddeti, μ - kürelerin bağıl manyetik geçirgenliği, α - kürelerin yarıçapı, r- kürelerin arasındaki orta noktadan hesaplanan radyal koordinatlarıdır. $r_a = r/a$, ℓ - küre yüzeyleri arasındaki uzaklıktır.

$$\frac{V_m}{a} \frac{1}{[1 + (\ell/a)\mu + 0.5(\mu - 1)r_a^2]^3} = \frac{dr_a}{dt} \quad (3)$$

Basitleştirilmiş bu denklemin yaklaşık analitik çözümü ise,

$$r_a = r_{a0} \exp\left[\frac{0.5V_m}{a[1 + (\ell/a)\mu]}t\right] \quad (4)$$

olur. Burada $r_{a0} = r_0/a$, r_0 – başlangıç koordinat ve

$$V_m = \frac{\lambda \mu_0 \mu^2 (\mu - 1) H^2 \delta^2}{9 \eta a} \quad (5)$$

manyetik hızdır. Denklem 4, t zaman anında mikron-parçacıkların yerini belirlemeye imkan verir. Görüldüğü gibi mikroparçacıkların hareketi sistemin hidrodinamik (V_0 , η) geometrik (a, δ , l) ve manyetik (H , λ , μ) parametrelerine bağlıdır.

Manyetik filtrasyon ve separasyon teorisinde yaygın olarak kullanılan “manyetik hız” parametresi mikroparçacıkların damarlardaki hareketine, manyetik alınganlığın λ , parçacıkların boyutlarının δ , filtre elemanlarının manyetik geçirgenliğinin μ , kanın viskozitesinin η ve dış manyetik alan şiddetinin H, etkisini incelemeye imkan verir.

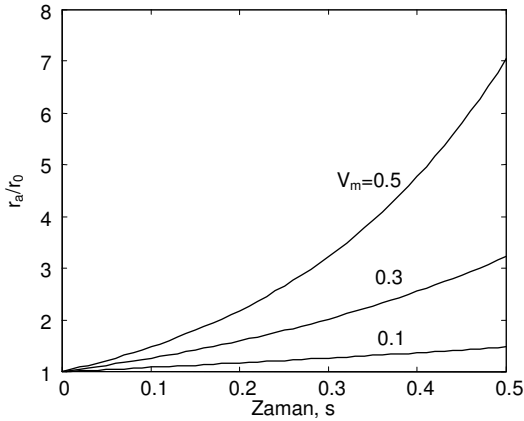
Mikroparçacıkların damarlarda manyetik alana giriş bölgesindeki başlangıç koordinatları belli olduğunda bu parçacıkların damar duvarının hangi bölgelerinde kümeleştiği denklem 4’den kolaylıkla belirlenebilir. Pratik hesaplamalarda mikroparçacıkların en büyük hidrodinamik etkiye maruz kaldığı $r_a=0$ koordinatı başlangıç koordinat olarak varsayılabilir. Bu durumda mikroparçacıkların maksimum tutulma yarıçapına göre dış manyetik alan şiddetinin H, kanın akış hızının V_0 ve sistemin geometrisinin de optimum değerleri hesaplanabilir.

3. SONUÇLAR VE TARTIŞMA

Elde edilen teorik sonuçlara göre (Dk4) mikroparçacıkların kan damarlarında hareketi ve tutularak hedef bölgelerinde biriktirilmesi mekanizması değerlendirilebilir. Mikroparçacıkların kan içerisindeki hacimsel

yoğunluğunun $\phi < \% 0.1$ olduğu durumda bu parçacıkların damardaki hareketi ve tutulması hesaplanmıştır. Hesaplama modelinde sistemin temel parametreleri aşağıdaki gibi olmuştur; $a=2.5 \times 10^{-3}$ m, $\delta=2$ μ m, $H=150$ kA/m, $\eta=0.028$ kg/ms, $V_0=5 \times 10^{-2}$ m/s, $\lambda=1$.

Şekil 2'de damar içinde manyetik taşıyıcıları olan mikroparçacıkların yüksek gradyan bölgesinde tutulmasının zamanla değişimi gösterilmiştir. Şekilden görüldüğü gibi, sistemin manyetik özelliklerinin (V_m) artırılması ile parçacıkların çöktürülmesi olayı hızlanmaktadır. Bu durumda hesaplamalar mikroparçacıkların %90'dan fazlasının hedef bölgesinde tutularak kümeleştirilmesinin mümkün olduğunu göstermiştir. Değerlendirmeler göstermiştir ki dış manyetik alan şiddetini H , λ ve μ' yü artırmakla parçacıkların hedef bölgelerinde tutulmasını maksimuma (%100) ulaştırmak mümkündür. Özel yapılar kullanmakla,örneğin, ikiden fazla mıknatıslanmış ferromanyetik kürelerden oluşturulmuş hücrelerin kullanılması da parçacıkların tutulmasını kolaylaştırır. Bu türlü hücrelerde indüklenen yüksek gradyanlı manyetik alanların ölçümleri göstermiştir ki, 4-6 kürelerin kullanılmasıyla yeterince yüksek alan gradyanları oluşturmak mümkündür.



Şekil 2. Parçacıkların damar duvarlarına çöktürülmesi olayının zamanla değişimi.

Sonuç olarak manyetik mikroparçacıkların yüksek gradyanlı manyetik alanlarda hareketinin ön incelenmesinden aşağıdaki sonuçlar elde edilmiştir;

- Mikron boyutlu manyetik parçacıkların hedefleme taşıyıcıları olarak etkinliğini artırmak için yüksek gradyanlı manyetik alanların kullanılması gerekmektedir.

- Yüksek gradyanlı manyetik alan mıknatıslanmış küre veya ince tellerden oluşturulabilir. Mıknatıslanmış kürelerin yerel bölgedeki alan gradyanı daha yüksektir.
- 4 veya 6 mıknatıslanmış kürelerden oluşturulmuş hücrelerin gradyanlı manyetik alanı daha etkindir.
- Mikroparçacıklara etkiyen kuvvetleri göz önüne alarak, parçacıkların dar bölgelerde örneğin kan damarlarında hedef bölgelerine taşınması olayının matematik modelini oluşturmak mümkündür.

4. KAYNAKLAR

- [1] J. H. P. Watson, Magnetic filtration, J. APPL. PHYS. vol. 44, pp. 4209-4213, 1973.
- [2] A. V. Sandulyak, Magnetic filtration of the liquids and gases, Chemical Ed., Moscow, 1988.
- [3] J. Svoboda, Magnetic Treatment of Minerals, Elsevier, Amsterdam, 1987.
- [4] T. Abbasov, Elektromanyetik Filtreleme İşlemleri Teori, Uygulama ve Konstrüksiyon, Seçkin, Ankara, 2002
- [5] W. Andra, H. Novak, Magnetisim in Medicine, Willey-VCH, Berlin, 1998.
- [6] I. Safarik, M. Safarikova, S. J. Farsythy, The Application of Magnetic Separations in Applied Microbiology, J. BACTEROL. Vol.78 pp. 575-585, 1995.
- [7] I. Safarik, M. Safarikova, Use of Magnetic Techniques for the Isolation of Cell, J. CHROMOTOGR. B Vol. 722, 33-53, 1999.
- [8] J. Svoboda, Separation of Red Blood Cells by Magnetic Means, J. MAGN. MAGN. MATER. Vol. 220, pp. L103-L105, 2000.
- [9] T. Abbasov, M. Köksal, S. Herdem, Theory of High Gradient Magnetic Filtration, IEEE TRANS.MAGN. Vol 35, pp. 2128-2132, 1999.
- [10] S.Herdem, T. Abbasov, M. Köksal, Filtration of high gradient magnetic filters with granular matrix, POWDER TECHNOLOGY Vol.106, no. 3, pp.176-182, 1999.

Bu çalışmadaki incelemeler ve ölçümler İnönü Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimine ait 2005/41 no'lu proje kapsamında yapılmıştır.

ÖZGEÇMİŞ

30.03.1979 Yılında Malatya'da doğdu. İlkokulu Malatya Cumhuriyet İlkokulun'da, ortaokulu Malatya Atatürk Ortaokulun'da, Liseyi Malatya Turgut Özal Süper Lisesinde tamamladıktan sonra 1998 yılında İnönü Üniversitesi Elektrik-Elektronik Mühendisliğine kazandı ve 2002 yılında bu Bölümden mezun oldu. 2003 yılında İnönü Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Elektrik-Elektronik Mühendisliği Ana Bilim Dalında Yüksek Lisans'a başladı.