

ФІЗИЧНАЯ ХІМІЯ
PHYSICAL CHEMISTRY

УДК 544.778.3+621.318.134+66.095.34+66.095.39+66.084.8
<https://doi.org/10.29235/1561-8331-2020-56-2-135-142>

Поступила в редакцию 26.02.2020
Received 26.02.2020

К. В. Лазнев, Е. Е. Шумская, В. Е. Агабеков

Институт химии новых материалов Национальной академии наук Беларуси, Минск, Беларусь

**ПОЛУЧЕНИЕ И СВОЙСТВА МАГНИТНЫХ МИКРОСФЕР
НА ОСНОВЕ МАГНЕТИТА И ГИДРОФИЛЬНЫХ ПОЛИМЕРОВ**

Аннотация. Эмульсионным методом из содержащих магнитные наночастицы растворов альгината, пектина, желатина, хитозана и поливинилового спирта получены магнитные микросферы (ММС) с индексом полидисперсности $\leq 0,1$. Ковалентно сшитые глутаральдегидом желатиновые, хитозановые и поливинилспиртовые микросферы не гидролизуются в среде pH 7,4 при комнатной температуре и устойчивы к ультразвуку. Микросферы, содержащие суперпарамагнитные частицы магнетита, не проявляют остаточной намагниченности. На основе поливинилспиртовых и хитозановых ММС разработаны наборы для иммуномагнитной сепарации клеток и микроорганизмов.

Ключевые слова: микросферы, эмульсии, хитозан, поливиниловый спирт, глутаральдегид

Для цитирования. Лазнев, К. В. Получение и свойства магнитных микросфер на основе магнетита и гидрофильных полимеров / К. В. Лазнев, Е. Е. Шумская, В. Е. Агабеков // Вест. Нац. акад. наук Беларусі. Сер. хім. навук. – 2020. – Т. 56, № 2. – С. 135–142. <https://doi.org/10.29235/1561-8331-2020-56-2-135-142>

K. V. Laznev, Y. Y. Shumskaya, V. E. Agabekov

Institute of Chemistry of New Materials of the National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Belarus

**SYNTHESIS AND PROPERTIES OF MAGNETIC MICROSPHERES BASED ON MAGNETITE
AND HYDROPHILIC POLYMERS**

Abstract. Using emulsification technique, magnetic microspheres (MMS) were prepared from solutions of alginate, pectin, gelatin, chitosan and polyvinyl alcohol. Index of polydispersity of the microspheres was ≤ 0.1 . The microspheres from gelatin, chitosan and polyvinyl alcohol covalently crosslinked with glutaraldehyde were resistant to sonication and hydrolysis at room temperature in buffer solution with pH 7.4. The microspheres containing superparamagnetic magnetite particles demonstrated no residual magnetization. After modification, chitosan and polyvinyl alcohol MMS were used for immunomagnetic separation of cells and germs.

Keywords: microspheres, emulsions, chitosan, polyvinyl alcohol, glutaraldehyde

For citation. Laznev K. V., Shumskaya Y. Y., Agabekov V. E. Synthesis and properties of magnetic microspheres based on magnetite and hydrophilic polymers // *Vesti Natsyonal'nai akademii navuk Belarusi. Seriya khimichnykh navuk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Chemical series*, 2020, vol. 56, no. 2, pp. 135–142 (in Russian). <https://doi.org/10.29235/1561-8331-2020-56-2-135-142>

Введение. Магнитные микросферы (ММС) применяются в биологии и медицине для иммуномагнитной сепарации клеток [1] и микроорганизмов [2]. Как правило, они имеют ядро из конструкционных полимеров, например полистирола, и оболочку из гидрофильных полимеров. Ядро обеспечивает прочность микросферы и удержание магнитного материала, составляет основной объем ММС и определяет ее размер. Оболочка необходима для минимизации неспецифического связывания ММС с биологическими объектами. В качестве материала оболочки могут применяться, в частности, полиэтиленгликоль, поливиниловый спирт (ПВС) и декстран [3]. Для получения микросфер с моодисперсными ядрами и биосовместимой оболочкой необходимы сложные многостадийные процедуры синтеза. Известны более простые способы получения микросфер целиком

из гидрофильных полимеров, основанные на отверждении (желировании) содержащих полимер капель эмульсий сшивающими агентами [4–6], в том числе способ, запатентованный нами [6].

Цель данной работы – получение ММС из гидрофильных полимеров (альгината, пектина, желатина, хитозана, поливинилового спирта) и изучение их свойств, значимых для процедур магнитной сепарации: размера, магнитной восприимчивости, устойчивости к гидролизу и воздействию ультразвука.

Экспериментальная часть. Суперпарамагнитные наночастицы магнетита, имеющие средний размер 10–15 нм, получали согласно [7]. Ферромагнитные частицы магнетита (средний размер ≥ 60 нм) получали путем осаждения аммиаком оксидов и гидроксидов железа с последующим окислением: раствор, содержащий 111,2 г $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 21,6 г $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ в 1 л воды, смешивали с 500 мл 8,5 % аммиака. Образовавшуюся суспензию нагревали до 70 °С, добавляли 40,0 г NaOH и 4,3 г NaNO_3 и поднимали температуру на 10 °С в час до 100 °С, после чего отмывали и высушивали. Частицы феррита железа-кобальта получали согласно [8].

Для получения магнитных жидкостей (МЖ) к осадку магнитных частиц добавляли раствор полимера и обрабатывали на ультразвуковом погружном диспергаторе 22 кГц, 100 Вт до кипения. Использовали следующие составы МЖ, где ДММ – доля магнитного материала, определенная как объемный процент (%_v) осадка после центрифугирования:

- 20,0 г/л альгината, рН 7, ДММ 2,0 – 3,0 %_v (магнетит ≤ 15 нм);
- 30,0 г/л пектина, рН 7, ДММ 3,0 %_v (магнетит ≤ 15 нм);
- 40,0 г/л высокомолекулярной фракции желатина [9], рН 9, ДММ 3,0 %_v (магнетит ≤ 15 нм);
- 1,8–10,0 г/л хитозана 300–400 кДа (Sigma кат. № 419419) в уксусной кислоте 10,0 %_v, ДММ 1,3–2,5 %_v (магнетит ≤ 15 нм);
- 7,5 г/л хитозана 300–400 кДа в уксусной кислоте 10,0 %_v, ДММ 2,5 %_v (магнетит ≤ 15 нм);
- 7,5 г/л хитозана 300–400 кДа в уксусной кислоте 10,0 %_v, ДММ 2,5 %_v (магнетит ≥ 60 нм);
- 7,5 г/л хитозана 300–400 кДа в уксусной кислоте 10,0 %_v, ДММ 2,5 %_v (феррит железа-кобальта 40–60 нм);
- 25,0–100,0 г/л ПВС* в уксусной кислоте 10,0 %_v, ДММ 2 %_v (магнетит ≤ 15 нм).

Для получения ММС путем ионной сшивки альгинатную или пектиновую МЖ эмульгировали пипеткой с механическим приводом или ультразвуковым диспергатором в изооктане (ИО) с добавками Tween 85 1,5 % и Span 85 2,8 % (ИО/Tween1,5 % /Span2,8 %); добавляли равный объем полученной с помощью ультразвукового диспергатора эмульсии (1 объемная часть CaCl_2 1М в 16 объемных частях ИО/Tween1,5 % /Span2,8 %); перемешивали 20 мин при комнатной температуре. Полученные ММС осаждали магнитом и отмывали один раз 96 %-ным этанолом и два раза дистиллированной водой.

Для получения ММС путем ковалентной сшивки желатиновую либо хитозановую, либо поливинилспиртовую МЖ эмульгировали в ИО/Tween1,5 %/Span2,8 %; добавляли равный объем эмульсии, полученной с помощью ультразвукового диспергатора из смеси: одна объемная часть раствора гутаральдегида (ГА) 275 г/л и CaCl_2 1М на 16 объемных частей ИО/Tween1,5 %/Span2,8 %; пипетировали: желатин 30 мин при комнатной температуре; хитозан 30 мин при 70 °С; ПВС 1 ч при 60 °С. Желатиновые ММС отмывали раствором ГА 55 г/л в этаноле 96 %, инкубировали в сшивающем буфере (ГА 183 г/л, NaCl 0,34М, фосфатов натрия $\text{Na}_x\text{H}_{3-x}\text{PO}_4$ 0,13 М, рН 7) 12 ч при комнатной температуре и трижды отмывали фосфатно-солевым буфером (ФСБ) NaCl 0,15М $\text{Na}_x\text{H}_{3-x}\text{PO}_4$ 0,02М, рН 7,4. Хитозановые ММС отмывали раствором ГА 55 г/л в этаноле, инкубировали 30 мин при 70 °С в сшивающем буфере ГА 183 г/л, NaCl 0,34М, $\text{Na}_x\text{H}_{3-x}\text{PO}_4$ 0,13 М, рН 7 и трижды отмывали ФСБ. Поливинилспиртовые ММС отмывали раствором ГА 55 г/л в этаноле (выдержка 2 мин при 60 °С), после чего трижды отмывали дистиллированной водой.

Для получения нейтральной поверхности микросфер их модифицировали согласно [10]: хитозановые микросферы карбоксиметилдекстраном (КМД), а поливинилспиртовые – дополнительным слоем ПВС. Для перевода непрореагировавших альдегидных групп в спиртовые, а оснований Шиффа (продуктов сшивки) – во вторичные амины проводили два цикла обработки микро-

* ГОСТ 10779-97 марка «11-2».

сфер NaBH_4 10 мг/мл в буфере NaCl 0,5М, фосфаты натрия 0,2М, рН 9, 20 мин при 60 °С, в конце первого цикла – обработка УЗ 22 кГц, 50 Вт в течение 15 с.

При получении полисилоксановой оболочки с квантовыми точками микросферы из сшитых ГА хитозана или поливинилового спирта дважды отмывали дистиллированной водой, инкубировали 5 мин в водном растворе аммиака 25 %_m, отмывали этанолом 96 %, ресуспендировали в 100 мкл тетраэтоксисилана (ТЭОС), содержащего 5 г/л квантовых точек CdSe/ZnS [11]. Микропробирку инкубировали 5 мин в ультразвуковой ванне, затем добавляли 1,5 мл этанола 96 %, перемешивали. Микросферы осаждали, трижды отмывали этанолом 96 %, дважды дистиллированной водой и ресуспендировали в ФСБ 0,15М рН 7,4.

Морфологию и флуоресценцию микросфер наблюдали в камере Горяева на оптическом микроскопе Планар Микро МБ (Беларусь) с каналом возбуждения флуоресценции на основе ртутной лампы сверхвысокого давления Osram HBO 100W/2, оснащенной цветной цифровой камерой и микроспектрометром Ocean Optics STS-VIS. Морфологию и элементный состав поверхности микросфер изучали на сканирующем электронном микроскопе (СЭМ) JEOL JSM 6000 (Япония). Для анализа изображений использовали программное обеспечение ImageJ [12]. Статистическую обработку данных проводили в Microsoft Excel.

Результаты и их обсуждение. *Размеры и полидисперсность микросфер:* при пипетировании растворов полимеров получают капли размером порядка 2–20 мкм, при диспергировании ультразвуком – 0,1–0,3 мкм. Минимальный размер капель мало зависит от времени диспергирования, тогда как доля крупных капель уменьшается со временем тем быстрее, чем больше размер капель [13]. Ее уменьшение приводит к уменьшению индекса полидисперсности $\text{ИПД} = (\sigma_d/d)^2$, где d – среднее арифметическое диаметра частиц, σ_d – стандартное отклонение диаметра частиц. Пипетированием с частотой 6–12 Гц в течение 5–10 мин удастся получить эмульсию с узким распределением капель по размеру, $\text{ИПД} < 0,2$. Из такой эмульсии вследствие потерь мелких ММС при отмывках получается суспензия с $\text{ИПД} < 0,1$, в которой >90 % микросфер отличаются по размеру не более чем в 2 раза. Седиментационным фракционированием удастся сократить ИПД до $\leq 0,03$.

Средний объем микросфер в несколько раз меньше среднего объема капель, из которых они формируются. Соотношение объемов микросферы и капли составляет: $9,4 \pm 0,5$ для пектина 30,0 г/л; $12,0 \pm 2,0$ для хитозана 7,5 г/л; $2,4 \pm 0,7$ для ПВС 50,0 г/л. Таким образом, при сшивке гель претерпевает синерезис и концентрация полимера влияет на размер получаемых микросфер по двум механизмам: она определяет вязкость раствора и таким образом размер капель, получаемых при диспергировании; от нее же зависит остаточный объем получаемой из капли гелевой микросферы.

Консистенция микросфер: желатиновые микросферы имели полужидкую консистенцию, что проявлялось в отклонении их формы от сферической при контактах друг с другом и при высушивании (рис. 1, а). Состоящие из неплотного гидрогеля в процессе синтеза они теряли часть магнетита, что приводило к коричневому окрашиванию среды. Хитозановые и поливинилспиртовые микросферы были твердыми; после высушивания хитозановые имели шероховатость порядка десятков нм (рис. 1, б), а поливинилспиртовые были гладкими (рис. 1, в). При высушивании не происходило достоверного изменения их размера. Тем не менее, в пользу обводненности микросфер свидетельствуют два факта. Во-первых, поливинилспиртовые ММС проницаемы для протонов, что выражается в изменении флуоресценции включенных в их состав рН-чувствительных флуорохромов при изменении рН среды [7]. Во-вторых, помещенные после отмывки 96 %-ным этанолом в тетраэтоксисилан микросферы вызывают его гидролиз и формируют полисилоксановую оболочку, визуализуемую взвешенными в ТЭОС квантовыми точками (рис. 1, д).

Устойчивость ионно сшитых микросфер к гидролизу: сшитые Ca^{2+} ММС при многократных отмывках растворами, не содержащими катионов с валентностью > 1 , набухают и растворяются, что сопровождается коричневым окрашиванием среды вышедшими из ММС наночастицами магнетита. Катионы с валентностью > 1 способны вызывать агрегацию объектов, несущих на поверхности анионы, в частности, биологических клеток, поэтому присутствие Ca^{2+} в среде нежелательно в процедурах магнитной сепарации [14]. Был сделан вывод, что ионно сшитые Ca^{2+} -зависимые ММС непригодны для магнитной сепарации и других процедур, основанных на селективном связывании микросфер с объектами.

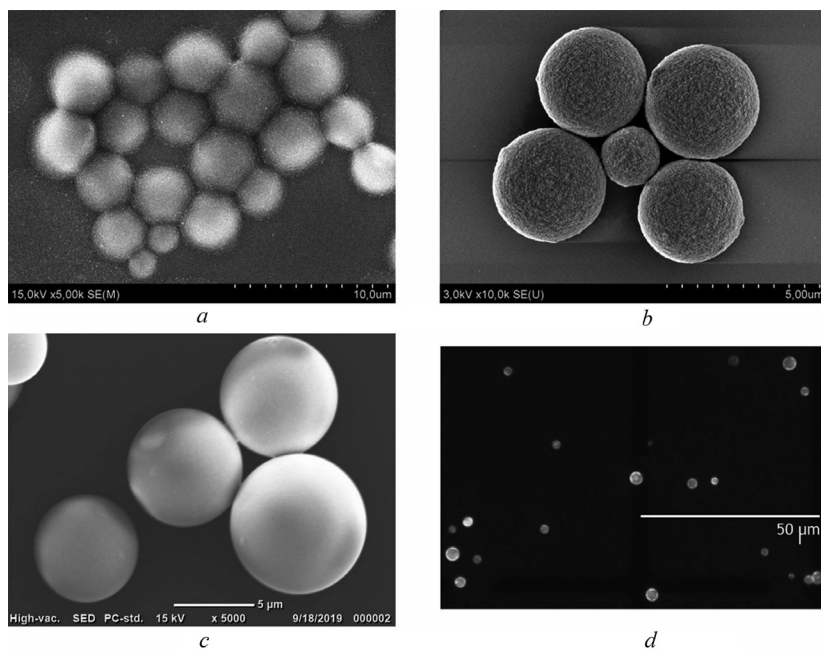


Рис. 1. Магнитные микросферы: *a* – желатиновые, СЭМ; *b* – хитозановые, СЭМ; *c* – поливинилспиртовые, СЭМ; *d* – поливинилспиртовые с полисилоксановой оболочкой, флуоресценция

Fig. 1. Magnetic microspheres: *a* – gelatin, SEM; *b* – chitosan, SEM; *c* – polyvinylalcohol, SEM; *d* – polyvinylalcohol with polysiloxan coating, fluorescence

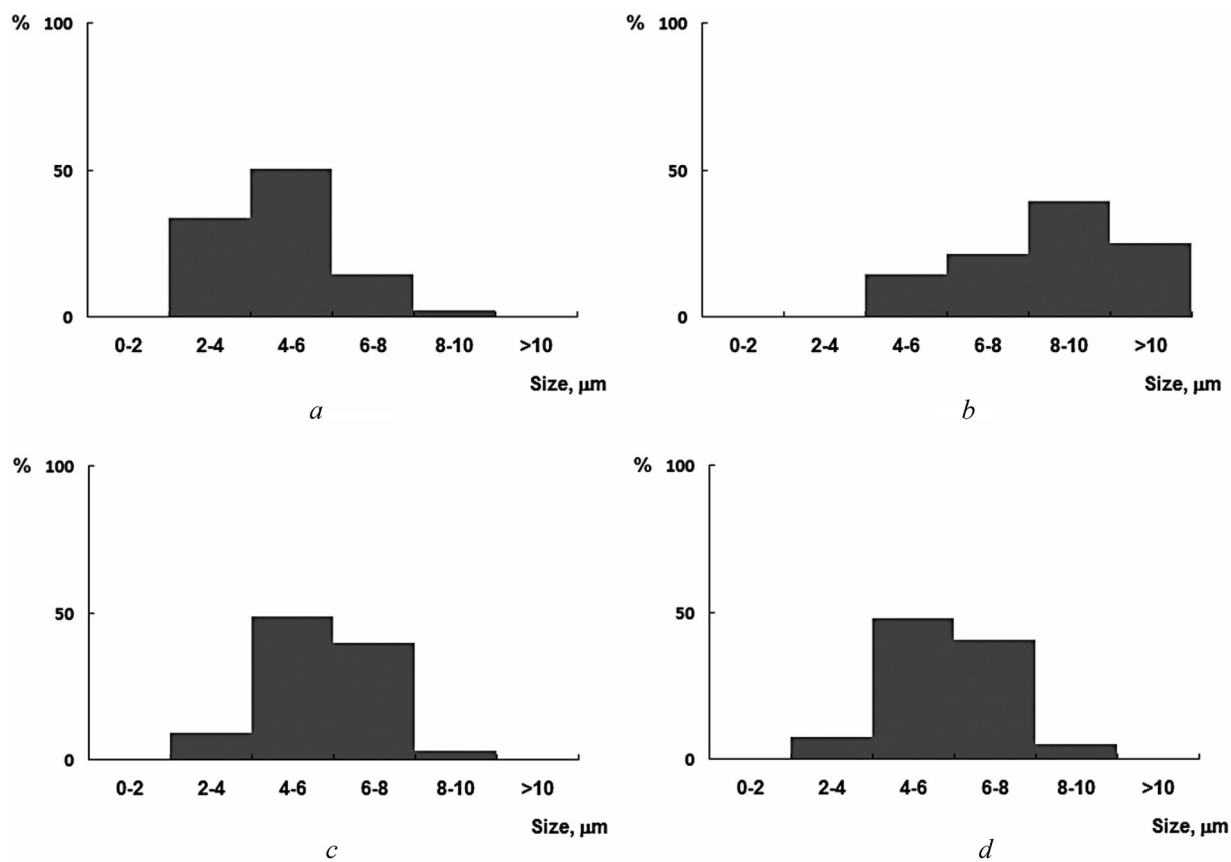


Рис. 2. Распределение по размеру желатиновых ММС, сшитых глутаральдегидом: *a*, *b* – необработанные NaBH_4 ; *c*, *d* – обработанные; *a*, *c* – непосредственно после синтеза; *b* – через 2 мес.; *d* – через 6 мес.

Fig. 2. Size distribution of glutaraldehyde-crosslinked gelatin magnetic microspheres: *a*, *b* – untreated with NaBH_4 ; *c*, *d* – treated with NaBH_4 ; *a*, *c* – immediately after synthesis; *b* – after 2 months, *d* – after 6 months

Устойчивость ковалентно сшитых микросфер к гидролизу: желатиновые микросферы при хранении в ФСБ (рН 7,4) набухали, увеличиваясь в размере на 185 ± 20 % за 2 мес. (рис. 2, *a, b*). Микросферы того же состава, обработанные боргидридом натрия после сшивки, при хранении в ФСБ не набухали (рис. 2, *c, d*), максимальный срок наблюдения 6 мес. Был сделан вывод, что обработка боргидридом необходима не только для инактивации свободных альдегидных групп в составе микросфер, но и для предотвращения гидролиза сшитого продукта. В дальнейшем она применялась ко всем образцам желатиновых, хитозановых и поливинилспиртовых ММС. Подтверждена стабильность хитозановых и поливинилспиртовых ММС в ФСБ (рН 7,4) при комнатной температуре в течение двух лет.

Устойчивость микросфер к воздействию ультразвука: при УЗ-обработке погружным диспергатором 22 кГц, 50 Вт в течение минуты в дистиллированной воде на охлаждающей водяной бане ионно сшитых альгинатных и пектиновых микросфер среди них разрушались $53,0 \pm 10,0$ и $86,0 \pm 8,0$ % соответственно. При УЗ-обработке 22 кГц, 100 Вт в течение минуты разрушались

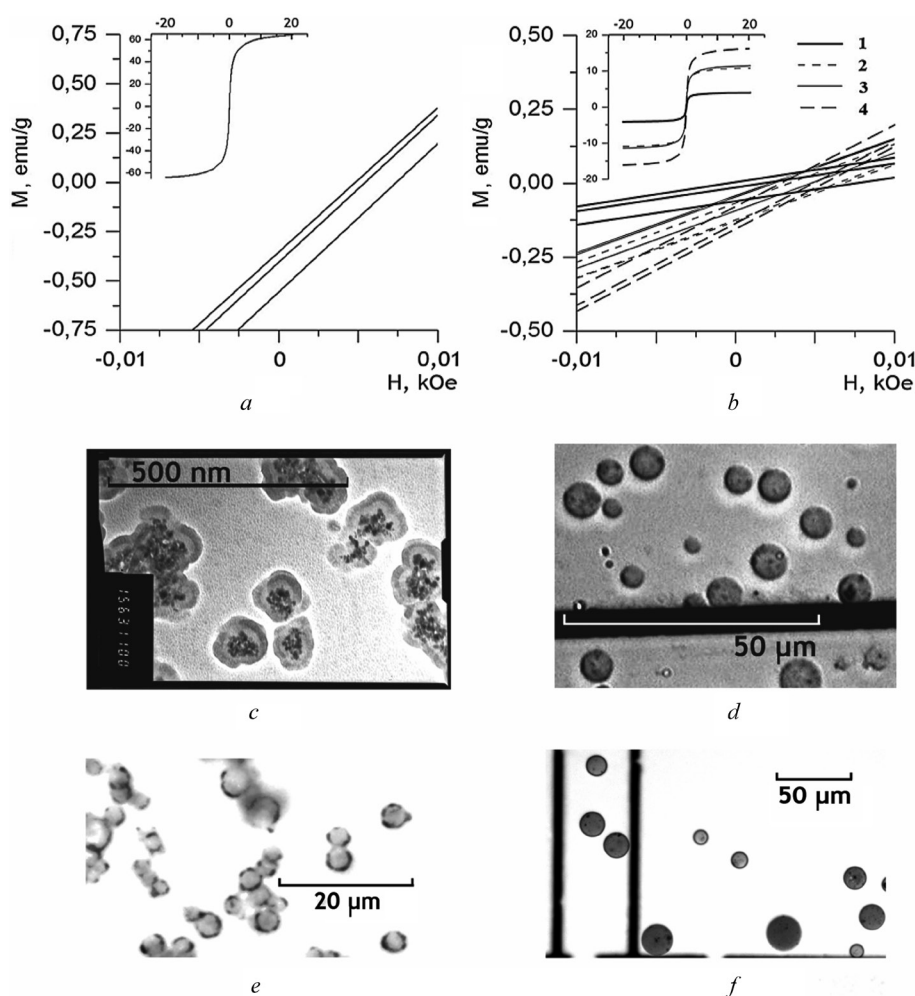


Рис. 3. Магнитные свойства ММС и распределение в них магнетита: *a* – кривые намагничивания частиц магнетита (≤ 15 нм); *b* – кривые намагничивания микросфер магнетит (≤ 15 нм)@хитозан, синтезированных из МЖ с долей магнетита: 1 – 0,7 %_v; 2, 3 – 1,3 %_v (при синтезе образца 3 применялось центрифугирование вместо магнитной декантации с целью уменьшения агрегации магнетита); 4 – 2,5 %_v; *c* – ММС магнетит (<math>< 20\text{ нм}</math>)@альгинат, полученные УЗ-диспергированием; *d* – ММС магнетит (<math>< 20\text{ нм}</math>)@желатин; *e* – ММС магнетит (<math>< 20\text{ нм}</math>)@хитозан; *f* – ММС магнетит (<math>< 20\text{ нм}</math>)@ПВС. Символом @ обозначено включение материала в оболочку

Fig. 3. Magnetic properties of microspheres and magnetite distribution: *a* – magnetization curves for magnetite particles (≤ 15 nm); *b* – magnetization curves for magnetite (≤ 20 nm)@chitosan microspheres acquired from magnetic fluid with content of magnetite: 1 – 0.7 %_v; 2, 3 – 1.3 %_v (sample 3 was synthesized using centrifugation instead of magnetic decantation); 4 – 2.5 %_v; *c* – magnetite (<math>< 20\text{ nm}</math>)@alginate microspheres made from sonicated emulsion; *d* – magnetite (<math>< 2\text{ nm}</math>)@gelatin; *e* – magnetite (<math>< 20\text{ nm}</math>)@chitosan; *f* – magnetite (<math>< 20\text{ nm}</math>)@PVA. Here @ stands for encapsulation

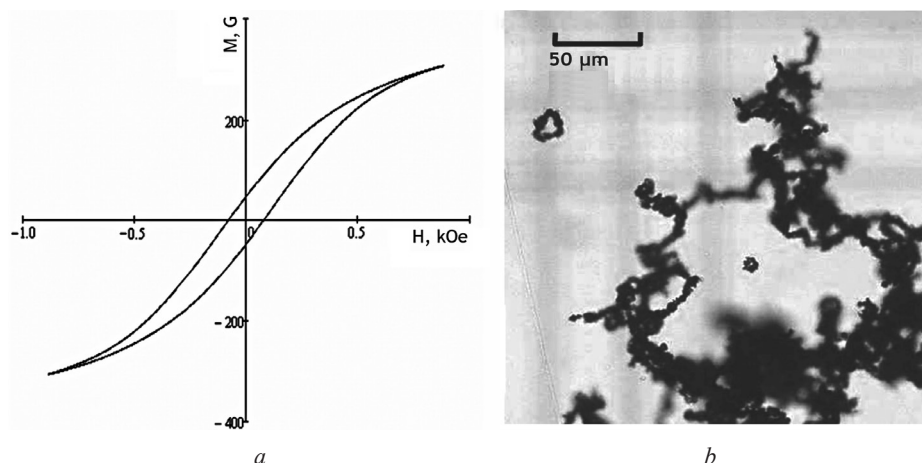


Рис. 4. Кривые намагничивания частиц магнетита >60 нм (а) и изображение ММС магнетит(>60 нм)@хитозан (b)
 Fig. 4. Magnetization curves of magnetite particles >60 nm (a) and the image of magnetite(>60 nm)@chitosan MMS (b)

<5,0 % поливинилспиртовых и хитозановых ММС, тогда как желатиновые не разрушались. При УЗ-обработке 22 кГц, 50 Вт в течение минуты практически не наблюдалось разрушения поливинилспиртовых и хитозановых ММС, что позволило ввести в методики синтеза и модификации микросфер стадии УЗ-обработки 22 кГц, 50 Вт в течение 30 с.

Распределение магнитных наночастиц в микросферах и магнитные свойства ММС. Частицы магнетита, синтезированные по методике преципитации аммиаком [7], имеющие размер 5,0–15,0 нм, суперпарамагнитны (рис. 3, а). В составе микросфер, по крайней мере, часть их находится в агрегатах (рис. 3, с–f). В хитозановых микросферах, в отличие от других, агрегаты магнитных частиц расположены преимущественно на поверхности (рис. 4, е), что согласуется с данными элементного анализа. Элементный состав поверхности высушенных хитозановых ММС (%): С 87,0 ± 1,3, N 3,8 ± 0,4, O 6,9 ± 0,7, Fe 2,3 ± 0,1; поливинилспиртовых: С 92,6 ± 3,7, N 1,6 ± 0,4, O 6,1 ± 2,7, Fe 0,4 ± 0,1. Несмотря на агрегацию частиц магнетита, форма кривых намагниченности ММС (рис. 3, b) повторяет форму кривой магнетита, при этом максимальные значения намагниченности увеличиваются с ростом содержания магнетита. При комнатной температуре для микросфер характерна высокая (до 17 эме/г) максимальная намагниченность и в то же время незначительная коэрцитивная сила, т. е. они суперпарамагнитны. Микросферы, синтезированные из МЖ, в которых доля магнетита, определенная по объему осадка, превышает 2 %_v, быстро агрегируют во внешнем магнитном поле. Поливинилспиртовые ММС из МЖ с долей магнетита 2,5 %_v не удается получить из-за необратимой агрегации на стадии сшивки. Хитозановые ММС, синтезированные из МЖ с долей магнетита 2,5 %_v, выпадают в осадок из суспензии в течение <5 мин. Это меньше, чем время инкубации клеток с микросферами в процедурах иммуномагнитной сепарации. Быстрой агрегации и седиментации удастся избежать, ограничив долю магнетита до 1,3 %_v.

ММС, синтезированные из МЖ, содержащих ферромагнитный магнетит (размер частиц >60,0 нм) или феррит железа-кобальта, проявляют ферромагнитные свойства. В частности, они обладают остаточной намагниченностью и поэтому в течение нескольких секунд после перемешивания агрегируют в кольцеподобные структуры (рис. 4).

Заключение. Эмульсионным методом из растворов гидрофильных полимеров, содержащих магнитные наночастицы, получены магнитные микросферы. Ковалентно сшитые глутаральдегидом желатиновые, хитозановые и поливинилспиртовые микросферы не гидролизуются в среде рН 7,4 при комнатной температуре и устойчивы к ультразвуку. Магнитные свойства микросфер определяются свойствами входящего в их состав магнитного материала: микросферы, содержащие суперпарамагнитные частицы, не проявляют остаточной намагниченности, несмотря на агрегацию частиц в составе микросфер. Хитозановые и поливинилспиртовые микросферы после модификации использовали для магнитной сепарации клеток и микроорганизмов.

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ

1. Plouffe, B. D. Fundamentals and application of magnetic particles in cell isolation and enrichment: a review / B. D. Plouffe, S. K. Murthy, L. H. Lewis // *Rep. Prog. Phys.* – 2015. – Vol. 78, N 1. – P. 016601. <https://doi.org/10.1088/0034-4885/78/1/016601>
2. Chen, J. Effect of immunomagnetic bead size on recovery of foodborne pathogenic bacteria / J. Chen, B. Park // *Int. J. Food Microbiol.* – 2018. – Vol. 267. – P. 1–8. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2017.11.022>
3. Salmaso, S. Stealth properties to improve therapeutic efficacy of drug nanocarriers / S. Salmaso, P. Caliceti // *J. Drug Deliv.* – 2013. – Vol. 2013. – Article ID 374252. <https://doi.org/10.1155/2013/374252>
4. Synthesis, Characterization, and Application of Composite Alginate Microspheres with Magnetic and Fluorescent Functionalities / J. Liu [et al.] // *Journal of Applied Polymer Science.* – 2009. – Vol. 113, N 6. – P. 4042–4051. <https://doi.org/10.1002/app.30487>
5. Campos, E. An improved method for preparing glutaraldehyde cross-linked chitosan–poly(vinyl alcohol) microparticles / E. Campos, P. Coimbra, M. H. Gil // *Polym. Bull.* – 2013. – Vol. 70. – P. 549–561. <https://doi.org/10.1007/s00289-012-0853-4>
6. Способ получения биополимерных микросфер: пат. ВУ 21009 / К. В. Лазнев, Г. К. Жавнерко, А. А. Квасюк, В. Е. Агабеков. – Опубл. 30.04.2017.
7. Поливинилспиртовые магнитные микросферы, содержащие 2-аминопиримидин-бис-этен-бис-диалкилфениламины в качестве флуоресцентных индикаторов pH / К. В. Лазнев [и др.] // Докл. Нац. акад. наук Беларуси. – 2018. – Т. 62, № 5. – С. 563–568. <https://doi.org/10.29235/1561-8323-2018-62-5-563-568>
8. Iron-cobalt ferrite nanoparticles – biocompatibility and distribution after intravenous administration to rat / K. Laznev [et al.] // *IEEE Transactions on Magnetics.* – 2013. – Vol. 49, N 1. – P. 425–428. <https://doi.org/10.1109/TMAG.2012.2222020>
9. Gelatin nanoparticles by two-step desolvation-a new preparation method, surface modifications and cell uptake / C. J. Coester [et al.] // *J. Microencapsul.* – 2000. – Vol. 17, N 2. – P. 187–193. <https://doi.org/10.1080/026520400288427>
10. Лазнев, К. В. Связывание гелевых магнитных микросфер с мононуклеарными клетками крови / К. В. Лазнев, В. Е. Агабеков // Докл. Нац. акад. наук Беларуси. – 2016. – Т. 60, № 2. – С. 67–72.
11. Hydrophobic CdSe/ZnS Quantum Dots Kit [Electronic resource]. – Mode of access: <http://www.plasmachem.com/shop/en/cdse-zns-quantum-dots-kit/311-pl-qd-o-560-5mg.html>. – Date of access: 10.01.2020.
12. ImageJ: Image processing and analysis in Java [Electronic resource]. – Mode of access: <https://imagej.nih.gov/ij>. – Date of access: 04.10.2019.
13. Кутузов, М. Д. Влияние параметров эмульгирования на размер капель и полидисперсность эмульсии раствора высокомолекулярного хитозана / М. Д. Кутузов, К. В. Лазнев, М. Ю. Рощина // Материалы XIII Междунар. науч. конф. мол. ученых «Молодежь в науке–2016». – Минск, 2016. – Т. 2. – С. 388–393.
14. Cell separation: terminology and practical considerations / M. J. Tomlinson [et al.] // *J. Tissue Eng.* – 2013. – Vol. 4(1). – P. 1–14. <https://doi.org/10.1177/2041731412472690>

References

1. Plouffe B. D., Murthy S. K., Lewis L. H. Fundamentals and application of magnetic particles in cell isolation and enrichment: a review. *Reports on Progress in Physics*, 2015, vol. 78, no. 1, pp. 016601. <https://doi.org/10.1088/0034-4885/78/1/016601>
2. Chen J., Park B. Effect of immunomagnetic bead size on recovery of foodborne pathogenic bacteria. *International Journal of Food Microbiology*, 2018, vol. 267, pp. 1–8. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2017.11.022>
3. Salmaso S., Caliceti P. Stealth properties to improve therapeutic efficacy of drug nanocarriers. *Journal of Drug Delivery*, 2013, vol. 2013, article id 374252. <https://doi.org/10.1155/2013/374252>
4. Liu J., Zhang Y., Yang T., Ge Y., Zhang S., Chen Z., Ning G. Synthesis, Characterization, and Application of Composite Alginate Microspheres with Magnetic and Fluorescent Functionalities. *Journal of Applied Polymer Science*, 2009, vol. 113, no 6, pp. 4042–4051. <https://doi.org/10.1002/app.30487>
5. Campos E., Coimbra P., Gil M. H. An improved method for preparing glutaraldehyde cross-linked chitosan–poly(vinyl alcohol) microparticles. *Polymer Bulletin*, 2013, vol. 70, pp. 549–561. <https://doi.org/10.1007/s00289-012-0853-4>
6. Laznev K. V., Zhavnerko G. K., Kvasuk A. A., Agabekov V. E. *The way to acquire biopolymer microspheres*. Patent no 21009 Republik of Belarus, 2017 (in Russian).
7. Laznev K. V., Ignatovich Zh.V., Kukhta I. N., Agabekov V. E. Polyvinyl alcohol magnetic microspheres containing 2-aminopyrimidin-bis(ethene)-bis(dialkylphenylamine) compounds as fluorescent pH indicators. *Doklady Natsional'noi akademii nauk Belarusi = Doklady of the National Academy of Sciences of Belarus*, 2018, vol. 62, no. 5, pp. 563–568 (in Russian). <https://doi.org/10.29235/1561-8323-2018-62-5-563-568>
8. Laznev K., Tzerkovsky D., Kekalo K., Zhavnerko G., Agabekov V. Iron-cobalt ferrite nanoparticles – biocompatibility and distribution after intravenous administration to rat. *IEEE Transactions on Magnetics*, 2013, vol. 49, no. 1, pp. 425–428. <https://doi.org/10.1109/TMAG.2012.2222020>
9. Coester C. J., Langer K., Van Briesen H., Kreuter J. Gelatin nanoparticles by two-step desolvation-a new preparation method, surface modifications and cell uptake. *Journal of Microencapsulation*, 2000, vol. 17, no 2, pp. 187–193. <https://doi.org/10.1080/026520400288427>
10. Laznev K. V., Agabekov V. E. Binding of magnetic gel microspheres to blood mononuclear cells. *Doklady Natsional'noi akademii nauk Belarusi = Doklady of the National Academy of Sciences of Belarus*, 2016, vol. 60, no. 2, pp. 67–72 (in Russian).
11. *Hydrophobic CdSe/ZnS Quantum Dots Kit*. Available at: <http://www.plasmachem.com/shop/en/cdse-zns-quantum-dots-kit/311-pl-qd-o-560-5mg.html> (accessed 10 January 2020).

12. *ImageJ: Image processing and analysis in Java*. Available at: <https://imagej.nih.gov/ij/> (accessed 25 February 2020).

13. Kutuzov M. D., Laznev K. V., Roschina M. U. Influence of emulsification parameters on droplet size and polydispersity of emulsion of high molecular weight chitosan solution. *Materialy XIII mezhdunarodnoy konferencii molodykh uchyonykh "Molodyozh v nauke-2016"* [Proc. 13th. Int. Symp. of Young Scientists "Youth in Science"]. Minsk, 2016, vol. 2, pp. 388–393 (in Russian).

14. Tomlinson M. J., Tomlinson S., Yang X. B., Kirkham J. Cell separation: terminology and practical considerations. *Journal of Tissue Engineering*, 2013, vol. 4, pp. 204173141247269. <https://doi.org/10.1177/2041731412472690>

Информация об авторах

Лазнев Константин Владимирович – науч. сотрудник. Институт химии новых материалов, Национальная академия наук Беларуси (ул. Ф. Скорины, 36, 220141, Минск, Республика Беларусь). E-mail: kvlaznev@mail.ru

Шумская Елена Евгеньевна – науч. сотрудник. Институт химии новых материалов, Национальная академия наук Беларуси (ул. Ф. Скорины, 36, 220141, Минск, Республика Беларусь). E-mail: lunka7@mail.ru

Агабеков Владимир Енокович – академик, д-р хим. наук, профессор, директор Института химии новых материалов, Национальная академия наук Беларуси (ул. Ф. Скорины, 36, 220141, Минск, Республика Беларусь). E-mail: ichnm@ichnm.basnet.by

Information about the authors

Konstantin V. Laznev – Researcher. Institute of Chemistry of New Materials, National Academy of Sciences of Belarus (36, F. Skaryna Str., 220141, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: kvlaznev@mail.ru

Yelena Y. Shumskaya – Researcher. Institute of Chemistry of New Materials of the National Academy of Sciences of Belarus (36, F. Skaryna Str., 220141, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: lunka7@mail.ru

Vladimir Y. Agabekov – Academician, D. Sc. (Chemistry), Professor, Director of the Institute of Chemistry of New Materials of the National Academy of Sciences of Belarus (36, F. Skaryna Str., 220141, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: ichnm@ichnm.basnet.by