

УДК 543.544-414

© О. А. Кельцьева, А. С. Гладчук, П. С. Дубакова, Н. В. Краснов, Е. П. Подольская

МЕТАЛЛ-АФФИННЫЙ СОРБЕНТ НА ОСНОВЕ ОКСИДА КОБАЛЬТА: ИССЛЕДОВАНИЕ ПОВЕРХНОСТНЫХ И СОРБЦИОННЫХ СВОЙСТВ

В работе проведено исследование сорбционных свойств частиц оксида кобальта(III), полученных в ходе самораспространяющегося микроволнового синтеза. Значение удельной поверхности частиц составило $26 \text{ м}^2/\text{г}$, объем пор $0.056 \text{ см}^3/\text{г}$. На примере выделения лекарственного препарата диклофенак из воды показана возможность использования наночастиц в качестве металл-аффинного сорбента. Сорбционная емкость по диклофенаку составила $2.1 \pm 0.1 \text{ мкг/мг}$, а применение в качестве элюента смеси аммиак—ацетонитрил позволило достигнуть степени экстракции до 98 %.

Кл. сл.: металл-аффинная хроматография, сорбенты, оксид кобальта (III), диклофенак

ВВЕДЕНИЕ

Лекарственные соединения, обнаруживаемые в воде поверхностных и подземных источников, признаны современной экологической проблемой и привлекают внимание крупных международных организаций, таких как ЕС и ВОЗ [1, 2]. В данный момент в мире установлено наличие более 600 лекарственных препаратов и их метаболитов в грунтовых и поверхностных водах, а одним из наиболее часто обнаруживаемых препаратов по всему миру является диклофенак (DCF) [3, 4]. В настоящее время диклофенак выбран в качестве маркера антропогенного загрязнения окружающей среды, а также включен в главный список приоритетных веществ ЕС, подлежащих мониторингу [5]. Для оценки рисков, связанных с присутствием фармацевтических препаратов в окружающей среде, необходимы эффективные методы мониторинга, а также новые аналитические подходы, позволяющие определять лекарственные препараты и их метаболиты в водных средах.

Анализ фармацевтических препаратов из водных сред требует чувствительного метода детекции и тщательной подготовки образца к анализу, т. к. образец представляет собой сложную матрицу, а аналит, как правило, присутствует в низких концентрациях. Распространенным способом подготовки таких образцов является твердофазная экстракция (ТФЭ) на патронах или картриджах. Однако метод ТФЭ имеет ряд недостатков: не является достаточно специфичным, а на сорбентах для ТФЭ может происходить значительная потеря образца. К высокоспецифичным и высокоселективным методам выделения органических и биологических соединений из биологических об-

разцов и объектов окружающей среды относится в первую очередь металл-аффинная хроматография (МАХ). Метод основан на различном сродстве гетероатомов органических соединений к ионам металлов [6, 7]. Данный метод позволяет селективно экстрагировать определенные классы веществ, тем самым значительно сокращая компонентный состав образцов, что приводит к повышению эффективности последующего анализа. Структуры сорбентов, применяющихся в МАХ, достаточно разнообразны. Наиболее распространенными являются хелатирующие мембраны с иммобилизованными ионами металлов [8–11] и наноразмерные оксиды металлов [12–14]. В работе [15] было показано, что частицы с введенными ионами никеля могут быть использованы как металл-аффинный сорбент для извлечения диклофенака. Согласно принципу жестких и мягких кислот и оснований Пирсона (ЖМКО) координировать хлор в составе молекулы диклофенака могут также атомы кобальта, а значит, структуры на основе кобальта могут быть использованы в качестве металл-аффинных сорбентов [16].

Таким образом, целью данной работы было получение наночастиц оксида кобальта, изучение их физико-химических свойств и демонстрация применимости полученного материала для извлечения диклофенака из водных растворов методом МАХ.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Характеризация материала

Синтез частиц производился в соответствии с методикой, описанной в работе [17].

Для определения фазового состава исследуемых частиц был выполнен рентгенофазовый анализ с помощью дифрактометра Rigaku "MiniFlexII" (Cu K α -излучение). Идентификация дифракционных максимумов на рентгенограмме осуществлялась с использованием данных картотеки PowderDiffractionFile (ICDD-PDF).

Измерение удельной поверхности оксида проводили с использованием порометра ASAP 2020N, где исследовались изотермы адсорбции-десорбции азота при температуре 77 К. Удельная поверхность образца была рассчитана методом Брунауэра—Эммета—Теллера (БЭТ) [18]. Распределение пор по размерам и их объем были рассчитаны по методу Баррета—Джойнера—Халенды (БДХ) [19].

Форму и размер частиц определяли по микрофотографии, полученной с помощью сканирующего электронного микроскопа Hitachi S-3400N. Элементный состав образца определялся методом рентгеновской энерго-дисперсионной спектроскопии (EDX) с помощью аналитической приставки OxfordInstruments X-Max 20, входящей в состав прибора Hitachi S-3400N.

Определение сорбционной емкости по диклофенаку, исследование изотермы адсорбции диклофенака

Спиновую колонку (диаметр пор — 0.22 мкм) с сорбентом (масса навески — 5 мг) помещали в микропробирку, добавляли в колонку 100 мкл дистиллированной воды, инкубировали при встряхивании в течение 10 мин при комнатной температуре, микропробирку центрифугировали (здесь и далее центрифугирование проводили в течение 10 мин с угловой скоростью 13400 об/мин), супернатант отбрасывали, колонку с сорбентом представляли в чистую микропробирку. Далее в колонку с сорбентом добавляли раствор, содержащий 15 мкг диклофенака, и инкубировали при встряхивании 30 мин при температуре 25 °С. Для исследования изотермы адсорбции были использованы растворы, содержащие 5.0, 15.0, 20.0, 25.0, 30.0, 38.0, 45.0, 55.0, 65.0, 80.0, 90.0, 95.0, 100.0 мкг диклофенака в 100 мкл воды. После этого микропробирку центрифугировали, супернатант (проскок) сохраняли для последующего анализа. Затем к сорбенту добавляли 100 мкл дистиллированной воды, выдерживали 1 мин при встряхивании, микропробирку центрифугировали, супернатант (промывка) сохраняли для дальнейшего анализа.

Исследование десорбции диклофенака

При подборе элюентов были взяты колонки с сорбентом, использованные в эксперименте по определению сорбционной емкости. Колонки обрабатывали водными растворами объемом

100 мкл: 5 % аммиака, 0.5 % пиперидина, 100 % ацетонитрила, 5 % раствора аммиака с ацетонитрилом (30 : 70, v/v). Микропробирки центрифугировали, супернатант (элюат) отбирали для анализа.

Для исследования зависимости количества десорбированного диклофенака от нагрузки использовали колонки с сорбентом после исследования изотермы адсорбции. Колонки дважды обрабатывали водным раствором 5 % аммиака с ацетонитрилом (30 : 70, v/v), время инкубации составляло 15 мин. Затем спиновые колонки центрифугировали, отделяли супернатант. Перед ВЭЖХ анализом элюаты помещали в центрифужный испаритель Eppendorf на 60 мин до полного упаривания раствора, затем перерастворяли в 100 мкл дистиллированной воды.

Количественный анализ методом ВЭЖХ

Количественный анализ содержания диклофенака в отобранных фракциях проводили методом ВЭЖХ с использованием хроматографа "Милихром А-02". Элюент А: H₂O + 0.1 % трифторуксусная кислота (ТФУ); элюент В: MeCN + 0.1 % ТФУ. Градиент: 200 мкл — 5 % В, 600 мкл — от 5 % В до 100 % В, 200 мкл — 100 % В, 200 мкл — от 100 % В до 5 % В. Скорость потока подвижной фазы — 200 мкл/мин. Объем вводимой пробы составлял 10 мкл. Детектирование осуществляли при длине волны 276 нм. Градуировочная зависимость площади хроматографического пика диклофенака от его содержания в пробе (мкг) описывалась линейным уравнением $y = 28.831x + 0.085$; коэффициент корреляции $R^2 = 0.99$.

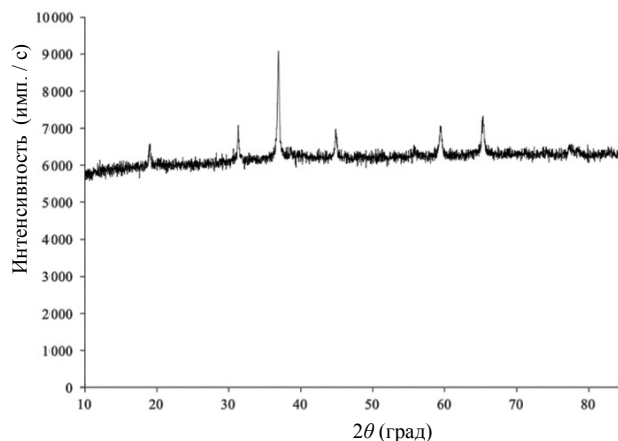


Рис. 1. Дифрактограмма синтезированного оксида кобальта

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Для определения фазового состава полученного образца был проведен рентгенофазовый анализ. Полученная рентгенограмма представлена на рис. 1. По результатам сравнения рентгенограммы с данными базы PDF можно сделать вывод о том, что исследуемое вещество представляет собой оксид кобальта (III). По результатам анализа элементного состава частиц методом EDX, расчетные величины массового содержания кислорода и кобальта в образце составили 26.6 % и 73.4 % соответственно.

При описании наноструктур в первую очередь определяют степень дисперсности кристаллов, что также важно при описании свойств материала как сорбента. Характеристикой степени дисперсности является удельная поверхность. Чем более развита нанопористая структура поверхности сорбента, тем большее количество вещества может на нее адсорбироваться. Изотерма адсорбции азота частицами оксида кобальта (III) представлена на рис. 2. Удельная поверхность материала, рассчитанная в интервале относительных давлений $0.0 \leq P/P_0 \leq 1.0$ с использованием БЭТ-уравнения для полимолекулярной адсорбции пара, составила $26 \text{ м}^2/\text{г}$. Наличие петли гистерезиса и перегиба при низких значениях относительного давления позволяет отнести полученную изотерму адсорбции к IV типу по классификации ИЮПАК, которая характерна для твердых мезопористых адсорбентов. Объем пор был вычислен при относительном давлении $P/P_0 \rightarrow 1$ и составил $0.056 \text{ см}^3/\text{г}$.

Методом сканирующей электронной микроскопии была получена микрофотография образца

оксида кобальта для определения формы частиц и их размеров. Полученное изображение представлено на рис. 3. По данным сканирующей электронной микроскопии можно сделать вывод, что полученные частицы являются сферическими агрегатами диаметром около 5 мкм, состоящими из частиц меньших размеров.

Наряду с величиной удельной поверхности одной из ключевых характеристик сорбента является его сорбционная емкость — максимальное количество вещества, которое способен поглотить сорбент на единицу своей массы:

$$A_p = \frac{(C_0 - C) \cdot V}{m},$$

где A_p — сорбционная емкость в равновесных условиях (мкг/мг), C_0 и C — начальная и равновесная концентрация адсорбтива (мкг/мл), V — объем раствора адсорбтива (мл), m — масса сорбента (мг).

Для исследования сорбционных свойств материала в качестве модельного вещества был выбран DCF. В состав молекулы DCF входят атомы хлора (рис. 4), что в соответствии с принципом Пирсона дает возможность ожидать специфического взаимодействия препарата с сорбентом, содержащим кобальт. В классической МАХ сорбция проводится при значении $\text{pH}=3$. Однако диклофенак обладает малой растворимостью в растворах с низким значением pH . В соответствии с этим условием сорбцию DCF на металл-оксидном сорбенте (МОС) проводили в дистиллированной воде при $\text{pH} = 7$.

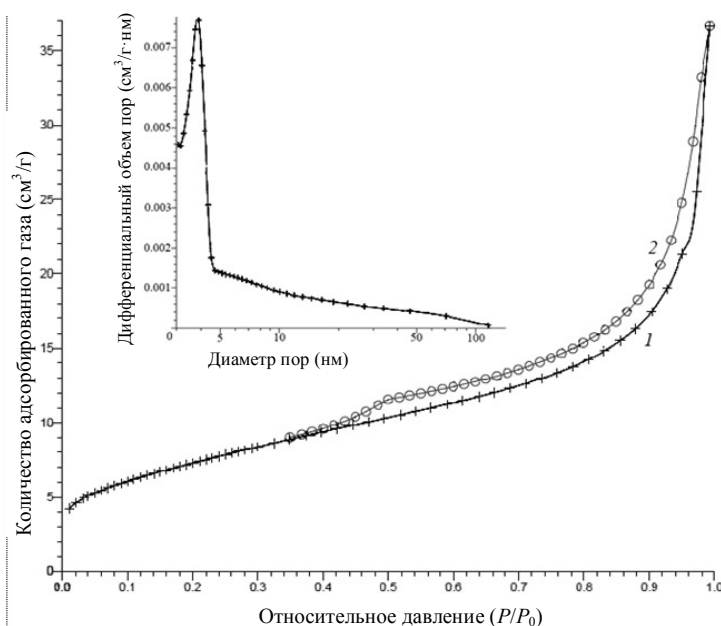


Рис. 2. Изотерма адсорбции азота при 77 К на синтезированном оксиде кобальта.

1 — адсорбционная ветвь, 2 — десорбционная ветвь. На вставке представлено распределение пор по размерам

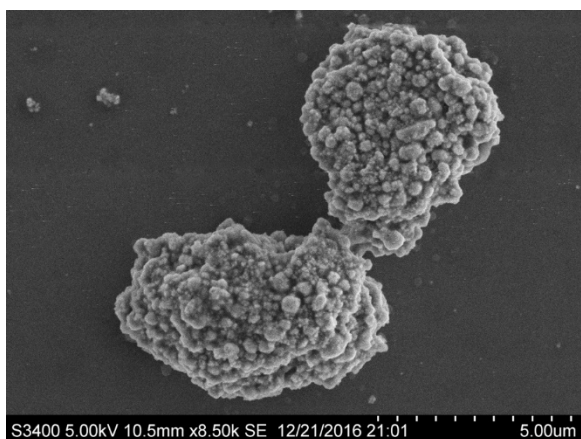


Рис. 3. Микрофотография образца оксида кобальта. Увеличение в 8500 раз

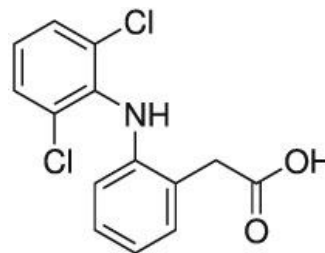


Рис. 4. Структурная формула диклофенака

При оценке количества вещества, нагружаемого на МОС, опирались на ранее проведенное исследование металл-аффинного сорбента, содержащего Ni, где было показано, что сорбционная емкость таких частиц по DCF составляет 0.60 ± 0.06 мкг/мг [15]. Используя сведения о том, что в соответствии с принципом ЖМКО кобальт является более жесткой кислотой, чем никель, предположили, что полученный оксид будет обладать большей сорбционной емкостью по DCF. Исходя из этого, к сорбенту добавляли заведомо избыточное количество DCF. После проведения сорбции и отделения проскока с колонки, сорбент промывали дистиллированной водой для исключения возможности неспецифического связывания. Количество DCF, определенное в проскоке и промывке, вычитали из количества вещества, введенного на колонку. Таким образом определяли количество сорбированного аналита. Сорбционная емкость МОС по DCF, определенная экспериментально, составила 2.1 ± 0.1 мкг/мг.

Изотерма сорбции — зависимость количества адсорбированного вещества на единицу массы сорбента от концентрации адсорбтива при постоянной температуре. Получение изотермы сорбции необходимо для определения параметров сорбента, например таких, как максимально возможная емкость сорбента и механизм сорбции. Процесс сорбции принято характеризовать зависимостью количества сорбированного вещества (A) от его концентрации в растворе (C).

В зависимости от формы изотермы подразделяют на классы. В нашем случае полученная изотерма (рис. 5) может быть отнесена к классу Ленгмюра, являющемуся наиболее общим. Изотерма этого класса имеет три характерных участка, соответствующих степени заполнения сорбента веществом. При низких

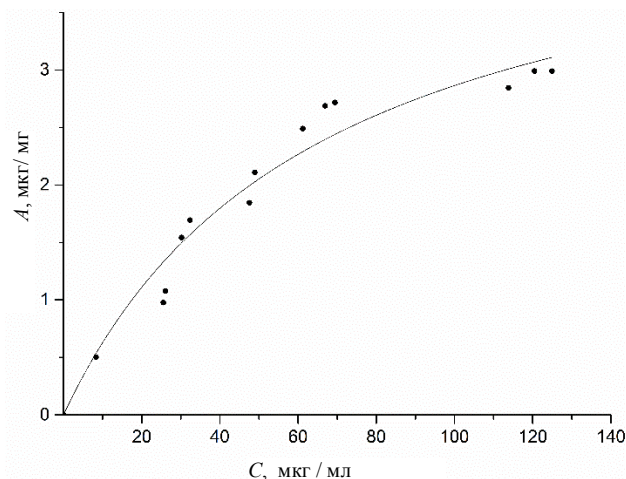


Рис. 5. Изотерма адсорбции диклофенака на МОС. C — концентрация адсорбтива в растворе, мкг/мл; A — адсорбция, мкг/мг

концентрациях рост кривой происходит почти линейно, т. е. величина адсорбции пропорциональна концентрации; в области средних концентраций — промежуточный участок, и далее изотерма выходит на плато — почти горизонтальный участок графика, что говорит о формировании монослоя из молекул аналита на поверхности сорбента. Форма изотермы и значение A_0 , которое соответствует плато на графике зависимости $A = f(C)$, согласуется со значениями, полученными при определении нагрузки на сорбент.

С точки зрения оценки эффективности материала, как сорбента, наряду с сорбционной емкостью, важной характеристикой является степень десорбции вещества с сорбента. В качестве

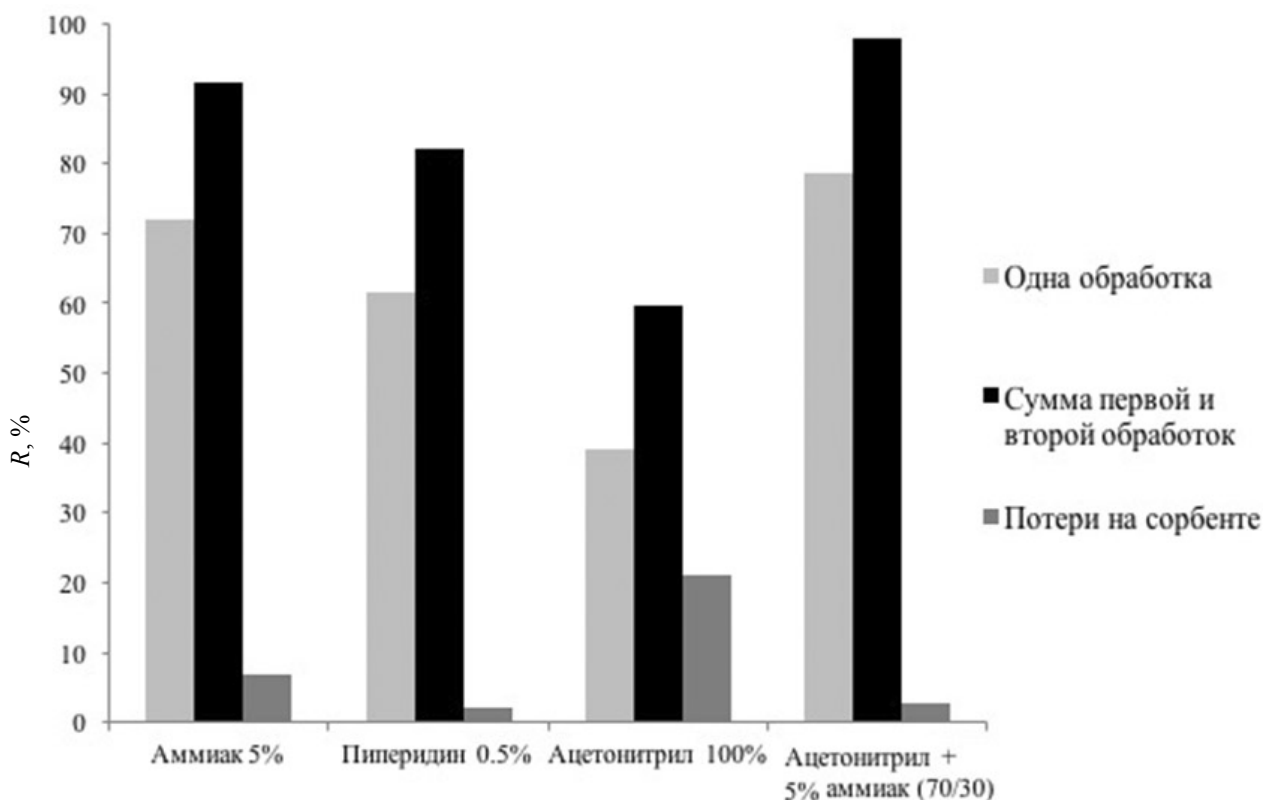


Рис. 6. Подбор элюентов

элюентов в металл-аффинной хроматографии чаще всего используют водные растворы веществ, имеющих в своем составе гетероатомы — доноры электронной плотности. Поэтому для исследования процесса десорбции DCF с исследуемого МОС были выбраны водные растворы соединений, содержащих азот: 5 % аммиак; 0.5 % пиперидин; 100 % ацетонитрил. Как видно из результатов, представленных на рис. 6, из трех элюентов только раствор аммиака позволяет элюировать более 70 % анализата, что, однако, не является удовлетворительным значением. Поэтому для увеличения степени десорбции анализата колонки с сорбентом обрабатывали растворителем дважды. Как видно из диаграммы, вторая обработка позволила увеличить процент элюированного DCF до 92 % при использовании в качестве элюента раствор аммиака. При этом потери на сорбенте в случае элюирования растворами аммиака и пиперидина составили не более 7 %, а в случае использования ацетонитрила потери достигают 21 %.

Использование в качестве элюента 5 % водного раствора аммиака, который имеет значение $pH = 11$, согласуется с теорией метода МАХ. Однако растворимость диклофенака в органических

растворителях больше, чем в воде. В связи с этим было дополнительно проведено исследование десорбции смесью 5 % водного раствора аммиака и ацетонитрила в объемном соотношении 30 : 70 ($pH = 10$). В ходе обработки сорбента данной смесью элюентов была получена наилучшая степень извлечения DCF с сорбента. Таким образом, при десорбции в условиях классической МАХ с применением 5 % водного раствора аммиака с наночастиц оксида кобальта элюировали до 92 % диклофенака в две стадии, в то время как смесь аммиака с ацетонитрилом позволяет элюировать до 98 % диклофенака. При этом потери на сорбенте составили не более 3 %.

Была построена зависимость количества сорбированного DCF от количества элюированного. В качестве элюента использовали смесь 5 % водного раствора аммиака и ацетонитрила (30 : 70, v/v). Линейный вид зависимости $A = 0.0764 \cdot C - 1.3476$ ($R^2 = 0.95$, A — количество десорбированного DCF на 1 мг сорбента (мкг/мг), C — количество сорбированного DCF в пересчете на 1 мл раствора (мкг/мл), данные не представлены) позволяет сделать вывод о том, что предлагаемый метод десорбции DCF с наночастиц оксида кобальта (III) показывает

воспроизводимые результаты независимо от количества вещества на сорбенте. В то же время степень экстракции, достигающая величины 98 %, и величина потерь на сорбенте, которая составила не более 3 %, свидетельствуют об эффективности предложенного элюента.

ВЫВОДЫ

Исследованы условия сорбции DCF на наночастицах оксида кобальта (III) и построена изотерма сорбции. Показано, что сорбция DCF проходит при нейтральных значениях pH. Сорбционная емкость синтезированных частиц по DCF составила 2.1 ± 0.1 мкг/мг. Были исследованы условия десорбции DCF с МОС при использовании различных элюентов. Среди рассмотренных элюентов наибольшей степени экстракции (98 %) удалось достигнуть при двухстадийной обработке наночастиц смесью 5 % водного раствора аммиака с ацетонитрилом (30 : 70, v/v). Анализ зависимости количества десорбированного DCF от нагрузки на сорбент свидетельствует о воспроизводимости результатов, получаемых при десорбции выбранной смесью элюентов, в независимости от количества адсорбированного вещества. Полученные экспериментальные данные позволяют сделать вывод о том, что нанодисперсные частицы оксида кобальта, полученные методом микроволновой обработки водных растворов нитратов металлов в присутствии карбамида, могут быть использованы в качестве металл-аффинного сорбента для извлечения DCF из водных растворов.

Работа выполнена в ИАП РАН в рамках НИР «Новые масс-спектрометрические подходы к медицинской диагностике и исследованию изотопных эффектов в биологии; разработка принципиальных элементов масс-спектрометров для их решения» (№ ФА-НО ИСГЗ 0074-2014-0012)

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Pharmaceuticals in the environment — result of an EEA workshop. Technical report No 1/2010. URL: <https://publications.europa.eu/en/publication-detail/-/publication/29affe43-b703-458b-80ca-1af782dc8198/language-en>.
2. Баренбойм Г.М., Чиганова М.А. Загрязнение природных вод лекарствами. М.: Наука, 2015. 283 с.
3. Aus der Beek T., Weber F.-A., Bergmann A., Hickmann S., Ebert I., Hein A. et al. Pharmaceuticals in the environment — global occurrences and perspectives // *Environ Toxicol Chem*. 2016. Vol. 35, no. 4. P. 823–835.
4. Vieno N., Sillanpää M. Fate of diclofenac in municipal wastewater treatment plant — a review // *Environment International*. 2014. Vol. 69. P. 28–39.
5. Directive 2013/39/EU of the European Parliament and of the Council of 12 August 2013 amending Directives 2000/60/EC and 2008/105/EC as regards priority substances in the field of water policy. URL: <http://data.europa.eu/eli/dir/2013/39/oj> (accessed 15 February 2018).
6. Кельцьева О.А., Гладилович В.Д., Подольская Е.П. Металл-аффинная хроматография. Основы и применение // *Научное приборостроение*. 2013. Т. 23, № 1. С. 74–85. URL: <http://213.170.69.26/mag/2013/abst1.php#abst9>.
7. Cheung R.C., Wong J.H., Ng T.B. Immobilized metal ion affinity chromatography: a review on its applications // *Appl. Microbiol. Biotechnol*. 2012. Vol. 96, no. 6. P. 1411–1420.
8. Feng S., Ye M., Zhou H., Jiang X., Jiang X., Zou H. et al. Immobilized zirconium affinity chromatography for specific enrichment of phosphopeptides in phosphoproteome analysis // *Mol. Cell. Proteomics*. 2007. Vol. 6, no. 9. P. 1656–1665.
9. Tsai C.F., Hsu C.C., Hung J.N., Wang Y.T., Choong W.K., Zeng M.Y. et al. Sequential phosphoproteomic enrichment through complementary metal-directed immobilized metal ion affinity chromatography // *Anal. Chem*. 2014. Vol. 86, no. 1. P. 685–693.
10. Lai A.C., Tsai C.F., Hsu C.C., Sun Y.N., Chen Y.J. Complementary Fe³⁺- and Ti⁴⁺-immobilized metal ion affinity chromatography for purification of acidic and basic phosphopeptides // *Rapid Commun. Mass Spectrom*. 2012. Vol. 26, no. 18. P. 2186–2194.
11. Yu Z., Han G., Sun S., Jiang X., Chen R., Wang F. et al. Preparation of monodisperse immobilized Ti⁴⁺ affinity chromatography microspheres for specific enrichment of phosphopeptides // *Analytica Chimica Acta*. 2009. Vol. 636, no. 1. P. 34–41.
12. Nelson C.A., Szczech J.R., Xu Q., Lawrence M.J., Jin S., Ge Y. Mesoporous zirconium oxide nanomaterials effectively enrich phosphopeptides for mass spectrometry-based phosphoproteomics // *Chem. Commun. (Camb)*. 2009. Vol. 43. P. 6607–6609.
13. Han L., Shan Z., Chen D., Yu X., Yang P., Tu B. et al. Mesoporous Fe₂O₃ microspheres: rapid and effective enrichment of phosphopeptides for MALDI-TOF MS analysis // *J. Colloid. Interface Sci*. 2008. Vol. 318, no. 2. P. 315–321.
14. Choi S., Kim J., Cho K., Park G., Yoon J.H., Park S. et al. Sequential Fe₃O₄/TiO₂ enrichment for phosphopeptide analysis by liquid chromatography/tandem mass spectrometry // *Rapid Commun. Mass Spectrom*. 2010. Vol. 24. P. 1467–1474.
15. Kurdyukov D., Chernova E., Russkikh Y., Eurov D., Sokolov V., Bykova A. et al. Ni-functionalized submicronmesoporous silica particles as a sorbent for metal affinity chromatography // *J. Chromatogr. A*. 2017. Vol. 1513. P. 140–148.
16. Pearson R. Hard and soft acids and bases // *J. Am. Chem. Soc*. 1963. Vol. 85, no. 22. P. 3533–3539.
17. Колоницкий П.Д., Шустов В.Э., Мозгушин И.А., Подольская Е.П. Синтез оксида никеля методом микроволнового синтеза и исследование его поверхностных

свойств // Научное приборостроение. 2015. Т. 25, № 2. С. 102–107.

URL: <http://213.170.69.26/mag/2015/abst2.php#abst10>.

18. Brunauer S., Emmett P., Teller E. Adsorption of gases in multimolecular layers // J. Am. Chem. Soc. 1938. Vol. 60, no. 2. P. 309–319.
19. Barrett E., Joyner L., Halenda P. The determination of pore volume and area distributions in porous substances. I Computations from nitrogen isotherms // J. Am. Chem. Soc. 1951. Vol. 73, no. 1. P. 373–380.

**Институт аналитического приборостроения РАН,
г. Санкт-Петербург** (Кельцьева О.А., Краснов Н.В.,
Подольская Е.П.)

Институт токсикологии ФМБА, Санкт-Петербург
(Гладчук А.С., Дубакова П.С., Подольская Е.П.)

Контакты: Гладчук Алексей Сергеевич,
aleglad24@gmail.com

Материал поступил в редакцию 29.05.2018

Co₃O₄-BASED METAL AFFINITY SORBENT: STUDY OF SURFACE AND SORPTION PROPERTIES

O. A. Keltsieva¹, A. S. Gladchuk², P. S. Dubakova²,
N. V. Krasnov¹, E. P. Podolskaya^{2,1}

¹Institute for Analytical Instrumentation of RAS, Saint-Petersburg, Russia

²Institute of Toxicology of FMBA, Saint-Petersburg, Russia

The work is devoted to the studied of cobalt (III) oxide particles and determination of their sorption properties to diclofenac in water. The specific surface area of particles was 26 m²/g, the pore volume was 0.056 cm³/g. The sorption capacity for diclofenac was 2.1 ± 0.1 µg/mg and recovery reached 98 % for ammonia-acetonitrile mixture as eluent.

Keywords: metal affinity chromatography, sorbents, cobalt oxide (III), diclofenac

REFERENCES

1. Pharmaceuticals in the environment — result of an EEA workshop. Technical report No 1/2010. URL: <https://publications.europa.eu/en/publication-detail/-/publication/29affe43-b703-458b-80ca-1af782dc8198/language-en>.
2. Barenboim G.M., Chiganova M.A. *Zagryaznenie prirodnih vod lekarstvami* [Drug pollution of the natural waters]. Moscow, Nauka Publ., 2015, 283 p. (In Russ.).
3. Aus der Beek T., Weber F.-A., Bergmann A., Hickmann S., Ebert I., Hein A. et al. Pharmaceuticals in the environment – global occurrences and perspectives. *Environ Toxicol Chem.*, 2016, vol. 35, no. 4, pp. 823–835. Doi: 10.1002/etc.3339.
4. Vieno N., Sillanpää M. Fate of diclofenac in municipal wastewater treatment plant — a review. *Environment International*, 2014, vol. 69, pp. 28–39. Doi: 10.1016/j.envint.2014.03.021.
5. Directive 2013/39/EU of the European Parliament and of the Council of 12 August 2013 amending Directives 2000/60/EC and 2008/105/EC as regards priority substances in the field of water policy. URL: <http://data.europa.eu/eli/dir/2013/39/oj> (accessed 15 February 2018).
6. Keltsieva O.A., Gladilovich V.D., Podolskaya E.P. [Immobilized metal ion affinity chromatography (IMAC). Principle and applications]. *Nauchnoe Priborostroenie* [Scientific Instrumentation], 2013, vol. 23, no. 1, pp. 74–85. URL: <http://213.170.69.26/en/mag/2013/abst1.php#abst9>. (In Russ.).
7. Cheung R.C., Wong J.H., Ng T.B. Immobilized metal ion affinity chromatography: a review on its applications. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 2012, vol. 96, no. 6, pp. 1411–1420. Doi: 10.1007/s00253-012-4507-0.
8. Feng S., Ye M., Zhou H., Jiang X., Jiang X., Zou H. et al. Immobilized zirconium affinity chromatography for specific enrichment of phosphopeptides in phosphoproteome analysis. *Mol. Cell. Proteomics.*, 2007, vol. 6, no. 9, pp. 1656–1665. Doi: 10.1074/mcp.T600071-MCP200.
9. Tsai C.F., Hsu C.C., Hung J.N., Wang Y.T., Choong W.K., Zeng M.Y. et al. Sequential phosphoproteomic enrichment through complementary metal-directed immobilized metal ion affinity chromatography. *Anal. Chem.*, 2014, vol. 86, no. 1, pp. 685–693. Doi: 10.1021/ac4031175.
10. Lai A.C., Tsai C.F., Hsu C.C., Sun Y.N., Chen Y.J. Complementary Fe³⁺- and Ti⁴⁺-immobilized metal ion affinity chromatography for purification of acidic and basic phosphopeptides. *Rapid Commun. Mass Spectrom.*, 2012, vol. 26, no. 18, pp. 2186–2194. Doi: 10.1002/rcm.6327.
11. Yu Z., Han G., Sun S., Jiang X., Chen R., Wang F. et al. Preparation of monodisperse immobilized Ti⁴⁺ affinity chromatography microspheres for specific enrichment of phosphopeptides. *Analytica Chimica Acta*, 2009, vol. 636, no. 1, pp. 34–41. Doi: 10.1016/j.aca.2009.01.033.
12. Nelson C.A., Szczech J.R., Xu Q., Lawrence M.J., Jin S., Ge Y. Mesoporous zirconium oxide nanomaterials effectively enrich phosphopeptides for mass spectrometry-based phosphoproteomics. *Chem. Commun. (Camb.)*, 2009, vol. 43, pp. 6607–6609. Doi: 10.1039/b908788e.
13. Han L., Shan Z., Chen D., Yu X., Yang P., Tu B. et al. Mesoporous Fe₂O₃ microspheres: rapid and effective enrichment of phosphopeptides for MALDI-TOF MS analysis. *J. Colloid. Interface Sci.*, 2008, vol. 318, no. 2, pp. 315–321. Doi: 10.1016/j.jcis.2007.10.026.
14. Choi S., Kim J., Cho K., Park G., Yoon J.H., Park S. et al. Sequential Fe₃O₄/TiO₂ enrichment for phosphopeptide analysis by liquid chromatography/tandem mass spectrometry. *Rapid Commun. Mass Spectrom.*, 2010, vol. 24, pp. 1467–1474. Doi: 10.1002/rcm.4541.
15. Kurdyukov D., Chernova E., Russkikh Y., Eurov D., Sokolov V., Bykova A. et al. Ni-functionalized submicronmesoporous silica particles as a sorbent for metal affinity chromatography. *J. Chromatogr. A*, 2017, vol. 1513, pp. 140–148. Doi: 10.1016/j.chroma.2017.07.043.
16. Pearson R. Hard and soft acids and bases. *J. Am. Chem.*

- Soc.*, 1963, vol. 85, no. 22, pp. 3533–3539.
Doi: 10.1021/ja00905a001.
17. Kolonitskiy P.D., Shustov V.E., Mozgushin I.A., Podolskaya E.P. [Microwave-assisted synthesis of NiO particles, characterization its surface properties]. *Nauchnoe Pribo-rostroenie* [Scientific Instrumentation], 2015, vol. 25, no. 2, pp. 102–107. (In Russ.).
URL: <http://213.170.69.26/en/mag/2015/abst2.php#abst10>.
18. Brunauer S., Emmett P., Teller E. Adsorption of gases in multimolecular layers. *J. Am. Chem. Soc.*, 1938, vol. 60, no. 2, pp. 309–319.
19. Barrett E., Joyner L., Halenda P. The determination of pore volume and area distributions in porous substances. I Computations from nitrogen isotherms. *J. Am. Chem. Soc.*, 1951, vol. 73, no. 1, pp. 373–380.

Contacts: Gladchuk Aleksey Sergeevich,
aleglad24@gmail.com

Article received in edition 29.05.2018